

# UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTOLOGIE



ANNEE 2017



N° 153

## ETUDE DES PROPRIETES ANTI DREPANOCYTAIRES D'UN EXTRAIT DE FEUILLES DE *Ficus umbellata*

### MEMOIRE

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES  
OPTION PHYSIOLOGIE

PRESENTE ET SOUTENU PUBLIQUEMENT

LE 14 juin 2017

PAR

**IBRAHIMA DIOUF**

Né le 4 avril 1989 à DIAMAGUENE (SENEGAL)

---

### MEMBRES DU JURY

PRESIDENT :	M. Abdoulaye	SAMB	Professeur
MEMBRES :	M. Modou Oumy	KANE	Professeur
	.		
	M. Abdoulaye	BA	Professeur
DIRECTEUR DE MEMOIRE :	M. Modou Oumy	KANE	Professeur
CO-DIRECTEUR :	M. Mbaye	SENE	Assistant

## REMERCIEMENTS

*Mes remerciements et ma gratitude vont au Pr Modou Oumy Kane. Votre générosité, votre simplicité, vos grandes qualités humaines et votre capacité intellectuelle vous placent au rang des grands hommes Soyez assuré cher Maître de notre attachement indéfectible et notre parfaite reconnaissance.*

*Je remercie le Dr Mbaye Sène pour son aide dans l'élaboration de ce mémoire.*

*A tout le personnel du Laboratoire de Physiologie pharmaceutique de la faculté de médecine de Dakar. Merci pour votre amabilité*

*Je remercie les membres du jury d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.*

*Je remercie le Dr Doudou Diop ; L'occasion nous est offerte en ce jour, de vous témoigner notre grande reconnaissance et notre profond respect.*

*Je dédie ce mémoire à mes parents, mes frères et sœurs, ainsi qu'à toute ma famille et mes amis.*

## LISTE DES FIGURES

- Figure 1** : Les différentes étapes de la falciformation du globule rouge
- Figure 2**: Physiopathologie de la drépanocytose
- Figure 3** : Mécanisme de déshydratation cellulaire
- Figure 4** : Répartition géographique de *Ficus umbellata* au Sénégal
- Figure 5** : *Ficus umbellata* : feuilles et tronc avec figes
- Figure 6** : *Ficus umbellata* : rameaux feuillés et branche avec figes
- Figure 7** : *Ficus umbellata* plantée dans un village
- Figure 8** : Broyeur à mortier RM 100
- Figure 9** : Broyeur de type Moulinex
- Figure 10** : Evaporateur rotatif
- Figure 11** : Stereomicroscope LEICA ez4 d avec une caméra DEL intégré et écran Samsung à l'IFAN
- Figure 12** : Micrographie optique des drépanocytes AS non traités (état basal) (NaCl 0,9% ; Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 2% ; X100)
- Figure 13** : Micrographie optique des drépanocytes AS traités avec extraits hydro-ethanolique (2,5 mg/ml) (NaCl 0,9% ; Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 2% ; X100).
- Figure 14** : Variation du taux de drépanocytes à l'état basal chez les AA, AS et les SS. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écartype de trois mesures sur trois échantillons différents.
- Figure 15** : Variation du taux de drépanocytes à l'état basal et aux différentes concentrations de l'extrait de feuilles de *Ficus umbellata* chez les AS. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écartype de trois mesures sur trois échantillons différents.
- Figure 16** : Variation du taux de drépanocytes à l'état basal et aux différentes concentrations de l'extrait de feuilles de *Ficus umbellata* chez les SS. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écartype de trois mesures sur trois échantillons différents.

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

CVO : Crise vaso-occlusives

Glu : Glutamine

GR : Globule rouge

Hb : Hémoglobine

Hb A: Hémoglobine A

Hb f: Hémoglobine fœtale

Hb S: Hémoglobine S

Hb : hémoglobine

HLA: Humanleukocyteantigen

ICAM-1: Molécule d'adhésion intercellulaire

ISC: Irreversibly sickled cells

NO: Monoxyde d'azote

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

STA : Syndrome thoracique aigu

TFA: Acide tetrafluoroacétique

Val : Valine

VCAM-1 : Molécule d'adhésion des cellules vasculaires

## Table des matières

<b>PREMIERE PARTIE</b> .....	7
<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	8
<b>CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA DREPANOCYTOSE</b> .....	10
<b>I Définition</b> .....	11
<b>II Historique</b> .....	12
<b>III Epidémiologie</b> .....	13
<b>IV Physiopathologie</b> .....	14
<b>1 Propriétés de l'hémoglobine S</b> .....	15
<b>2 Polymérisation intracellulaire de l'hémoglobine S</b> .....	15
<b>3 Falciformation des globules rouges</b> .....	17
<b>4 Anomalies rhéologiques de la microcirculation</b> .....	18
<b>a Adhérence des globules rouges drépanocytaires à l'endothélium vasculaire</b> .....	18
<b>b Anomalies du tonus vasculaire</b> .....	19
<b>c Hémoglobine fœtale</b> .....	19
<b>V DIAGNOSTIC DE LA DREPANOCYTOSE</b> .....	20
<b>1 Tests de dépistage</b> .....	20
<b>2 Examens de confirmation</b> .....	21
<b>VI TRAITEMENT</b> .....	22
<b>1 Prise en charge</b> .....	23
<b>2 Traitement des crises douloureuses drépanocytaires</b> .....	25
<b>3 Echange transfusionnel</b> .....	26
<b>4 Traitement par activation de l'Hb fœtale</b> .....	26
<b>5 Traitement médicamenteux</b> .....	26
<b>6 Traitement des infections</b> .....	27
<b>7 La Vaccination</b> .....	28
<b>8 Greffe de moelle allo génique :</b> .....	28
<b>9 Thérapie génique</b> .....	29

<b>CHAPITRE II : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES SUR <i>FICUS</i></b>	
<b><i>UMBELLATA</i></b> .....	31
<b>I Caractères généraux</b> .....	32
<b>II Etudes Botaniques</b> .....	32
<b>1 Répartition géographiques et habitat</b> .....	32
<b>2 Description de la plante</b> .....	35
<b>III Etudes chimiques</b> .....	37
<b>1 Caractérisation des tanins</b> .....	37
<b>2 Caractérisation des flavonosides</b> .....	37
<b>3 Caractérisation des hétérosides cardiotoniques</b> .....	38
<b>IV Différentes utilisations de <i>Ficus umbellata</i></b> .....	38
<b>1 Domaine médical</b> .....	38
<b>2 Domaine alimentaire</b> .....	39
<b>3 Domaine du reboisement</b> .....	39
<b>DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE</b> .....	40
<b>CHAPITRE I : METHODOLOGIE GENERALE</b> .....	41
<b>I Cadre d'étude</b> .....	42
<b>II Objectif de l'étude</b> .....	42
<b>III Matériels et réactifs</b> .....	42
<b>1 Drogue</b> .....	42
<b>2 Echantillons sanguins</b> .....	42
<b>3 Appareils et petit matériel</b> .....	42
<b>IV Méthodes</b> .....	47
<b>1 Extraction</b> .....	47
<b>2 Etude de l'activité anti falcémiant</b> .....	48
<b>CHAPITRE III RESULTATS</b> .....	50
<b>CHAPITRE IV DISCUSSION</b> .....	55
<b>CONCLUSION</b> .....	58
<b>REFERENCES</b> .....	60

# **PREMIERE PARTIE**

## **INTRODUCTION GENERALE**

La drépanocytose ou anémie falciforme est une maladie génétique qui frappe particulièrement les régions tropicales.

Plusieurs modes de traitements ont été envisagés en vue de soulager les malades, entre autre le greffage de la moelle osseuse, la thérapie génétique, les transfusions sanguines répétées, la prise de l'hydroxyurée etc., Mais il s'avère que ces traitements sont non seulement inefficaces et très coûteux pour les populations pauvres d'Afrique, mais peuvent constituer également un risque d'infection au VIH/SIDA (38).

Ces dernières années, plusieurs études se sont tournées vers l'utilisation des plantes médicinales pour soigner la drépanocytose (32). L'utilisation des plantes médicinales semble pourtant donner un peu plus d'espoir. En effet, plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelles africaine contre cette maladie génétique ont montré in vivo l'activité antifalcémiant (2).

C'est tout l'intérêt de notre étude qui est menée sur une plante, le *Ficus umbellata* utilisées par les populations du nord du Sénégal pour soigner l'asthénie.

Ainsi nous allons :

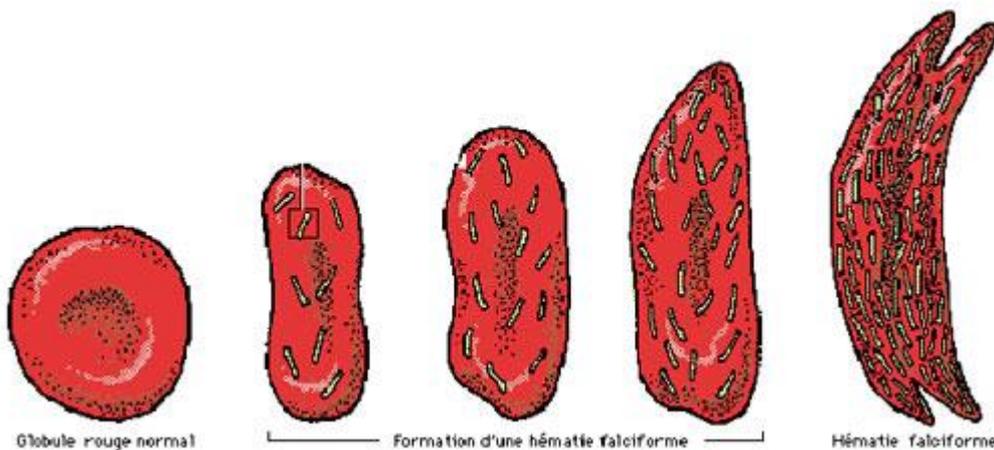
- Dans une première partie, faire une revue bibliographique, sur la drépanocytose et sur *Ficus umbellata*.
- Dans une seconde partie, étudier les propriétés antifalcémiantes de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Ficus umbellata*

# **CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA DREPANOCYTOSE**

## I Définition

La drépanocytose est une maladie génétique qui se caractérise par l'altération de l'hémoglobine. Elle résulte d'une mutation ponctuelle survenant au niveau du gène qui code la chaîne bêta de l'hémoglobine. L'acide glutamique est remplacé par un autre acide aminé, la valine en position 6 dans la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine. Ce gène est localisé sur le bras court du chromosome 11. C'est un allèle récessif (34).

Elle est responsable d'une anémie hémolytique et est caractérisée par la forme très particulière que prennent les hématies (schéma1) en présence d'un réducteur ceci du fait de la présence d'une hémoglobine (Hb) anormale. L'hémoglobine permet le transport de l'oxygène de nos poumons jusqu'aux tissus de tout notre corps, c'est elle qui combinée à l'oxygène, donne la couleur rouge à notre sang. Cette hémoglobine s'appelle Hb A chez le sujet normal et Hb S chez le drépanocytaire. La forme de faucille que prend le globule rouge en situation d'hypoxie, explique le nom de la maladie « drépanocytose » qui vient du grec et qui signifie « faucille »



<http://www.apipd.fr> (consulté le 27 fev 2016)

**Figure 1** : Les différentes étapes de la falciformation du globule rouge (40)

Lorsque le gène malade existe en une seule copie, on parle de porteur du trait, de trait drépanocytaire ou d'hétérozygote : il n'a aucun symptôme mais peut transmettre le gène malade à sa descendance.

C'est seulement lorsqu'il est double, c'est-à-dire SS (un Hb S étant hérité du père et l'autre venant de la mère), que l'enfant est malade. Il compromet la santé et l'espérance de vie des sujets atteints dès l'âge de 4 à 6 mois. Certaines manifestations étant plus graves avec risque léthal.

Le pronostic est plus sévère dans les pays en développement où la prise en charge systématique et précoce fait défaut. Dans ces pays, de nombreux drépanocytaires n'atteignaient pas l'âge adulte (**18**).

## **II Historique**

Dans la littérature, on rapporte que la drépanocytose ou hémoglobine S a été longtemps connue alors qu'aucune recherche scientifique n'avait encore été réalisée.

1910, ERRICK (**14**) Afro-Américain observe la présence d'hématies falciforme chez un étudiant d'origine Antillaise.

1917, EMMEL (**17**) note la déformation des globules rouges chez un parent de malade. Il soupçonne la transmission génétique de la maladie.

1927, HAHAN et GILLEPSIE (**31**) découvrent la relation qui existe entre la déformation des cellules rouges et l'oxygénation.

1947, NEEL (**35**) définit le trait drépanocytaire et établit le mode de transmission génétique selon les lois de MENDEL.

