

Etude des propriétés antianémiques de *Justicia secunda* Vahl (Acanthaceae) chez des rats de souche Wistar

TOSSOU R.², GBENOU J.D.¹, DANSOU P.², FOSSOU M.², MOUDACHIROU M.¹

RESUME

Justicia secunda Vahl est une plante de la famille des Acanthaceae. Elle est communément appelée « hounsiman » plante qui donne le sang en fongbé et est utilisée au Bénin pour lutter contre l'anémie.

Notre étude a pour objectif de connaître les différentes composantes chimiques de la plante et de tester les propriétés antianémiques de l'extrait hydroalcoolique sur des rats Wistar, après induction de l'anémie par la phénylhydrazine chlorhydrate.

L'analyse phytochimiques, a révélé la présence des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des anthocyanes et des leucoanthocyanes.

L'administration de l'extrait hydroalcoolique par gavage aux rats anémiés aux doses de 1000 mg/kg/j et 2000 mg/kg/j a entraîné une augmentation du taux d'hémoglobine, du nombre de globules rouges et de l'hématocrite.

L'hémolyse des rats traités à l'extrait est inférieure à celle des rats non traités tandis que leur résistance osmotique est élevée. Ce qui indique la présence de plus de jeunes cellules chez les rats traités que chez les rats témoins.

Ces résultats confirment et valident l'indication thérapeutique de *Justicia secunda* Vahl dans la lutte contre l'anémie en médecine traditionnelle.

Mots clés : *Justicia secunda*, anémie, extrait, hémoglobine, globules rouges, hématocrite, résistance osmotique.

SUMMARY

Secunda vahl *Justicia* is an Acanthaceae plant. It is commonly called "hounsiman" in fongbé and it is used in the treatment of anaemia in Benin.

The aim of this study is to identify the different chemical components groups of this plant and to test its antianaemic properties in Wistar rats, after anaemia induced by the use of phenylhydrazine chlorhydrate.

Chemical analysis of the components of the plant revealed the presence of alkaloids, tannins, flavonoids, anthocyanes and leucoanthocyanes.

The administration of hydro-ethanolic extract of *secunda vahl* *Justicia* to the anaemic rats at doses of 1000 mg/kg/day and 2000 mg/kg/day for 13 days has increased the haemoglobin levels, the number of red cells and the haematocrit.

Haemolysis in rats treated with the extract is lower than in non-treated rats, whereas their osmotic resistance is high. This finding indicate the presence of younger cells in the treated rats than in the non-treated rats.

These results confirm the therapeutic indication of *secunda vahl* *Justicia* for treating anaemia in traditional medicine.

Key words: *Secunda vahl* *Justicia*, anaemia, hematological data, osmotic resistance.

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est une pratique multiséculaire. En cela Kassel (2003) affirmait : « Très tôt, au cours de l'évolution, les hommes, pour se soigner, utilisèrent les ressources présentes dans leur environnement naturel ».

Plusieurs travaux ont été réalisés sur les propriétés biologiques des extraits de certaines plantes et ont permis la découverte de nombreux principes actifs utilisés en médecine moderne.

Dans la riche et diversifiée flore du Bénin, *Hibiscus sabdariffa*, *Tectona grandis*, *Justicia secunda* et bien d'autres plantes sont connues comme ayant des effets de résorption sur l'anémie. L'anémie qui se traduit par une baisse du taux d'hémoglobine en dessous de 12 g/dl est fréquente en milieu tropical ; 10 à 20% de la population a moins de 10 g/dL hémoglobine (Gentilini M., 1993).

Ces plantes pourraient être utilisées en lieu et place des produits pharmaceutiques devenant de plus en plus chers pour la population indigène (William A.O., 1985).

Dans ce travail, nous nous proposons d'étudier les propriétés antianémiques de *Justicia secunda* Vahl (Acanthaceae) une plante qui contiendrait des substances chimiques pouvant avoir un effet de résorption sur l'anémie.

