



Departement de Biologie
et Physiologie Animales
n° d'ordre 210 / 94

THÈSE

présentée à la

Faculté des Sciences et Techniques
Centre Universitaire de Cocody

de

L'UNIVERSITÉ NATIONALE DE CÔTE D'IVOIRE

pour obtenir le titre

de

DOCTEUR DE TROISIÈME CYCLE
Spécialité Physiologie Animale

par

YAO DATTE Jacques

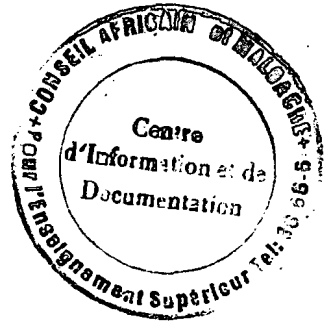
sur le thème

**Contribution à l'étude des propriétés
bioactives d'une substance naturelle:
Extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc*
(Caesalpiniacées)**

Soutenue le devant la commission d'examen.

Président: AKA Kadjo Justin, Maître de Conférences, FAST, Université d'Abidjan
Examinateurs: EHILE Ehouan Etienne, Professeur, FAST, Université d'Abidjan
GUEDE Gulna Frédéric, Professeur, FAST, Université d'Abidjan
KONE Penahouré Pascal, Maître de Conférences, FAST, Université d'Abidjan
OFFOUMOU Atté Michel, Professeur, FAST, Université d'Abidjan

**CONSEIL AFRICAIN ET MALGACHE
POUR L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
C. A. M. E. S. — OUAGADOUGOU**
Arrivée 10 JAN. 2002...
Enregistré sous n° 002768



AVANT-PROPOS

Le travail rapporté dans ce mémoire a été réalisé, sous la direction scientifique du Professeur OFFOUMOU ATTE Michel, au Laboratoire de Physiologie Animale et de Psychophysiologie de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Centre Universitaire de Cocody; en collaboration avec l'Institut National de Floristique et l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

22 BP 582 ABIDJAN 22

REMERCIEMENTS

J'exprime mes sincères remerciements au Professeur AKA KADJO Justin, Directeur du Laboratoire de Physiologie Animale et de Psychophysiologie, qui a bien voulu m'accepter dans son Laboratoire. Qu'il soit persuadé de ma très vive reconnaissance.

Au Professeur SÉRI BIALLI, Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques. Je me fais le plaisir de le remercier.

Quelques lignes ne suffisent certainement pas à exprimer tout ce que je dois à Monsieur le Professeur OFFOUMOU ATTE Michel, Responsable du Laboratoire de Physiologie Animale. Après m'avoir initié à la recherche et guidé, en collaboration avec le Professeur TAHIRI ZÄGRET Claudine, les travaux de mon mémoire de DEA, il a assuré, avec beaucoup de dévouement l'encadrement scientifique du présent mémoire. Il a su être, pour moi, non seulement un directeur scientifique, mais aussi un maître me prodiguant de sages conseils, qui ont permis l'aboutissement de ce travail. Il a toujours essayé de trouver des solutions à mes problèmes de tout ordre dans la mesure de ses possibilités. Je lui renouvelle une fois de plus, mon estime ainsi qu'à sa famille.

Je suis particulièrement reconnaissant au Professeur KONE PENAHOURE Pascal, qui a accepté de me recommander au Serpentarium de l'Institut Pasteur et de juger mon mémoire, je me fais un agréable devoir de lui témoigner ma profonde gratitude pour toutes ses interventions qui ont facilité l'élaboration de ce mémoire.

Au Professeur EHILE EHOUAN Etienne, Directeur du Département de Biologie et Physiologie Animales. Il m'a donné la preuve de toute l'importance qu'il accorde à mon travail. J'ai ainsi pu bénéficier de ses conseils lors de multiples rencontres. Qu'il soit persuadé de ma sincère admiration.

Je tiens à remercier le Professeur GUEDE GUINA Frédéric, pour avoir accepté de juger ce travail de thèse. Je lui exprime ma profonde reconnaissance.

Je tiens également à remercier le Professeur DJAKOURE ATOUTOU, Responsable du Laboratoire de Chimie Organique, pour m'avoir initié aux techniques d'extraction de la Chimie Biologie.

J'exprime mes vifs remerciements au Professeur AKE ASSI Laurent, pour l'étude systématique et l'iconographie de *Caesalpinia bonduc*

Au Docteur VANGAH née MANDA OBOUO Madeleine, Chercheur à l'Institut National de Floristique, qui a effectué avec nous, une mission pour la récolte et l'étude ethnobotanique de *Caesalpinia bonduc* étudié dans ce travail. Je lui dis merci.

Mes remerciements s'adressent également:

- Au Docteur TAKO Antoine, qui, m'a aidé dans la réalisation des manipulations de l'électrocardiographie et de l'actogramme. Je lui adresse tous mes remerciements pour sa disponibilité.

- A tous les élèves-chercheurs du Laboratoire de Physiologie Animale PIONGA Martin, TRAORE Aristide, ADOU Kobenan Fiéni Jean Baptiste, MOUSTAPHA Gréma, ABO Kouakou Jean Claude et surtout MOÏTA Allan pour leur esprit d'équipe.

- A feu SEKA Allatin, ex-élève chercheur en DEA, tous mes regrets.

-Je tiens à remercier le personnel technique, notamment Messieurs KOUAKOU Edouard, BA Jean, GNENEGBE Gutemberg et DIADAN Rémi, pour leur aimable collaboration.

Je ne saurai terminer sans remercier mon père et ma mère, pour leur affection et pour les nombreux sacrifices qu'ils ont généreusement consentis pour mon éducation. Je leur dédie ce travail.

- A ma famille et à mes amis , pour leur soutien, en particulier à Mademoiselle Marie-Yvonne GBEDJO , en gage, de ses nombreuses marques de sympathie, pour son soutien et son indéfectible affection pendant tout ce travail.

- A Monsieur KOUASSI KRA Emile et ses secrétaires, qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements.

SOMMAIRE

Page

AVANT-PROPOS

A - INTRODUCTION ET POSITION DU PROBLEME..... 1

B - RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES..... 5

I - DONNEES SUR LES PARAMETRES BIOLOGIQUES..... 6

1 - Étude des paramètres biologiques in vivo..... 6

1.1. Activité générale spontanée..... 6

1.2. Pression sanguine artérielle 7

1.3. Électrocardiogramme (ECG)..... 9

2 - Données physiologiques sur la préparation nerf-muscle et sur le muscle lisse utérin..... 11

2.1. Structure neuro-musculaire 11

2.2. Muscle lisse utérin..... 18

II - ETUDE BOTANIQUE ET ETHNOBOTANIQUE DE *CAESALPINIA BONDOC* (Linn.)..... 31

1. Répartition géographique..... 31

2. Description ethnobotanique..... 31

3. Usages thérapeutiques..... 33

4. Pharmacologie 34

C - MATERIEL ET METHODES..... 36

I - MATERIEL BIOLOGIQUE..... 37

1 - Les animaux..... 37

1.1. Les souris..... 37

1.2. Les rats 37

1.3. Les cobayes..... 38

1.4. Les lapins..... 38

1.5. La vipère (*Bitis arietans*) 38

2 - Matériel végétal 39

2.1. Répartition géographique 39

2.2. Description systématique..... 39

II - TECHNIQUES EXPERIMENTALES.....	40
1 - TECHNIQUE D'EXTRACTION DES SUBSTANCES NATURELLES ÉTUDIÉES.....	40
1.1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux de <i>Caesalpinia bonduc</i> (EACB).....	40
1.2. Venin de <i>Bitis arietans</i>	42
2 - TECHNIQUES D'INTUBATION	43
2.1. Dissection de la veine jugulaire.....	43
2.2. Dissection de la veine saphène.....	43
2.3. Dissection de la carotide.....	44
2.4. Dissection de la trachée artère	44
3 - DISSECTION DES STRUCTURES CONTRACTILES	45
3.1. Dissection du muscle tibial antérieur de Rat mâle.....	45
3.2. Dissection de bandelettes de myomètre.....	45
4 - MÉTHODE D'ÉTUDE TOXICOLOGIQUE.....	47
5 - TECHNIQUE D'ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ LOCOMOTRICE DE LA SOURIS	49
6 - MÉTHODE D'ENREGISTREMENT DE L'ACTIVITÉ RESPIRATOIRE ET DE LA PRESSION ARTÉRIELLE.....	52
6.1. Dispositif d'enregistrement de l'activité respiratoire.....	52
6.2. Mesure de la tension artérielle sanguine	52
7 - ENREGISTREMENT DE L'ÉLECTROCARDIOGRAMME (ECG) DE COBAYE PAR LA MÉTHODE DE DÉRIVATION STANDARD.....	53
8 - ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ CONTRACTILE DU MUSCLE.....	55
9 - ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ CONTRACTILE DU MYOMETRE	57
9.1. Cuve expérimentale.....	57
9.2. Appareillage	59
III - SOLUTIONS PHYSIOLOGIQUES	59
IV - CONTRÔLE STATISTIQUE.....	61

D - RESULTATS EXPERIMENTAUX

PREMIERE PARTIE

ETUDE IN VIVO DES EFFETS PHARMACOLOGIQUES DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>CAESALPINIA BONDOC</i>	63
I- ETUDE TOXICOLOGIQUE.....	63
1. Toxicité aiguë de l'extrait aqueux de <i>Caesalpinia bonduc</i>	63
2. Toxicité aiguë du venin de <i>Bitis arietans</i>	65
3. Influence de l'EACB sur des souris traitées avec des doses croissantes de <i>Bitis arietans</i>	65
4. Discussion - Conclusion.....	65
II- ETUDE DE L'ACTIVITE LOCOMOTRICE DE SOURIS	65
1. Effet de l'EACB.....	67
2. Effet du propranolol.....	69
3. Discussion - Conclusion.....	69
III- EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>CAESALPINIA BONDUC</i> SUR LA PRESSION ARTÉRIELLE ET L'ACTIVITE RESPIRATOIRE DE COBAYE ET DE LAPIN	72
1. Influence de l'EACB et du propranolol sur la pression artérielle sanguine de Cobaye	72
2. Effets du flaxédil et de l'EACB sur la pression artérielle et l'activité respiratoire de Lapin.....	77
3. Discussion - Conclusion.....	79
IV - INFLUENCE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>CAESALPINIA BONDOC</i> SUR L'ELECTROCARDIOGRAMME (ECG) DE COBAYE.....	83
1. Effet de l'extrait de <i>Caesalpinia bonduc</i> (EACB).....	83
2. Effets du propranolol sur l'ECG de Cobaye	87
3. Effets de l'EACB associé au propranolol	89
4. Discussion - Conclusion.....	92

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DE L'INFLUENCE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>CAESALPINIA BONDUC</i> SURL'ACTIVITE CONTRACTILE DU MUSCLE TIBIAL DE RAT IN SITU.....	95
--	----

1 - Effet de l'extrait de <i>Caesalpinia bonduc</i> (EACB) et du propranolol sur la contraction du muscle tibial	95
1.2.Effet du propranolol	95
1.3.Action de l'EACB associé au propranolol	97
2 - Effet du flaxédil et de l'EACB sur la contraction du muscle tibial antérieur	100
2.1. Effet du flaxédil	100
2.2. Effets du flaxédil associé à l'EACB	100
2.3. Effets du flaxédil associé à la prostigmine.....	103
3. Discussion - Conclusion.....	103

TROISIEME PARTIE

ETUDE DES EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>CAESALPINIA BONDUC</i> SUR L'ACTIVITE CONTRACTILE DU MUSCLE LISSE UTERIN DE RAT GESTANTE.....	107
---	-----

1 - Effet de l'EACB sur les contractions rythmiques du muscle lisse utérin	107
2 - Contractures du muscle lisse utérin induites par et l'acétylcholine.....	107
3 - Contractures du muscle lisse utérin induites en milieu hyperpotassique.....	110
4 - Discussion - Conclusion.....	115

E - CONCLUSION-PERSPECTIVES.....	119
----------------------------------	-----

F - RFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	121
-------------------------------------	-----

Liste des abréviations

ACh: acétylcholine

ADR: adrénaline

ATR: Atropine

EACB: extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc*

EBA: extrait de venin de *Bitis arietans*

FLAX: flaxédil

PRO: propranolol

PROST: prostigmine

**A-INTRODUCTION ET
POSITION DU PROBLEME**

De tous les besoins vitaux de l'Humanité, la santé a toujours été une préoccupation majeure pour les populations. Les pharmacopées africaines traditionnelles, à base de drogues végétales, animales et minérales, prennent leur source, non seulement dans la diversité des us et coutumes, mais également, en relation avec la variation de la flore, de la faune et du sol.

L'utilisation de ces substances naturelles par les tradithérapeutes, relève de pratiques souvent mystiques, transmises de génération en génération. La préparation de ces médicaments à partir de ces substances demeure, encore de nos jours, dans le secret.

Ce qui fait qu'en Afrique, la disparition progressive des Guérisseurs, est un danger pour la conservation des connaissances et des pratiques thérapeutiques. Dans nos pays, où la tradition orale est le seul mode d'expression pour la majorité de ces Guérisseurs, l'étude de la pharmacopée traditionnelle s'avère indispensable et pressante.

Malgré tout, les populations d'Afrique noire, quels que soient leur situation géographique et leur groupe socioculturel, recourent encore à la Médecine traditionnelle. Ainsi donc, l'importance des plantes médicinales d'Afrique noire n'a jamais fait de doute (KERHARO, 1977); particulièrement dans les zones rurales dépourvues d'infrastructures sanitaires ou éloignées des centres de santé. Pour le seul continent africain, cinquante mille espèces de plantes vascularisées ont été recensées dans le traitement de diverses affections (ADJANOHOUN, 1990).

Si nous sommes unanimes pour reconnaître l'importance des substances végétales africaines dans la thérapeutique moderne, il n'est cependant pas aisé de donner des indications thérapeutiques précises sur une espèce végétale pour telle ou telle affection.

Au cours de cette dernière décennie, avec l'accroissement incessant de la crise économique et la paupérisation des populations, la phytothérapie a pris une importance capitale dans les pays en voie de développement. Les recherches mises en place pour explorer les plantes médicinales concernent, avant tout, le recensement des plantes utilisées par les autochtones, les particularités écologiques des divers milieux naturels tels que les forêts, les savanes, ensuite les modes de préparation et d'administration du médicament;

les maladies et les symptômes pour lesquels le médicament est proposé, enfin les effets physiologiques et toute autre indication thérapeutique.

Pour une revalorisation et une exploitation rationnelle de cette pratique traditionnelle, la conjugaison des efforts de chercheurs de différentes spécialités s'impose pour la recherche de principes actifs indispensables aux besoins thérapeutiques. L'utilisation de techniques modernes sophistiquées permettra à ceux-ci de produire des résultats indiscutables, élément qui sera nécessaire pour l'isolement de nouvelles molécules bioactives plus efficaces. Depuis 1972, en Côte d'Ivoire, il existe un programme national d'étude sur les substances naturelles à usage thérapeutique et cosmétique, programme qui regroupe de nombreux chercheurs de différentes disciplines.

Les études systématique et ethnobotanique du Professeur AKE ASSI (1991), lui ont permis de recenser de nombreuses plantes utilisées dans la Médecine traditionnelle ivoirienne pour le traitement de diverses affections. Il indique que 1421 espèces de plantes médicinales et 761 recettes médicamenteuses ont été déjà recensées en Côte d'Ivoire. Des études scientifiques rationnelles sont nécessaires pour rechercher les propriétés thérapeutiques de ces espèces végétales. Dans le cadre de ce travail, notre choix a porté sur une plante utilisée en Médecine traditionnelle dans les régions du Sud et de l'Est de la Côte d'Ivoire: *Caesalpinia bonduc* (Cesalpiniacées), contre les morsures de serpents et pour ses effets utérotoniques, depuis longtemps, observés par les populations de ces régions.

En effet, depuis le siècle dernier, DUJARDIN recommandait même pour les fièvres intermittentes la prise de 1 à 2 g trois fois par jour d'une poudre composée à parties égales de *Caesalpinia Bonduc* et de poivre. Mais, il a été prouvé en 1945, que ces graines étaient inactives contre le paludisme expérimental des Poussins. Par contre, IYENGAR et PENDSE (1965), ont mis en évidence les propriétés antidiarrhéiques de la substance chez des Souris.

Ces mêmes auteurs ont utilisé des extraits de rameaux feuillés, pour mettre en évidence une toxicité aiguë, à une dose correspondant à 1 g de l'extrait séché chez la souris traitée par voie intrapéritonéale. La recherche du pouvoir antibiotique des extraits aqueux d'écorces vis à vis des organismes Gram+ a été négative. Les extraits aqueux de racines, de tiges et de feuilles

montrent une action curative sur le sarcome 180. En effet, ces auteurs obtiennent expérimentalement une réduction des tumeurs chez l'animal traité avec des doses de la tranche de 65 à 100 unités. De leur côté, DHAR et Coll. (1968) ont constaté une certaine activité antivirale (*Virus vaccinia*), des extraits de racines.

Selon WATT et BREYER (1962), les extraits de rameaux feuillés provoquent une baisse de la pression artérielle sanguine. De même, les extraits alcooliques provoquent une hypotension chez le Chien et une dépression sur le coeur de Grenouille.

Les racines et les feuilles en poudre sont employées comme antivenimeux chez les Pheul du Sénégal (BERHAUT, 1967); et comme antipoison chez les Krobou (N'GUESSAN, 1990).

C'est pourquoi, il nous a paru intéressant d'entreprendre une étude pharmacologique, pour tenter de mettre en évidence les propriétés bioactives de *Caesalpinia bonduc* au niveau des trois caractéristiques antivenimeux, utéroactifs et cardioactifs, qui ont été décrites par les populations.

L'intérêt de ce travail réside dans le fait que ce serait la première fois que des procédés scientifiques, autour de tests pharmacologiques, seront menés sur l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* (Linn.).

**B-RAPPELS
BIBLIOGRAPHIQUES**

I - DONNEES SUR LES PARAMETRES BIOLOGIQUES

1- Etude des paramètres biologiques *in vivo*

1.1. Activité générale spontanée

L'étude du comportement général spontané des animaux après administration d'une substance constitue un moyen pour déterminer le comportement spécifique de l'animal sous l'influence de la drogue.

Il est généralement connu que le comportement général spontané est la résultante d'une série de facteurs. Elle est l'expression d'un niveau énergétique endogène déterminée par une action plus ou moins directe de certaines modifications du milieu intérieur sur les structures neuroniques activatrices (facteurs internes). De même, ce phénomène rend compte de la réaction de l'organisme vis-à-vis de l'environnement. Le déterminisme de cette réaction met en jeu l'ensemble des contrôles avec leurs aspects innés et acquis. Le comportement est commandé par les structures du système nerveux central telles que la formation réticulaire mésencéphalique, le système limbique et les motoneurones. Ces neurones moteurs prennent en charge la transmission des volées d'influx vers les organes effecteurs périphériques (muscles).

Les travaux de KARLI (1968) ont mis en évidence le rôle fonctionnel du système limbique. Cette structure assure le contrôle central de la genèse des différents états de vigilance et du déterminisme du comportement général spontané (activité locomotrice spontanée et du comportement conflictuel ou agressivité). L'étude du comportement conflictuel permet d'apprécier les modifications de l'agressivité et de l'anxiété.