1949, PAULING, ITANO et SINGER (**19**) découvrent la différence électrophorétique entre l'hémoglobine drépanocytaire S et l'hémoglobine normale A.

1958, INGRAM (**28**) démontre l'anomalie de structure biochimique de l'hémoglobine anormale, en développant la technique dite des « finger print ».

1962, MONOD et JACOB (22) montre qu'un type de gène, bien déterminé, est responsable de l'apparition d'anomalie qualitative ou quantitative de l'hémoglobine.

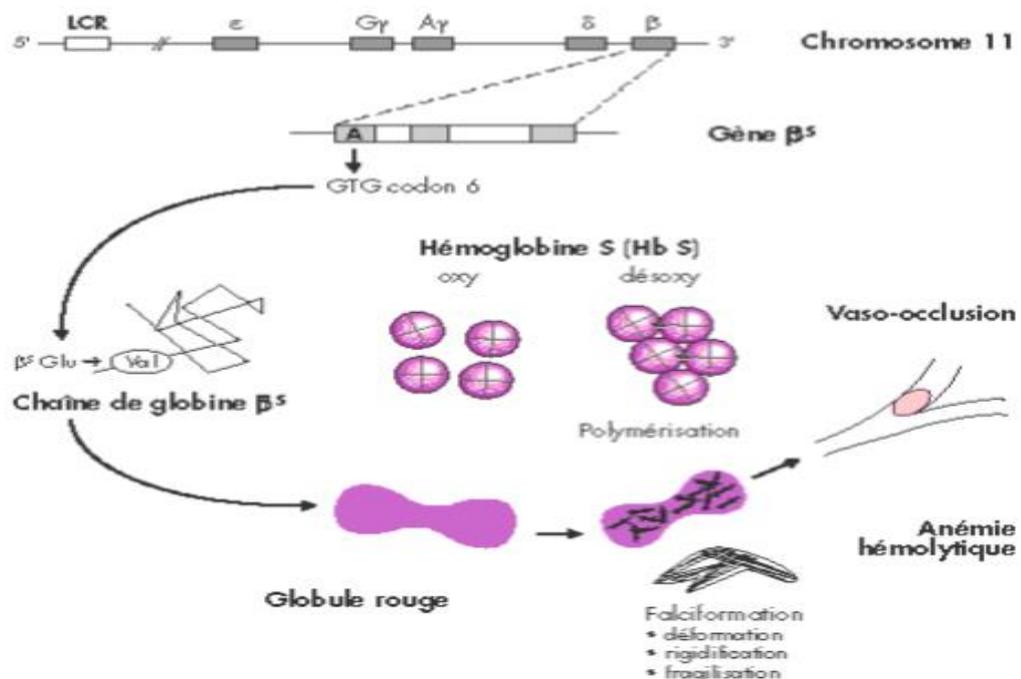
1972, Kan et Coll. (21, 8) envisagent le diagnostic prénatal de la maladie pour une prise en charge précoce vu le risque pathologique encouru

### **III Epidémiologie**

La drépanocytose est la maladie génétique la plus répandue, et on estime que 50 millions d'individus en sont atteints dans le monde (3). Il est vrai qu'elle est fréquente en Afrique subsaharienne, mais on la retrouve ailleurs. Sa répartition varie avec les migrations, les trajets de caravanes, mais surtout les migrations forcées de l'esclavage. C'est pour cela qu'on la retrouve dans les Caraïbes en Amérique du Nord et du Sud. Aujourd'hui avec les mouvements actuels de populations et les brassages qui s'en suivent, la maladie est présente dans le monde entier. La drépanocytose est fréquente, en Amérique du Nord (Etats-Unis), en Amérique du Sud (Brésil), au Moyen-Orient, en Inde et dans les Antilles. Elle est maintenant répandue en France, en Angleterre, au Portugal, en Belgique, aux Pays-Bas, en Allemagne etc. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), chaque année 300.000 enfants naissent avec cette maladie dans le monde. Ainsi, même si elle est largement répandue en Afrique et qu'elle est l'hémoglobinopathie la plus fréquente en Afrique noire, la drépanocytose n'est pas une maladie des noirs comme on le dit souvent. Les taux les plus élevés du trait drépanocytaire sont enregistrés entre le 15<sup>ème</sup> parallèle nord et le 20<sup>ème</sup> parallèle sud atteignant entre 10 à 40% de la population dans certaines régions. Dans les pays comme le Cameroun, la République du Congo, le Gabon, le Ghana et le Nigéria, les taux de prévalence varient entre 20 et 30%. Tandis que dans certaines régions de l'Ouganda, ils atteignent 40% (1). Au Sénégal, le taux de prévalence du trait drépanocytaire est de 10% (9).

## IV Physiopathologie

La mutation responsable est le remplacement de l'Adénine par la Thymine au niveau du 6ème codon du gène  $\beta$ -globine. Elle se traduit au niveau protéique par la substitution d'une valine à un acide glutamique sur la chaîne  $\beta$  de la globine. La résultante en est une charge de la molécule d'hémoglobine S (HbS) différente de celle de l'hémoglobine A (HbA), permettant ainsi sa mise en évidence électrophorétique et un changement de propriétés de stabilité et de solubilité des molécules qui ont tendance à polymériser en milieu désoxygéné (25). Ce phénomène de polymérisation de l'hémoglobine S est au centre du processus physiopathologique de la maladie drépanocytaire, à l'origine des principales manifestations cliniques : crises vaso-occlusives (CVO) et anémie hémolytique. Les différents aspects de la physiopathologie de cette maladie seront déroulés, en commençant par les propriétés de cette hémoglobine S jusqu'aux anomalies rhéologiques de la microcirculation qu'elle entraîne, sans oublier la place de l'hémoglobine fœtale dans ce processus (cf. figure 8).



**Figure 2:** Physiopathologie de la drépanocytose(8).

## **1 Propriétés de l'hémoglobine S**

Dans l'hémoglobine S, la présence d'un résidu de valine, en position  $\beta 6$ , à la place d'un glutamate, crée de minimes modifications conformationnelles portant sur la surface de la molécule. Ces différences siègent essentiellement au niveau des extrémités N- et C- terminales de la chaîne  $\beta$ . Ce sont ces minimes modifications structurales de surface qui rendent compte d'un certain nombre de propriétés spécifiques de l'hémoglobine S (20). A forte concentration saline, la solubilité de la désoxyhémoglobine S est environ 50 fois moindre que celle de la désoxyhémoglobine A. Les mécanismes impliqués dans ce phénomène ne sont pas encore totalement élucidés. On pense que l'intervention de liaisons hydrophobes y joue un rôle important. A l'appui de cette théorie, se trouve l'observation que la solubilité est augmentée à basse température et que la présence de composés, tels les alkylurées, interfère avec ce type de liaisons. La recherche de cette diminution de solubilité, caractéristique de l'hémoglobine S, fait partie des tests de diagnostic positif de cette hémoglobinopathie.

## **2 Polymérisation intracellulaire de l'hémoglobine S**

La polymérisation de l'hémoglobine S dépend essentiellement :

- de la concentration de l'Hb S ;
- de la désoxygénation ;
- de la température ;
- du pH intracellulaire ;
- de la concentration en 2,3 Diphosphoglycérate.

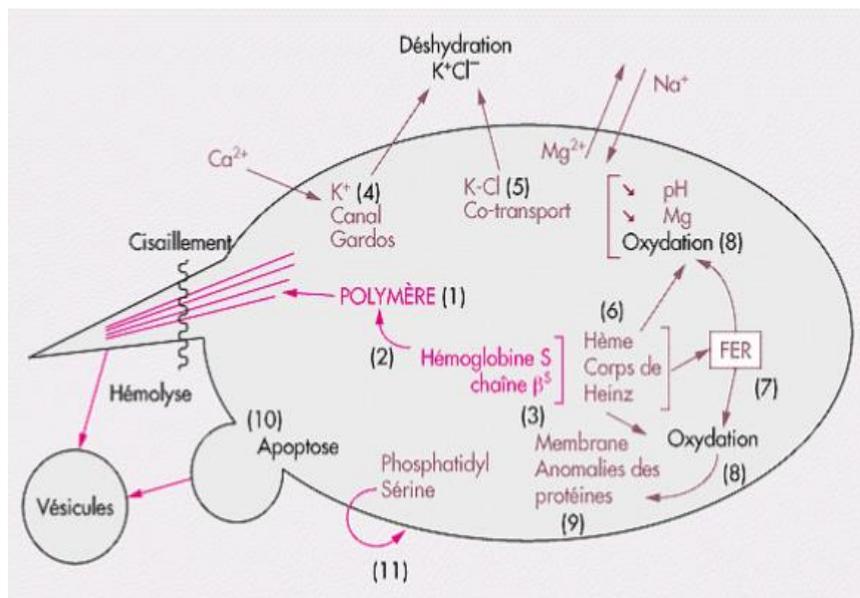
L'augmentation de la concentration de l'hémoglobine S favorise l'état polymérisé. Sa concentration varie considérablement d'une cellule à l'autre, en raison de la déshydratation de certaines cellules et de la répartition très hétérogène de l'hémoglobine fœtale qui ne participe pas à la polymérisation de l'hémoglobine S. L'utilisation récente de la résonance magnétique nucléaire (RMN) a permis de mesurer la fraction polymérisée dans les globules rouges SS et de montrer la

très grande hétérogénéité des cellules (6). La cinétique de la polymérisation de l'hémoglobine S est également essentielle à prendre en compte. La désoxygénation brusque d'un globule rouge SS induit la polymérisation après un temps de latence. Ce délai est d'autant plus court que la concentration de l'hémoglobine S est élevée. Ainsi, selon ce délai, la polymérisation de l'Hb S dans un globule rouge SS peut survenir après son passage par un capillaire ou pendant la traversée du capillaire, provoquant ainsi l'obstruction vasculaire. La polymérisation de l'Hb S augmente brusquement la viscosité interne du globule rouge et induit les déformations caractéristiques de la falciformation. Il en résulte une perte de déformabilité du globule rouge drépanocytaire. La température joue un rôle très important. L'augmentation de la température diminue l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène. Elle augmente la vitesse de polymérisation et stabilise le polymère, en particulier par l'intermédiaire des liaisons hydrophobes contractées par la valine  $\beta 6$ . La baisse du pH diminue l'affinité de l'Hb S pour l'oxygène et augmente la proportion d'Hb S désoxygénée qui polymérise (6). Le pH des globules rouges SS est abaissé de 0,07 unité pH pour la fraction enrichie en ISC (cellules irréversiblement falciformes). En outre des cellules SS ont un effet Bohr augmenté, c'est-à-dire que l'abaissement du pH s'accompagne d'une diminution plus grande de l'affinité des cellules SS pour l'oxygène que les globules rouges AA. Le 2,3 Diphosphoglycérate (2,3 DPG) stabilise l'état désoxygéné de l'Hb S et favorise sa polymérisation. Cependant, le 2,3 DPG est en concentration diminuée dans les cellules irréversiblement falciformes (ISC) ayant une forte concentration en Hb S. La membrane ne joue probablement pas un rôle direct dans la polymérisation de l'Hb S, en raison du délai identique de polymérisation en solution et dans les cellules intactes. Le 2,3 Diphosphoglycérate (2,3 DPG) stabilise l'état désoxygéné de l'Hb S et favorise sa polymérisation.

### 3 Falciformation des globules rouges

On connaît depuis longtemps l'existence dans la drépanocytose de cellules distordues présentant des anomalies structurales et fonctionnelles. La polymérisation de l'hémoglobine S, décrite ci-dessus, provoque deux types d'anomalies cellulaires. Immédiatement, c'est la falciformation réversible par l'oxygénation. A terme, les épisodes répétés de falciformation induisent des altérations irréversibles dominées par la perte de déformabilité permanente, la déshydratation et la déformation caractérisant les « cellules irréversiblement falciformes » (cf. figure 3). La polymérisation de l'hémoglobine S et les altérations de la membrane concourent à réduire la déformabilité des globules rouges et à faire de la drépanocytose la maladie de la microcirculation par excellence (6). Ces drépanocytes irréversibles, au nombre de 2 à 30%, sont des cellules denses, rigides, plus ou moins déformées, contenant des polymères, dont l'affinité pour l'oxygène et la durée de vie sont diminuées. La membrane de ces globules rouges présente des altérations caractéristiques. Ces altérations portent sur les protéines qui subissent progressivement une déformation irréversible, et sur les lipides qui, s'ils sont quantitativement normaux, présentent des anomalies d'orientation (24). Sur le plan fonctionnel, ces membranes altérées présentent une perméabilité accrue aux ions : influx de sodium, et efflux de potassium. Ce phénomène entraîne une déshydratation secondaire à la perte de potassium avec pénétration de calcium dans la cellule.