I. MATÉRIEL ET MÉTHODE

1.1 Matériel

1.1.1- Matériel animal

Le matériel animal est constitué de rats albinos de souche Wistar de poids corporel moyen 154,14 g, ayant libre accès à l'eau et la nourriture et acclimatés aux conditions d'élevage de l'animalerie du Laboratoire d'Expérimentation Animale de l'Unité de Biologie Humaine de la Faculté des Sciences de la Santé (FSS), sise à l'ISBA (Institut des Sciences Biomédicales Appliquées) au champ de foire de Cotonou.

(a1) Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles, FSS-FAST/UAC, 01 BP : 188 Cotonou, ISBA Champ de Foire, Bénin.

(2) Centre de Recherche des Activités Physiques et Sportives et Motricité, INJEPS/UAC, 01 BP : 169, Porto-Novo, Bénin

1.1.2- Matériel végétal

Il est constitué d'extrait hydro alcoolique de *Justicia secunda* Vahl récoltées dans le Mono à Honhoué dans la commune de Houéyogbé dans le courant de janvier, février 2005. La plante est identifiée et authentifiée à l'Herbier National de l'Université d'Abomey Calavi.

1.2 Méthode

1.2.1- Préparation de l'extrait

La phase préparatoire a consisté d'abord en la préparation de l'extrait hydro alcoolique avec un rendement de 2,85%, ensuite à l'analyse chimique de la plante, basée sur des réactions différentielles de coloration et de précipitation, selon la méthode de Peter J. Houghton et al. (1996).

1.2.2- Protocole expérimental

Quatre lots de 6 rats ont été constitués : les rats témoins blancs, les témoins négatifs, les rats ayant reçu 1000 mg d'extrait par kg de masse corporelle (lot D1) et rats ayant reçu 2000 mg d'extrait par kg de masse corporelle par jour (lot D2).

Au cours de la phase d'expérimentation, nous avons dans un premier temps prélevé le sang des rats par ponction des veines caudales, induit l'anémie par l'administration par voie intra péritonéale de 40 mg/kg/j de la phénylhydrazine chlorhydrate (Naughton B.A., 1995) pendant deux jours (J0 et J1). Nous avons aussi administré par gavage aux rats des lots D1 et D2 respectivement 1000 mg/kg et 2000 mg/kg) de l'extrait hydro alcoolique de *Justicia secunda* Vahl de J2 à J15. Les paramètres hématologiques (Genetet B., 1989; Ganong W. F., 2001 et Descat F., 2002) ont été dosés aux jours J0, J2, J7, J10 et J15 au niveau des trois lots de rats : lot Tn (rats anémiés), lot D1 et lot D2 à l'aide d'un compteur automatique des cellules sanguines (Sysmex KX 21) et les variations ont été calculées par rapport aux valeurs de J2. Enfin, nous avons étudié la résistance osmotique des quatre lots de rats constitués : lot Tb, lot Tn, lot D1 et lot D2, selon le protocole de Redondo (1995) au jour J7.

1.2.3 Analyse statistique

Pour l'analyse des résultats obtenus, nous avons utilisé le logiciel Epi Info 6. Il a été procédé au test ANOVA pour vérifier la normalité des variables. Les comparaisons des valeurs moyennes des différents paramètres ont été effectuées à l'aide du test de Student. Le seuil de signification a été fixé à $p < 0,05$.

III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Résultats

3.1.1 Effets sur les paramètres hématologiques

L'administration de la phénylhydrazine a provoqué au jour J2 une diminution significative ($p = 0,0088$) du taux d'hémoglobine chez les rats des trois lots de $45,24\% \pm 1,54$.