Depuis BONETTI et Coll. (1982), l'activité locomotrice spontanée peut être traduite sous forme de courbes ou d'histogrammes cumulés. Par ailleurs, l'établissement des courbes et des histogrammes montrant l'évolution de l'activité locomotrice de l'animal par unité de temps, permet de mettre en évidence la dynamique de l'animal. Le niveau de dynamisme de l'animal après administration de la substance va indiquer le degré d'influence de la substance sur le système nerveux central.

1.2. Pression sanguine artérielle

La pression sanguine artérielle est la force qui s'exerce sur les parois des vaisseaux sanguins qui permet au sang de circuler. Cette force sanguine peut être quantifiée à l'aide d'un appareillage approprié. (CONSTANTIN et TAYLOR, 1973).

La force tensionnelle peut être quantifiée par l'expression de POISEUILLE:

Pression artérielle = Débit cardiaque x résistance périphérique totale.

De sorte que la pression qui règne dans une portion du vaisseau sanguin peut également s'exprimer, en première approximation, en fonction de la loi de POISEUILLE.

$$D = \frac{(P_1 - P_2)q^3}{L \cdot n \cdot 8} \text{ avec } P_1 - P_2 = \frac{V_m \cdot L \cdot n \cdot 8M}{q^3}$$

Dans ces expressions

D est le débit sanguin

$P_1 - P_2$ représente la différence entre les pressions des points initial (P_1) et final (P_2).

V_m le débit (volume par minute)

q la surface de la section du conduit

L la longueur du système tubulaire

n la viscosité du liquide

8M une constante.

* signe de multiplication.

La pression sanguine artérielle dépend donc des caractéristiques de la pompe cardiaque intervenant dans la valeur du débit (fréquence, force de contraction), de la résistance à l'écoulement présenté par les vaisseaux et de la viscosité du sang.

La pression artérielle est donc normalement sous la dépendance de mécanismes réflexes qui en assurent la régulation du fonctionnement cardiaque et du comportement des vaisseaux.

Sa régulation est sous la dépendance de facteurs nerveux et humoraux agissant, soit au niveau du coeur, soit au niveau vasculaire. Il existe deux systèmes de régulation, qui sont le système vasomoteur (vasoconstriction) et le système vasodilatateur. Il a été montré que la section du sympathique cervical chez le Lapin, entraîne une dilatation spectaculaire des vaisseaux de l'oreille du même côté.

La maladie hypertensive est une défaillance de la régulation circulatoire et consiste, en général, en une résistance anormalement élevée au débit sanguin. Les mécanismes par lesquels une augmentation des résistances vasculaires apparaît et se maintient, restent encore mal élucidés ; toutefois, de nombreux travaux, dans ce domaine, permettent de comprendre la pathogénie de cette maladie (BRODY et ZIMMERMAN, 1976).

Il existe au moins trois sites effecteurs au niveau desquels la pression artérielle peut-être influencée (ZUSMAN et coll., 1973) :

- les résistances vasculaires périphériques,
- l'élimination rénale,
- et l'efficacité cardiaque.

Plusieurs mécanismes importants de régulation réflexe agissent par l'intermédiaire :

- du système nerveux autonome (DORR et BRODY, 1966; AYITEH-SMITH et VARMA, 1970; CHAMPLAIN, 1972; FOLKOW et Coll., 1972),
- du système rénine-angiotensine-aldostérone (GOLBBLATT , 1938; OPALI et HABER, 1974 ; BEEVERS, 1977; NIES, 1977)
- et des facteurs structuraux en rapport avec des modifications structurales et fonctionnelles de la musculature lisse vasculaire (BRODY et ZIMMERMAN, 1976).

De ce fait, l'action des substances antihypertensives peut se manifester essentiellement à deux niveaux :

- soit sur la résistance périphérique des vaisseaux : c'est le cas des vasodilatateurs périphériques et aussi des diurétiques ;
- soit sur le débit sanguin : c'est le cas moins intéressant des dépresseurs cardiaques.

1.3. Electrocardiogramme (ECG)

L'électrocardiogramme est un paramètre précieux d'évaluation de la transmission de l'influx cardiaque. Quand l'influx chemine dans le coeur, le champ électrique, produit par la dépolarisation membranaire à la surface du muscle cardiaque, diffuse dans les liquides qui entourent le coeur et de faibles variations de potentiel atteignent la surface corporelle. En plaçant des électrodes sur la peau, directement en deux points situés de chaque côté du coeur et reliant ces électrodes à un appareil d'enregistrement convenable, on peut enregistrer la variation de potentiel ou activité électrique globale produit au cours de chaque révolution cardiaque.

De nombreux travaux ont montré qu'il est possible d'enregistrer l'activité électrique du coeur à distance et à travers la peau. En effet, l'activité cardiaque donne naissance à un champ électrique que l'on peut mettre en évidence à l'aide d'électrodes périphériques. Cette étude est menée sur le cobaye par rapport aux études antérieures faites sur le rat et le pangolin (TRICOCHÉ, 1967 ; KREHER, 1973).

L'activité électrique globale enregistrée, à travers la peau, est présentée sous forme de cycle cardiaque ou encore révolution cardiaque ayant un décours caractéristique. L'enregistrement comporte des ondes caractéristiques PQRST renseignant sur le fonctionnement de l'organe.

Sur l'électrocardiogramme normal, l'onde P est due à l'activité électrique développée par les oreillettes. Elle correspond à la dépolarisation des oreillettes dont la repolarisation n'est pas visible. Les ondes Q, R et S correspondent à la dépolarisation ventriculaire. L'onde T est la fin de la repolarisation ventriculaire. L'intervalle P-Q est le temps de conduction auriculo-ventriculaire, tandis que l'intervalle R-T représente la phase du plateau du potentiel d'action. Le complexe QRST correspond à l'activité ventriculaire. Plusieurs substances pharmacodynamiques sont capables de modifier ces différentes ondes. c'est le cas des bêta-bloquants (le propranolol).

En général, il est connu que les bêtabloquants sont des antagonistes compétitifs des récepteurs bêta-adrénérgiques. Ces substances sont subdivisées en deux groupes selon leur solubilité

- les substances du premier groupe (quinidine, procainamide, propranolol) sont caractérisées par leur "effet stabilisant sur la membrane cardiaque" ,
- les substances du deuxième groupe (diphényldantoiné, lignocaine) n'altèrent pas, ou parfois augmentent la réactivité de la membrane cellulaire.

Le premier groupe se subdivise en deux sous-groupes; en effet si la quinidine et la procainamide allongent la durée du potentiel d'action et la période réfractaire effective, le propranolol, au contraire, les réduit; bien que dans les deux cas, le rapport de la durée de la période réfractaire à la durée du potentiel d'action se trouve augmenté. C'est ainsi que le propranolol est classé dans le groupe des bêtabloquants liposolubles, et utilisé en clinique sous le nom d'avlocardyl. Les propriétés cardio-vasculaires des bêtabloquants sont nombreuses. Pour BASSETT et HOFFMAN (1971), le propranolol appartient aux substances du premier groupe caractérisé par leur effet stabilisant sur la membrane. Alors que VAUGHAN WILLIAMS(1975), à partir de travaux menés sur les cellules atriales de Cobaye, a proposé une classification pharmacologique des substances antidysrythmiques en trois classes :

- la classe I, caractérisée par son "effet stabilisant sur la membrane" (propranolol) ;
- la classe II présente un effet sympatholytique ou bêta adrénolytique (brétylium, sotalol) ;
- la classe III, provoquent un allongement de la durée du potentiel d'action (amiodarone) ;

Ainsi le propranolol appartiendrait au groupe I qui entraîne une diminution de la contraction, de la réactivité du coeur, de même que l'excitabilité et la période réfractaire cardiaque (GIUDICELLI, 1971). Cette seconde classification est la plus admise pour l'étude analytique des principales substances utilisées dans le traitement des dysrythmies cardiaques.

2 - Données physiologiques sur la préparation nerf-muscle et sur le muscle lisse utérin.

2.1. Structure neuro-musculaire

Avant DOYERE, la conception générale était que les nerfs moteurs ne se terminaient pas dans les muscles, mais comme les capillaires, formaient de fines boucles et retournaient au système nerveux central. DOYERE (1840) fut le premier à découvrir les relations intimes entre les terminaisons des fibres nerveuses et les fibres musculaires.

Des cellules nerveuses appelées motoneurons (ou neurones moteurs) transmettent l'influx nerveux nécessaire à la contraction des fibres musculaires squelettiques. Les neurones forment avec les fibres musculaires squelettiques des jonctions spécialisées appelées jonctions neuro-musculaires ou plaques motrices (fig.1). A la jonction neuro-musculaire, l'une des terminaisons d'un motoneurone s'approche très près d'un point spécialisé situé le long du sarcolemme d'une fibre musculaire squelettique, sans toutefois entrer en contact directement avec le sarcolemme ; un mince espace ou fente synaptique sépare la terminaison du motoneurone du sarcolemme de la fibre musculaire. La plupart des fibres musculaires squelettiques possèdent une seule plaque motrice.

2.1.1. Structure des myofibrilles

2.1.1.1. Striation

Dès 1840, BOWMAN note que la striation transversale d'une fibre musculaire est due à une alternance de zones à haut et bas indices de réfraction. En lumière polarisée, les zones à haute réfringence sont anisotropes (bande A) alors que celles à basse réfringence sont isotropes (bande I). Chaque bande I est séparée en deux par une ligne fine d'indice élevé, la ligne Z. La bande H correspond à la région centrale de la bande A dont l'indice est moins élevé que celui de la périphérie.

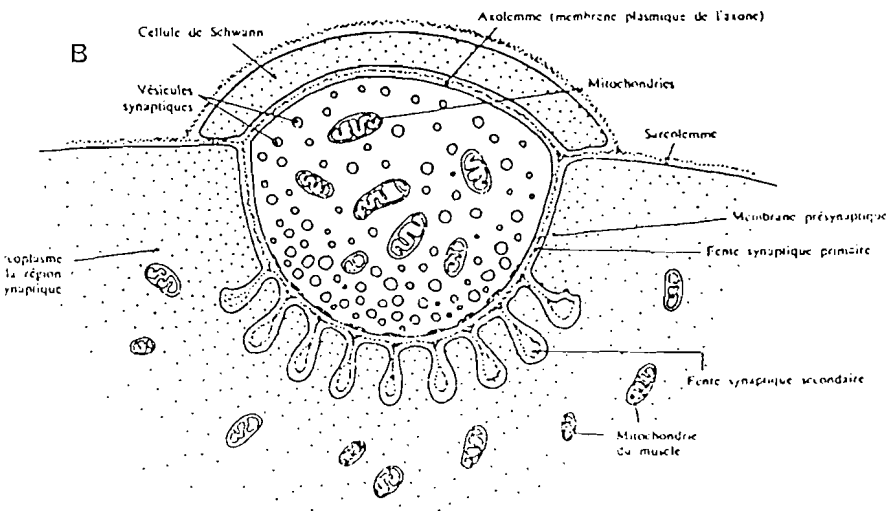
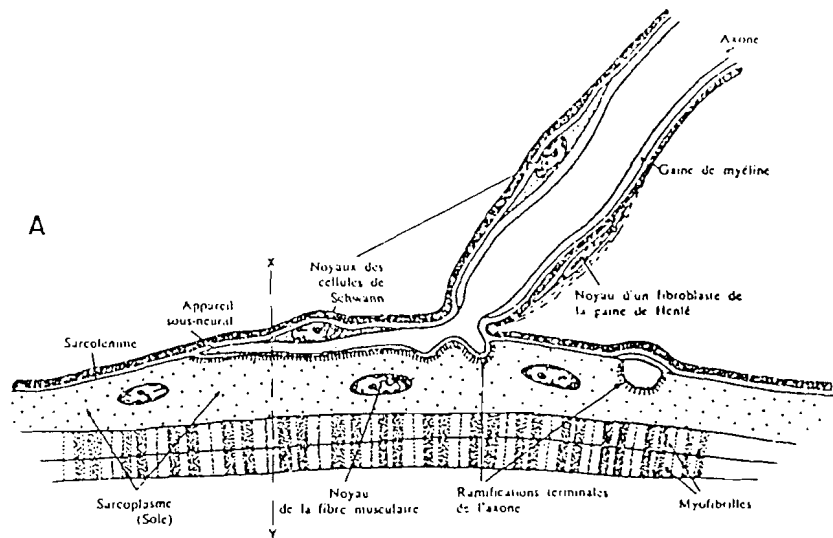
Figure 1

Ultrastructure de la jonction neuromusculaire

A- Relation entre la terminaison nerveuse et la fibre musculaire

B- Coupe transversale en microscopie électronique passant par un plan XY perpendiculaire à la plaque motrice

(MAILLET, 1976)



Les myofibrilles sont formées de sous-unités ou myofilaments qui sont disposés parallèlement à leur axe longitudinal. Le sarcomère (compris entre deux stries Z) est composé de deux types de filaments qui offrent des degrés de chevauchement dépendant de la longueur du sarcomère; les filaments épais (diamètre : 10 nm) sont présents dans la bande A dont ils déterminent la longueur ; les filaments fins (diamètre : 6 nm) s'étendent à partir de la ligne Z, dans la bande I; jusque dans la bande A où ils s'interposent entre les filaments épais. L'organisation tridimensionnelle des myofilaments a été suggérée par HUXLEY (1960) et confirmée à partir des observations en microscopie électronique (Figure 2A).

D'après les résultats de HUXLEY et HANSON (1954) , la contraction musculaire résulte du glissement des filaments fins par rapport aux filaments épais (théorie des filaments glissants) : la longueur de chaque filament ne change pas, le glissement se fait par l'intermédiaire de "ponts" qui se forment cycliquement entre deux types de filaments pendant la contraction.

2.1.1.2. Protéines contractiles

Les filaments épais, caractéristiques de la bande A, sont essentiellement constitués de myosine. Cette protéine comprend deux principaux constituants, la mériomyosine lourde (HMM) et la mériomyosine légère (LMM). La molécule complète est asymétrique et se présente sous la forme d'un bâtonnet de LMM surmonté à une extrémité par une masse globulaire de HMM. La HMM constitue la fraction active de la myosine et est le siège de l'activité ATPasique. Les filaments fins ont une composition hétérogène (fig.2B). Ils comprennent deux chaînes d'actine polymérisées, hélico-dales. L'actine a une très forte affinité pour la myosine. Le contrôle de la contraction est réalisé par un groupe de protéines régulatrices : la tropomyosine (TM) et le complexe de la troponine (TN) (EBASHI et ENDO, 1968). La tropomyosine est une molécule très allongée, logée dans la gorge délimitée par les deux chaînes de globules d'actine. La troponine est localisée de façon discontinue tous les 40 nm environ. Le rapport des

Figure 2

Protéines contractiles

A - Représentation schématique de la structure du muscle strié montrant le chevauchement des filaments d'actine (a) et de myosine(m).

a) Coupe transversale au niveau de la bande H, les filaments de myosine sont disposés au centre et au sommet d'un hexagone.

b) Coupe transversale au niveau de la bande A, chaque filament d'actine est équidistant de trois filaments de myosine.

(HUXLEY, 1960)

B - Modèle moléculaire du filament d'actine de muscle strié de vertébrés

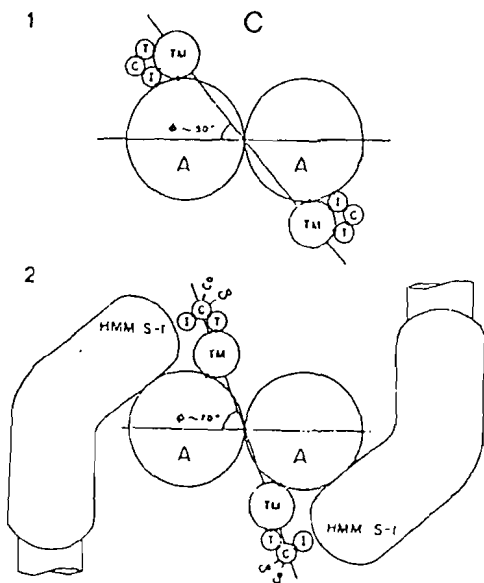
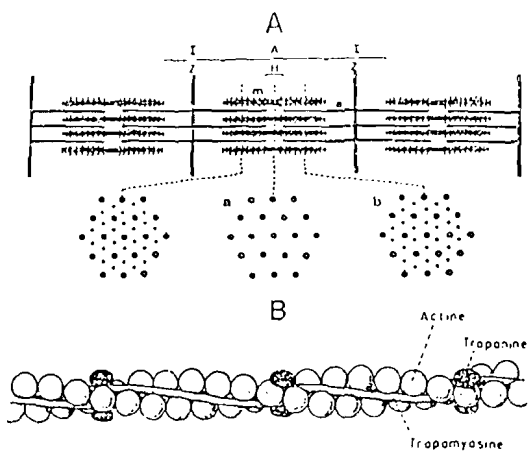
(EBASHI et ENDO, 1968)

C - Vue schématique transversale des relations spatiales entre la myosine (HMM), l'actine (A), la tropomyosine (TM), et les trois sous unités de la troponine (T,C,I)

1- en l'absence de calcium (Ca^{2+})

2-en présence de calcium

(POTTER et GERGELY, 1974)



divers composants du filament sont de 7 actines/1 tropomyosine/1 troponine est en fait un complexe de trois unités dont les rôles sont différents (fig. 2C).

La troponine T (TNT) assure la liaison entre la tropomyosine et la troponine C. La troponine C (TNC) est associée à la TNT et présente une grande affinité pour le calcium. La troponine I (TNI) est associée à la TNC et à l'actine ; en l'absence de calcium, elle inhibe l'interaction entre l'actine et la myosine. En présence de calcium, l'affinité de TNI pour la myosine diminue et la tropomyosine reprend sa place dans la gorge du filament ; ce déplacement permet l'interaction entre l'actine et la myosine (GILLIS et O'BRIEN, 1975). Chaque molécule de troponine contrôle donc l'interaction actine-myosine sur une longueur de 40 nm.

2.1.2. Contraction de la fibre musculaire squelettique

HODGKIN et HUXLEY(1952), à l'aide de solutions de concentrations variées en potassium, montrent que l'amplitude de la contraction évolue avec le potentiel de la membrane de la fibre musculaire squelettique. SANDOW et Coll. (1965) établissent une relation entre le potentiel d'action et la secousse et définissent ainsi au niveau du potentiel d'action une surface "utile", appelée "mechanically effective period" (M.E.P.), comprise entre deux limites : le potentiel du seuil mécanique et le potentiel de saturation mécanique. D'où tous les facteurs susceptibles de modifier le décours du potentiel d'action retiennent sur l'amplitude de la secousse.

L'étude des fibres musculaires "pelées" (NATORI, 1954) montre que le calcium contenu dans les citernes du réticulum peut être libéré aussi bien par une dépolarisation de sa membrane (ENDO et NAKAJIMA, 1973) que par un choc osmotique (ENDO et THORENS, 1975) ou encore par la présence d'une certaine quantité d'ions calcium dans le milieu externe.

2.1.3. Couplage excitation-contraction

L'expression couplage excitation-contraction désigne, l'ensemble des séquences de phénomènes qui; permettent à un potentiel d'action circulant le long du sarcolemme d'une fibre musculaire squelettique de, provoquer des interactions entre les filaments minces et épais des sarcomères et de produire la contraction de la fibre.

Les ions calcium se lient aux molécules de troponine des filaments minces et épais. Ces interactions sont directement responsables de la contraction musculaire.

FORD et PODOLSKY (1970) montrent qu'une concentration en calcium du milieu externe comprise entre $3 \cdot 10^{-5}$ M et 10^{-4} M provoque la libération du calcium stocké dans les citernes. Plus la concentration intraréticulaire est élevée, moins la concentration externe doit l'être pour observer ce phénomène. Ce mécanisme de libération autocatalytique a été confirmé par les résultats de ENDO et THORENS (1975).

