

ETUDE DE L'EFFET STIMULANT DE *MITRAGYNA INERMIS* (RUBIACEAE) SUR LE SYSTEME DE DEFENSE IMMUNITAIRE CHEZ LE LAPIN

Par

**OUEDRAOGO Y.^{1,2} ; NACOULDMA O.² ; GUISSOU I.P.^{1,3} ;
TRAORE S.A.² ; GUEDE-GUINA F.⁴**

¹ Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) 03
BP. 7192 Ouagadougou 03

² Faculté des Sciences et Techniques (FAST)
Laboratoire de Biotechnologie Alimentaire
Université de Ouagadougou. 03 BP 7021 Ouagadougou 03

³ Centre Hospitalier National - Yalgado Ouedraogo

⁴ Faculté des Sciences et Techniques - Université de Cocody/Abidjan

RESUME

Les auteurs rapportent les résultats d'une étude phytochimique et biologique entreprise sur *Mitragyna inermis* (Rubiaceae), plante couramment utilisée en tradithérapeutique pour ses vertus stimulantes et fébrifuges, comme médicament spécifique des états gravidopuerpéraux et comme psychosomatique.

Les investigations ont consisté en l'étude chez le lapin (lots témoins et lots essai) de l'interaction entre les produits chimiques de la plante et des éléments biologiques supports du système de défense immunitaire chez ces animaux.

Les résultats obtenus ont mis en évidence :

- * une diversité de groupes chimiques d'extraits aqueux, alcoolique et chloroformique de la plante ;
- * une interaction entre ces groupes chimiques et les éléments du système immunitaire chez le lapin se traduisant par une stimulation importante de leur production : globules blancs, lymphocytes, plaquettes, protéines totales, et des différentes classes de globulines.

Les résultats ont montré également une diminution notable des globules rouges, de même que de l'albumine qui traduit le rôle de transport que joue ce groupe de protéines.

MOTS-CLES : *Mitragyna inermis* - Défense immunitaire - Immuno-stimulant - Pharmacopée Traditionnelle.

I. INTRODUCTION

L'investigation des plantes à vertu curative, utilisées avec efficacité en tradithérapeutique occupe et occupera de plus en plus une place de choix dans la matière médicinale.

L'étude entreprise ici porte sur une Rubiaceae, *Mitragyna inermis* signalée pour ses propriétés stimulantes et fébrifuges. Avec l'apparition des infections virales, notamment les infections à VIH, l'intérêt d'une telle étude apparaît clairement. Le but de cette étude vise donc la mise en évidence de l'impact de la plante sur les supports du système immunitaire.

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

1. Réaliser des extraits organiques, alcooliques et aqueux des écorces de tige et de racines de *Mitragyna inermis* ;
2. mettre en évidence par un screening phytochimique classique les principaux groupes chimiques des extraits ;
3. déterminer chez le lapin les paramètres sanguins témoins du système de défense de l'organisme (globules blancs, globules rouges, lymphocytes, plaquettes, protéines totales, albumine, globulines) ;
4. étudier l'interaction entre les produits de la plante et ces paramètres sanguins.

III. MATERIEL ET METHODE D'ETUDE

1) Matériel animal

Des lapins mâles et femelles de 1,800 kg et 1,700 kg ont été utilisés. Ils proviennent d'éleveurs de la place. Les lapins sont tabulés au laboratoire pendant deux (2) semaines avant les tests.

2) Le matériel végétal

Les écorces de tige et de racines de *Mitragyna inermis* ont été récoltées en Juillet 1994 à 7 km de Ouagadougou (axe Ouaga-Fada). Les écorces sont séchées à la température du laboratoire, broyées finement et conservées dans des sacs plastiques.

Les extraits aqueux de tige de *Mitragyna inermis* ont été obtenus par décoction (200 g) d'écorces de tige finement broyées pour 1 l d'eau distillée à ébullition pendant 20 mn. Le filtrat est lyophilisé et le lyophilisat est conservé dans un dessiccateur. C'est ce lyophilisat, administré aux lapins mâles à raison de 50 mg/kg de poids corporel à partir d'une évaluation de toxicité qui sert de substance végétale d'étude.

La caractérisation phytochimique des principaux groupes chimiques de l'extrait a été faite selon le protocole décrit par CULLEI I. en 1982.

3) Analyse biologique

Selon les objectifs de l'étude des paramètres biochimiques et hématologiques, supports du système immunitaire ont été estimés chez le lapin en vue d'établir les normes de référence, ces paramètres sont déterminés sur plusieurs prélèvements.

a) Electrophorèse des protéines sériques : le sang est prélevé (1-2 ml) sans anticoagulant en évitant toute hémolyse. Le sérum est recueilli. Il s'agit d'une électrophorèse de zones effectuée sur acétate de cellulose en milieu basique.