Toutes ces lésions, secondaires à la lésion originelle et spécifique, deviennent progressivement irréversibles et entrent à leur tour dans le mécanisme physiopathologique de la maladie, ceci inégalement d'une cellule à l'autre.



**Figure 3** : Mécanisme de déshydratation cellulaire (8)

#### 4 Anomalies rhéologiques de la microcirculation

Les caractéristiques du globule rouge drépanocytaire décrites ci-dessus rendent compte de l'hyperviscosité du sang drépanocytaire à laquelle s'ajoutent deux phénomènes qui concourent au ralentissement du flux sanguin dans la microcirculation, les phénomènes d'adhérence des globules rouges drépanocytaires à l'endothélium vasculaire et les anomalies du tonus vasculaire favorisant la vasoconstriction.

##### a Adhérence des globules rouges drépanocytaires à l'endothélium vasculaire

Le schéma physiopathologique classique de la drépanocytose, centré sur la polymérisation de l'hémoglobine S puis la falciformation et la déshydratation des globules rouges, s'avère insuffisant si l'on tient compte du temps de latence à la polymérisation qui, dans les conditions physiologiques, est supérieur au temps de passage dans la microcirculation. L'adhérence des globules rouges drépanocytaires à l'endothélium, évoquée dès le début des années 80, est susceptible de provoquer un ralentissement circulatoire et de précipiter ainsi falciformation et vaso-occlusion (13). Les molécules protéiques impliquées dans les phénomènes d'adhérence ont été identifiées au moins pour certaines d'entre

elles. Ces phénomènes concernent essentiellement des cellules jeunes, réticulocytaires, et impliquent les molécules pro adhésives telles que la glycoprotéine CD36 et l'intégrine VLA-4. Leurs partenaires à la surface de l'endothélium sont également CD36 et, après activation de ces cellules, la protéine VCAM-1. L'interaction de VLA-4 avec VCAM-1 est directe, tandis que celle qui implique les deux molécules CD36 sur le globule rouge et l'endothélium fait intervenir un pontage par la thrombospondine plasmatique (24). Il semble maintenant établi que l'adhérence anormale des globules rouges à l'endothélium est une constante de la drépanocytose et qu'elle joue un rôle important dans le mécanisme physiopathologique conduisant à la vasoocclusion. Une conception différente de la maladie drépanocytaire se dégage et un nouveau champ d'investigations cliniques et biologiques est ouvert (14).

### **b Anomalies du tonus vasculaire**

Les anomalies du tonus vasculaire sont de description plus récente. Elles se fondent sur les propriétés vasoconstrictrices de l'endothéline (ET-1) et sur l'inhibition des propriétés vasodilatatrices du monoxyde d'azote (NO) produit par la NO-synthase endothéliale. Il existe, à l'état normal, un équilibre entre la captation et la production de NO. Cet équilibre est détruit dans la drépanocytose par l'effet de l'hémolyse intravasculaire et la capture du NO par l'hémoglobine libérée par la destruction des globules rouges (24). De plus, l'endothéline (ET-1) se trouve à un taux élevé chez le patient drépanocytaire. Il en résulte comme effet global une vasoconstriction de la micro-vascularisation à l'origine d'un défaut de perfusion des tissus.

### **c Hémoglobine fœtale**

Après les premiers mois de vie, la production d'hémoglobine fœtale ( $\alpha_2 \gamma_2$ ) est normalement progressivement remplacée par celle de l'Hb A ( $\alpha_2 \beta_2$ ), conséquence d'une extinction de l'activité des gènes  $\gamma$  et d'une activation du gène  $\beta$ . Chez l'enfant drépanocytaire, l'activation du gène  $\beta^S$  conduit à la production

d'Hb S ( $\alpha_2\beta_2$ ), mais la diminution de l'Hb F est plus lente que chez l'enfant normal. L'hémoglobine fœtale est un facteur pronostic important dans la drépanocytose puisque des taux élevés, supérieurs à 10%, inhibent partiellement la falciformation (16). Le taux est extrêmement variable, s'échelonnant entre 1-2% jusqu'à 25-30%. L'hémoglobine fœtale ne participe pas à la polymérisation de l'Hb S, mais plutôt interrompt le polymère d'Hb S.

Son augmentation aux dépens de l'hémoglobine S diminue la concentration, prévient et retarde la polymérisation de l'hémoglobine S, ce qui explique leur effet bénéfique potentiel. La maladie ne s'exprime pas chez le nouveau-né et le jeune nourrisson chez qui il existe une prédominance de l'hémoglobine fœtale. Ainsi, des efforts thérapeutiques tendent essentiellement à inhiber la polymérisation de l'Hb S en augmentant la production d'Hb F par le biais d'un accroissement de la synthèse de la chaîne gamma de la globine (13). Les valeurs stables d'Hb F ne sont atteintes que vers l'âge de 5-7 ans, et les taux résiduels après la période néonatale sont statistiquement différents d'un haplotype à l'autre. Le taux d'hémoglobine fœtale est généralement augmenté chez le drépanocytaire homozygote, le plus souvent de 4-8% et peut varier considérablement d'un malade à l'autre.

## **V DIAGNOSTIC DE LA DREPANOCYTOSE**

L'hémoglobine S est aujourd'hui la plus fréquente des anomalies génétiques. Comme le pronostic d'un syndrome drépanocytaire majeur est d'autant plus favorable que sa prise en charge est précoce, il est impératif d'en effectuer le diagnostic dès la naissance.

### **1 Tests de dépistage**

Il existe deux types de tests de dépistage dont la positivité évoque la présence de l'hémoglobine anormale S.

- **Test d'Emmel ou test de falciformation** Mis en évidence en 1917, ce test permet de mettre en évidence in vitro la falciformation des hématies en hypoxie, témoins de la présence de l'hémoglobine S. On utilise le métabisulfite de sodium à 2% pour provoquer l'hypoxie.

- **Test d'Itano ou test de solubilité**

Il est fondé sur l'hypo solubilité en tampon phosphate concentré d'une solution d'hémoglobine S désoxygénée par le dithionite et se manifeste par un précipité dans la solution ainsi constituée. Ce test n'est toutefois que semi-quantitatif et ne peut valablement faire la distinction entre les diverses formes génétiques de la maladie. De même il ne saurait être utilisé chez le nouveau-né ou chez un sujet porteur d'un taux faible d'HbS chez qui il peut être faussement négatif (39).

## **2 Examens de confirmation**

Le diagnostic de la drépanocytose repose dans tous les cas sur l'identification formelle de l'HbS.

- **Electrophorèse de l'hémoglobine**

Elle se fait sur acétate de cellulose à pH alcalin ou acide. Elle met en évidence l'hémoglobine S et d'autres hémoglobines anormales. Dans la drépanocytose homozygote seule sont présentes :

- l'hémoglobine S majoritaire (75 à 95%) ;
- l'hémoglobine A2 sensiblement normale (2 à 3,5%) ;
  - l'hémoglobine F dont le taux est variable (0 à 20%). L'absence d'hémoglobine A1 est un élément fondamental du diagnostic.

- **Isofocalisation électrique :**

C'est une variante électrophorétique qui peut remplacer les électrophorèses à différents pH ainsi qu'une partie des tests complémentaires nécessaires à l'identification d'un variant de l'hémoglobine (8). C'est une technique de choix avec un excellent niveau de sensibilité et de spécificité pour détecter les hémoglobines anormales pendant la période néonatale.

### - **Electrophorèse sur gel d'agar**

L'électrophorèse sur gel d'agar est utilisable pour confirmation d'un diagnostic néonatal. Dans ce système, la mobilité de la molécule d'hémoglobine ne dépend pas de la charge du résidu muté, mais des modifications de structure induites par la mutation dans certaines régions positivement chargées de la protéine, dont en particulier celle impliquée dans l'HbS (39).

### - **Chromatographie Liquide à Haute Performance**

C'est une étape indispensable pour préciser le diagnostic des syndromes drépanocytaires. Cette technique permet de quantifier précisément les fractions d'hémoglobines A<sub>2</sub>, F, A et S. Un patient hétérozygote A/S présente un taux d'hémoglobine S entre 35 et 45 %. Pour un taux d'hémoglobine S inférieur à 35 % (en dehors de toute transfusion sanguine), on peut évoquer l'existence d'une carence martiale ou d'une  $\alpha$ -thalassémie associée. Quand la concentration d'hémoglobine S dépasse celle de l'hémoglobine A, plusieurs situations sont possibles, dont l'association S $\beta^+$  thalassémie (et éventuellement l'association S hémoglobine instable). Le dépistage de la drépanocytose doit être organisé de façon à en faire le diagnostic le plus tôt possible dans la vie, afin de pouvoir prendre en charge l'enfant drépanocytaire avant que se manifestent les premières complications de la maladie. Chez l'adulte jeune, son identification doit justifier un conseil génétique. Enfin, chez le malade, un bilan hémoglobinique peut être nécessaire pour évaluer un pronostic, mais surtout pour suivre l'efficacité de certaines thérapeutiques.

## **VI TRAITEMENT**

Le traitement de la drépanocytose est un traitement purement palliatif comportant un ensemble de mesures destinées à prévenir et à traiter dès leur apparition toutes les complications infectieuses, cependant les traitements curatifs ont progressé ces dernières années.

## **1 Prise en charge**

Les visites cliniques de routine sont importantes chez les patients ayant la maladie drépanocytaire. C'est au cours d'entretiens répétés et réguliers que les informations sur la maladie sont données aux patients, ainsi que la conduite à tenir en cas d'accidents aigus survenant chez eux. Les conseils idoines sur la maladie, tant sur le plan génétique que psychosocial, est au mieux réalisé durant ces visites de routine.

Chaque patient suivi régulièrement en consultation, doit avoir un dossier dans lequel sont réunies les informations essentielles et en particulier le groupe sanguin avec le phénotype érythrocytaire. Les conséquences sur la scolarité et la vie familiale. Les éventuelles hospitalisations pendant les complications sont évaluées par le médecin qui proposera des traitements adaptés à chaque cas. Ainsi dans le programme de transfusion au long court, la prescription d'hydroxurée ou la transplantation médullaire peut être discuté dans les formes sévères de la drépanocytose (4).

- **Traitement de l'anémie**

La seule thérapie efficace de la drépanocytose actuellement est la transfusion. Elle permet de réduire le nombre des hématies falciformes par un effet de dilution et par la mise au repos de la moelle érythropoïétique du patient, elle supprime le mécanisme pathogénique et corrige tous les troubles de la maladie.

- **Indication et technique de la thérapeutique transfusionnelle**

Trois modalités différentes de la transfusion sanguine sont utilisées dans la drépanocytose. La transfusion sanguine simple, l'échange transfusionnel et la transfusion sanguine au long court. La recherche d'agglutinines irrégulières doit être faite systématiquement avant et si possible après toute transfusion (4).

- **La transfusion sanguine simple**

La transfusion sanguine simple est indiquée en cas d'anémie aiguë. L'objectif est de ramener un taux d'Hb abaissé à sa valeur habituelle. Les apports

transfusionnels dépendant du degré de la déglobulisation. Le chiffre d'Hb final ne doit pas excéder 10,5/100ml de sang avec un taux d'hématocrite final autour de 33% au de-là, les risques d'hyperviscosité sanguine sont importants. La quantité de concentrés de globules rouges à transfuser en ml est calculée par la formule suivante

$$(Hb \text{ désirée} - Hb \text{ du malade}) \times 4 \times \text{poids en kg}$$

### ➤ **Echange transfusionnel**

L'échange transfusionnel est proposé dans les situations d'urgences qui menacent le pronostic vital ou fonctionnel :

- Accident vasculaire cérébral
- Syndrome thoracique aigu grave
  - Crises vaso-occlusives hyperalgiques résistantes au traitement antalgique de type majeurs / morphinique. En préopératoire : l'objectif est de remplacer des hématies drépanocytaires par des hématies contenant de l'Hb A, en maintenant l'hématocrite inférieur à 35% et sans dépasser un taux d'Hb final supérieur à 12g/100ml de sang par rapport au taux d'Hb habituel du patient. Il peut être réalisé de deux manières :

### ❖ **Technique manuelle**

La technique nécessite deux voies d'abord veineuse, l'une pour la soustraction l'autre pour les apports. Elle est pratiquée en trois temps :

- Saignée de 10 à 15 ml/kg associée à une perfusion concomitante de même volume de soluté isotonique par la seconde voie.
- Transfusion réglée au même débit que la saignée jusqu'à l'obtention du volume perdu.
- Technique automatisée sur séparateur de cellules (cytaphérèse) notamment pour les malades dont l'hémodynamique est précaire.