Après traitement une récupération progressive est obtenue les jours suivants (Tableau 1). Les résultats montrent d'une part, que les rats ayant reçu l'extrait hydro alcoolique de *Justicia secunda* Vahl ont presque totalement récupéré au jour J15 ($p < 0,005$ pour les deux doses) et, d'autre part,

Tableau n°1 : Variation du taux d'hémoglobine

Tests	Taux d'hémoglobine (g/dl)				
	J0	J2	J7	J10	J15
Témoin	13,5 ± 2,57	7,6 ± 3,33	9,6 ± 1,33	11,1 ± 0,17	12,88 ± 1,95
Variation		-43,70% ^a	+26,31% ^b	+46,05% ^b	+69,56% ^b
D1 1000 mg/kg/jour	12,9 ± 1,86	6,9 ± 4,14	9,9 ± 1,14	11,91 ± 0,87	13,63 ± 2,59
Variation		-46,51% ^a	+43,47% ^b	+72,63% ^b	+97,63% ^b
D2 2000 mg/kg/jour	12,30 ± 1,56	6,5 ± 4,24	10,1 ± ,64	11,88 ± 1,14	12,92 ± 2,18
Variation		-45,52% ^a	+55,38% ^b	+82,89% ^b	+98,82% ^b

a : pourcentages de variation par rapport au jour J0.
 b : pourcentages de variation par rapport au jour J2
 * : Différence significative ($p < 0,05$)

que la dose de 2000 mg/kg/j permet une récupération plus rapide.

3.1.2 Globules rouges

Après injection de la phénylhydrazine, il y a eu une diminution de globules rouges dans les trois lots ($44,36\% \pm 2,81$) au jour J2.

Une augmentation du nombre de globules rouges est observée après traitement les jours suivants.

Les résultats montrent que les rats du lot D1 ont presque totalement récupéré au jour J15 (98,11% de récupération) et que ceux du lot D2 ont totalement récupéré au jour J15 (100,28% de récupération) (Tableau 2). Par contre le taux de récupération n'est que 70,37% chez les rats témoins anémiés non traités. Les résultats montrent également que l'extrait à dose de 2000 mg/kg/j permet une meilleure récupération comparée à celle de la dose de 1000 mg/kg/j.

Tableau n°2 : Variation du nombre de globules rouges

Tests	Nombre de globules rouges (n x 106/ μ l)				
	J0	J2	J7	J10	J15
Témoin	6,93 ± 1,34	4,05 ± 1,54	4,49 ± 1,10	5,6 ± 0,01	6,90 ± 1,31
Variation		-41,55% ^a	+10,86% ^b	+38,27% ^b	+70,37% ^b
D1 1000 mg/kg/jour	5,93 ± 0,76	3,18 ± 2,00	4,87 ± 0,30	5,60 ± 0,42	6,30 ± 1,124
Variation		-46,16% ^a	+53,17% ^b	+76,10% ^b	+98,11% ^b
D2 2000 mg/kg/jour	6,31 ± 0,62	3,46 ± 2,23	5,47 ± 0,22	6,3 ± 0,61	6,93 ± 1,24
Variation		-45,52% ^a	+58,17% ^b	+84,68% ^b	100,28% ^b

a : pourcentages de variation par rapport au jour J0.
 b : pourcentages de variation par rapport au jour J2
 * : Différence significative ($p < 0,05$)

3.1.3 Hématocrite

L'administration de la phénylhydrazine a aussi diminué l'hématocrite au jour J2. Cette diminution est de 14,79%,

13,14% et 12,46% respectivement chez les rats témoins, les rats du lot D1 et du lot D2.

Après traitement l'augmentation de l'hématocrite au jour J7 est de 32,91% chez les rats témoins, 33,08% chez les rats du lot D1, et 33,39% chez les rats du lot D2. Au jour J15 il est de 37,32% chez les rats témoins; 39,25% chez les rats du lot D1, puis 39,67% chez les rats du lot D2 (Tableau 3).

Tableau n°3 : Variation de l'hématocrite

Tests	Hématocrite (%)				
	J0	J2	J7	J10	J15
Témoins	35,0 ± 3,13	20,21 ± 11,66	32,91 ± 1,04	33,93 ± 2,06	37,32 ± 5,45
Variation		-42,23% ^a	+62,84% ^b	+67,90% ^b	+84,66% ^b
D1 1000 mg/kg/jour	32,99 ± 1,11	19,85 ± 12,03	33,08 ± 1,2	34,26 ± 2,38	39,25 ± 7,37
Variation		-39,80% ^a	+66,67% ^b	+72,61% ^b	+97,77% ^b
D2 2000 mg/kg/jour	33,4 ± 1,27	19,94 ± 12,19	33,39 ± 1,26	34,68 ± 2,55	39,67 ± 7,54
Variation		-45,52% ^a	+67,49% ^b	+73,95% ^b	+98,98% ^b

a : pourcentages de variation par rapport au jour J0.
 b : pourcentages de variation par rapport au jour J2
 *: Différence significative (p < 0,05)