Un tel mécanisme a relancé le problème du rôle possible du calcium extracellulaire dans le déclenchement de la contraction (SANDOW et Coll., 1965). L'hypothèse d'une origine membranaire (sarcolemme) du calcium intervenant dans le déclenchement de la contraction est maintenant abandonnée. En effet HILL (1949) a calculé que, compte tenu du grand diamètre de la fibre, la diffusion du calcium membranaire est trop lente pour rendre compte du délai entre l'excitation et la contraction.

CURTIS (1966) calcule que, l'influx calcique pendant un potentiel, est 100 fois plus faible que les quantités requises pour activer les protéines contractiles. Cependant, d'après CHIARANDINI et STEFANI (1976) la faible quantité de calcium qui entre dans la cellule pendant un potentiel d'action pourrait provoquer la libération d'une quantité suffisante de calcium réticulaire pour activer la contraction. Ainsi POTREAU et RAYMOND (1978) en augmentant la concentration externe des ions calcium mettent en évidence un courant entrant calcique qui pourrait déclencher la libération du calcium des citernes du réticulum.

Par contre ENDO et THORENS (1975), dans des conditions de concentration calcique normale, apportent des arguments en faveur d'une non participation du mécanisme autocatalytique :

- le déclenchement du mécanisme requiert une concentration calcique de l'ordre de 10^{-4} M, concentration pour laquelle les protéines contractiles sont complètement activées. Une telle concentration est largement supérieure à celle des conditions physiologiques normales,
- de plus, les expériences de CONSTANTIN et TAYLOR (1973), en voltage imposé, suggère que la libération du calcium intracellulaire est contrôlée par le potentiel de membrane tubulaire.

SCHNEIDER et CHANDLER décrivent en 1973 sur les fibres musculaires squelettiques, des mouvements de charges intramembranaires dépendant du potentiel et semblant en relation avec l'activation de la contraction. Ces mouvements de charges présentent quelques ressemblances avec les "courants de porte" décrits pour la première fois par ARMSTRONG et BEZANILLA (1973), mais ils ne sont pas en relation avec l'activation de la conductance sodique. CHANDLER et Coll. (1975) montrent qu'il ne correspondent pas non plus à des "courants de porte" des canaux potassiques. En effet, ni le tetra ethyl ammonium, ni la tétracaïne ne les affectent (ALMERS et ADRIAN, 1976).

2.1.4. Régulation du processus contractile

Une fois qu'un influx nerveux a stimulé une fibre de muscle squelettique et que, les ions calcium ont été libérés du réticulum sarcoplasmique, comment expliquer que la formation de liens entre les filaments minces et les filaments épais (le processus contractile) ne continue pas indéfiniment ?

En fait, la libération d'ions calcium déclenchée par un seul influx nerveux est un phénomène de courte durée. Après avoir été libérés, les ions calcium sont rapidement repris en charge par un mécanisme de transport actif qui les ramène dans le réticulum sarcoplasmique.

Avec le retour des ions calcium dans le réticulum sarcoplasmique, la troponine renforce son lien avec l'actine et replace la tropomyosine dans sa position initiale de blocage, ce qui empêche d'autres interactions entre les molécules de myosine de haute énergie et les sous-unités d'actine. Le processus contractile est

donc interrompu et la fibre musculaire se relâche. Lorsqu'un autre influx nerveux stimule la fibre musculaire et que des ions calcium sont de nouveaux libérés du réticulum sarcoplasmique, le processus contractile recommence (BATRA et POPPER, 1989).

2. 2. Muscle lisse utérin

La pérennité de l'espèce est assurée par la fonction de reproduction. Cette fonction impose à l'utérus une adaptation remarquable ; il intervient dans la fécondation, il permet le développement foetal et placentaire, puis au terme d'une adaptation progressive, se déclenche le travail ou parturition qui permet l'expulsion du foetus. La diversité de ces fonctions rend compte de la complexité de l'anatomie fonctionnelle de l'utérus.

2.2.1. Anatomie

L'utérus est un muscle lisse viscéral doué de propriétés contractiles. Il a la forme d'un cône tronqué, bilobé chez la rate de même que chez la femme. L'utérus comporte trois éléments essentiels .

- un corps grossièrement triangulaire dont l'extrémité supérieure convexe est le fond utérin, avec de chaque côté une corne ;
- un col utérin divisé en deux parties, une partie supra vaginale et une portion infra vaginale

Quant à la paroi utérine, elle est constituée de trois couches qui sont de l'intérieur vers l'extérieur ; l'endomètre, le myomètre et la séreuse péritonéale. Au niveau du myomètre, les fibres musculaires lisses sont disposées en trois couches:

- une couche externe très mince comprend un plan superficiel de fibres longitudinales sur les faces et le fond du corps et un deuxième plan de fibres circulaires ;
- une couche moyenne très épaisse ou couche plexiforme constituée de faisceaux de fibres musculaires lisses entre croisées et richement vascularisées ,

- une couche interne réduite et dans la partie profonde de laquelle, l'on observe quelques fibres longitudinales, mais surtout constituées de fibres circulaires.

Cette description histologique est beaucoup nette chez les mammifères à utérus bicorne (rate, lapine, cobaye). Mais chez ces espèces, la contractilité de l'utérus et sa régulation diffère selon la couche étudiée (BELL, 1972). L'enchevêtrement des faisceaux est très complexe, mais c'est surtout la densité en fibres musculaires lisses selon les zones de l'utérus qui permet de comprendre la physiologie de la contraction.

Sans nier l'importance de l'interaction des différentes couches histologiques de l'utérus, il faut insister sur l'élément qu'est la fibre musculaire ou encore cellule myométriale.

2.2.2. Structure du myomètre

Le myomètre est un muscle lisse constitué de faisceaux contractiles. L'observation microscopique montre la présence de myofilaments. Les myofilaments comportent des filaments d'actine et de myosine. Cette structure est comparable à celle du muscle strié. Mais à la différence, le myomètre ne comporte pas cette disposition spatiale et la présence de stries. Les dimensions des cellules sont relativement faibles (CSAPO, 1962). Cet auteur a mis en évidence des cellules de 10 à 600 microns de longueur (fig.3).

Il a été démontré la présence de "ponts" qui constituent des zones de contacts. RICHARDSON (1962), BENNET et ROGERS (1967) ont décrit des interpénétrations cellulaires. Il y a présence de régions d'apposition des cellules où il y a fusion des membranes plasmiques. Ce type de connection est appelé nexus. Au niveau des nexus la résistance membranaire est faible (BATRA, 1986).

Les protéines contractiles des myofibrilles des muscles lisses sont moins bien orientées que celles des muscles striés (SMALL et SQUIRRE, 1972). Quand la gestation s'établit, il y a une augmentation des myofilaments dans la cellule (MARK, 1956).

Le cytoplasme de ces cellules contient des myofilaments d'actine et de myosine, un système de réticulum endoplasmique, le complexe golgien, les mitochondries, un nucleus central proéminent et d'autres organelles (GARFIELD, 1984). La transmission de cellule en cellule est assurée par les jonctions de type gap. La gap jonction est une structure composée de portions identiques de la membrane plasmique de deux cellules fermement apposées (PERACCHIA, 1980). Ces formations augmentent de nombre et de dimension à la fin de la gestation et pendant le travail, et commencent à disparaître vingt quatre heures après l'accouchement (GARFIELD et Coll., 1982 , PURI et GARFIELD, 1982; GARFIELD et Coll., 1988).

Figure 3

Représentation tridimensionnelle de l'ultrastructure du muscle lisse

A- Muscle relaxé

B- Muscle activé

fe = filament épais

ff = filament fin

gl = glycogène

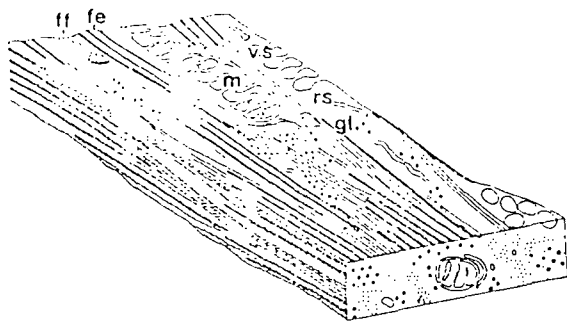
m = mitochondries

rs = réticulum sarcoplasmique

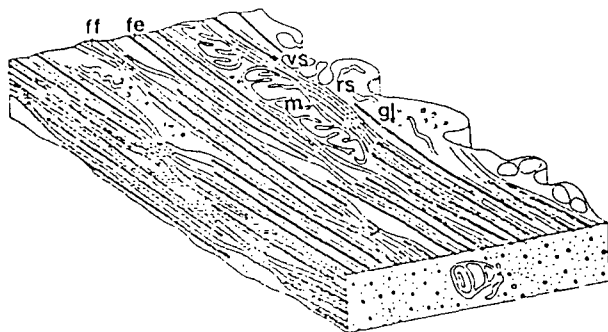
vs = vésicule subcellulaire

(d'après HEUMANN, 1971)

A



B



En 1984, GARFIELDS a démontré qu'au moment du déclenchement du travail, les gap junctions s'établissent entre les cellules myométriales, phénomène qui assure les échanges privilégiés d'ions et de molécules de poids moléculaire inférieur à 16000 daltons entre deux cellules.

2.2.3. Protéines contractiles du myomètre

La contraction du muscle utérin, dépend de l'interaction de deux protéines : l'actine et la myosine, mises en évidence et étudiées par CAVAILLE (1985). Les filaments d'actine sont assemblés en rosette autour des filaments épais du myosine (figure 4.1).

Comme dans les muscles striés, le raccourcissement et le développement de la force contractile sont dus au glissement des filaments de myosine et d'actine les uns par rapport aux autres, l'énergie étant produite par l'hydrolyse de l'ATP. La libération de calcium intracellulaire est le premier événement du couplage excitation-contraction (MIRONNEAU et Coll., 1984). Le calcium va induire la contraction en se liant à des protéines activatrices de l'appareil contractile.

Dans les muscles lisses, le calcium en se liant à la calmoduline, active une kinase (DABROWSKA et Coll., 1977), qui va fixer un groupement phosphate sur une sous unité de la myosine (SOBIEZECK, 1977). Cette phosphorylation permet l'activation de l'actomyosine ATP-ase (CRAIG et Coll., 1983). Cette activation des chaînes légères de myosine induit la liaison actine-myosine, donc la contraction. La force de contraction du muscle dépend donc du niveau d'activation qui met en route les mécanismes régulés par le calcium, que l'on peut qualifier de phénomènes instantanés. La contraction est ainsi proportionnelle au taux de calcium cytoplasmique d'une façon réversible, avec contraction entre 10^{-4} M et 10^{-5} M et relaxation pour les taux inférieures à 10^{-7} M (fig.4.2).

Par ailleurs, une régulation à plus long terme peut se faire par la qualité des protéines contractiles que va synthétiser le muscle. En effet, il est maintenant bien connu que l'actine et la myosine existent souvent

Figure 4

1- Interaction myosine-actine

a. Chaînes légères-partie hélicoïdale, responsable de la transmission de la tension musculaire.

b. chaînes lourdes -partie globulaire comportant trois importants sites:

- site combiné-actine
- site ATPase
- site de chaînes légères

c.d. structure de myofilament

- c. Muscle squelettique
- d. Muscle lisse

2 - Diagramme du cycle contraction-relaxation du muscle lisse myometrial avec intervention de:

- la calmoduline
- la Kinase
- l'ATP (source d'énergie)

calm= calmoduline, cAMP Kinase = AMPc dépendant de la protéine kinase, MLCK = Myosin light chain kinase, x-P = phosphorylatedx, ADP = Adénosine diphosphate, ATP = Adénosine triphosphate, Ca²⁺ = calcium.

(BATRA, 1986)

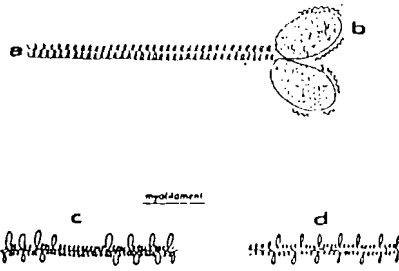
3- Mécanismes contrôlant la concentration calcique (Ca²⁺) libre intracellulaire. Le calcium de l'espace extracellulaire entre à travers des chaînes spécifiques, qui sont:

- les chaînes sensibles au potentiel (PSC)
- les chaînes de récepteurs (ROC)

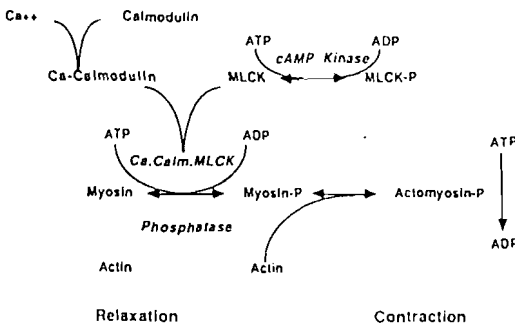
L'interaction dépolarisation de la membrane cellulaire et récepteurs des drogues ouvre respectivement PSC et ROC. Le calcium peut être libéré par les mitochondries et le réticulum endoplasmique (ER). Il peut être également libéré dans le milieu extracellulaire par le calcium extrusion pump. Il y a aussi le mécanisme d'échange du sodium avec du calcium (Na/Ca exchange).

(BATRA, 1986)

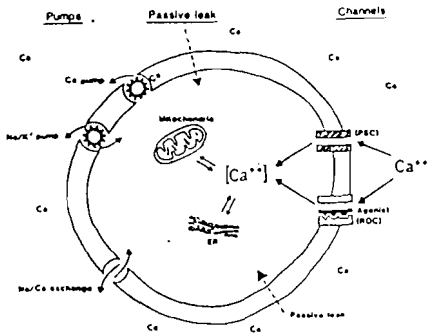
1



2



3



simultanément ou successivement au sein du même muscle, sous plusieurs formes (GABBIANI et Coll., 1984, KURODA, 1985, CAVAILLE et LEGER, 1986). La nature des isoformes présentes, peut donc déterminer l'efficacité de la contraction. C'est ainsi que dans le cas de l'utérus, il a été montré une synthèse d'actine et de myosine pendant la grossesse. (CSAPO, 1962, NEEDHAM et WILLIAMS, 1963).

En 1986, des études *in vitro* sur des extraits totaux d'utérus humain et de singe macaque (*Macacus fascicularis*) ont été réalisées par CAVAILLÉ et LEGER (1986). Ils ont montré que l'actine se présente sous trois formes alpha, bêta et gamma. La forme alpha est toujours minoritaire tandis que la forme bêta est majoritaire dans le cas de l'utérus non gravide et la forme gamma dans les utérus gravides.

En 1976, des études similaires électrophorétiques ont été également entreprises par HOH et Coll.(1976), et dans ce cas, il a été montré une seule bande électrophorétique. Mais il a été montré que les deux sous unités constituant cette molécule, ne présentent aucune variation de proportion en fonction de l'état physiologique (CAVILLE, 1985).

2.2.4. Rôle du calcium dans la contraction myométriale

RINGER (1883) a montré, pour la première fois, que la présence du calcium dans le milieu extracellulaire était indispensable au développement de la contraction cardiaque. Plus tard, il a été montré qu'une injection de calcium ionisé dans une fibre squelettique isolée de grenouille par l'intermédiaire d'une micropipette provoquait le raccourcissement de la fibre (BATRA et Coll, 1988).

Le calcium ionisé joue un rôle clé dans la contraction du muscle lisse utérin. Au cours du développement de l'activité contractile, le calcium fixé ou stocké dans les réservoirs internes est libéré dans le milieu intracellulaire (BATRA, 1986). Parmi les organites présents, nous insisterons sur certains d'entre eux en raison de leur importance fonctionnelle. Ce sont :

- la membrane plasmique dans laquelle nous avons des invaginations appelées cavéolae intracytoplasmiques, qui augmentent la surface de la cellule musculaire et constituent des réserves de calcium ;
- les mitochondries;

- le réticulum endoplasmique lisse

Il faut remarquer l'importance de ces éléments quant à leur intervention dans la contractilité cellulaire, en assurant les mouvements intracellulaires du calcium .

Ainsi BOLTON (1979) précise l'origine des différentes sources de calcium responsables de l'activation de l'appareil contractile. Ces sources sont :

- le canal sensible au potentiel, courant entrant, responsable du développement du potentiel d'action ,
 - le canal calcique dépendant du récepteur (ROC) mis en jeu par les amines stimulantes
 - la libération du calcium à partir du récepteur sur la membrane
- la libération du calcium à partir des structures internes de stockage (figure 3).

L'origine du calcium est multiple. D'une part, il est libéré à partir de stocks intracellulaires situés dans le chondriome, le réticulum sarcoplasmique, la face interne de la membrane cellulaire. D'autre part, il provient du milieu extracellulaire par voie transmembranaire, par diverses sortes de canaux :

- canal lié aux courants d'action (couplage électromécanique);
- canal commandé par des récepteurs spécifiques (couplage pharmacomécanique).

Ces deux types de canaux, représentent le site d'action des inhibiteurs calciques. Ces substances agissant selon leurs affinités pour les récepteurs . Ainsi l'adrénaline stimule la contraction chez la femme, elle est inhibitrice chez la rate (ROUSSEAU et Coll., 1981).

Les données recueillies à partir de fractions subcellulaires isolées montrent que la capture du calcium par les mitochondries peut jouer un rôle significatif dans le processus de la relaxation du myomètre humain ou de lapine.

La nifédipine favorise le recaptage du calcium ionisé dans la cellule, probablement grâce à une élévation de l'AMP cyclique par inhibition de la phosphodiesterase.

Alors que le pool calcique intracellulaire semble relativement faible et difficile à identifier, la participation du calcium extracellulaire dans la contraction est sans équivoque et peut représenter un niveau d'action pour des objectifs thérapeutiques. L'entrée du calcium extra-cellulaire est bloquée par certains agents qui sous la forme de radioligands servent aussi à caractériser les canaux calciques membranaires.

En utilisant 3H-nitrendipine (3H-NT) on a identifié et caractérisé les canaux calciques dans le myomètre. Des sites de liaison à forte affinité pour 3H-NT ont été trouvés dans des fractions membranaires de myomètre de rat, de lapin et de myomètre humain.

Ces résultats sont en accord avec les effets bien connus des oestrogènes sur l'excitabilité et la motilité utérine. Chez la femme les myomètres grévise et non grévise diffèrent par leur densité en canaux calciques.

2.2.5. Récepteurs du myomètre au cours de la gestation

La réponse d'un tissu à une molécule effectrice (hormone ou neurotransmetteur) dépend non seulement de la concentration plasmatique de la substance, mais de la présence d'un récepteur et de l'affinité de cette substance à ce récepteur. Il existe plusieurs types de récepteurs myométriaux :

- les récepteurs à l'ocytocine qui, est l'hormone endogène utérotonique la plus spécifique;
- les récepteurs aux prostaglandines E et F₂ alpha;
- les récepteurs alpha adrénériques (FUCHS, 1983);
- les récepteurs aux hormones ovariennes.

Le nombre des neuromédiateurs et la distribution des fibres nerveuses dans l'utérus suggèrent un rôle physiologique non négligeable dans le contrôle de la quiescence ou de l'activité myométriale. L'innervation utérine est essentiellement assurée par des neurones adrénériques à axone court. Le contrôle nerveux se fait au niveau des jonctions neuro-musculaires ou par l'action des cathécholamines sur les cellules myométriales (fig.5).