### ➤ **Programme de transfusion au long court**

L'échange transfusionnel est indiqué chez les patients qui ont présenté un accident vasculaire cérébral, cette thérapie était la seule susceptible de prévenir les récurrences. Le but est de maintenir le taux d'Hb S entre 30% et 50%. Plusieurs modalités sont proposées : La première consiste à faire des transfusions simples régulières toutes les 3 à 4 semaines en ajustant les apports en fonction des taux d'Hb S mesurés avant et après chaque transfusion. La seconde consiste à faire précéder chaque transfusion d'une saignée de 10 à 15 ml/kg de poids, cette saignée vise essentiellement à ralentir la progression inéluctable de la charge en fer post transfusionnelle plutôt que de vouloir diminuer l'hématocrite avant la transfusion. Ces deux méthodes ne requièrent qu'une seule voie d'abord et peuvent être réalisées dans toute unité de thérapie transfusionnelle.

#### ❖ **Complications des transfusions**

Les complications des transfusions sont l'allo-immunisation, la surcharge en fer et la transmission des maladies virales.

L'allo-immunisation érythrocytaire est l'apparition d'anticorps dirigés contre des antigènes de groupe sanguins portés par les globules rouges transfusés que le receveur ne possède pas. C'est une complication fréquente chez les patients drépanocytaires. Le risque dépend du nombre de transfusion, de l'état immunitaire du receveur et des différences antigéniques entre donneur et receveur.

La surcharge en fer est une complication fréquente chez les patients polytransfusés, observée à partir de 500 ml/kg de concentrés globulaires transfusés. Cette surcharge impose l'instauration d'un traitement chélateur du fer. Le risque de transmission virale est très faible grâce à une meilleure sélection des donneurs.

## **2 Traitement des crises douloureuses drépanocytaires**

- **Réhydratation**

C'est un geste essentiel, qui permet de diminuer les facteurs de viscosité et d'hémoconcentration qui sont des sources de thromboses d'anoxies et d'acidoses. La réhydratation orale seule est insuffisante, c'est la réhydratation par voie veineuse qui reste préconisée. On utilise les solutés isotoniques équilibrés en électrolytes (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>) et le sérum physiologique.

- **Traitement médicamenteux antalgique**

Dans les crises légères, pour le traitement à domicile, le paracétamol en prise systémique est conseillé. Dans les crises modérées, la codéine est beaucoup employée, elle est recommandée et autorisée dès l'âge de un an. L'antiinflammatoire non stéroïdien est préconisé. Dans les crises douloureuses intenses, la quasi-totalité des auteurs s'accorde aujourd'hui pour l'emploi des antalgiques majeurs. La morphine reste l'antalgique de référence.

### **3 Echange transfusionnel**

Un échange transfusionnel est indiqué quand l'ensemble des mesures précédentes n'a pas pu calmer la crise en atténuant la douleur et en réduisant l'hyperthermie. En pratique on se donne 12 heures à 24 heures de traitement avant de recourir à la transfusion.

### **4 Traitement par activation de l'Hb fœtale**

Il existe une relation entre la gravité de l'expression clinique de la maladie drépanocytaire et le taux élevé d'Hb fœtale. Ainsi un taux élevé est corrélé à la raréfaction des crises douloureuses et des syndromes thoraciques aigus. On explique aussi par la présence d'un taux élevé d'Hb fœtal le fait que les nouveaux nés drépanocytaires sont protégés des complications de la maladie.

### **5 Traitement médicamenteux**

Trois familles de médicaments ont été utilisées dans ce but :

- Les cytostatiques dont surtout l'hydroxurée
- Érythropoïétine recombinante humaine
- Le butyrate et ses dérivés.
  - **Hydroxurée (HYDREA)**

Cette molécule est un antimétabolite qui réactive la synthèse d'hémoglobine fœtale. Et chez les drépanocytaires cette synthèse se fait au dépend de l'hémoglobine S. Elle améliore ainsi la déformabilité érythrocytaire et diminue l'adhésion excessive des érythrocytes drépanocytaires à l'endothélium dans les trois premiers mois de traitement. La mise sous traitement impose une surveillance mensuelle de la numération, car une diminution des globules rouges, blancs et/ou plaquettes ne sont pas rares. Elle peut provoquer une azoospermie chez l'homme et une aménorrhée secondaire chez la femme.

- **L'érythropoïétine recombinante humaine**

L'érythropoïétine est le principal facteur de croissance et de multiplication de la lignée érythrocytaire. Cependant, l'érythropoïétine recombinante humaine est de moins en moins utilisée chez les patients drépanocytaires, du fait d'un risque d'augmentation de l'hématocrite et de crises vaso-occlusives favorisées par une hyperviscosité sanguine (26).

- **Le butyrate et ses dérivés**

Le butyrate agit directement sur le promoteur du gène gamma de l'Hb fœtal, en inhibant l'acétylation des histones. Le caractère variable des résultats et un mode d'administration contraignant ont fait que l'usage du butyrate ou de ses dérivés est resté au stade expérimental (15).

## **6 Traitement des infections**

- **Antibiothérapie curative**

L'antibiothérapie doit être adaptée aux bactéries les plus fréquemment rencontrées et différemment en fonction du site. Elle dépend aussi des possibilités économiques, donc bien différente dans les pays industrialisés et les pays en voie

de développement. La précocité et le choix du traitement antibiotique conditionnent le pronostic de l'infection bactérienne chez le drépanocytaire.

- **Traitement préventif**

Antibiothérapie préventive Autre fois très contestée, elle est actuellement le moyen le plus admis en matière de prévention des infections à pneumocoque (principalement agent d'infection du drépanocytaire) Cette prophylaxie est assurée par la pénicilline V.

## **7 La Vaccination**

La vaccination de l'enfant drépanocytaire présente un avantage préventif et protecteur mais ne suffit à elle seule. L'hygiène et l'antibiothérapie complètent plus efficacement le traitement vaccinal en particulier dans l'infection à pneumocoque. Les vaccins obligatoires prescrits chez l'enfant drépanocytaire sont : Diphtérie, tétanos, coqueluche, polio (DTCP), tuberculose (BCG), rougeole, oreillons, rubéole (ROR), Vaccin anti- hépatite B, Vaccin antigrippal, et récemment le vaccin anti-Haemophiles, anti-influenzae de type B ; Vaccin anti pneumocoque (PNEUMO23) vaccin anti typhique (TYPHIM Vi) (5).

## **8 Greffe de moelle allo génique :**

L'allogreffe de moelle est à l'heure actuelle le seul traitement potentiellement curateur de la drépanocytose, l'objectif est de remplacer la moelle d'un malade par celle d'un donneur HLA compatible. La greffe de moelle doit être proposée aux drépanocytaires qui ont un antécédent d'accident vasculaire cérébral. Dans la mesure où la seule alternative existante pour éviter les récurrences est des échanges transfusionnels mensuels, impliquant une chélation quotidienne à vie. Elle doit être envisagée précocement en cas de détection de lésion vasculaire cérébrale par Doppler ou d'accidents vasculaires cérébraux infra cliniques à IRM associés à des altérations des fonctions cognitives. En cas d'inefficacité de l'hydroxyurée, la greffe de moelle reste le seul traitement curateur mais expose à un risque de

mortalité, d'échec par rejet et nécessite l'existence d'un donneur HLA identique familiale.

Il ya la possibilité pour les parents de recourir à la théorie «du bébé médicament» par une fécondation in vitro avec sélection d'embryons compatibles pour la greffe. Le possible bébé SS est éliminé lors d'un diagnostic preimplantaire. Mais elle est très encadrée par les lois bioéthiques (37).

## **9 Thérapie génique**

La drépanocytose est une maladie pour laquelle un traitement génétique est en principe approprié, car sa cause est mono génique et le gène en question ; celui de la globine est bien connu. Sa structure, son promoteur et d'autres éléments régulateurs sont étudiés depuis plus de vingt ans. Le principe fondamental du traitement génétique est simple : il s'agit soit de corriger les mutations dans les cellules par une copie du gène normal, accompagné d'éléments transcriptionnels en permettant l'expression adéquate. Le défaut génétique serait ainsi corrigé dans les cellules somatiques du sujet atteint, évitant le recours à la greffe de cellules hématopoïétique provenant d'un autre individu. Le transfert de gène peut être effectué efficacement en utilisant des vecteurs rétroviraux défectifs, et l'on peut obtenir une expression à haut niveau en associant des séquences régulatrices dans le vecteur et en insérant le gène normal dans son environnement naturel à l'aide de recombinaisons homologues, qui permettent aussi d'éliminer le gène mutant en insérant la séquence normale. Le transfert du gène normal dans les cellules souches à potentiel de division élevé permet l'expression prolongée du gène corrigé, l'innocuité de la thérapie génique reste encore à déterminer. Cependant, si le principe est simple, l'exécution est fort complexe. Celle-ci requiert en effet une connaissance de la biologie et l'utilisation de technologies qui ne sont encore que partiellement maîtrisées. Ce qui fait que cette thérapie reste encore du domaine d'un futur relativement lointain (7).



**CHAPITRE II : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES SUR *FICUS*  
*UMBELLATA***

## **I Caractères généraux (10)**

Le *Ficus umbellata* appartient au genre *Ficus* qui appartient à la famille des Moraceae.

Les *Ficus* sont des plantes ligneuses, à port très divers. En forêt équatoriale, les *Ficus* ont un fût très élevé, droit et régulier alors qu'en savane, ce fût est court, parfois puissant mais tourmenté, contourné et couronné d'une cime semi-hémisphérique, fortement branchue et au feuillage très dense (**Aubreville, 1959 ; Lebrun et Boutique, 1934**). En forêt et parfois en savane, les *Ficus* sont très souvent des épiphytes. Leurs graines minuscules sont disséminées par les chauves-souris, des oiseaux, des singes ou des petits rongeurs dans les creux des branches et des troncs où s'entasse un peu d'humus et d'humidité. Ces graines germent, donnant naissance à un arbrisseau qui enlace son support d'un lacs de racines. Celles-ci se développent, se rejoignent, s'anastomosent et forment une carapace continue, constituant un « faux-tronc ». Le *Ficus*, dit alors étrangleur resserrant son étreinte, réussit à la longue, à étouffer l'arbre soutien. Certains *Ficus* émettent des racines adventives qui pendent du tronc ou des branches et qui, parfois, lorsqu'elles rencontrent le sol, s'y implantent et forment de nouveaux troncs reliés aux premiers (**Aubreville, 1959**).

## **II Etudes Botaniques**

### **1 Répartition géographiques et habitat**

Le *Ficus umbellata* se retrouve uniquement en Afrique dans les régions guinéennes mais aussi dans les régions soudano-zambéziennes.

Au Sénégal, nous pouvons distinguer 3 groupes selon l'importance de leur aire géographique : les espèces très répandues, les espèces moyennement répandues et les espèces confinées au sud du pays.

Les espèces très répandues sont : *F. lutea*, *F. platyphylla*, *F. sycomorus* et *F. thonningii* ; elles sont rencontrées dans la région de Saint-Louis, de Thiès, de Dakar, de Kaolack, de Fatick, de Tambacounda, de Kolda et de Ziguinchor ; elles

sont plantées dans les villes comme taxons d'avenues et en milieu rural comme arbres à palabre ou conservées et protégées dans les champs ; elles sont retrouvées également dans les savanes arborées et les galeries forestières de la région de Tambacounda ou dans les forêts claires de la Basse Casamance.

Les espèces moyennement répandues sont : *F. dicanostyla*, *F. glumosa*, *F. iteophylla*, *F. ovata*, *F. polita*, *F. scott-elliotti*, *F. sur*, *F. trichopoda* et *F. umbellata* ; ces espèces couvrent les régions de Dakar, Thiès, Fatick, Tambacounda, Kolda et de Ziguinchor.