3.1.4 Résistance osmotique

La détermination de la résistance osmotique a permis de constater que les concentrations de NaCl à 50% d'hémolyse sont de 0,470% pour les rats (normaux) (Tb), 0,445% pour les rats témoins anémiés (Tn), 0,405% et 0,375% pour respectivement les rats du lot D1 et du lot D2 (Figure). Ainsi, au jour J7 (p = 0,025), les globules rouges des rats traités résistent plus à l'hémolyse que ceux des rats non traités.

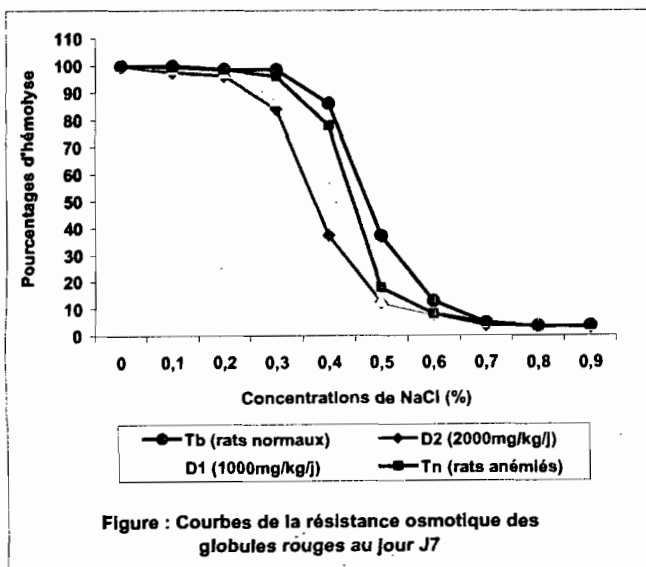


Figure : Courbes de la résistance osmotique des globules rouges au jour J7

De cette observation nous déduisons qu'il y a présence de plus de globules rouges jeunes chez les rats traités que chez les rats non traités.

IV. DISCUSSION

L'administration de la phénylhydrazine a provoqué une baisse moyenne significative du taux d'hémoglobine, du nombre de globules rouges et de l'hématocrite. Nos résultats sont proches de ceux de Ryu et Yook (2002) qui ont observé quant à eux une diminution du nombre de globules et de l'hématocrite (respectivement de 50% et de 55%) avec une administration de phénylhydrazine de 40 mg/kg/j pendant 4 jours chez les rats Sprague Drawley.

En effet, dans notre étude, au jour J15, les rats ayant reçu l'extrait ont presque totalement récupéré (p < 0,005) alors que ce n'est pas le cas chez les rats témoins. Criswell et al. (2000), Ryu et Yook (2002) puis Redondo et al. (1995) ont aussi observé cette réversibilité de l'anémie induite par la phénylhydrazine à l'arrêt de l'administration.

Les résultats montrent que les rats du lot D2 ont totalement récupéré en ce qui concerne le nombre de globules rouges au jour J15.

L'hémolyse des globules rouges au jour J7 des rats ayant reçu en IP la phénylhydrazine chlorhydrate est inférieure à celle des rats normaux. En revanche leur résistance osmotique est supérieure. Nos résultats sont comparables à ceux de Redondo et al. (1995).

Les hémolyses à 50% (H50) des rats normaux et des rats anémiés non traités étant supérieures à celles des rats anémiés traités à l'extrait de *Justicia secunda* Vahl, nous pouvons dire qu'il y a plus de cellules résistant à l'hémolyse chez les rats traités que chez les rats non traités. Cette augmentation de la résistance osmotique des globules rouges des rats est due à la présence de cellules jeunes dans le sang. L'administration de l'extrait de *Justicia secunda* Vahl a donc augmenté la production de jeunes globules rouges.