Réactifs :

- tampon tris-veronal pH 9,2 fi 0,05
- Colorant Rouge Ponceau (caractéristique des protéines)
- Décolorant : acide acétique à 5%
- Solution de transparence (méthanol-Acide acétique)
- Diacéton-alcool - 75 - 20 - 5 ml (v/v)

Technique :

Les bandes de cellogel légèrement séchées sont immergées dans le tampon pendant 10-15 mn. La face absorbante est repérée et placée vers le haut sur le portoir et fixée par les fixe-bandes. Le sérum est déposé à l'aide d'un applicateur semi-micro.

La migration s'effectue à 200 volts pendant 32 mn. Les dépôts sont effectués à 18 mm du bord du portoir, côté cathodique.

En fin de migration, les bandes sont immergées et agitées dans le colorant Rouge Ponceau pendant 5 mn. Elles sont ensuite décolorées par l'acide acétique 5% jusqu'à obtention d'un fond parfaitement clair.

Le cellogel est déshydraté dans le méthanol pur et immergé dans la solution de transparence (1 mn). Il est enfin étalé sur une plaque de verre très propre et séché à la température ambiante.

On obtient 5 zones correspondant à différentes fractions protéiques ayant des charges négatives croissantes :

- l'albumine, la plus négative
- les alpha 1 globulines
- les alpha 2 globulines
- les Beta globulines
- les gamma globulines, les moins négatives.

Les pourcentages des différentes fractions protéiques sont déterminés au densitomètre.

Les protéines totales du sérum sont déterminées par la méthode du biuret qui donne une coloration violette observée après addition de CuSO_4 (Sulfate de Cuivre) en milieu alcalin et selon le protocole suivant :

	Blanc	Etalon	Dosage
Sérum	-	-	0,1 ml
Etalon	-	0,1 ml	-
Réactif du biuret	5 ml	5 ml	5 ml

La lecture est faite à 540 nm après une incubation de 30 mn.

b) Numération des éléments sanguins : le sang est prélevé par ponction veineuse sur anticoagulant (l'EDTA à raison de 3 mg par ml de sang). Le sang total ainsi obtenu est introduit dans un analyseur d'hématologie, type Coulter. Les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes et les lymphocytes sont estimés quantitativement par microlitre de sang.

Ces paramètres biologiques ont servi d'éléments de comparaison vis-à-vis des lots échantillons.

Trois lapins mâles ont été testés à raison de 50 mg de lyophilisat d'extrait de tige par kg de poids corporel (administration par voie orale). La détermination des différents paramètres est faite 24 h (J1), une semaine (J7) et deux semaines (J15) après administration.

c) Les paramètres biologiques mesurés à To (avant administration de l'extrait) sont comparés à ceux obtenus à 24 h, une semaine et deux semaines après administration de l'extrait.

IV. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats phytochimiques de l'extrait de tige de mi

Tableau I : Principaux groupes chimiques des extraits

Extrait aqueux	Résultats
Alcaloïdes sels	Mayer (++) Draggendorf (++)
Composés réducteurs	++
Glucides (oses et polyoses)	+
Saponosides	++
Tanins	++

2. Résultats biologiques témoins

- a) Hématologiques : Résultats de moyennes obtenues à partir de 6 mesures chez le mâle et 9 mesures chez la femelle.

Tableau II : Paramètres hématologiques témoins

	GR	GB	Hb	Ht %	PL	LY %	LY
Mâle	5,25 ± 0,38	9,84 ± 1,84	10,36 ± 0,84	32,9 ± 2,41	206 ± 83	66,25 ± 7,54	6,78 ± 1,28
Femelle	4,11 ± 0,28	8,84 ± 1,29	8,46 ± 0,78	26,21 ± 2,04	264,44 ± 2,04	47,81 ± 3,96	4,23 ± 0,82

- GR = Globules Rouges (x 10⁶/mm³)
 GB = Globules Blancs (x 10³/dl)
 Hb = Hémoglobine (g/dl)
 Ht = Hématocrite (%)
 PL = Plaquettes (x 10³/mm³)
 LY (%) = Taux de lymphocytes en %
 LY = Lymphocytes en valeur absolue (10³/mm³)

b) Biochimiques : Résultats de moyennes obtenues à partir de 6 mesures chez le lapin mâle et 6 mesures chez la femelle

Tableau III : Paramètres biochimiques témoins

	Protéines totales	Rapport A/G	Albumine (%)	Alpha 1 glob (%)	Alpha 2 glob (%)	Beta glob (%)	Gamma glob (%)
Mâle	72,11 ± 2,44	2,02 ± 0,24	66,68 ± 2,82	4,73 ± 1,10	9,63 ± 1,11	8,96 ± 1,76	9,98 ± 1,27
Femelle	76,68 ± 5,94	1,97 ± 0,35	66,00 ± 4,02	5,53 ± 0,44	8,01 ± 3,16	11,86 ± 2,45	8,24 ± 1,25