Il convient de faire ressortir à côté de ces 2 groupes espèces, 9 autres qui n'ont été rencontrées que dans les régions sud du Sénégal. Il s'agit des espèces suivantes :

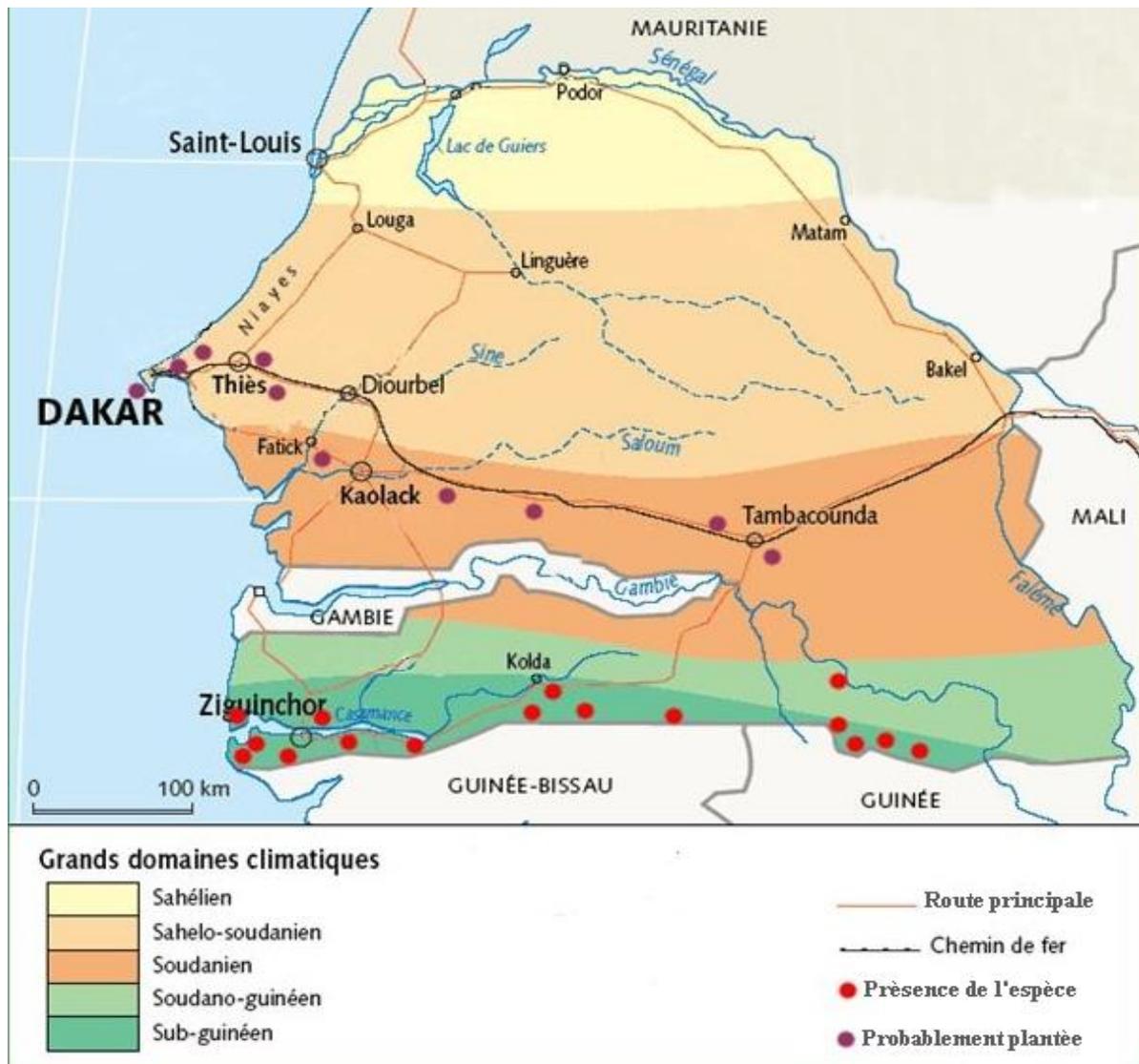
- d'une part de *F. abutilifolia*, *F. sp1*, *F. cordata*, *F. ingens*, *F. sp2*.) et *F. vallischoudae*, soit 6 espèces récoltées dans la région de Tambacounda ;

- d'autre part de *F. elasticoides*, *F. sp1*, *F. natalensis* et *F. ottoniifolia*, récoltées dans la région de Ziguinchor.

Le *Ficus umbellata* est éparé en Casamance maritime, rare dans les galeries forestières soudaniennes (Niokolo Koba, Sénégal oriental). On le voit parfois planté dans quelque village (île du Saloum, Nioro du Rip, région de Tambacounda). En outre, les résultats ont montré que les *Ficus* L. sont mieux représentés dans les régions soudano-guinéennes du Sud que dans les régions sahélo-soudanaises du Nord. Dans cette partie Sud du Sénégal, l'abondance des pluies, la durée de la saison pluvieuse (4 à 5 mois) et le climat humide, joueraient un rôle très important dans la répartition géographique des espèces du genre.

En plus de ces facteurs climatiques, la répartition géographique des espèces du genre *Ficus* serait aussi tributaire de deux autres facteurs majeurs non moins importants : le mode de dissémination des graines et l'action anthropique. En effet les *Ficus* par leur faculté de fructification multiple dans une même année, constituent une réserve de nourriture abondante et de qualité pour les animaux et parfois pour l'homme. Ceci favoriserait la dissémination de leurs fruits par les

animaux nomades, en particulier les oiseaux (**Bathie, 1928**). L'implantation par l'homme de certaines espèces de *Ficus* (*F. ovata*, *F. lutea*, *F. thonningii*, *F. sycomorus*, *F. polita* et *F. umbellata*) a permis d'étendre leurs aires de répartition hors de leurs milieux naturels (**10**).



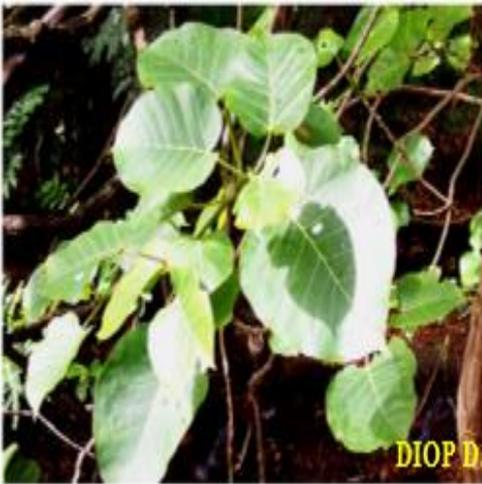
**Figure 4** : Répartition géographique de *Ficus umbellata* au Sénégal (**10**)

## 2 Description de la plante (10)

### Planche 33



*F. umbellata* : tronc



*F. umbellata* : feuilles

**Famille :** *Moraceae*

**Nom scientifique :** *Ficus umbellata* Vahl.

[Figuier ombellé : allusion aux figes disposées en ombelle de 4 à l'aisselle des feuilles].

**Noms vernaculaires :** *dégé dégo, déré déro* (mandingue) ; *âdaké* (peuh) ; *mbadat* (sérère) ; *mambéia* (wolof)

**Type biologique :** arbre, épiphyte.

**Milieus écologiques :** galerie forestière, forêt humide.

**Caractères des feuilles**

- Limbe : coriace, ovale.
  - Longueur : [173 à 230] mm
  - Largeur : [65 à 101] mm
  - Base : cordée.
  - Sommet : courtement acuminé.
  - Pilosité : glabre.
- Pétiole : glabre.

**Figes :** pédonculées, de diamètre [21 à 26] mm

**Figure 5 :** *Ficus umbellata* : feuilles et tronc avec figes (10)



*F. umbellata* : branche avec figes



**Période de fructification** : Mai-Juin

**Répartition géographique** : zone soudano-guinéenne( Kédougou), Zone guinéene .

**Usage** : écorce utilisé pour faciliter l'accouchement des femmes et contre les maux de ventre.

**Lieux de récolte et coord. Géographiques**

- 1- Village de Mlomp, Sénégal
- 2- Galerie Monts Assirik, Sénégal
- 3- Galerie Dindéfèlo, Sénégal

**Figure 6** : *Ficus umbellata* : rameaux feuillés et branche avec figes (In berg 1985) (10)

Le *Ficus Umbellata* est un arbre de 6 à 10 m, fût court, large près du sol, souvent très ramifié dès la base et formant plusieurs troncs divergents à tiges s'enracinant puis se redressant ; écorce lisse, claire, glabre.

Feuilles ovales, ou suborbiculaires, cordées à la base, de 20 sur 16cm, 8 à 10 nervures latérales de 2 à 2,5cm (23)

### III Etudes chimiques (10)

L'étude chimique de *Ficus umbellata* montre la présence de flavonosides, d'hétérosides et de tanins

#### 1 Caractérisation des tanins.

Deux types de caractérisation ont été réalisés avec le filtrat obtenu grâce à l'infusion pendant 30 mn de 5 g de poudre de feuilles dans 50 ml d'eau distillée bouillante :

- la présence des tanins a été révélée par une coloration brun-violet qui se développe lorsqu'on agite la solution obtenue par l'ajout de quelques gouttes d'une solution de  $FeCl_3$  (2%) à 5ml du filtrat ;

- la présence de tanins peut aussi être mise en évidence par l'acide phosphotungstique ; il s'agit là de diluer l'infusé au 1/10e avec de l'eau distillée et à 1ml de cette dilution on ajoute 1 ml d'acide phosphotungstique et 9 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 25% ; les tanins ont été révélés par la coloration bleue du mélange. Notons cependant l'existence de deux groupes de tanins : les tanins non condensés hydrolysables et les tanins condensés non hydrolysables.

#### 2 Caractérisation des flavonosides.

Les flavonosides sont extractibles par l'alcool éthylique à 96° ou par l'eau distillée chaude ; ils sont peu solubles dans l'eau froide.

Deux types de caractérisation ont été utilisés.

D'une part, la coloration en milieu alcalin : En milieu alcalin, les flavonosides se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun

D'autre part, la réaction de la cyanidine : Les flavonosides donnent des colorations variées allant du rouge orangé au violet en solution alcoolique, en présence d'hydrogène naissant produit in situ par action de l'acide chlorhydrique pur sur du magnésium ; dans un tube à essai, il est mis 2 ml du filtrat puis 2 ml d'alcool chlorhydrique [alcool éthylique 96° (2 vol.) + HCl concentré (1 vol.)] et enfin quelques fragments de magnésium; la réaction est exothermique et il se développe lentement une coloration rose puis rouge montrant la présence de flavonosides.

### **3 Caractérisation des hétérosides cardiotoniques**

La solution obtenue en mettant 1g de poudre de feuilles dans un tube à essai avec 5 ml de mélange chloroforme (4 vol.) / éthanol (1 vol.) est laissée à macérer pendant 30 min en agitant le tube de temps en temps. Puis le filtrat obtenu a été réparti dans 3 « tube à hémolyse ».

Dans chaque tube, il est ajouté 0,5 ml d'un réactif (celui de Baljet, de Kedde ou de Raymond-Marthoud).

Deux gouttes de lessive de soude diluée au 1/5 dans l'alcool éthylique à 95° sont ajoutées dans chaque tube. Après avoir agité et s'être assuré que le pH est bien alcalin, les colorations sont observées :

- tube 1 (réactif de Baljet) : rouge-orangé stable s'il y a présence d'hétérosides cardiotoniques ;
- tube 2 (réactif de Kedde) : rouge-pourpre stable s'il y a présence d'hétérosides cardiotoniques ;
- tube 3 (réactif de Raymond-Marthoud) : violet fugace s'il y a présence d'hétérosides cardiotoniques. (10)

## **IV Différentes utilisations de *Ficus umbellata***

### **1 Domaine médical**

Le domaine de la médecine traditionnelle où 15 des espèces étudiées du genre *Ficus* sont utilisées. Il s'agit de *F. dicranostyla*, *F. exasperata*, *F. glumosa*, *F. ingens*, *F. iteophylla*, *F. lutea*, *F. natalensis*, *F. ovata*, *F. platyphylla*, *F. scott-eliotii*, *F. sur*, *F. sycomorus*, *F. thonningii*, *F. umbellata* et *F. vallis-choudae*. Cinq

de ces espèces (*F. glumosa*, *F. ingens*, *F. lutea*, *F. sur* et *F. sycomorus*) sont utilisées pour soigner la stérilité. En Afrique, les feuilles, l'écorce et les racines des Ficus sont généralement associées à des organes d'autres plantes pour soigner ou soulager ou prévenir des souffrances et des maladies . (10)

## **2 Domaine alimentaire**

Le domaine alimentaire où 10 des espèces étudiées sont utilisées. Les figes charnues de *F. dicranostyla*, *F. glumosa*, *F. ingens*, *F. iteophylla*, *F. platyphylla*, *F. sur*, *F. sycomorus*, *F. vallis-choudae* sont consommés crus par les enfants ou utilisés comme condiments dans les plats repas quotidiens (couscous chez les Sérères au Sénégal), celles de *F. polita* sont seulement bien mâchées ; l'infusion des feuilles de *F. umbellata* sert de boissons ; Les feuilles de *F. glumosa* sont consommées dans des soupes (**Schnell, 1957**). Les feuilles et les figes sont aussi appréciées par les animaux sauvages (singes, oiseaux, chauves-souris ...) ou domestiques (ânes, chèvres, moutons et vaches) (**Walker et Sillans, 1961 ; Guy, 2000 ; Garine, 2002**). (10)

## **3 Domaine du reboisement**

Le domaine du reboisement urbain et rural où 5 des espèces étudiées sont utilisées. Ces espèces sont plantées en ville dans les grandes avenues (*F. lutea*, *F. polita*, *F. thonningii*) ou dans les villages (*F. thonningii* et *F. umbellata*) pour servir soit de taxons d'avenues, soit d'arbres à palabre. Elles sont aussi plantées pour les raisons alimentaires (*F. umbellata*), mystiques ou médicinales (*F. sycomorus*) déjà évoquées (**Bathie, 1928 ; Schnell, 1957 ; Berhaut, 1979**). (10)

## **DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

## **CHAPITRE I : METHODOLOGIE GENERALE**

## **I Cadre d'étude**

Notre étude a été réalisée au laboratoire de physiologie pharmaceutique située au deuxième étage du pavillon pharmacie de la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Cette structure est constituée de deux laboratoires : un laboratoire d'analyses biologiques et un laboratoire de recherches scientifiques.