Depuis longtemps, on connaissait l'influence du système nerveux sympathique sur le muscle utérin. Déjà en 1964, DALE et FELDBERG montraient, sur le chat, les effets comparables de l'adrénaline et de l'excitation électrique des filets du nerf hypogastrique. En 1967, HOLTZ et WOLLPERT, sur le cobaye, observent la suppression de la motilité utérine en cours de gestation, par l'adrénaline. Toutes ces constatations n'apportent cependant aucune déduction thérapeutique.

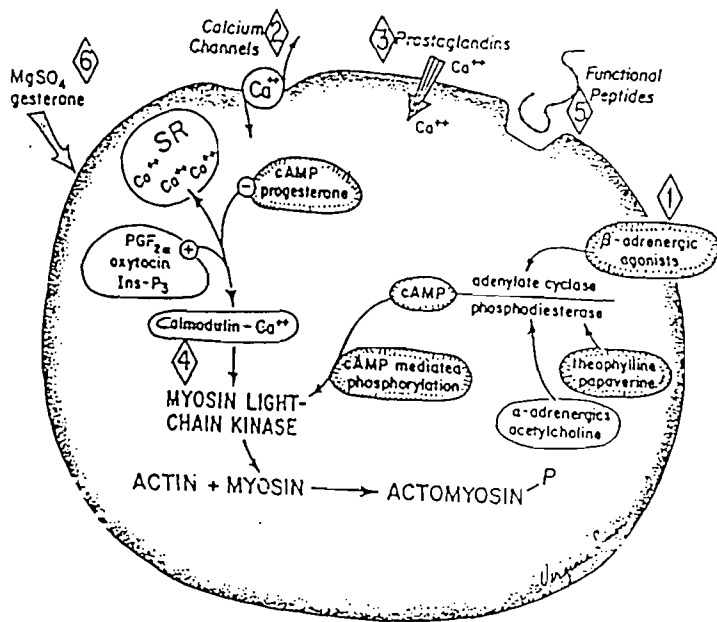
AHLQUIST, en 1948, se basant sur le fait que les réponses à une excitation du sympathique ne sont pas uniformes, émet l'hypothèse de l'existence dans les muscles lisses, de deux types de récepteurs : alpha, activateurs, et bêta, inhibiteurs. Certaines substances comme la noradrénaline, stimulent seulement les récepteurs alpha, tandis que l'adrénaline stimule en même temps les deux sortes de récepteurs. Cette conception est confirmée par la découverte de bloquants spécifiques des récepteurs adrénérgiques. Déjà dans sa première publication en 1948, AHLQUIST reconnaissait la sédation de l'utérus par la stimulation des bêta-récepteurs. Mais ce n'est qu'en 1967 que LANDS et Coll. différencient les

Figure 5

L'activité de la Kinase de myosine à petites chaînes, est modulée par le calcium et l'AMP cyclique. Selon les connaissances actuelles, 6 voies différentes peuvent être utilisées:

1. La voie bêta adrénérique-AMP cyclique, qui est à l'heure actuelle la voie la plus fréquemment utilisée;
2. Les anticalciques (Nitrendipine, Nifédipine ...)
3. Les inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines;
4. L'inhibition de l'interaction calcium/calmoduline-Kinase de myosine à chaîne légère;
5. L'utilisation des peptides qui altèrent la relaxine, certains peptides apparentes au VIP (Vasoactive Intestinal Peptide)
6. Les substances agissant au niveau membranaire comme le sulfate de magnésium ($MgSO_4$) ou les progestines.

(d'après HUSZAR, 1986)



récepteurs bêta 1 et bêta 2 bêta 1 spécifiques de la stimulation cardiaque, bêta 2 de la relaxation utérine et de la dilatation bronchique et vasculaire.

L'étude de l'effet des cathécholamines sur l'utérus doit tenir compte de l'espèce, de la couche musculaire étudiée, de l'imprégnation hormonale ou de l'action excitatrice ou inhibitrice selon l'amine considérée. Celle-ci agissant selon ses affinités pour les récepteurs alpha et bêta. Ainsi l'adrénaline stimule la contraction chez la femme, elle est inhibitrice chez la rate (ROUSSEAU et Coll., 1981).

2.2.6. Influence hormonale en période de gestation

Les hormones ovariennes (oestrogènes et progestérone) jouent un rôle de contrôle important au cours de la gestation sur la motilité utérine.

Le taux élevé de progestérone en début de gestation inhibe les contractions utérines. Cela plaide en faveur du maintien de la gestation (BEDFORD et Coll., 1972). Il est également signalé au cours des différents stades de la gestation, une diminution progressive de la concentration de la progestérone associée à une augmentation rapide du taux des oestrogènes en fin de gestation. Cette situation de prédominance oestrogénique favorise l'activité contractile de l'utérus durant la parturition.

Par ailleurs, la progestérone et les oestrogènes présentent des propriétés régulatrices sur divers récepteurs membranaires du myomètre. Ainsi, l'affinité des récepteurs à l'ocytocine sur le myomètre de lapin (NISSESON et Coll., 1978) et de rate ovariectomisée se trouve considérablement augmentée par les oestrogènes. La progestérone présente des effets contraires. Cette situation se traduit par un taux élevé d'ocytocine observé en fin de gestation. Des résultats similaires ont été obtenus sur les récepteurs aux prostaglandines (CSAPO, 1962; KURIYAMA et SUZUKI, 1976). L'ocytocine et les prostaglandines sont des substances connues qui provoquent l'accroissement de la force contractile utérine en fin de gestation (MIRONNEAU et Coll., 1977).

Dans ces conditions, il y a une profonde transformation de l'organisation de l'appareil contractile, caractérisée par un accroissement et une hypertrophie des cellules musculaires du myomètre (MARSHALL, 1959). Selon KAMEYA (1969), la plupart des organites cellulaires voient leur nombre augmenter au cours de la gestation. De même, il est noté des modifications des propriétés électriques

membranaires. CASTEELS et KURIYAMA (1965) observèrent que le potentiel de membrane augmente pendant la gestation.

Il est également mis en évidence que selon l'état hormonal, la réactivité pharmacologique du myomètre est variable. Les conclusions des travaux de MARSHALL (1959) montrèrent qu'en période de la gestation, le myomètre est sous dominance progestéronique. Dans ces conditions, le seuil d'excitabilité du muscle utérin est élevé avec pour conséquence une réduction de la contractilité du myomètre. Cette situation plaide en faveur de la nidation de l'oeuf fécondé.

RAHETY (1980) a démontré que la réponse du muscle lisse utérin aux catécholamines dépend également de l'état hormonal de cet organe au cours des différents stades de la gravidité. D'une façon générale il est noté des modifications morphologiques, cytologiques ainsi qu'une variation des phénomènes bioélectriques durant la gestation.

Ainsi il a été montré qu'au cours de la grossesse chez la femme, sous influence progestéronique, le taux de noradrénaline myométriale baisse pour n'atteindre qu'un taux égal à 2% de celui de l'utérus non gravide (THORBERT, 1979). Par ailleurs, CARSTEN (1974) a rapporté une action favorisante de la progestérone sur le repompage de calcium dans les sites internes. Cela se traduit sur le muscle utérin de la rate gestante sous dominance progestéronique par un état d'inactivation (REYNOLDS, 1965) ou "blocage progestéronique" (CSAPO, 1962).

Malgré la relative abondance de pompes calciques, elles varient considérablement d'un tissu à un autre. Ainsi CADWELL (1969) montre que l'EGTA et l'EDTA se lient sélectivement au calcium des systèmes biologiques. L'affinité de l'EDTA est plus élevée pour le calcium que celle de l'EGTA.

II - ETUDE BOTANIQUE ET ETHNOBOTANIQUE DE *CAESALPINIA BONDUC*

Caesalpinia bonduc, (Linn.) Roxb, Fl. 2:362 (1832), est de la famille des Caesalpiniciacées, du nom de Caesalpino, botaniste italien du XVII^e siècle. Elle est de la sous famille des Léguminosacées ayant pour principaux caractères des étamines libres en deux verticilles, l'ovaire supère, appartenant à l'ordre des Rosales.

Synonymes: *Guilandina bonduc* Linn.(1753)

Caesalpinia bonducella Fleming

Caesalpinia crista auct.,Dazniel

Guilandina bonducella Linn.

Noms usuels: bonduc (commun en français), awalé (en Akan)

1. Répartition géographique

Caesalpinia bonduc est une plante pantropicale répandue en Afrique, dans les fourrés aux abords des villages. Cette espèce est également souvent rencontrée à proximité des mangroves sur le littoral (ADJANOHOUN et AKE ASSI, 1979). Elle est généralement connue sous l'appellation de : Kpohoun (Oubi), Awalé (Attié), Awaré (Abbey), Ahalé (Baoulé), Waré (Abron).

2. Description ethnobotanique

Arbuste sarmenteux, grimpant à de nombreux rameaux entremêlés et garnis d'épines.

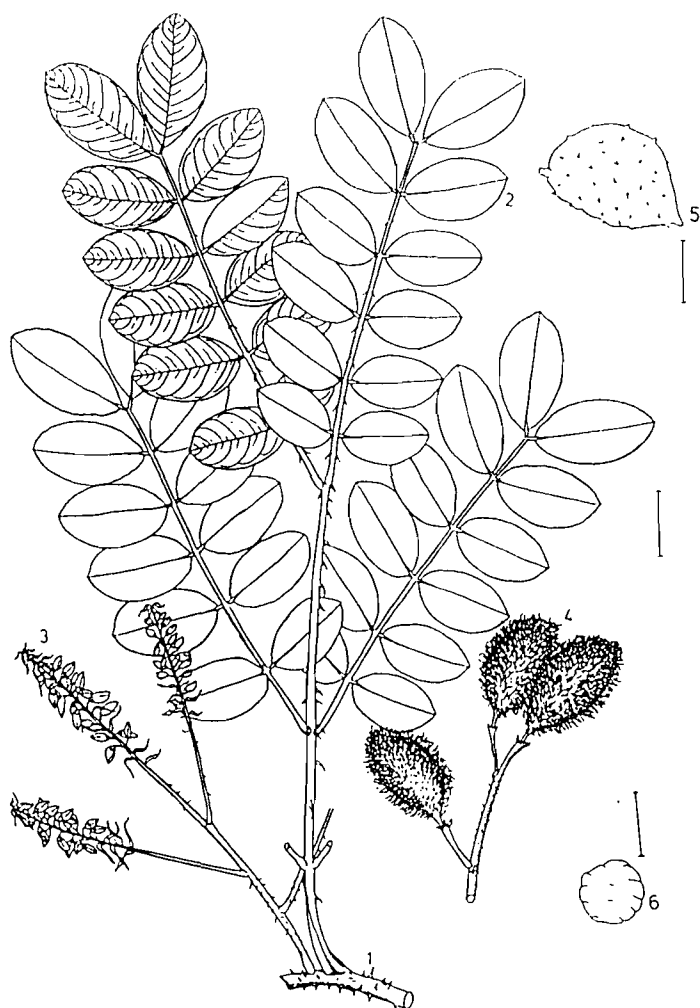
Les feuilles bipennées avec 4 à 7 paires de pennes, sont alternes, oblongues et elliptiques de 3,5 cm de longueur sur 2 cm de largeur, finement pubescentes. Les pennes de 6 à 10 cm de longueur, portent 4 à 6 paires de folioles ovales de 1,5 à 5 cm de longueur, de 1 à 3 cm de largeur. Le nombre de nervures latérales varient de 6 à 10. Les nervures sont peu saillantes. Les pétioles pubescents mesurent 3 à 6 cm de longueur.

Les inflorescences en panicules terminales ou subterminales, sont tomenteuses au niveau des axes. Les fleurs jaunes, larges de 1 à 1,2 cm, sont en grappes spéciformes, longues de 10 à 20 cm.

Figure 6

***Caesalpinia bonduc* (Caesalpiniacées)**

1. Rameau de tige épinée (x2)
2. Feuille
3. Inflorescence
4. Gousse
5. Fruit (x3)
6. Graine (x2)



La gousse elliptique, un peu aplatie longuement et densément épineuse, mesure 5 cm de longueur sur 3.5 cm de largeur, contient 1 ou 2 graines sphériques, lisse de couleur plombée vert-pâle.

3. Usages thérapeutiques

L'emploi de *Caesalpinia bonduc* pour le traitement de diverses affections a été signalé par plusieurs auteurs. Les différentes parties de cette plante sont employées en Médecine traditionnelle.

3.1. Racines

La poudre de racine est consommée en cas de dyspnée. Les racines semblent plus employées par les Pheuls comme antivenimeux et vermifuge, par les Niominkas comme aphrodisiaque et par les Wolofs comme fortifiant des dents et pour le traitement des paradontolyses (BERHAUT, 1967).

3.2.Tiges

Les tiges sont également employées pour le traitement de diverses affections. Ainsi les tiges feuillées broyées dans du jus de citron donnent un laxatif. Les Baulés utilisent la poudre de tige et des racines, délayée dans du vin de palme. De même chez les Sérères et les Niominkas, il est reconnu des propriétés aphrodisiaques aux tiges et racines de *Caesalpinia bonduc*. La tige est utilisée dans la guérison de la blennorragie et la distocie.

3.3.Feuilles

Caesalpinia bonduc (L.) Robx. est utilisé comme anti diarrhéique et analgésique dans le cas des céphalées. Il entre dans la composition de plusieurs préparations magiques. Les feuilles sont employées pour le traitement des épidémies de variole. Il nous a été signalé plusieurs fois comme remède contre les éruptions cutanées, les maux de ventre et les ictères.

Les feuilles et les racines fraîches, découpées, mises en macération dans une bouteille d'un litre, pendant 30 minutes, soignent la syncope après une prise en

boisson. Le macéré des folioles calme les gastralgies et triturées dans du jus de citron, soignent, les douleurs abdominales.

Contre diverses dermatoses, une décoction des parties aériennes de *Caesalpinia bonduc* associées à *Parquetina nigrescens*, dans quelques gouttes d'huile de palmiste, est employée contre les affections dermiques.

Les feuilles séchées, carbonisées et présentées sous forme de poudre sont utilisées en Gynécologie contre la dysménorrhée. Pour faciliter les accouchements, on triture les feuilles en association avec celles de *Byrsocarpus coccineus* dans deux litres d'eau, l'extrait aqueux est donné en boisson à la femme. L'effet est obtenu deux heures après. En dystocie, le décocté de 20 g de tiges feuillées dans deux litres d'eau, est bu à volonté par la patiente, à la suite des couches pathologiques (AKE ASSI et TAHIRI ZĀGRET, 1979). Cette plante est utilisée comme abortive et facilite l'expulsion de fœtus morts chez la femme enceinte (VANGA, 1986).

3.4. Fruits

On reconnaît à la poudre de la graine, dont le goût amer très prononcé, des propriétés fébrifuges, mises quelques fois à profit dans le traitement du paludisme (KERHARO et BOUQUET, 1950).

4. Pharmacologie

Déjà au siècle dernier, DUJARDIN-BEAUMETZ et EGASSE recommandaient, même pour les fièvres intermittentes, la prise de 1 à 2 g trois fois par jour d'une poudre composée à parties égales de graines de bonduc et de poivre.

Il a été prouvé en 1947 que ces graines étaient inactives contre le paludisme expérimental des poussins. Par contre IYENGAR et PENSDE (1965) ont mis en évidence leurs propriétés antidiarrhéiques chez les souris et estiment qu'on ne peut les attribuer aux tanins qui n'existent pas dans la drogue. Le goût amer de la graine et son pouvoir fébrifuge en Médecine populaire indienne avait tout naturellement incité les médecins à prescrire cette drogue comme antimalarique (antipaludique) (FENG et Coll., 1964).

Des extraits de rameaux feuillés montrent chez la souris par voie intrapéritonéale une toxicité aigüe aux doses correspondant à 1 g de drogue par kilogramme de poids corporel. Chez le chien les mêmes extraits provoquent une baisse de la pression sanguine (SPENCER et Coll., 1947).

Les extraits aqueux de racine, de tiges et de feuilles donnent une action intéressante sur le sarcome 180. En effet, IYENGAR et PENSDE (1965), ont obtenu expérimentalement une réduction des tumeurs chez l'animal traité dans la tranche de 65 à 100 unités. DHAR et Coll. (1968), ont constaté une certaine activité antivirale (*Virus vaccinia*) avec les extraits de racines.

Les extraits alcooliques provoquent une hypotension chez le chien et une dépression sur le coeur de grenouille (WATT et BREYER, 1962).

Les travaux de COCKER (1966) ont déterminé la structure des principes amers de graines de cette *Caesalpiniacée*, il s'agit des alpha, bêta et gamma césalpines. Ces mêmes graines auraient une activité antidiarrhéique chez la souris. Cette plante renferme en outre du n-heptacosane, du sitostéroïde et un dérivé du benzopyrane: la braziline. Il est rapporté que le principe actif des graines est un alpha césalpine du groupe des diterpénoïdes. Cette plante utilisée de façon extensive dans la Médecine traditionnelle jamaïcaine est essentiellement due à la *Caesalpin F*, un nouveau furanoditerpène (PASCOE, 1986). L'étude récente de RAO et Coll (1994) montre l'effet antihyperglycémique de cette drogue administrée chez des Lapins.

C - MATERIEL ET METHODES

I - MATÉRIEL BIOLOGIQUE

1 - Les animaux

Les Rats ont été élevés à l'Animalerie du Département de Biologie et Physiologie Animales; les Lapins et les Cobayes ont été achetés sur les marchés locaux et les Souris proviennent de l'élevage de l'Institut Pasteur d'Abidjan. Les animaux en provenance de l'extérieur sont acclimatés pendant une semaine au moins avant leur utilisation.

1.1. Les souris

Les études de toxicité et de l'actogramme de l'extrait de *Caesalpinia bonduc* ont été réalisées sur des Souris blanches de souche SWISS âgées de quatre à six semaines et pesant 25 à 30 g. Les souris utilisées sont des deux sexes pour le test de toxicité et de sexe mâle pour l'actogramme, car les hormones sexuelles influencent l'activité locomotrice des femelles dans la cage d'élevage.

Pendant leur séjour à l'animalerie, les animaux sont nourris aux granulés IVOGRAIN fabriqués par la Station de Recherche de Layo. Ils sont abreuvés à l'eau de robinet contenue dans des biberons. Ces animaux sont repartis en lots de quatre.

1.2 . Les rats

Les Rats utilisés, issus de la souche WISTAR, sont des deux sexes et pèsent de 250 à 300 g. Ils sont mis en reproduction à raison de trois femelles pour un mâle par cage. Le début de gestation est déterminé à l'aide de la technique de frottis vaginaux. Les Rats sont nourris dans les mêmes conditions que les Souris.

Les études de la contraction du muscle tibial antérieur et de l'activité contractile du myomètre sont respectivement réalisées sur des Rats mâles et des Rats femelles en fin de gestation (19 à 21 jours), car à cette période, le muscle utérin devient hyper-excitable et répond mieux à l'action des substances pharmacodynamiques.

1.3. Les cobayes

Les Cobayes *Cavia* utilisés sont des deux sexes, et pèsent 500 à 650 g. Ils sont nourris de feuilles fraîches et/ou sèches de *Panicum maximum* (Graminées). Il leur est imposé un régime adipique sans eau, car l'eau provoque, chez ces animaux, de fortes diarrhées pouvant entraîner leur mort. Quand ces conditions d'élevage sont satisfaisantes, les animaux grossissent et croissent rapidement en l'espace de deux à trois semaines. Ils sont repartis en groupe de quatre animaux par cage. Avant son utilisation, le cobaye est isolé dans une cage et mis à jeun 24 heures.