L'analyse phytochimique a révélé la présence des grands groupes chimiques que sont : les alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, anthocyanes et leucoanthocyanes. Ils ont un pouvoir antioxydant, favorisent la régénération des tissus, diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance à l'hémolyse (J. Bruneton, 1999). La présence de ces grands groupes chimiques de par leurs propriétés, justifie la résistance des globules rouges des rats traités à l'extrait.

Les anémies sont fréquentes en milieu tropical ; 10 à 20% de la population a moins de 10 g/dL d'hémoglobine. Les femmes enceintes et les enfants constituent les groupes à haut risque. Le paludisme, les parasitoses, les carences en acide folique en sont les principales causes. *Justicia secunda* Vahl pourrait être conseillée pour lutter contre l'anémie.

CONCLUSION

L'injection de la phénylhydrazine chlorhydrate a provoqué une anémie hémolytique caractérisée par la diminution des paramètres hématologiques. L'administration de l'extrait de *Justicia secunda* Vahl par gavage à des doses de 1000 mg/kg/j et 2000 mg/kg/j a augmenté de façon significative le taux d'hémoglobine et le nombre de globules rouges au

jour J7. La dose de 2000 mg/kg/j a permis une récupération complète (100,28%) du nombre de globules rouges des rats au jour J15.

L'extrait, du fait des propriétés des grands groupes chimiques qui y sont présents, a permis, à cause de la régénérescence de jeunes cellules une meilleure résistance des globules à l'hémolyse.

Nos résultats confirment et valident l'indication thérapeutique traditionnelle des feuilles de *Justicia secunda* Vahl dans la résorption de l'anémie. Cette plante pourrait donc être conseillée pour lutter contre l'anémie.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **CRISWELL K. A., SULHANEN A. P., HOCHBAUM A. F. and BLEAVINS M. R.**, Effect of phenylhydrazine or phlebotomy on peripheral blood, bone marrow and erythropoietin in Wistar rats. *J. Appl. Toxic.* 20 : 25-34 (2000).
- 2- **DESCATF.**, Hématologie durat: hémogramme et myélogramme. Thèse Doct. Vétérinaire. Toulouse 3-4011 (2002).
- 3- **GANONG WILLIAM F.**, Physiologie Médicale. 19e éd. De l'Université Breck. 828 pages (2001).
- 4- **GENETET B., HÉMATOLOGIE.**, Tech et doc. LAVOISIER, éd, Paris. 3-82. (1989).
- 5- **GENTILINI M.**, Médecine tropicale. Flammarion, 5e éd, Paris, 510-537 (1993).
- 6- **JEAN BRUNETON**, Pharmacognosie-Phytochimie Plantes médicinales, 3 éd. Tech et documentation éditions médicales (1999).
- 7- **NAUGHTON B. A., MOORE E., BUSH M. E., LAPIN D. M. and DORNFEST B.S.**, Hemostatic alterations associated with phenylhydrazine – induced haemolytic anaemia. *Eur J Clin Invest.* 25:722-727(1995).
- 8- **PETER J. HOUGHTON and AMALA RAMA**, Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts (1996).
- 9- **REDONDO P. A., ALVAREZ A.I., DIEZ C., FERNANDEZ-ROGO F. and PRIETO J. G.**, Physiological response to experimentally induced anaemia in rats: a comparative study. *Lab anim. Sci.* 45 : 578-583 (1995).
- 10- **RYU J. H., and YOOK. C. S.**, The effects of Sa-Mul-Tang (Si-Wu-tang), a traditional Chinese medicine, on phénylhydrazine-induced anaemic rats. *J. of Applied Pharmac.* 9. 1-6 (2002).
- 11- **WILLIAM A. O. ET JOHNSON C. A.**, Avant propos de la première pharmacopée africaine. In: pharmacopée africaine, CSTR/OUA. 1ere éd. (1985).