## **II Objectif de l'étude**

Cette étude a pour objectif de mettre en évidence l'activité antifalcémiant *in vitro* d'un extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Ficus umbellata*.

## **III Matériels et réactifs**

### **1 Drogue**

Le matériel végétal est constitué par les feuilles de *Ficus umbellata* dont la récolte et l'authentification a été réalisée par docteur Doudou Diop (laboratoire de botanique de l'IFAN de Dakar) sur un spécimen de l'arbre à Dindéfelo dans la région de Kédougou Sénégal.

La poudre de la drogue obtenue après pulvérisation est conservée à la température ambiante (25° à 30°) dans une salle aérée.

### **2 Echantillons sanguins**

Les échantillons sanguins ont été obtenus chez des sujets AA et d'autres porteurs du trait drépanocytaire connus AS et SS par ponction veineuse au centre de transfusion sanguine de Dakar.

### **3 Appareils et petit matériel**

#### **➤ Le broyeur a mortier RM 100**

Le **RM 100** se prête au broyage à sec et à l'état humide de matériaux mous, semi durs, durs et fibreux. Il permet de broyer et d'homogénéiser sans effort manuel des quantités d'environ 10 à 150 ml de matière chargée.

On peut atteindre une finesse finale jusqu'à 10  $\mu\text{m}$ , voire même inférieure dans certains cas. Le principe est le suivant:

On ferme le **RM 100** et l'enclenche, ensuite on répartit l'échantillon lentement sur le plateau du mortier tournant d'une manière constante. A cet effet, on ouvre le couvercle droit en plexiglas. Le pilon qui est disposé en déport par rapport au centre du mortier agit par une pré-tension de ressort et par son propre poids sur le fond du mortier et la matière à broyer. Grâce à ce contact intensif, le pilon est entraîné par rotation sans adhérence et broie la matière par friction et par pression réglable au moyen de la douille. Un racloir veille à ce que l'échantillon soit raclé, remué et ramené à la fente de broyage. Ce guidage forcé garantit que toute la matière chargée soit bien mélangée et que chaque particule soit sans cesse ramenée au processus de concassage et broyage.



**Figure 8** : Broyeur à mortier RM 100 (DIOUF Ibrahima)

#### ➤ **Le Moulinex**

Il permet d'effectuer un broyage mécanique et nous donne des particules semi fines qui peuvent être améliorées selon le besoin.



**Figure 9** : Broyeur de type Moulinex (DIOUF Ibrahima)

➤ **LE MATERIEL DE FILTRATION**

- entonnoir
- coton hydrophile (filtre)
- pompe à vide

➤ **EVAPORATEUR ROTATIF (ROTAVAPOR R 210)**

Le Rota vapeur permet de réaliser la distillation en une étape, rapidement et d'une façon qui ménage le produit. Cette procédure se base sur l'évaporation et la condensation de solvant au moyen d'un ballon d'évaporation par rotation sous vide. La distillation sous vide améliore le résultat du traitement et aide à protéger les produits.

**Le mode de fonctionnement**

Cet appareil comprend:

• **Zone d'évaporation:** le solvant est porté à une température pré-réglée à l'aide d'un bain de chauffage. Une couche fine de solvant se forme à l'intérieur du ballon d'évaporation en rotation, ce qui augmente le taux d'évaporation. La rotation

produit un mélange homogène de l'échantillon en empêchant ainsi une surchauffe stationnaire dans le ballon.

- **Entraînement par rotation avec conduit de vapeur:** l'unité d'entraînement garantit une rotation régulière du ballon d'évaporation. Le conduit de vapeur intégré transporte la vapeur de la zone d'évaporation jusqu'à la zone de refroidissement.

- **Zone de refroidissement:** le solvant pénètre dans le réfrigérant où l'énergie contenue dans la vapeur du solvant est transférée au produit réfrigérant de façon à entraîner la condensation du solvant.

- **Ballon récepteur:** il permet de recueillir le solvant

Le Rotavapor fonctionne en configuration avec d'autres éléments qui sont :

- **La pompe à vide :** c'est une **pompe à membrane PTFE** qui s'utilise principalement pour évacuer l'air contenu dans les instruments de distillation, en particulier des évaporateurs rotatifs ; pour filtrer le vide etc.

- **Condensateur** nommé le **minichiller w** : c'est un refroidisseur à recirculation avec une machine frigorigène refroidie par eau. Le **minichiller w** est équipé d'une unité régulatrice commandée par microcontrôleur et sa plage de températures de travail va de -20 à 40°C.



**Figure 10 :** Evaporateur rotatif (DIOUF Ibrahima)

➤ **Un stereomicroscope LEICA EZ4 D avec une caméra DEL intégré**



**Figure 11** : Stereomicroscope LEICA ez4 d avec une caméra DEL intégré et écran Samsung à l'IFAN (DIOP Doudou)

➤ **La verrerie et le petit matériel**

- Erlenmeyers
- Gants
- Fioles de Kitassato (500ml)
- Coton hydrophile
- Eprouvettes
- Pipettes
- Béchers
- Papier aluminium
- Pissette
- Ampoules à décanter
- Ballons en verre
- Fiole jaugée
- Tubes à essais
- Eppendorfs (plastique)
- Embouts (plastique)
- Micropipettes

➤ **Réactifs**

- Ethanol

- Méta bisulfite de Sodium

## IV Méthodes

### 1 Extraction

L'objectif de cette étape est d'extraire une grande majorité des composés actifs de notre plante. L'extraction est généralement dictée par les informations bibliographiques concernant la chimie des constituants de la plante. Comme solvant, nous avons utilisé du l'éthanol et de l'eau distillée. L'extraction s'effectue en 3 étapes :

- **La macération** : cette méthode de préparation a été choisie car elle permet de limiter la dégradation des composés thermolabiles ;
- **La filtration** : elle est réalisée sous vide, à l'aide d'une fiole de kitassato, un entonnoir et du papier filtre ;
- **L'évaporation** : elle est réalisée à l'aide de l'évaporateur rotatif et permet d'éliminer le méthanol et d'obtenir un extrait sec.

#### ✓ Mode opératoire

On introduit 10 grammes de poudre de feuilles de *Ficus umbellata*, obtenus après broyage par le broyeur RM100, dans un Erlenmeyers préalablement taré à 0. Mesurer 100 ml de solution hydréthanolique que l'on ajoute dans l'erenmeyer. Ce dernier est vigoureusement agité l'aide d'un barreau aimanté pendant 24. Il est à noter que l'erenmeyer est recouvert d'un papier aluminium, afin de protéger les molécules photosensibles. Après la macération, la phase organique ou macérât est récupérée et conservée à + 4°C afin de bloquer d'éventuelles réactions biochimiques. Après cette étape, le macérât est filtré avec du coton hydrophile placé dans un entonnoir relié à une pompe aspirante qui accélère la filtration. Après quelques minutes, on obtient une solution exclusivement liquide. Le filtrat obtenu est évaporé à sec à l'aide de l'évaporateur rotatif dans les conditions suivantes : température du bain-marie 40°C, température de refroidissement 21°C et le nombre de rotation 4000 tr/mn. Ainsi l'évaporation aboutit à l'obtention d'un

extrait brut sec hydroéthanolique de feuilles de *Ficus umbellata*. L'extrait brut sec est conservé à une température de  $-4^{\circ}\text{C}$  au réfrigérateur avant l'étape finale d'analyse.

Pour la préparation de la solution de *Ficus umbellata*

- Introduire 5 mg d'extrait hydro-éthanolique de feuilles de *Ficus umbellata* dissout dans 1ml d'une solution d'eau physiologique (9 pour 1000 de NaCl). Ce qui nous a permis d'avoir une solution mère de *Ficus umbellata* à 5mg/ml. Ce dernier est vigoureusement agité.
- Puis nous avons procédé à une dilution au  $\frac{1}{2}$  de la mère avec de l'eau physiologique. Ce qui nous a permis d'avoir une solution fille de *Ficus umbellata* à 2,5 mg/ml. Cette dernière est aussi vigoureusement agitée.

## **2 Etude de l'activité anti falcémiant**

La caractérisation de l'activité antifalcémiant de l'extrait, se fait par des tests d'Emmel. Nous avons d'abord préparé extemporanément la solution de métabisulfite de sodium ( $\text{S}_2\text{O}_5\text{Na}_2$ ) à 2%) 2 g de métabisulfite de sodium dans 100 ml d'eau distillée). Ce test consiste à déposer une goutte de sang (prélevé sur EDTA) au centre de la lame, y ajouter une goutte de métabisulfite de Na qui permet d'asphyxier les hématies puis mélanger soigneusement avec un côté de la lamelle et recouvrir avec cette dernière en s'assurant qu'il ne se forme aucune bulle d'air.

Pour éviter que l'oxygène ne pénètre entre lame et lamelle, il faut luter les bords de la lamelle avec du vernis à ongle.

Après 15mn de contact, la lame est observée au microscope optique marque LEICA EZ4 D avec une caméra DEL intégrée. Ce dispositif ultra sophistiqué a été mis à notre disposition par l'IFAN. Des captures de photos avaient ainsi permis un comptage judicieux des érythrocytes.

### ✓ **Mode opératoire**

Pour la recherche de l'activité antifalcémiant, des tests d'Emmel sont réalisés avec la solution de métabisulfite de sodium préparée extemporanément, chez les sujet AA AS SS suivi d'un comptage des drépanocytes au microscope optique au grossissement 100.

**Etat basal** : 100µl de sang total sont mélangés avec 100µl d'une solution tampon (solution physiologique) puis incubés pendant 24h. Après incubation, des tests d'Emmel sont réalisés suivi d'un comptage au grossissement 100.

**Activité antifalcémiant de l'extrait** : 100µl de sang total sont incubés avec 100µl d'une solution à 2,5 mg/ml, à et 5 mg/ml pendant 24h. Nous avons ensuite réalisé des tests d'Emmel suivis d'un comptage des drépanocytes au microscope optique 100.

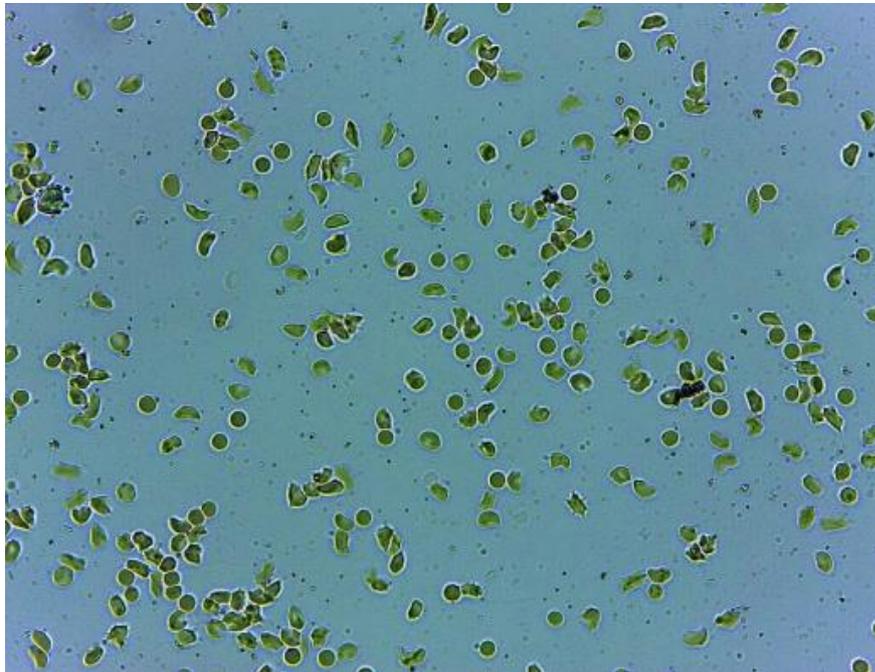
**Technique de comptage des drépanocytes** : Un nombre de 500 cellules sanguines (drépanocytes et cellules normales) est obtenu après comptage aléatoire de plusieurs captures de champs microscopiques à l'objectif X 100.