La mesure de la pression sanguine carotidienne, l'étude de l'activité électrique globale du coeur (électrocardiographie), ont été réalisées sur des Cobayes.

1.4. Les lapins

Les Lapins sont de l'espèce *Oryctolagus cuniculus* (Léporidés) et pèsent 3 à 4 kg. Ils sont nourris aux granulés. Ils sont utilisés pour la mesure de la pression artérielle au manomètre de Ludwig et pour la respiration.

1.5. La vipère (*Bitis arietans*)

Les serpents, de par leur caractère venimeux, ont toujours été l'objet d'une crainte ou d'une répulsion irrépressible chez l'homme. Cependant, certaines espèces ne sont pas venimeuses (MAZE et SANKALE, 1988).

Il existe trois familles principales de serpents venimeux qui sont les Vipéridés, les Elapidés et les Colubridés (ARON et Coll., 1986). En Côte d'Ivoire, 82 espèces de serpents ont été recensées, mais seulement une dizaine est très dangereuse pour l'homme.

L'espèce *Bitis arietans* appelée Vipère heurtante ou Vipère hébraïque appartient à la famille des Vipéridés. Ce sont les serpents venimeux les plus largement répandus en Afrique. Cette vipère vit, de préférence, dans les lieux secs, pierreux et ensoleillés. La forme de ces serpents est spécifique. Le mode d'inoculation et l'extraction du venin, de cette espèce, sont délicats.

L'étude du venin de cette Vipéridé, nous permettra d'approfondir les informations recueillies par KERHARO et ADAM en 1974, selon lesquelles l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* aurait un effet antivenimeux.

Comme les autres vipères, la vipère heurtante est ovovivipare. Elle se reconnaît par sa tête triangulaire et sa longueur pouvant atteindre 1 m 50. La tête est nettement séparée du cou. Le corps est trapu. La queue est courte. L'on note l'existence de deux ou trois rangées d'écaillés entre l'oeil et la mâchoire.

2 - Matériel végétal

2.1. Répartition géographique

Caesalpinia bonduc est une espèce pantropicale, rencontrée dans les fourrés aux abords des villages. Cette espèce est également souvent rencontrée à proximité des mangroves sur le littoral (MALCOLM et SOFOWORA, 1969).

2. 2. Description systématique

Caesalpinia bonduc est rencontrée dans les régions du littoral et du centre de la Côte d'Ivoire (VANGAH, 1986). Sa position systématique est la suivante:

Embranchement: Spermaphyte

Sous-embranchement: Angiosperme

Ordre: Fabales (Leguminosae)

Tribu: Caesalpinieae

Classe: Dicotylédones

Sous-classe: Dialypétales

Famille: Caesalpinaceae

Genre: *Caesalpinia*

Espèce: *bonduc*

II - TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

1 - Technique d'extraction des substances naturelles étudiées

1.1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* (EACB)

Les feuilles de *Caesalpinia bonduc* peuvent être utilisées, soient fraîches, soient séchées. Dans le cas de notre étude, nous avons utilisé de préférence les feuilles séchées par souci d'une meilleure conservation des récoltes.

Les feuilles, préalablement séchées au Laboratoire (25 à 30°C), sont finement broyées et réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique. Dix grammes de feuilles broyées sont introduites dans un erlenmeyer. On y ajoute 100 ml d'hexane comme solvant en raison de son caractère apolaire. L'extrait hexanique obtenu après filtration n'est pas utilisé. Cet extrait est susceptible de contenir des substances telles que les huiles essentielles, les triterpènes, les caroténoïdes et les flavones. Après macération, le résidu est séché au laboratoire à une température de 25 à 30°C. Ce résidu est repris dans l'eau bidistillée, solvant très polaire.

Après 24 heures de mixage à l'aide d'un agitateur magnétique, la solution est filtré. Cette opération est répétée deux fois afin de récupérer tous les composants solubles dans l'eau. A l'aide d'un rotavapor BUCHI, les filtrats obtenus, sont récupérés dans différents ballons. L'ensemble du processus d'extraction est schématisé dans le tableau n°I.

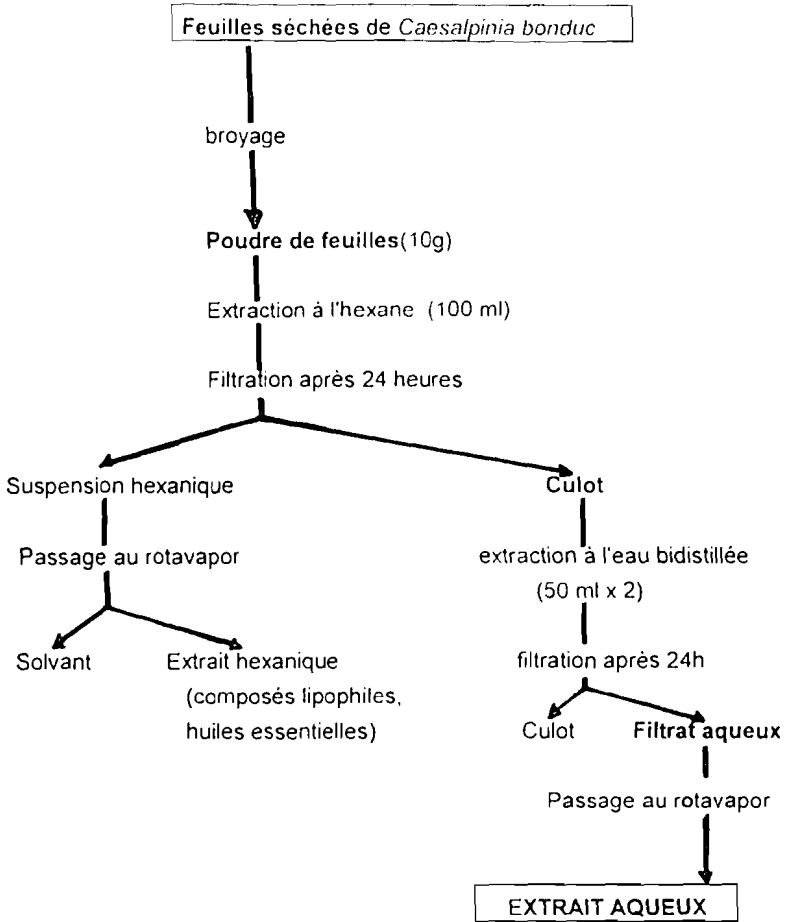


Tableau I: Schéma de la préparation de l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* (EACB)

1.2. Venin de *Bitis arietans*

1.2.1. Extraction du venin

La méthode d'extraction du venin est celle décrite par KONE (1980), N'DOKAIN (1987), ATIN (1988) et MOUSTAPHA (1992). Le venin utilisé au cours des différents tests provient du Serpentarium de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. L'animal est d'abord immobilisé à l'aide d'une fourche au niveau du cou par un technicien spécialiste qui le saisit ensuite à ce niveau, ce qui oblige l'animal à ouvrir grandement la gueule. On simule une morsure et le venin s'écoulant par les crochets est recueilli dans un bêcher gradué recouvert de papier paraffine au niveau duquel les crochets s'enfoncent. Le volume recueilli varie de 1 à 3 ml selon l'espèce et la taille du serpent.

Une légère pression exercée au niveau des glandes situées dans la bouche permet d'accroître la quantité de venin recueilli de 0,5 ml. Ce venin est ensuite transvasé dans un ballon placé à l'intérieur d'une glacière contenant du carbogène. Il est alors lyophilisé et conservé dans un congélateur et sera utilisé pour les tests pharmacologiques.

1.2. 2. Composition du venin des Vipéridés

La venimosité des Vipéridés serait due à la présence de toxines et d'enzymes. Le venin de serpent est composé d'une fraction protéique et d'une fraction non protéique. La fraction protéique est composée de trois éléments qui sont :

- les enzymes essentiellement des hydrolases
- les toxines responsables de la toxicité du venin
- les facteurs de croissance liés au système nerveux.

L'analyse biologique des venins et les troubles enregistrés lors des envenimations (effet nécrosant) ont conduit à distinguer deux groupes de serpents qui sont les Elapidés et les Vipéridés. Contrairement aux Elapidés dont le venin est riche en toxines (neurotoxines, myotoxines et cytotoxines), celui des Vipéridés est riche en enzymes du type acétylcholinestérase, phosphatase, hyaluronidase et phospholipase (MAZE et SANKALE, 1988).

1.2.3. Mode d'inoculation du venin

Les Vipéridés, espèces solenoglyphes aux crochets érectiles, représentent le sommet de l'évolution dans la fonction venimeuse. Pour mordre, ils projettent avec violence leur tête, crochets déployés d'où leur nom de vipère heurtante. Ils inoculent leur venin à l'aide de deux crochets situés à l'avant de la mâchoire supérieure.. Ces vipères sont actives dès le coucher du soleil. On les rencontre en Côte d'Ivoire souvent dans la savane jusqu'aux limites de la forêt (YASSINE, 1986).

2 - TECHNIQUES D'INTUBATION

La dissection est réalisée pour les tests pharmacologiques suivants :

- mesure de la pression artérielle sanguine de lapin et de cobaye
- enregistrement de l'activité mécanique tibiale de rat
- activité électrique globale du coeur de cobaye.

Pour cela, l'animal est anesthésié par voie intrapéritonéale à l'éthyle uréthane (20%) à raison de 1 g/kg de poids corporel.

2.1. Dissection de la veine jugulaire

La veine jugulaire est située le long du cou sur la face ventrale. Le cobaye est placé en décubitus dorsal sur une planche à dissection. Ses quatre pattes sont maintenues avec des noeuds lâches liés aux bords de la planche. Pour l'isolement de la veine jugulaire, la peau du cou est incisée sur environ 5 cm. Les différents plans musculaires sont délicatement coupés à l'aide d'une paire de ciseaux, pour mettre en évidence les artères, les veines et les différents nerfs. La veine jugulaire, est en premier lieu disséquée, parce que plus facile à repérer. Cette veine est débarrassée de ses adhérences et mise à nu par détachement progressif du tissu conjonctif. La veine jugulaire est ligaturée à l'aide d'un noeud réalisé avec un fil de tresse. Après une hémisection, la cathétérisation de la veine est faite avec un cathéter adapté à une seringue remplie de solution physiologique de type Mac Ewen, faiblement héparinée afin d'éviter la coagulation du sang dans le cathéter. Le cathéter ainsi engagé dans la veine, est ligaturé avec le vaisseau.

2.2. Dissection de la veine saphène

L'animal utilisé est le Lapin. Il est anesthésié à l'éthyle uréthane à 20% à raison de 1 g/kg de poids corporel. L'animal est ensuite placé sur la planche à

dissection en décubitus dorsal. Après avoir posé un garrot au niveau de la cuisse de la patte postérieure gauche, la peau est incisée à l'aide d'une paire de ciseaux. Le plan musculaire de la cuisse est ouvert à l'aide de pinces fines. La veine saphène repérée est débarrassée du tissu conjonctif. Une hémisection est effectuée. La veine est intubée à l'aide d'un cathéter relié à une seringue remplie de solution physiologique héparinée. Le garrot est ensuite ôté et une quantité de 0,5 ml de cette solution est injectée afin d'éviter toute coagulation dans la veine.

2.3. Dissection de la carotide

La carotide est une artère. Elle a servi à l'enregistrement de la pression artérielle. La carotide gauche repérée en dessous de la trachée artère est dégagée de ses adhérences et des nerfs. Elle se reconnaît par sa taille et sa couleur (rouge sombre). Mais sa cathétérisation est plus délicate que celle de la veine saphène et s'effectue à l'aide d'une canule remplie d'une solution de Mac Ewen héparinée, reliée soit au polygraphe BECKMAN, soit au système manométrique de LUDWIG.

La cathétérisation nécessite une dissection parfaite et correcte de la carotide. Après le passage de deux fils de tresse sous cette artère, elle est clampée en amont et ligaturée en aval, on réalise une hémisection transversale du vaisseau, on y introduit le bout de la canule en direction du coeur et on la ligature fortement. La pince à clamber est alors retirée. Le stylet inscripteur enregistre sur le papier ALVAR, les oscillations de la pression artérielle.

2.4. Dissection de la trachée artère

Chez le Lapin, la trachée artère est très facilement repérable à cause de sa taille, de sa couleur blanchâtre et de son aspect annelé. Après isolement, on opère une hémisection par laquelle on introduit une canule reliée à une capsule de MAREY, en direction des poumons. Cette capsule permet l'enregistrement des mouvements respiratoires qui sont transmis à un stylet inscripteur.

3 - DISSECTION DE STRUCTURES CONTRACTILES

3.1 Dissection du muscle tibial antérieur de Rat mâle

L'animal est anesthésié avec 1 ml d'éthyle uréthane à 20% injecté par voie intrapéritonéale. Après 10 à 15 minutes, l'animal est placé dans un bac à dissection et maintenu grâce à des épingles fines qui clouent ces pattes au liège du bac.

La dissection commence par une incision de la peau de la patte postérieure droite. Le muscle gastrocnémien est dégagé du tissu conjonctif jusqu'aux tendons. La ligature est effectuée au niveau des tendons et permet de relier le muscle au transducer FT-O3C.

Le nerf sciatique repéré au niveau des deux plans musculaires fessiers, est délicatement mis à nu sur la face externe de la cuisse. Des électrodes de stimulation sont placées sous le nerf et les chocs de stimulation sont délivrés par un stimulateur GRASS S9.

Le muscle tibial mis à nu est périodiquement aspergée de solution physiologique de type Mac Ewen, pour éviter qu'il se dessèche.

3.2. Dissection de bandelettes de myomètre

Il est démontré que la capacité contractile du muscle utérin est sous influence hormonale (OSA, 1973 ; OFFOUMOU, 1980). Ainsi pour l'utérus non gestant, sous influence progestéronique, l'activité contractile est très réduite en raison de l'inexcitabilité du muscle. Par contre, le muscle utérin en fin de gestation et plus précisément au moment de la parturition ou de l'accouchement est sous l'influence dominante d'oestrogènes. Dans ces dernières conditions, l'organe utérin devient hyper-excitabile et répond aisement à l'action des substances pharmacologiques.

Les femelles utilisées sont tuées par dislocation cervicale. On procède immédiatement à une laparotomie médiane. En effet, une trop longue attente entre la mort de l'animal et le début de l'expérience risquerait de diminuer ou même de supprimer la motricité intrinsèque de l'utérus isolé.

Les deux lobes utérins sont prélevés et débarrassés de leurs foetus, par une incision le long de la zone médiane de placentation, à l'aide d'une paire de ciseaux fins. L'organe isolé est placé dans un bûcher contenant du Mac Ewen et soumis à une oxygénation. Une portion d'utérus est récupérée et étalée dans une cuve à dissection sur un gel de rhodorsil. Cette cuve est remplie de liquide physiologique soumis à un barbotage de carbogène dont le débit est réglé à une bulle par seconde pour éviter l'anoxie de la préparation. Les bandelettes de myomètre isolées, présentent des contractions spontanées et rythmiques.

La paroi utérine est constituée de trois tuniques qui sont l'endomètre, le myomètre et la séreuse péritonéale.

L'endomètre se reconnaît par ses formations en dentelles et est surmonté de vaisseaux sanguins de faible dimension. Après avoir débarrassé la préparation de l'endomètre, on observe le myomètre caractérisé par la présence de bandes musculaires, constituées de fibres irrégulièrement entrecroisées (OFFOUMOU, 1973). Plus récemment, d'autres auteurs ont isolé les deux types de couches circulaire et longitudinale (TOMIYASU et Coll.; 1988).

La dissection des faisceaux de fibres musculaires est effectuée sous une loupe binoculaire de type WILD. La préparation est éclairée à l'aide de fibres optiques. Cette dissection permet d'isoler les bandelettes de myomètre.

Les faisceaux musculaires individualisés, sont isolés sur une largeur de 3 à 4 mm et un diamètre de 100 micromètres, ils représentent l'unité physiologique du muscle lisse utérin (MIRONNEAU et Coll., 1977). Les bandelettes isolées dans le sens longitudinal ont une longueur de 5 à 6 mm et une largeur de 2 mm. Cette dimension est suffisante pour avoir des contractions synchrones de toutes les fibres (OSA, 1975; OFFOUMOU, 1980). Les autres bandelettes sont conservées dans un becher également oxygéné et seront utilisées ultérieurement pour d'autres tests. Cette oxygénation permet la survie des lambeaux pendant une période de six heures.

Après isolement de la bandelette, l'un de ses deux bouts est attaché avec du fil de tresse qui porte un noeud ouvert de 5 mm environ de diamètre. Ce noeud permet la fixation de la préparation biologique à un transducer. La préparation est montée dans une cuve expérimentale à organe isolé, remplie d'un gel de rhodorsil. Elle est maintenue en survie grâce à une perfusion continue de solution physiologique de type Mac Ewen, à un débit de 1 ml/seconde. Dans cette solution,

on barbote le carbogène pendant toute la durée de la manipulation.

4 - MÉTHODE D'ÉTUDE TOXICOLOGIQUE

4.1. Toxicité

Dans le cadre de notre travail, nous avons étudié la toxicité aiguë qui consiste à administrer une dose unique de la substance étudiée et à en observer les effets sur le comportement et la vie de l'animal (souris) traité. Nous avons déterminé les paramètres physiologiques, après 24 heures, de l'action l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc*.

4.1.1. Observation des indices de souffrance

Les paramètres qui permettent d'apprécier et de suivre les indices de souffrance dans ce test sont la locomotion, la torsion du corps, les mouvements respiratoires, le toilettage, la défécation et surtout les taux de mortalité.

4.1.2. Détermination des paramètres pharmacologiques

Les résultats obtenus sont exprimés graphiquement. Cette représentation tient compte du pourcentage de mortalité exprimé en unités probits, en fonction de la dose de l'extrait injecté chez l'animal pendant une période de 24 heures. Les paramètres physiologiques à déterminer sont :

- la dose létale 100 ou DL_{100} qui est la limite inférieure de dose produisant 100 % de mortalité observée .
- la dose létale 50 ou DL_{50} , c'est la dose tuant la moitié des animaux traités d'un lot après une période donnée. La DL_{50} peut être déterminée par la méthode graphique et par la méthode de calcul de DRAGSTEDT et LANG. Cette deuxième méthode repose sur le postulat suivant :
- tout animal ayant survécu à une dose, aurait survécu à toute dose inférieure à celle qui lui aurait été administrée,

- tout animal ayant succombé à une dose, aurait succombé à toute dose supérieure à celle qui lui aurait été administrée.

Ainsi, nous pouvons cumuler pour chaque dose tous les morts aux doses inférieures et tous les vivants observés aux doses supérieures. Pour chaque dose, nous calculons le pourcentage de mortalité égal à :

$$\frac{\text{nombre de morts cumulés} \times 100}{\text{nombre de vivants cumulés} + \text{nombre de morts cumulés}}$$

De là, la DL₅₀ est calculée par la formule suivante :

$$DL_{50} = \frac{50 (X_2 - X_1) + X_1 Y_2 - X_2 Y_1}{Y_2 - Y_1}$$

X₂ = Dose supérieure encadrant la DL₅₀

X₁ = Dose inférieure encadrant la DL₅₀

Y₂ = Pourcentage de mortalité correspondant à X₂

Y₁ = Pourcentage de mortalité correspondant à X₁

Ces différentes valeurs sont déterminées graphiquement à partir de la courbe du taux de mortalité des souris exprimé en unité probit en fonction de la dose de substance injectée (MEIER et THEAKSTON, 1986). Le pourcentage de mortalité des souris s'étale de 0 à 100 % selon la dose administrée à la souris après 24 heures. Ce test permet l'évaluation des limites possibles de l'utilisation de l'extrait de *Caesalpinia bonduc*.