3. Effet de la plante sur les paramètres biologiques témoins

a) Modification des paramètres hématologiques

Tableau IV : Evolution des paramètres hématologiques

N° Lapins	J0			J1			J7			J15		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Globules blancs	12,7	10,7	9,2	15	12,8	10,8	11,9	12,9	9,8	10,1	6,8	8,1
Globules rouges	4,91	5,28	5,46	3,88	4,6	3,16	4,85	5,17	4,91	5,13	5,15	5,82
Plaquettes	334	279	206	450	405	480	538	491	531	484	453	413
Lymphocytes	5,6	7	5,7	6,4	8,1	7	7,3	7,9	6,33	4,28	5,9	4,11

b) Modification des paramètres biochimiques sous l'action des extraits de la plante (moyennes obtenues à partir de 3 essais)

Tableau V : Modification des paramètres biochimiques

	Prot.tx (g/l)	A/G	Albumine (%)	Alpha 1 glob (%)	Alpha 2 glob (%)	Beta glob (%)	Gamma glob(%)
Témoin	68,6	1,69	62,8	5,5	8,3	14	9,4
Moyenne	76,1± 7,59	0,96± 0,17	48,8± 4,41	10,2± 4,15	9,46± 2,30	16,56± 2,17	14,96± 2,04

DISCUSSION

Le screening phytochimique a mis en évidence divers groupes chimiques qui confèrent à la plante ses nombreuses indications thérapeutiques : alcaloïdes, composés réducteurs, tanins, saponines.

- Au niveau hématologique, on note une augmentation des globules blancs et des lymphocytes jusqu'à sept (7) jours après l'administration c'est-à-dire les supports de défense de l'organisme.

Les globules rouges en revanche subissent une diminution 24 heures après administration donc risque d'anémie.

L'augmentation des plaquettes est maintenue de J1 à J15 donc un risque de perturbation de l'hémostase.

Les lymphocytes qui constituent en quelque sorte la mémoire de défense de l'organisme connaissent également une augmentation jusqu'à J7.

- Au niveau biochimique on a une augmentation des protéines totales et des différentes globulines avec une diminution assez sensible de l'albumine. Ceci témoigne d'un parallélisme entre les supports hématologiques observés (Globules, Lymphocytes).

Tous ces résultats confortent les indications en tradithérapeutique de la plante comme anti-infectieux (anti-bactérien, anti-viral).

BIBLIOGRAPHIE

1. **MOUSTARDIER G.** : Bactériologie Médicale - 4è Edition - Paris VI 1972
pp.336 et pp. 355-370
2. **KERARHO J. et ADAM J.G.** : La pharmacopée sénégalaise traditionnelle.
Plantes médicinales et toxiques. Edition Vigot-Frères. Paris, 1974.
3. **CIULEI I.** : Methodology for analysis of vegetal drug. Pratical Manuals on
industrial utilization of medicinal and aromatic plants. Edited by the Ministry
of chemical Industrie. BUCHAREST, 1982, pp. 16-27.
4. **FONTY P.** : Analyses médicales : constantes biologiques et interprétation de
leurs variations à l'état pathologique. 6è édition - Librairie le François. Paris,
1977. pp. 10-25 et pp. 87-91.
5. **WEIL J.H.** : Biochimie générale. MASSON et Cie Editeurs. Paris, 1972. pp.
41-42.
6. **LABORATOIRE BIOMERIEUX** : Biochimie clinique - Hémostase. Edition
1989, p. 123.
7. **BROUWERS J. et DEWAELE A.** : Physiopathologie et sémiologie générale.
Tome II. Edition DEROUAUX, 1971, p. 450.
8. **Von MAYDELL H.-J.** : Arbres et arbustes du Sahel. Leurs caractéristiques
et leurs utilisations. Eschborn (GTZ) 1983, pp. 306-397.
9. **GARNIER M. et DELAMARE V.** : Dictionnaire des termes techniques de
médecine. 20è Edition - Laboratoire Maloine S.A. Editeur Paris, 1980,
pp. 50-51
10. **REVOL A., SIEST G., STAHL A.** : Biochimie clinique - Biochimie
métabolique - 1985 SIMEPSA Villeurbanne - France.
11. **Clarke E.G.C.** : Isolation and identification of Drugs in Pharmaceutical
body fluids and post. Mortem material 1974 - London.
12. **FINE J.M. et ROPARTZ C.** : Techniques d'électrophorèse de zones. Edition
de la Tourelle. Saint-Monde 1968.