Le rapport nombre de drépanocytes/500 cellules nous a permis d'obtenir le pourcentage des drépanocytes à l'état basal, à 2,5 mg/ml, et 5 mg/ml.

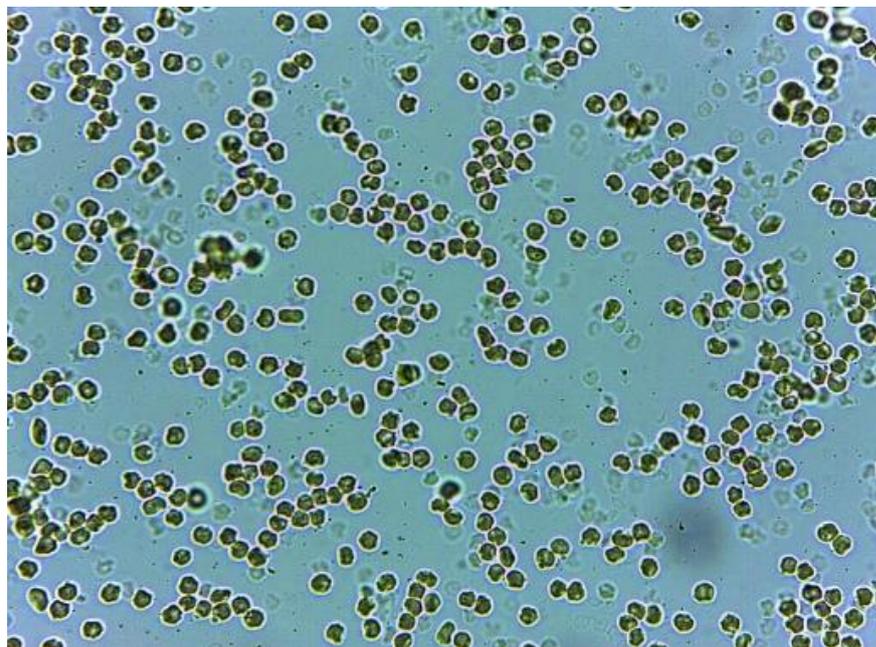
Trois déterminations ont été effectués (n=3) et la moyenne  $\pm$  écartype est calculée  
Les résultats sont exprimés en taux de drépanocytes (%)

## **CHAPITRE III RESULTATS**

Les Figures 12 et 13 suivantes donnent respectivement les micrographies du sang AS seul et du sang AS en présence des extraits hydro-éthanolique de *Ficus umbellata*.

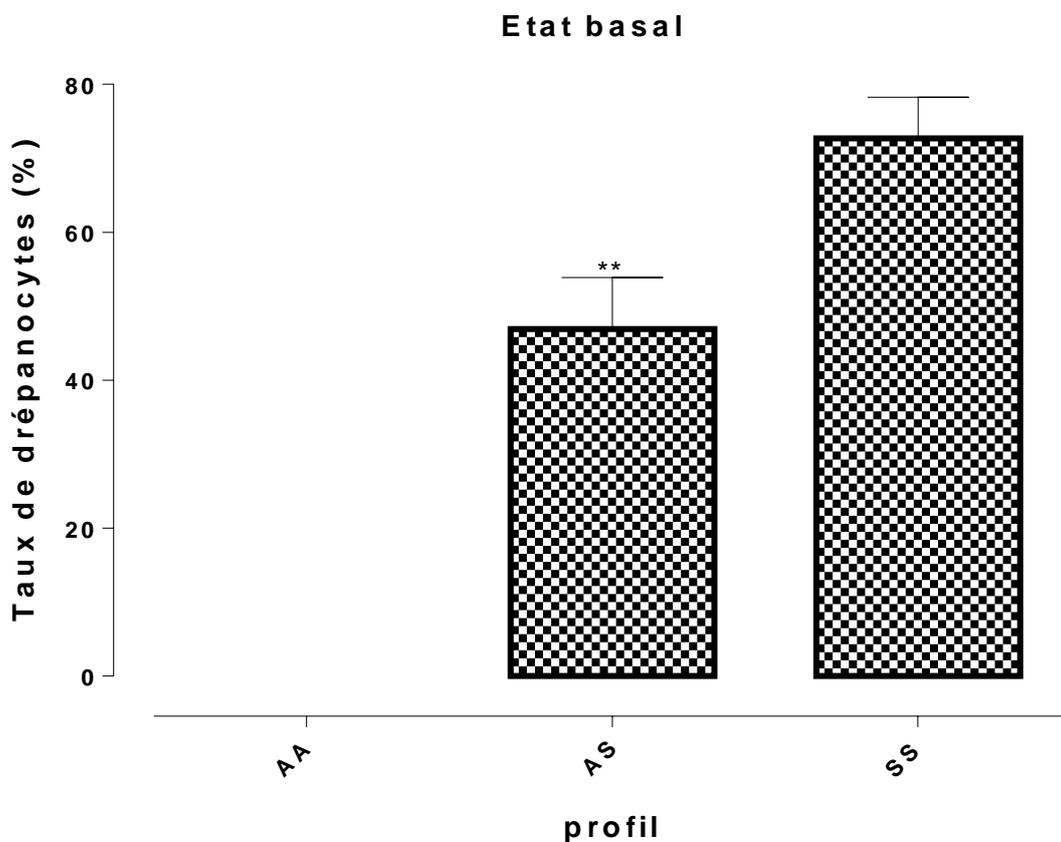


**Figure 12** : Micrographie optique des drépanocytes AS non traités (état basal) (NaCl 0,9% ; Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 2% ; X100)



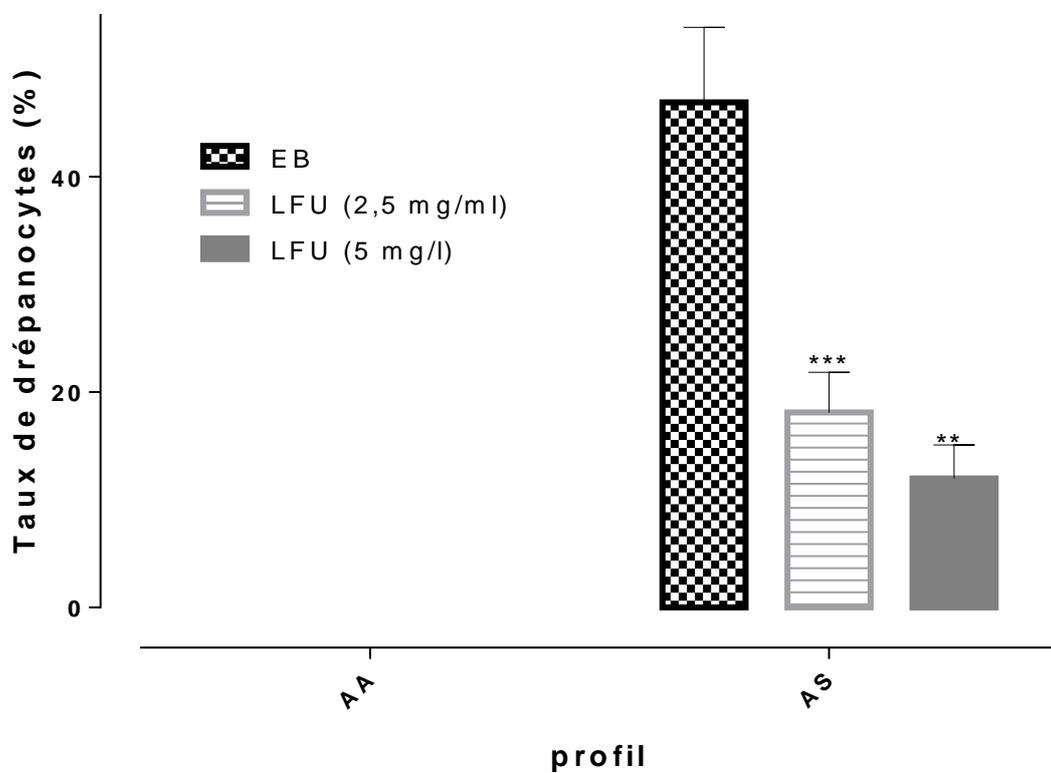
**Figure 13** : Micrographie optique des drépanocytes AS traités avec extraits hydro-éthanolique (2,5 mg/ml) (NaCl 0,9% ; Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 2% ; X100).

Le taux de drépanocytes moyen à l'état basal des porteurs du trait drépanocytaire SS (72,7%) est supérieure à celui des sujet drépanocytaires AS (47%). Chez les sujets normaux AA, on ne retrouve pas de cellules drépanocytes (0 %) (**Figure 14**).



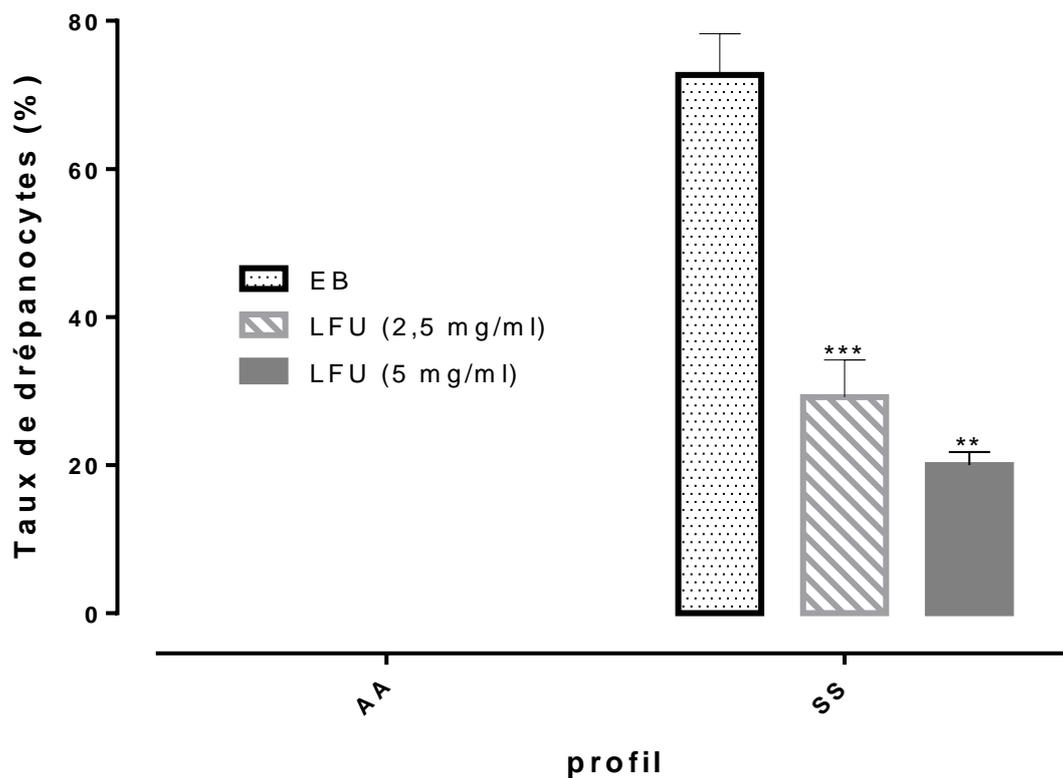
**Figure 14** : Variation du taux de drépanocytes à l'état basal chez les AA, AS et les SS. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écartype de trois mesures sur trois échantillons différents.

L'extrait de feuilles de *Ficus umbellata* induit une baisse significative du taux de drépanocytes chez les sujets AS. En effet, à l'état basal nous avons un taux de drépanocytes de 47%, après ajout de l'extrait à 2,5 mg/ml nous avons un taux de drépanocytes de 18,1% et après ajout de l'extrait à 5 mg/ml, le taux est passé à 12% (Figure 15).



**Figure 15** : Variation du taux de drépanocytes à l'état basal et aux différentes concentrations de l'extrait de feuilles de *Ficus umbellata* chez les AS. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écartype de trois mesures sur trois échantillons différents.

L'extrait de feuilles de *Ficus umbellata* induit une baisse significative du taux de drépanocytes chez les sujets SS. A l'état basal nous avons un taux de drépanocytes de 72,7%, après ajout de l'extrait aux concentrations 2,5 et 5 mg/ml le taux est passé respectivement de 32,5 % et 20% (**Figure 16**).



**Figure 16** : Variation du taux de drépanocytes à l'état basal et aux différentes concentrations de l'extrait de feuilles de *Ficus umbellata* chez les SS. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écartype de trois mesures sur trois échantillons différents.

## **CHAPITRE IV DISCUSSION**

L'objectif de notre travail est d'évaluer les propriétés antifalcémiantes d'un extrait de feuille de *Ficus umbellata* chez des sujets porteurs du trait drépanocytaire AS et SS.