4.2. Méthode

Après avoir pesé les souris, elles sont réparties en lot de dix, dans des cages étiquetées. Le poids moyen des souris de chaque lot est déterminé. Les solutions diluées sont injectées par voie intrapéritonéale (IP) à raison de 0,5 ml. Les souris d'un même lot reçoivent des solutions de même concentration. Cette première étape permet d'obtenir les concentrations qui provoquent respectivement 100 % et 0% de mortalité.

Au cours d'une seconde étape, nous effectuons des dilutions intermédiaires entre ces deux concentrations limites en vue de déterminer la dose létale 50.

5 - TECHNIQUE D'ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ LOCOMOTRICE DE LA SOURIS

L'activité locomotrice spontanée, qui est une composante de l'activité générale spontanée, peut être enregistrée au moyen d'un actographe. Les tests pharmacologiques sur l'activité générale spontanée sont étudiés sur des souris traitées à l'EACB à différentes doses. L'activité locomotrice est alors enregistrée dans ce cas précis sous forme d'un actogramme.

5.1. Dispositif expérimental

Le dispositif utilisé permet la mesure des variations du champ magnétique induit par le déplacement de la souris sur un plateau. On utilise à cet effet un actographe de type AUTOMEX. Cet appareil permet l'étude de l'activité exploratoire des rongeurs en général.

L'actographe fonctionne comme un capteur de champ électromagnétique. Il est composé d'une base comprenant des cellules photo-électriques. Sur cette base est déposée une cage en plexiglas où est placé l'animal. Ainsi chaque déplacement de l'animal modifie le champ électromagnétique. L'actographe est muni d'un compteur type MONITOR sur lequel est affiché automatiquement le nombre des déplacements de l'animal. Ces déplacements peuvent aussi être réalisés grâce à un dérouleur graphique LAFAYETTE de type RESEARCH CUMULATIVE RECORDER. Celui-ci matérialise dans le temps les déplacements de l'animal. L'enregistrement est fait sur papier ALVAR à une vitesse de 1 mm/s (figure 7).

5.2. Méthode d'étude de l'activité locomotrice de la souris

Nous utilisons des souris de sexe mâle, provenant d'un élevage homogène, pesant entre 26 et 30 g. Les animaux sont repartis en lot de dix dans des cages et cinq groupes expérimentaux pour l'étude de l'influence de l'extrait et du propranolol sur la locomotion de souris. L'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* est utilisé aux doses variant de 10^{-5} à $5 \cdot 10^{-1}$ g/ml et le propranolol est utilisé aux doses de 10^{-3} et 10^{-4} g/ml.

Nous avons pratiqué le test dans une pièce éclairée à la lumière du jour. La

température étant de 25° C. La pièce n'est pas insonorisée, mais le test est pratiqué en dehors de tout bruit aigu. Pendant toute la durée du test, l'expérimentateur garde un silence absolu et reste immobile, pour ne pas perturber l'animal.

Les animaux devant servir à l'expérimentation sont acclimatés dans des cages la veille, dans la pièce même où est pratiqué le test. Le test est toujours pratiqué à la même période de la journée entre 7 et 9 heures du matin. Les souris sont déposées une à une dans la cage en Plexiglas de l'actographe, et sur la base de l'appareil, est marqué le nombre de fois que l'animal traverse un faisceau photoélectrique. Pour chaque série d'expérience, nous avons réalisé un lot témoin. Les solutions à tester sont diluées dans du sérum physiologique (NaCl 9 ‰) et injectées par voie intrapéritonéale.

5.3. Enregistrement de l'activité locomotrice

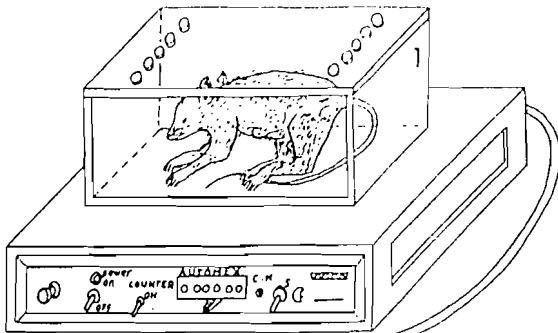
L'actographe est mis en marche pendant 10 minutes afin de stabiliser les variations de champ magnétique induit dans le milieu. Pour la manipulation proprement dite, la souris est placée dans la cage en plexiglas pendant 15 minutes, avant l'injection des substances, pour éliminer la phase exploratoire. Après la période de la phase exploratoire, la durée de l'expérimentation est de 45 minutes.

L'actogramme obtenu, traduit la variation du nombre de déplacements de l'animal dans l'enceinte, en fonction du temps. Le nombre de déplacements est lu sur le compteur par période de 3 minutes. Cet enregistrement donne la valeur cumulée des déplacements par minute, ce qui correspond à l'activité locomotrice. Des courbes sont obtenues pour chaque groupe traité d'un instant t_n à un instant t_{n+1} ce qui permet de quantifier l'activité locomotrice par la détermination des pentes des courbes obtenues. Les pentes sont exprimées en nombre de déplacements par minute. Une représentation sous forme d'histogrammes des valeurs des pentes permet de comparer l'effet de l'extrait de *Caesalpinia bonduc* et du propranolol.

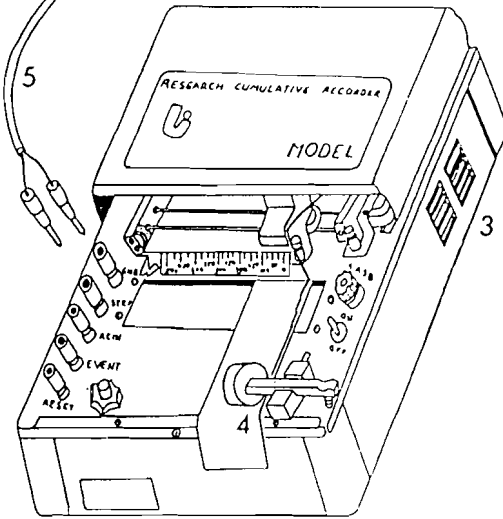
Figure 7

Dispositif expérimental pour l'enregistrement de l'activité locomotrice de Souris (Actogramme)

- 1. Cage en plexiglas**
- 2. Actographe AUTOMEX**
- 3. Enregistreur LAFAYETTE 2i**
- 4. Compteur MONITOR du nombre de déplacements**
- 5. Fils de connection**



2



5

3

4

6 - MÉTHODE D'ENREGISTREMENT DE L'ACTIVITÉ RESPIRATOIRE ET DE LA PRESSION ARTÉRIELLE SANGUINE

6.1. Dispositif d'enregistrement de l'activité respiratoire

Le dispositif expérimental est un circuit fermé. Il comporte la canule trachéale qui transmet directement l'air des poumons à un vase renfermant de la chaux sodée. Ce vase est surmonté d'une cloche spirométrique dont l'abaissement indique la consommation d'oxygène. Ce système est relié à une capsule manométrique de MAREY qui capte les mouvements respiratoires. Ces mouvements sont amplifiés par un stylet enregistreur sur un cylindre enfumé mu par un moteur et tournant à une vitesse constante de 1 mm/s.

6.2. Mesure de la tension artérielle sanguine

La méthode dite sanglante est utilisée pour l'étude de la tension artérielle sanguine. Il s'agit de la méthode manométrique de LUDWIG, et la méthode de capteur de pression polygraphique BECKMAN.

6.2.1. Méthode manométrique de LUDWIG

L'appareil standard utilisé pour mesurer la pression artérielle est le manomètre à mercure de LUDWIG. Ce manomètre porte un tube de verre en U comportant deux branches qui contiennent du mercure. L'une des branches du tube adaptée à une seringue, est surmontée de solution physiologique reliée à un cathéter en polyéthylène, pour régler la sensibilité de l'appareil. L'autre branche est reliée à un cathéter utilisé pour intuber la carotide. Ce cathéter est rempli de Mac Ewen hépariné qui joint le sang et le mercure.

6.2.2. Méthode de capteur de pression du polygraphe BECKMAN

Le polygraphe BECKMAN permet l'enregistrement simultané de plusieurs paramètres physiologiques (pression artérielle, ECG, EMG). Dans cette étude, il s'agit d'enregistrer la pression artérielle par cathétérisation de l'une des artères carotidiennes de l'animal anesthésié. Dans ces conditions, il est possible de mesurer la pression systolique (maxima) et la pression diastolique (minima) ou la pression

moyenne de l'animal en même temps que sa fréquence cardiaque. Les variations de la tension artérielle sont transmises à un capteur de pression, connecté à l'enregistreur BECKMAN. Le phénomène est enregistré sur un papier ALVAR dont la vitesse de déroulement est de 2,5 mm/s. Les substances pharmacologiques à tester sont injectées par voie intraveineuse (veine jugulaire) grâce à une seringue reliée au cathéter adapté à la veine.

7 - ENREGISTREMENT DE L'ÉLECTROCARDIOGRAMME (ECG) DE COBAYE PAR LA MÉTHODE DE DERIVATION STANDARD

De nombreux travaux ont montré qu'il est possible d'enregistrer l'activité électrique du coeur à distance et à travers la peau. En effet, l'activité cardiaque donne naissance à un champ électrique que l'on peut mettre en évidence à l'aide d'électrodes périphériques. Notre étude a été menée sur le Cobaye contrairement aux études antérieures faites sur le Rat, le Pangolin et le Singe (TRICOCHÉ, 1967 ; KREHER, 1973 ; AKA, 1980).

La technique utilisée, est basée sur l'enregistrement et la mesure en continu de phénomènes bioélectriques. Le dispositif expérimental utilisé représenté sur la figure 8 est l'enregistreur graphique (PRAXIGRAPH II-IR) de type ALVAR. Le principe de l'enregistrement est l'application de tension sur une plume galvanométrique. Avant toute manipulation, il est nécessaire de régler la constante de temps (CT), le filtre (F), et la vitesse de déroulement du papier (V).

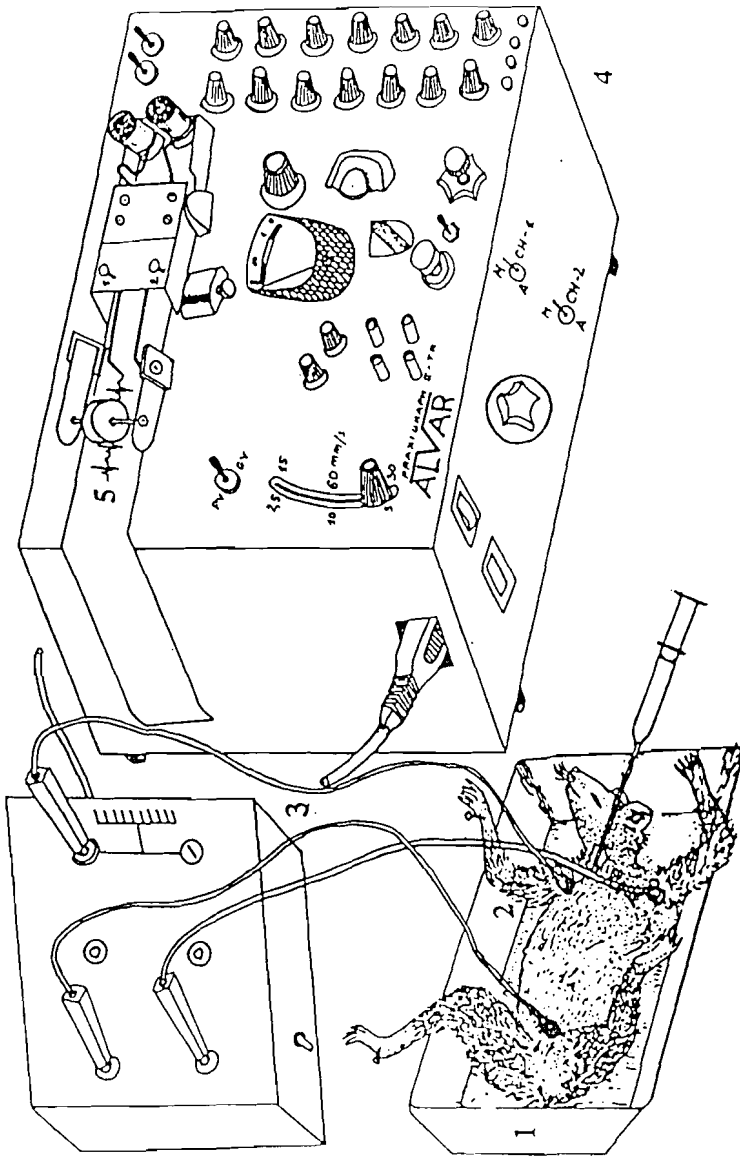
Dans cette expérimentation, nous avons seulement enregistré l'activité électrique globale (Électrocardiogramme) de Cobaye à partir de la dérivation standard DII. Pour cela, nous avons adopté sur le Cobaye, la technique originale utilisée par TRICOCHÉ en 1967 sur le Rat.

L'animal est anesthésié à l'éthyle uréthane (20%), ce qui permet d'éliminer ses réflexes immédiats qui pourraient entraîner des phénomènes de compensation et de restauration d'effet. Il est placé en décubitus dorsal sur un support de liège, les 4 pattes légèrement maintenues par des bracelets en caoutchouc adaptés aux bords du support. Les 3 pattes qui servent à la pose des électrodes sont rasées à l'aide d'une paire de ciseaux. Ces 3 électrodes ont les bouts enrobés de chlorure d'argent (AgCl). Cette technique est de type langue - anus.

Figure 8

Dispositif expérimental pour l'enregistrement de l'électrocardiogramme (ECG) de Cobaye avec la dérivation standard DII

1. Support en liège (bac)
2. Animal (Cobaye)
3. Electrodes
4. Enregistreur PRAXIGRAPH II-TR
5. Papier d'enregistrement ALVAR décrivant un ECG.



La mise en place des électrodes est réalisée après un nettoyage aseptique de leurs différents points de fixation avec de l'alcool éthylique 90° et l'application d'une pâte conductrice. Le contact est solidairement maintenu avec un ruban adhésif. Le phénomène bioélectrique capté sur la préparation à l'aide d'électrodes est convenablement amplifié et recueilli par l'enregistrement du PRAXIGRAPH II-TR.

Ce phénomène est observé grâce à un tracé sur papier chronographié ALVAR à une vitesse de déroulement de 30 mm/s (figure 8). Les substances pharmacodynamiques étudiées sont injectées à l'animal par voie intraveineuse (veine jugulaire). Le liquide de dilution est la solution physiologique de type Mac Ewen.

8 - TECHNIQUE D'ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ CONTRACTILE DU MUSCLE TIBIAL ANTÉRIEUR DE RAT

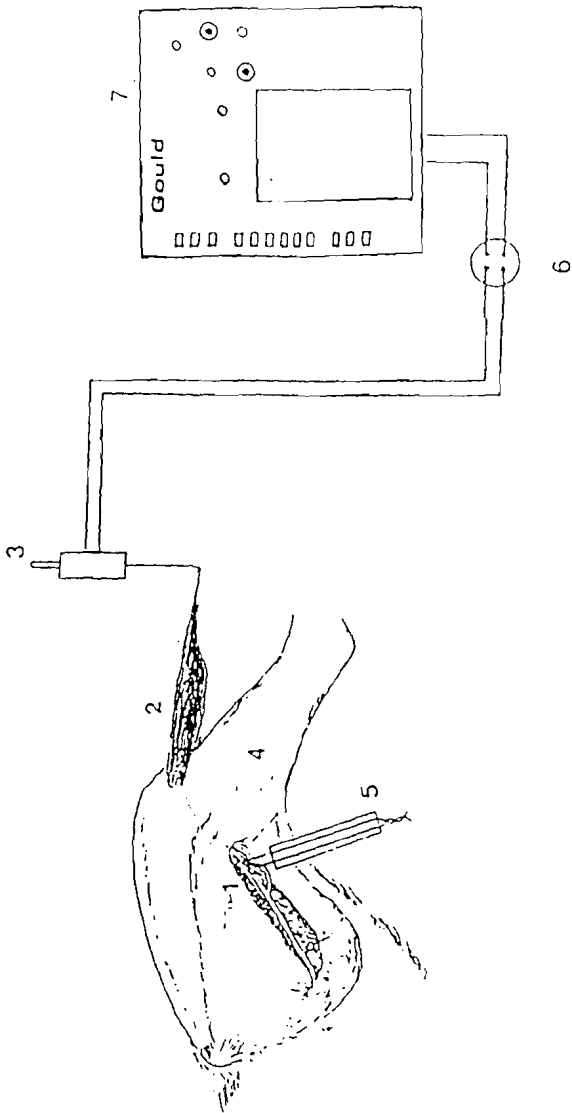
Le dispositif expérimental utilisé pour l'étude de l'activité contractile du muscle tibial antérieur de rat est composé de plusieurs éléments (figure 9).

Le muscle squelettique est mis à nu "in situ" après une dissection appropriée. L'extrémité du tendon de ce muscle est connectée à un transducer FT-O3C à l'aide d'un fil de tresse, qui est lui-même relié à un enregistreur graphique GOULD 2200. Cet appareil recueille l'activité mécanique qui est enregistrée sur du papier BRUSH. Cette activité mécanique est obtenue par l'excitation du nerf sciatique moteur, isolé au niveau des deux plans musculaires fessiers, à l'aide d'électrodes de stimulation connectées à un stimulateur GRASS Sg qui délivre des chocs répétitifs à une fréquence de 0,2 cycle/s. Les substances à tester sont injectées au rat par voie intraveineuse (veine jugulaire) à raison de 0,5 ml de solution.

Figure 9

Dispositif expérimental pour l'enregistrement de l'activité contractile de la préparation nerf-muscle de Rat mâle *in situ*

1. Nerf sciatique
2. Muscle tibial antérieur
3. Transducer GRASS FT-O3C
4. Tibia
5. Électrodes de stimulation
6. Boîte d'alimentation électrique
7. Enregistreur GOULD



9 -TECHNIQUE D'ÉTUDE DE L'ACTIVITE CONTRACTILE DU MYOMETRE

9.1. Cuve expérimentale

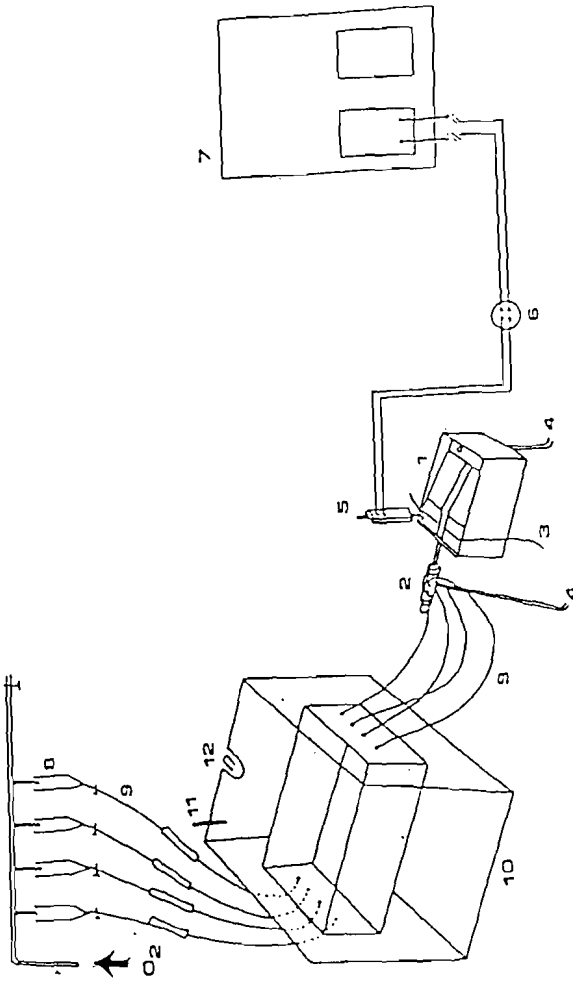
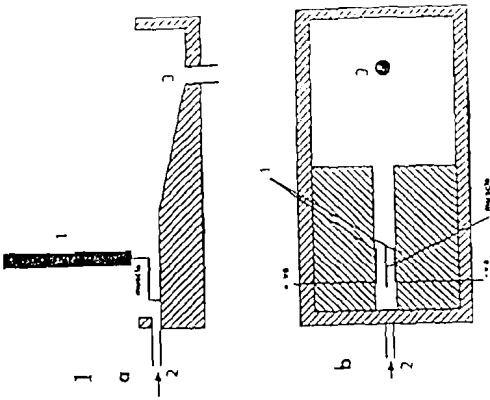
La cuve expérimentale utilisée a été décrite par RAHETY(1980) QUATERO(1991) a employé une cuve similaire pour l'étude des contractions spontanées du myomètre. La cuve à organe isolé comporte un puits rempli d'un gel de rhodorsil (ALI, 1989). Les caractéristiques de ce puits sont les suivantes: 20 mm de longueur, 6 mm de largeur et 3 mm de profondeur. Elle est surmontée de fils conducteurs d'argent. Le lambeau de myomètre monté dans la cuve à contraction, est fixée sur une couche de rhodorsil, à l'aide d'une fine épingle. La préparation est perfusée de façon continue; ce qui lui assure ses propriétés physiologiques.