Les prélèvements ont été recueillis au niveau du Centre National de Transfusion Sanguine auprès des patients venus pour une électrophorèse de l'hémoglobine mais également chez les patients venus pour une consultation.

Nous avons procédé à l'extraction par macération en utilisant un solvant hydro-éthanolique dans le but d'extraire aussi bien les actifs lipophiles qu'hydrophiles.

L'efficacité de cette méthode d'extraction est confirmée par **Yuma et al (41)** qui ont obtenu un bon rendement avec le même procédé d'extraction.

L'activité antifalcémiante a été déterminée en incubant l'extrait de feuille de *F. umbellata* avec des hématies de sujets porteurs du trait drépanocytaire de phénotype AS et de phénotype SS en situation d'hypoxie. Les pourcentages d'hématies falciformes ont été déterminés par comptage sur des micrographies optiques, capturés au grossissement 100, suivis d'une comparaison aux témoins (hématies de sujet drépanocytaire AS et SS non incubées avec l'extrait de feuille de *F. umbellata*).

La falciformation des hématies à l'état basal est la conséquence de la substitution de l'acide glutamique par la valine, qui "démasque" les zones de contacts hydrophobes lorsque l'hémoglobine perd son oxygène. Ceci favorise des liaisons hydrophobes au niveau de certains sites peptidiques avec une ou plusieurs autres molécules d'hémoglobine S induisant la polymérisation et la formation d'un cristal non soluble de la désoxyHbS. Cette cristallisation provoque la déformation du globule rouge.

Si on compare les figures 15 et 16, on peut dire que l'extrait hydro-éthanolique de *Ficus umbellata* a la capacité de remettre les érythrocytes falciformes dans leur forme normale parce que ces deux micrographies ont été réalisées en conditions hypoxiques. Ce qui indique que cette plante a une activité antifalcémiante in vitro.

Ces résultats corroborent ceux de Nongonierma<sup>1</sup> et coll ( **Nongonierma. B.R L Ndiaye<sup>1</sup>, D Thiam<sup>2</sup>, et al**) (33) en ce qui concerne le *Ficus gnaphalocarpa* qui appartient à la même famille que le *Ficus umbellata*.

De même Mpiana et coll (**Mpiana et al.**) (30) ont des résultats similaires pour un bon nombre des plantes utilisées en médecine traditionnelle congolaise contre la drépanocytose.

Le fait que l'extrait hydro-alcoolique soit actif indique que le groupe chimique à la base de cette activité est soluble dans ces solvants. Selon toujours (**Mpiana et al.**) (30) cette activité serait due notamment aux anthocyanes. La propriété antifalcémiant est généralement attribuée à l'inhibition de la polymérisation de l'hémoglobine S. Il est, en effet, connu que la formation des tactoïdes intra-érythrocytaires est à la base de la modification phénotypique des globules rouges du sang SS (Elion et al. 1996).

Par contre le screening chimique réalisé sur les feuilles de *Ficus umbellata* montre qu'elle contient des tanins, des flavonoïdes, et des hétérosides cardiotoniques.

Il serait intéressant de faire une séparation chromatographique de l'extrait total et voir si le *Ficus umbellata* contiendrait également des anthocyanes mais aussi de tester les tanins, les flavonoïdes, et les hétérosides cardiotoniques de cette plante pour voir avec une plus grande précision quelle fraction possède la meilleure activité et ainsi explorer les mécanismes mis en jeu.

## **CONCLUSION**

La drépanocytose est l'hémoglobinopathie symptomatique la plus fréquente dans le monde, plus particulièrement en Afrique noire. Au Sénégal, 8 à 10 % de la population est porteuse de l'hémoglobine S et les études de dépistage néonatal estiment que 2 % des nouveaux nés souffrent de formes majeures d'hémoglobinopathies. Depuis quelques années, l'amélioration de la prise en charge des drépanocytaires homozygotes a permis un prolongement de leur espérance de vie aussi bien dans les pays développés que dans ceux en développement.

Néanmoins la prise en charge de cette affection est relativement coûteuse comparée au niveau de vie moyen de la population sénégalaise. La greffe de moelle reste à ce jour le meilleur traitement pour les formes les plus sévères de traitement mais reste inaccessible pour la plupart des malades.

La phytothérapie devient donc une alternative pour la prise en charge de cette affection, d'autant que la pharmacopée africaine en générale et sénégalaise en particulier est largement riche de plantes présentant des propriétés anti drépanocytaires intéressantes.

L'utilisation des plantes dans le traitement des maladies est une pratique qui date de longtemps. Dans le développement de l'industrie pharmaceutique, les plantes médicinales occupent toujours une place importante dans le dispositif thérapeutique. Des recherches sur la pharmacopée traditionnelle sénégalaise ont permis d'acquérir une connaissance plus approfondie sur l'activité pharmacologique des plantes.

Notre étude a eu pour but d'évaluer l'activité antifalcémiant de l'extrait de feuilles de *Ficus umbellata*. Les résultats ont montré que l'extrait hydro-éthanolique de feuilles de cette plante possède des propriétés antifalcémiantes

Il serait intéressant d'approfondir la recherche sur la chimie, la toxicité, les doses thérapeutiques, pour mieux vulgariser l'utilisation de la plante.

## **REFERENCES**

1. **Acacha-agody K.M.** Contribution au recensement des plantes médicinales : Enquête ethnobotanique dans la région maritime du Togo. Thèse de doctorat en pharmacie : Dakar : 2007 ; n°79.
2. **Akjie FO, Fung LW.** 1992. Antisickling activity of hydroxybenzoic acids in *Cajanus cajan*. *Plant. Med.*, 58(4): 317-320.
3. **Arnal C., Girot R.** Drépanocytose chez l'adulte. *Encycl. Méd. Hématologie*, 2002, p15.
4. **Bachir D, Beauvais P.** Prise en charge des patients drépanocytaires. *Peu Prat*, 1992, 42 : 1900-1907.
5. **Bernaudin F.** Résultats et indications actuelles de l'allogreffe de la moelle dans la drépanocytose. *Path Biol.*, 1999, 47: 59-64.
6. **Beuzard Y., Craescu C.** Le globule rouge drépanocyttaire. *Progrès en hématologie*.2004; 6: 122-13.
7. **Bunn H. f., Noguchi C. T., Hofrichter J., Schechter G. P.,schechter,A.N.** Molecular and cellular pathogenesis of hemoglobinSC disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1982 ; 79, 7527–7531.
8. **Deme LY I.** HLA-E et susceptibilité aux infections bactériennes sévères chez les enfants et adolescents drépanocytaires homozygotes sénégalais. Thèse de doctorat de médecine : Dakar : 2007 ; n°135.
9. **Diagne I., Diagne-gueye NDR., Signate-SY h., Camara B., lopez-sall ph., Diack-mbaye A., Sarr M., BA M., SOW h.d.** Drépanocytose de l'adulte. *Hématologie*, EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), 13-006-D, 2009.
10. **Diop D.** Contribution à l'étude biosystématique des espèces autochtones du genre *Ficus* L. (moraceae) au Sénégal : Dakar 2006, p. 6 – 95

11. **Diop S, Thiam D, Cisse M, Toure-Fall AO, Fall K, Diakhate L.** New results in clinical severity of homozygous sickle cell anemia in Dakar, Senegal. *Hematol Cell Ther* 1999; 41: 217-21.
12. **Elion J, Labie D. (1996).** Bases physiopathologiques moléculaires et cellulaires du traitement de la drépanocytose. *Hématologie*, 2: 499-510.
13. **Elion J., Labie D.** Génétique et physiopathologie de la drépanocytose in la drépanocytose. Edition John Libbey Eurotext Paris, 2003, p 1-10.
14. **Emmel V.E.** A study of the erythrocytes in a case of severe anemia with sickle shaped red blood corpuscle. *Anch. Intern. Med.* 1917, 20: 586-598.
15. **Fauroux B, Quinet B.** Traitement de la drépanocytose par l'hydroxyurée. In : Girot R, Bégué P, Galactéros F (eds). I « La drépanocytose ». Paris : John Libbey Eurotext, 2003
16. **Galactéros F., Beuzard Y.** Thalassémies et hémoglobines anormales. 3ième Edition Flammarion Médecine Sciences Paris 1992 ; 359-393.
17. **Gladwin M. T., Shelhamer J. H., Hgnibene F. P., Peasefye M. E., Hahn E.V, Gillepsie E.B.** Sickle cell anemia. Report of a case greatly improved by splenectomy. Experimental study of sickle cell formation. *Arch. Intern. Med*, 39: p 233-254.
18. **Herrick JB.** Peculiar elongated and sickle shaped red corpuscles In a case of severe anemia. *Arch. Intern. Med*, 1910, 6 p 517-521.
19. **Ingram V. M.** Sur la nature des hémoglobines anormales. Exposés annuels de biochimie médicale Paris, Masson, 1958, 20e serie p 123.
20. **Itano H.A.** Solubility's of naturally occurring mixtures of human hemoglobin. *Arch. Biochem. Biophys* 1953; 47: 148-159.
21. **Kan Y.W. Golbus M. S Trecartin R.** Prenatal diagnosis of sickle cell anemia N. Engl.J. Med, 1976, 294 p 1039-1040.
22. **Kan Y.W.** Prenatal diagnosis of heamatologica disorders. *Prog Hemat*, 1910, 10 : p 91-104.

23. **Kérharo J. Georges J.** Pharmacopée sénégalaise traditionnelle : plantes médicinales et toxiques Paris, Vigot frères Ed 1974 p. 596
24. **Lionnet F., Stankovic K., Girot R.** Drépanocytose de l'adulte. Hématologie, EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), 13-006-D, 2009.
25. **Maier-Redelsperger M., Bardakdjian-Michau J, Neonato M.G., Girot R.** diagnostic biologique des syndromes drépanocytaires. John Libbey Eurotext .2003 ; 13-29
26. **Mariane DE Montalembert.** Traitement de la drépanocytose par l'hydroxyurée. Hématologie 2002; 8 : 28-34.
27. **Mbodj M, Ndoye O, Diarra M, Mbaye BN, Sow Touré H, Diouf L et al.** Dépistage néonatal de la drépanocytose au CHU de Dakar ; premier bilan. Dakar Med 2003; 48 : 202-5.
28. **Monod J., Jacob F., Changeux J.P.** Allosteric protein and cellular control system. J. Mol Biol., 1963, 6 p 30.
29. **Montalembert M., Girot R, Galacteros F.** La drépanocytose en France en 2006 : acquis et défis. Arch Pediatr 2006; 13 : 1191-4.
30. **Mpiana PT, Mudogo V, Tshibangu DS, Kitwa EK, Kanangila AB, Lumbu JB, Ngbolua KN, Atibu EK, Kakule MK. 2008.** Antisickling activity of anthocyanins from *Bombaxpentadrum*, *Ficuscapensis* and *Ziziphismucronata*: photodegradation effect. *J Ethnopharmacol.*, 120: 413-418.
31. **Neel J.V. et al .**The inheritance of sickle cell anemia. Science, 1949, 110: p
32. **Neuwinger HD. 2000.** African Traditional Medicine. Mepharm Scientific Publisher: Stuttgart.
33. **Nongonierma B..R., Ndiaye L, Thiam D,** action antidrepanocytaire de l'extrait acetonique des ecorces de tige du ficus gnaphalocarpa (miq) stend J. Soc. Ouest-Afr. Chim. (2007) 024 ; 95 -101

34. **Pagnier J, Wajcman H, Baudin V, Labie D.** 1985. Genetic polymorphism of drepanocytosis. *Ann Genet.*, 28: 5-12.
35. **Pauling L. Itano H. A. Singer S. T. Wells I. G.** Sickle cell anemia, a molecular disease *Science*, 1949, 110: p 543-548.
36. **Pichard E.** Infection et drépanocytose in *Malin Trop Afrique : Manuel de Maladies Infectieuses pour l'Afrique*. Ed. John Libbey Eurotext ; 2002 ; p 341-346.
37. **Riviere I, Sadelain M.** Vers le traitement génétique des hémoglobinopathies *Hématologie* 1999, 5 :512-522.
38. **Sofowora A, 1998.** *Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle d'Afrique*. Karthala: Paris.
39. **Wajcman H.** Diagnostic et dépistage de la drépanocytose. *Rev Prat* 2004 ; 54(5) :1543-1547.
40. [www.drepano.org](http://www.drepano.org)
41. **Yuma, P.M. Mpiana, M.T. Bokota3, I.B. et coll** Étude de l'activité antifalcémiant et de la thermo- et photo-dégradation des anthocyanes de *Centella asiatica*, *Thomandersia hensii* et *Maesopsis eminii*