Il faut remarquer que la cuve et le robinet de perfusion à voies multiples qui lui est connecté comportent, chacun, un système de vidange qui fonctionne par aspiration. (fig.10).

L'intérêt de ce robinet est de permettre la sélection des solutions à tester sur l'organe. On évite les effets robinet, grâce à un espace mort négligeable entre la cuve et le robinet de perfusion.

Le système de perfusion est constitué d'un ensemble de quatre godets contenant les solutions de perfusion, et placés sur un support au même niveau pour avoir la même pression. Chaque solution de perfusion reçoit un barbotage de carbogène (95% O₂ et 5% Co₂). Ce mélange est indispensable, car l'oxygénation à 100% d'oxygène provoque une acidification du milieu physiologique.

Le liquide de perfusion traverse le bain-Marie par des serpentins qui communiquent avec un robinet à voies multiples fixé sur la cuve expérimentale. Les godets et le bain-Marie sont reliés par des tubes en polyvinyle. La température du bain marie est réglée à 35°C. La vitesse d'écoulement de la solution physiologique de perfusion est réglée à 0,8 ml par minute.



9.2. Appareillage

L'appareillage est composé de plusieurs éléments qui sont .

- l'enregistreur, oscilloscope cathodique TEKTRONIX 502A DUAL BEAM;
- le transducer FT- O3C

9.2.1. L'oscilloscope

L'enregistreur utilisé est un oscilloscope cathodique de type TEKTRONIX 502A comportant deux voies. Les phénomènes bioélectrique et biomécanique visualisés sur l'écran de l'oscilloscope sont photographiés à l'aide d'une caméra CATHOMATIC ALVAR à déroulement continu (0,5 mm/s). Cette caméra utilise un film de type KODAK plus X.

9.2.2. Le transducer

Le transducer GRASS FT-O3C est utilisé pour l'enregistrement des contractions, induites par les substances pharmacodynamiques. Ce transducer est alimenté par une source électrique stabilisée à 4,5 Volts. Son fonctionnement est basé sur celui du pont de wheastone. Ce dispositif permet de régler la tension musculaire de base à une valeur fixe.

III - SOLUTIONS PHYSIOLOGIQUES

Les différentes dissections sont réalisées sous imprégnation de solutions physiologiques, de type Mac Ewen, à pH égal à 7,4 et à une température de 35°C. Dans cette solution on fait barboter du carbogène (95% O₂ et 5% CO₂). La composition du Mac Ewen normal est représentée dans le tableau n° II.

Tableau II: Compositions des solutions physiologiques utilisées au cours des différentes manipulations.

SUBSTANCE	PM (g)	Concentration (mM)	quantité (g)	volume (ml)
NaCl	58,44	122	7,6	95
KCl	74,56	4,9	0,42	21
CaCl ₂	111	2,52	0,24	12
NaPO ₄ H ₂	119,96	1,18	0,14	9,5
NaCO ₃ H	84,01	15,5	1	25
MgCl ₂ . 6H ₂ O	203,3	1,2	0,05	5
Glucose	180,16	5,5	2	2g
q. s. p				1 litre

N.B : L'eau distillée est ajoutée après le CaCl₂ et le PO₄H₂Na pour éviter la précipitation des solutions physiologiques

Le glucose est dissous dans la solution physiologique juste avant l'utilisation.

- La solution sans calcium

Elle est obtenue sans du chlorure de calcium(CaCl₂) et sans modifier la concentration des autres constituants de la solution de Mac Ewen.

- La solution hyperpotassique

Elle est préparée par augmentation de de la concentration du chlorure de potassium (KCl) et réduction de la concentration de chlorure de sodium (NaCl) de manière équimoléculaire, en vue de maintenir l'isotonicité et l'osmolarité de la solution. Cette solution est dépourvue de chlorure de calcium.

- La solution d'acide éthyle diamine tétra acétique (EDTA)

Elle est obtenue par dilution de l'EDTA à 10^{-4} M.

- La solution physiologique de type Mac Ewen adaptée au myomètre est composée de (mM) : NaCl. 122 ; KCl. 4,9 ; CaCl₂. 2,52 ; NaPO₄H₂. 1,18 ; NaCO₃H. 15,5 ; MgCl₂. 1,2 et de glucose 5,5.

IV - CONTRÔLE STATISTIQUE

Chaque fois que les résultats présentés sous forme de tableau ou de courbes portent sur plusieurs essais, plusieurs échantillons, pour un même type d'expérimentation, ils sont exprimés sous la forme de la moyenne $X \pm$ erreur standard de la moyenne (ESM), les valeurs obtenues en présence des substances sont comparées à celles obtenues dans les conditions de référence, par le test "t" de Student pour valeurs appariées, afin de déterminer la signification des variations obtenues, donc les limites de confiance des résultats. Pour ce travail, la valeur de "p" est considérée comme significative pour l'expression des résultats: $p < 0,05$.

L'observation d'une moyenne X distribuée selon la loi normale sur un petit échantillon de n cas permet d'assigner à la moyenne calculée l'intervalle de confiance à 5 %:

$$X \pm \text{ESM} \quad \text{avec} \quad \text{ESM} = t.s / \sqrt{n}$$

s étant l'écart type estimé sur un l'échantillon et t pour le nombre de degrés de liberté (ddl) $n-1$ et le risque 5 % .

**D-RESULTATS
EXPERIMENTAUX**

Figure 10

Dispositif expérimental pour l'enregistrement de l'activité contractile de bandelettes de myomètre de Rate gestante

1. Cuve expérimentale à organe isolé
2. Robinet à voie multiple
3. Électrodes de stimulation
4. Système de vidange
5. Transducer optique
6. Boîte d'alimentation
7. Oscilloscope cathodique TEKTRONIX
8. Godets contenant la solution physiologique (MAC EWEN)
9. Canalisation (cathéter en polyéthylène)
10. Cuve à bain marie
11. Thermomètre
12. Thermostat

(ALI, 1989)

10 -1.

- a. Vue en perspective
 - 1 transducer
 - 2 écoulement de la solution
 - 3 canal de vidange

- b. Vue de dessus
 - 1 électrodes
 - 2 écoulement de la solution
 - 3 canal de vidange

(QUATERO, 1991)

PREMIERE PARTIE

ETUDE IN VIVO DES EFFETS PHARMACOLOGIQUES DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *CAESALPINIA BONDUC* (EACB)

I - ETUDE TOXICOLOGIQUE

Cette étude nous permet d'apprécier le degré de toxicité de l'EACB et de virulence du venin de *Bitis arietans*, et l'influence de l'EACB sur la toxicité du venin de *Bitis arietans*.

1. Toxicité aigüe de l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* (EACB)

L'administration de l'EACB à 5.10^{-5} g/ml aux souris se traduit, au cours des 15 premières minutes, par un déplacement accéléré de l'animal dans toutes les directions à l'intérieur de la cage. Cette vitesse locomotrice se trouve ralentie pour la dose de 5.10^{-1} g/ml. L'on observe ensuite des torsions du corps de l'animal après 20 minutes. L'animal traîne péniblement son train arrière. On note également des mouvements respiratoires accélérés, qui se traduisent par des "gasps" au niveau de la cage thoracique.

Les animaux finissent par se blottir, poils hérissés, dans un coin de la cage. La durée de cet état est variable selon la dose administrée et peut conduire à la mort de l'animal traité. Le nombre d'animaux tués par l'EACB dans chaque lot est compté; ce qui permet d'étudier le taux de mortalité.

La figure 11A représente le taux de mortalité exprimé en unités probits en coordonnées semi logarithmique en fonction de la concentration de l'EACB. La dose létale 100 ou DL₁₀₀ est de $2 \pm 0,03$ g/kg de poids de l'animal et la dose létale 50 ou DL₅₀ est de 160 ± 10 mg/kg. La valeur de la DL₅₀ correspondant à la détermination par la méthode de calcul est de $166,66 \pm 12$ mg/kg.

L'utilisation en Médecine traditionnelle de cette plante a montré qu'elle possède des propriétés antivenimeuses (BOUQUET et DEBRAY, 1965). Notre étude a pour but d'examiner l'effet antivenimeux de l'extrait de *Caesalpinia bonduc*. Nous avons entrepris l'étude de l'effet de l'EACB utilisé dans les conditions d'un traitement curatif.

Figure 11

Graphe représentant l'évolution du taux de mortalité (unité probits) de Souris traitées en fonction de la dose injectée par voie intrapéritonéale.

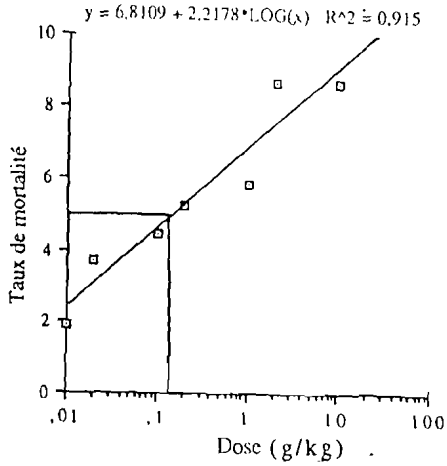
A- Extrait de *Caesalpinia bonduc* (EACB).

Détermination graphique de la DL₅₀ (160 ± 4 mg/kg de poids de Souris)

B- Venin de *Bitis arietans* (V)(1). Détermination graphique de la DL₅₀ (1,12 ± 0,04 mg/Kg-de poids de Souris). Doses croissantes de venin de *Bitis arietans* associé à l'extrait de *Caesalpinia bonduc* (V +E) (2). (2,5 ± 0,10 mg/Kg de poids de Souris)

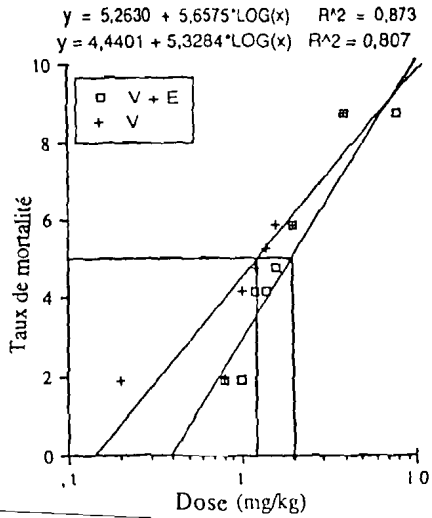
Les courbes sont tracées en coordonnées semi-logarithmiques avec des équations de régression sous la forme $Y = b + a\text{LOG}(x)$ avec le coefficient de régression correspondant R² (sous le logiciel cricket graph). Chaque point représente la moyenne ± erreur standard de n expériences (n=6)

A



Evolution du taux de mortalité (Unité probits)
en fonction de la dose de C bonduc.

B



2. Toxicité aigüe du venin de *Bitis arietans*

Aux faibles doses de 10^{-6} à $6 \cdot 10^{-5}$ mg/ml, le venin de *Bitis arietans* (EBA) induit une agitation des souris au cours des 10 premières minutes qui suivent le traitement. Ce comportement est ponctué de mouvements rapides et de défécations. L'animal devient très agressif et cherche à s'échapper de la cage.

Les animaux traités aux fortes concentrations ($6 \cdot 10^{-4}$ à 10^{-3} mg/ml) présentent des "gasps" respiratoires. Ils se déplacent en s'allongeant sur l'échine, avec des étirements. Cette phase est suivie d'un blottissement dans un coin de la cage. Des convulsions sont observées, ce qui entraîne la mort de l'animal, le plus souvent, allongé sur le ventre.

Des doses plus fortes de 10^{-2} mg/ml entraînent 100 % de mortalité. Ces observations sont réalisées sur une période de 6 heures après l'injection du venin. La DL_{50} obtenue graphiquement est de $1,12 \pm 0,04$ mg/kg de poids de souris. La valeur correspondant, selon la méthode de calcul de DRAGSTEDT et LAND, est de $1,10 \pm 0,08$ mg/kg de poids corporel (figure 11B).

3. Influence de l'EACB sur des souris traitées avec des doses croissantes de venin de *Bitis arietans*

L'EACB est utilisé à une dose physiologique de 10^{-4} g/ml et est injecté à des souris préalablement traitées avec une dose donnée de venin. L'expérience est ainsi répétée avec plusieurs concentrations de venin. Dans ces conditions, la DL_{50} est de $1,12 \pm 0,04$ mg/kg pour le venin de *Bitis arietans*, utilisé seul, contre $2,5 \pm 0,10$ mg/kg pour l'association avec l'EACB.

4. Discussion - Conclusion

L'administration, par voie intrapéritoneale (IP), de l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* à des souris montre une modification de la locomotion et parfois une augmentation du rythme respiratoire suivies de convulsions aux doses élevées, et parfois, de mort. Dans ces conditions, la valeur de la DL_{50} se situe à $0,2$ g/kg de poids corporel. Cette valeur est nettement inférieure à celle de 1 g/kg déterminée avec des extraits de rameaux feuillés de cette plante, injectés par voie IP (SPENCER et Coll., 1947).

La DL₅₀ du venin de *Bitis arietans* est de $1,12 \pm 0,04$ mg/kg. Minton (1974) a obtenu les valeurs de 0,5 g/kg et 7,75 mg/kg respectivement par voie intrapéritoneale et par voie sous cutanée. Les valeurs de DL₅₀ obtenues avec le venin de *Bitis* sont proches les unes des autres mais pas identiques. Les différences seraient dues au mode d'inoculation. Pour *Bitis gabonica*, qui est aussi un Vipéridé, la DL₅₀ déterminée par voie IP est de 0,52 mg/kg (NDOIKAN, 1987), ce type de venin est nettement plus toxique que celui de *Bitis arietans*.

Cette expérimentation a pour but de mettre en évidence l'interaction entre le venin de *Bitis arietans* (Viperidé) et l'EACB. Ainsi, utilisé dans les conditions d'un traitement curatif c'est-à-dire injecté après le venin de *Bitis*, l'EACB entraîne un déplacement, vers la droite, de la courbe linéaire du taux de mortalité en fonction de la dose de venin injectée. Cette modification traduit une diminution de la toxicité du venin par l'EACB. Comme conséquence, la DL₅₀ passe de $1,12 \pm 0,04$ mg/kg à $2,5 \pm 0,10$ mg/kg de poids de Souris.

Aussi, avons-nous choisi la voie IP, car elle semble plus proche de celle des tradithérapeutes, qui en général l'utilisent par voie orale. Chez ces derniers, l'EACB est essentiellement utilisé comme curatif, mais dans certaines situations (chasseurs, cultivateurs), ils l'emploient en traitement préventif.

La DL₅₀ de *Securidaca longepedunculata* est égale à 0,064 g/kg. Cette espèce végétale serait utilisée, aussi bien pour le traitement préventif que curatif dans la pharmacopée traditionnelle africaine, chez les chasseurs et les cultivateurs (KONE, 1980). Elle serait plutôt efficace lorsqu'elle est injectée avant le venin (préventif). Mais au niveau des expériences réalisées sur la souris dans le but de mettre en évidence un antagonisme entre le venin de naja et l'extrait de *Securidaca* n'ont pas conduit à des résultats probants (KONE, 1980). Cette confirmation faite par cet auteur montre que l'EACB pourrait agir comme une substance qui antagoniserait l'effet du venin de serpents. Contrairement au *Securidaca*, l'EACB serait indiqué pour le traitement curatif.

Afin de mieux étudier l'interaction venin de *Bitis arietans* -EACB, nous allons faire une expérimentation sur différents paramètres biologiques (Actogramme, respiration, préparation nerf-muscle) pour préciser le mode d'action de ce dernier.

II - ETUDE DE L'INFLUENCE DE CAESALPINIA BONDUK ET DU PROPRANOLOL SUR L'ACTIVITE LOCOMOTRICE DE SOURIS

1. Effet de l'EACB

L'activité locomotrice de souris est évaluée par le nombre moyen de déplacements de l'animal par période de 3 minutes pendant une durée de 45 minutes. Ces courbes sont établies à partir de l'actogramme des souris témoins ou traitées avec différentes concentrations de l'EACB (10^{-5} à 10^{-1} g/ml). Cette étude est réalisée après une période exploratoire de 15 minutes.

L'activité locomotrice chez les souris témoins ($416 \pm 10,75$ déplacements) est réduite à $248 \pm 5,62$; $215 \pm 2,75$ et $78 \pm 2,80$ déplacements respectivement pour les doses de 10^{-4} , 10^{-3} et 10^{-2} g/ml (fig. 12A). Dans ces conditions, la variation du niveau d'activité se traduit par une baisse de 40,40 % à 10^{-3} g/ml et de 58,32 % à 10^{-2} g/ml. La figure 12A₂ représente les variations de l'activité locomotrice par période de 3 minutes ou écart de déplacements. En situation normale, le niveau d'activité locomotrice des souris après un séjour de 45 minutes dans la cage d'expérimentation, passe de $46,6 \pm 1,6$ à $12,8 \pm 1,16$ déplacements par période de 3 minutes. Lorsque les souris sont traitées à l'EACB à 10^{-3} g/ml après un même séjour de 45 minutes le niveau d'activité passe de $43,6 \pm 1,18$ déplacements à $2,6 \pm 0,25$ déplacements. Cette réduction du niveau d'activité est de 38,23 %.

L'évaluation du niveau d'activité par le calcul des pentes des courbes des valeurs cumulées est représentée sous forme d'histogrammes, exprimant la variation de ces pentes en fonction des doses de l'EACB (fig.12C). La pente indique le niveau d'activité par unité de temps. Le lot témoin présente une pente de $7,83 \pm 1,5$ déplacements par minute. Le traitement des souris à l'EACB montre une nette baisse du niveau d'activité qui passe de $3,15 \pm 1,01$ déplacements par minute à 10^{-3} g/ml; $2 \pm 0,2$ déplacements par minute à 10^{-2} g/ml et devient $1,5 \pm 0,2$ déplacements par minute à 10^{-1} g/ml. Soient des baisses respectives de 59,77; 72,54 et 80,84 % par rapport au niveau d'activité locomotrice normale.

A dose faible (10^{-7} g/ml), l'EACB augmente significativement l'activité locomotrice, comparativement aux souris témoins. Par contre, à dose élevée (10^{-2} g/ml), l'EACB diminue sévèrement l'activité locomotrice par rapport aux souris témoins. A la dose de 10^{-4} g/ml, il n'y a pas de différence significative entre l'activité locomotrice des témoins et des animaux traités.

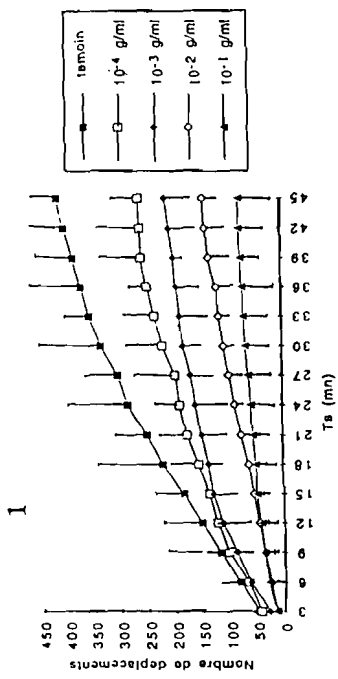
Figure 12

Activité locomotrice (actogramme) de Souris par période de 3 minutes

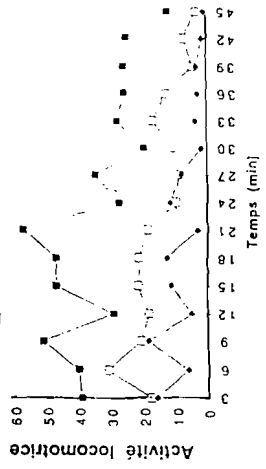
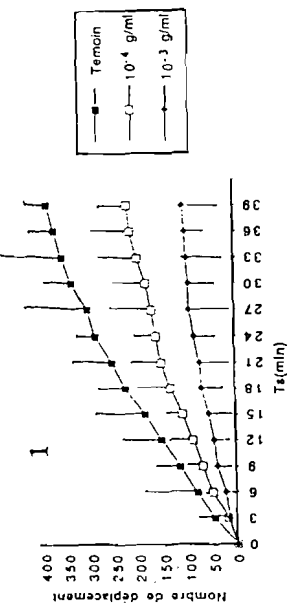
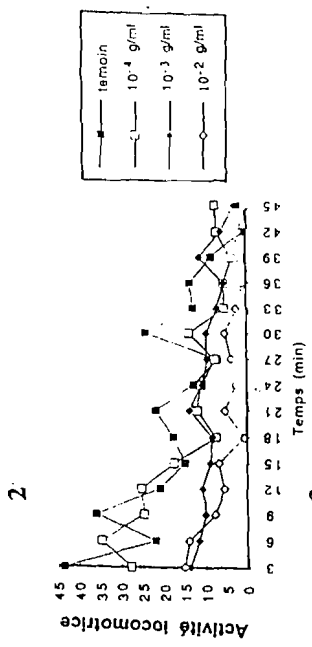
A- en présence de l'extrait de *Caesalpinia bonduc* (EACB).
Courbe d'évolution de l'activité locomotrice exprimant l'écart entre deux déplacements successifs par période de 3 min (n=7) pendant une durée de 45 minutes aux doses de 10-4; 10-3; 10-2 et 10-1 g/ml(1).
Courbe exprimant le nombre de déplacements cumulés de l'actogramme (n=7) (2).

B- en présence de propranolol (PRO). Courbe d'évolution de l'activité locomotrice exprimant l'écart entre deux déplacements successifs par période de 3 min (n=5) pendant une durée de 45 minutes (1) .
Courbe exprimant le nombre de déplacements cumulés de l'actogramme (n=5) (2).

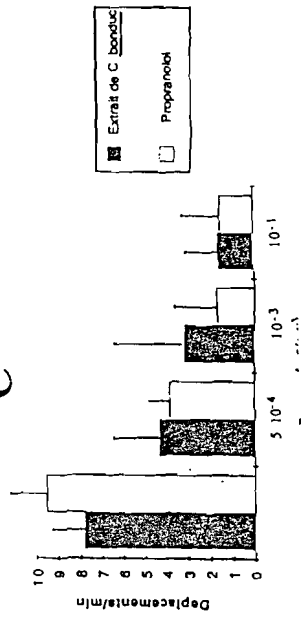
C- Évolution des pentes des courbes de déplacements cumulés par période de 3 min. en fonction des concentrations (5.10⁻⁴; 10⁻³; 10⁻¹ g/ml) de l'EACB (n=7) et du propranolol (n=5)



B



C



2. Effet du propranolol

Le propranolol diminue l'activité locomotrice des souris. Le niveau d'activité locomotrice de $450 \pm 8,10$ déplacements pour les souris témoins, est réduite à $210 \pm 9,22$ et $98 \pm 3,77$ déplacements, pour les doses de 10^{-4} g/ml et de 10^{-3} g/ml. La figure 12B₂ indique la variation de l'activité locomotrice par période de 3 minutes des souris traitées au propranolol. Cette activité est nettement réduite 30 minutes après le traitement des souris à 36,27 % et de 69,80 % respectivement pour les doses de 10^{-4} g/ml et de 10^{-3} g/ml. Cette réduction est très accentuée pour le propranolol utilisé à 10^{-3} g/ml.

La variation des pentes des courbes des valeurs cumulées en fonction des doses de propranolol est représentée sous forme d'histogrammes (fig.12C). Cette représentation montre une réduction progressive du niveau d'activité locomotrice. En situation normale, le niveau d'activité des souris est de $9,52 \pm 1,2$ déplacements par minute. Lorsque le propranolol est injecté aux souris la pente est de $3,8 \pm 0,5$ déplacements par minute à 10^{-4} g/ml et devient $1,67 \pm 0,18$ déplacements par minute à 10^{-3} g/ml. La baisse du niveau d'activité est respectivement de 60,10 % et de 82,45 % pour les doses de 10^{-4} et 10^{-3} g/ml.

3. Discussion - Conclusion

L'activité locomotrice spontanée est un aspect fondamental de la réponse de l'animal aux modifications de la stimulation environnementale (BARNETT et COWAN, 1976). Cette action parvient au système nerveux sous forme d'information, ce qui induit un comportement de l'animal. Des éléments vont être intégrés au niveau du système nerveux central, qui entraînent l'élaboration d'ordres. Ces ordres sont communiqués aux effecteurs, pour l'exécution de commande. Comme conséquence, tous les facteurs susceptibles d'agir sur le fonctionnement du système nerveux central, influencent l'élaboration des ordres dictés par le centre nerveux, ce qui va jouer sur le comportement de l'individu. C'est ainsi que les drogues agissent sur le système nerveux central. Ainsi, par exemple, la diminution de l'activité spontanée d'un animal, destiné à mettre en évidence une action sédatrice, est souvent utilisée pour l'étude des psycholeptiques (BOISSIER et SIMON, 1962). Ces auteurs montrent qu'un animal déposé pour la première fois dans une enceinte nouvelle ou un environnement nouveau, présente deux périodes de significations différentes.

Dans la période dite investigation, la motilité de l'animal dépend à la fois de ses possibilités de déplacement, de son activité "basal" et de son besoin de se rendre compte de la nature de la nouvelle enceinte qui motive cette réaction. Cette réaction que BOISSIER a appelé réaction d'exploration est en rapport avec la curiosité de l'animal. Cette première période varie avec de nombreux facteurs dont le principal est la nature de l'enceinte (BUCHÉL et LEVY, 1962). Une fois la curiosité satisfaite, dans un deuxième temps appelé phase d'activité, survient au cours duquel les déplacements ou les mouvements de l'animal sont uniquement fonction de l'activité "basale". Au cours de cette deuxième période alternent les phases de déplacement, de mouvements sur place. Dans notre expérimentation, la phase d'exploration n'a pas été prise en compte.

Nous avons constaté que la faible concentration (10^{-7} g/ml), de l'EACB augmente significativement l'activité locomotrice, des souris, alors que la dose forte (10^{-2} g/ml) l'inhibe. Puisque la dose de 10^{-2} g/ml est la dose létale, cette dose peut être dépressante pour l'activité du système nerveux central, dans la mesure où on note une réduction sévère de l'activité locomotrice. Par contre à 10^{-2} g/ml, il y a une augmentation significative de l'activité locomotrice qui persiste pendant les 45 minutes de test. L'EACB pourrait donc agir à dose faible comme un activateur général du système nerveux central. En particulier, l'activation du cortex cérébral par le thalamus diffus est cholinergique (BUCHÉL et LEVY, 1962). En conséquence, l'EACB pourrait agir sur ces structures centrales pour augmenter l'activité locomotrice. Cette hypothèse est d'autant plus confirmée, qu'on a obtenu un blocage des effets de l'acétylcholine par l'atropine en étudiant la contraction musculaire (POHORECKY et ROBERTS, 1991).

Quant au propranolol, substance bêta-bloquante, ayant de surcroît une activité dépressante au niveau du système nerveux central, son action pourrait s'interpréter comme une altération de l'activité centrale (BOISSIER et SIMON, 1962). Cette altération serait traduite par une diminution de l'état de vigilance, entraînant une baisse de l'activité locomotrice.

Dans les mêmes conditions, SHIK ORLOVSKY(1976), ont montré que lorsque des rats mâles sont testés 30 minutes après injection du diazépam, dérivé des benzodiazépines, aux concentrations de 0, 1, 5 mg/ml, la dose de 5 mg/ml déprime la fréquence de l'activité locomotrice. Par contre la défécation, qui, augmente avec la dose de 1 mg/kg, décroît avec la dose de 5 mg/kg). ont été également testés. Il a été montré par ALI (1989), que le diazépam augmente

l'activité locomotrice et le comportement exploratoire de rates de 14 jours de gestation, aux doses modérée et faible, et diminue ces deux paramètres aux doses élevées de 5 et 10 mg/kg.

Des résultats similaires sont obtenus avec CRAWLEY (1981), qui a montré que l'effet du diazépam n'est pas de type dose-réponse. Par contre l'effet stimulant de la caféine sur l'activité locomotrice est potentialisée lors d'une exposition au stress. Cette différence observée chez la femelle gestante serait due à un facteur endocrinien. La génération des cycles de pas est sous le contrôle de l'automatisme spinal; le cerveau assure la coordination inter-membres et régule la vitesse de locomotion, en contrôlant la force des muscles, et module ainsi indirectement la fréquence des pas. Le développement rapide de l'activité locomotrice du 10ème au 15ème jour refléterait l'apparition du contrôle cérébral de la locomotion (BOISSIER et Coll., 1964).

Notre étude indique que la fonction de locomotion peut être modifiée par certaines substances. Cette modification peut être rattachée au système nerveux central. L'EACB et le propranolol diminuent de façon significative l'activité locomotrice des souris. Cette étude peut être poursuivie sur l'action de L'EACB sur d'autres paramètres physiologiques.

III - EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *CAESALPINIA BONDUC* SUR LA PRESSION ARTERIELLE ET L'ACTIVITÉ RESPIRATOIRE DE COBAYE ET DE LAPIN

Le but de cette étude est de caractériser et d'analyser les effets de l'EACB en comparaison avec des substances pharmacodynamiques, sur la régulation de la pression artérielle sanguine chez des animaux à pression normale (normotendus), et sur la régulation de la respiration. Les mesures de la pression artérielle sanguine sont réalisées sur le cobaye et le lapin, à l'aide de la méthode sanglante. Les caractéristiques de ces deux activités sont enregistrés de façon simultanée pour permettre leur comparaison.

1. Influence de l'EACB et du propranolol sur la pression artérielle sanguine de Cobaye

1.1 - Effet de l'EACB

L'enregistrement témoin présente une enveloppe globale de la pression artérielle avec un niveau de tonus systolique et un niveau de tonus diastolique. L'amplitude de cette pression artérielle est de $35 \pm 2,10$ mm. En présence de l'EACB, l'on constate une réduction de l'amplitude globale de 52%. L'EACB aux doses de 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml produit une baisse dose-dépendante significative de la pression sanguine. Le maximum de diminution étant observé 10 à 30 minutes après le traitement de l'animal (fig. 13).

Une représentation graphique de ces résultats sur la pression artérielle est indiquée sur la figure 14. Sur la figure 14A, la valeur témoin présente une fréquence cardiaque de $258 \pm 19,31$ battements/minute. En présence de l'EACB, cette valeur passe à $234 \pm 20,62$, $198 \pm 25,80$ et $188 \pm 15,72$ battements cardiaques/minute, respectivement pour les doses de $5 \cdot 10^{-4}$; 10^{-3} et 10^{-1} g/ml. Ce qui correspond respectivement à une réduction pression artérielle de 10,5; 22,17 et 26,85 % de la valeur initiale. Cette diminution est plus prononcée pour les doses élevées (10^{-3} g/ml à 10^{-1} g/ml). Dans le but d'élucider le mode d'action de l'EACB, nous avons comparé ses effets à ceux du propranolol et dont le mode d'action est bien connu.

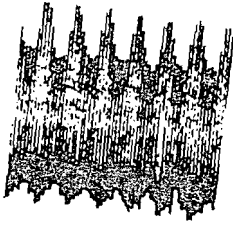
Figure 13

Enregistrements de la pression artérielle sanguine de Cobaye (polygraphe BECKMAN)

A-P resion artérielle sanguine du Cobaye dans les conditions normales (1) et après 10 et 30 min d'effet de l'EACB (2 et 3) à 10^{-4} g/ml

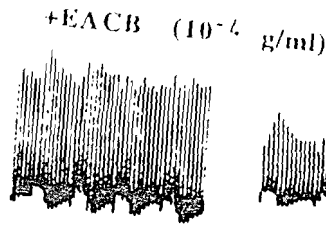
B- P resion artérielle sanguine du Cobaye dans les conditions normales (1) et en présence de l'EACB à 10^{-4} et 10^{-3} g/ml (2 et 3).

1



TEMOIN

2



10 min

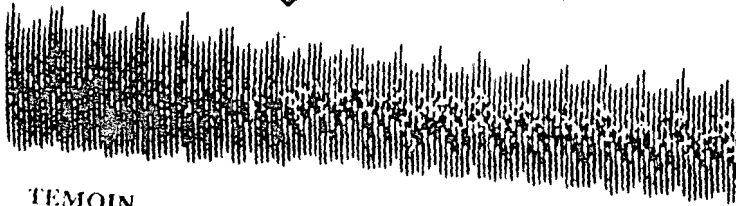
3



30 min

-73-

1

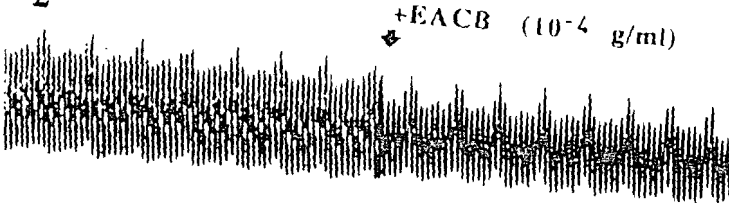


TEMOIN

10 mm
Hg

1 min

2



3



1. 2- Effet du propranolol

Le propranolol, administré chez le Cobaye, provoque une diminution significative de la pression diastolique et systolique de l'animal. En effet à une concentration de 10^{-4} g/ml, la fréquence cardiaque passe de $240 \pm 15,05$ battements/minute à $200 \pm 10,77$ battements/min 3 minutes après. Les amplitudes maxima et minima sont également réduites de 25 % par rapport à la valeur normale. La baisse de l'amplitude persiste pendant 10 minutes, puis devient stationnaire. Une récupération partielle est alors observée (fig 14B). Par contre pour les doses supérieures à 10^{-3} g/ml, l'effet devient irréversible. Ces fortes concentrations entraînent une réduction de la force tensionnelle jusqu'à 62 % de sa valeur initiale. Cette baisse de la pression artérielle en présence du propranolol est similaire à celle de l'EACB. Les concentrations de l'EACB et du propranolol provoquant une baisse suivie d'une restauration partielle sont respectivement $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml et 10^{-4} g/ml.

1.3- Antagonisme de l'EACB et du propranolol vis-à-vis de l'adrénaline

L'EACB et le propranolol induisent une baisse appréciable de la pression artérielle sanguine, à la dose de 10^{-4} g/ml (figure 15A1 et 15B1). Cet effet maximum est reversé par l'injection d'adrénaline à 10^{-5} g/ml (figure 15A2 et 15B2).

1.4 - Effets des injections répétées de l'EACB sur la pression artérielle

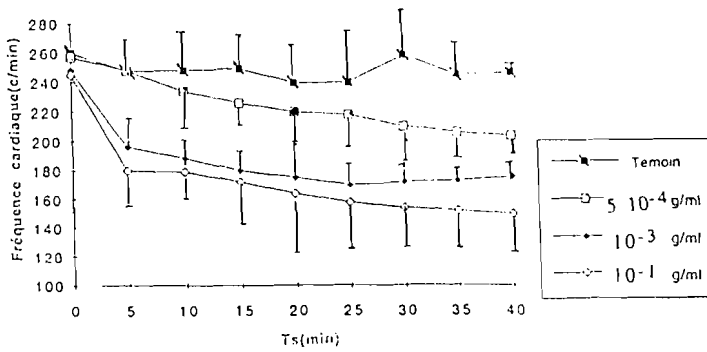
Cette étude menée sur des Cobayes a pour but de montrer si l'influence exercée l'EACB sur la pression artérielle pendant une période de 40 à 60 minutes peut être maintenue et soutenue pendant une durée beaucoup plus longue. Cette expérimentation a une durée de 72 heures, avec des traitements à 1, 6, 12, 18, 36, 48 et 72 heures. L'expérience a été réalisé avec 7 lots constitués, chacun de 5 Cobayes. Ces différents lots sont accompagnés d'un lot témoin. La quantité de l'EACB injectée est de 0,5 ml par Cobaye. Les dilutions sont faites dans le sérum physiologique, le lot témoin étant traité avec ce dernier. Les mesures de la pression artérielle sont réalisées par la méthode sanglante à l'aide du manomètre de Ludwig. A chaque nouvelle injection pour les différents lots, il est observé une baisse de la pression artérielle moyenne. La récupération est lente et incomplète. Pour toutes les périodes de mesure, l'animal ne meurt pas.

Figure 14

A- Etude de la variation de la fréquence cardiaque de Cobaye en fonction de la dose de l'extrait de *Caesalpinia bonduc* (EACB) pendant une durée de 40 min.

B- Etude de la variation de la fréquence cardiaque de Cobaye en fonction de la dose de l'extrait de *Caesalpinia bonduc* (EACB) et du propranolol pendant 60 min.

A



B

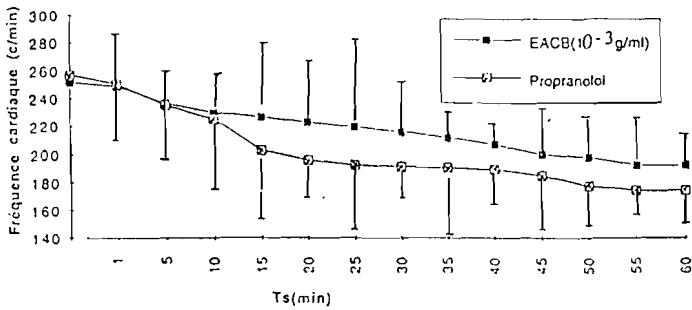


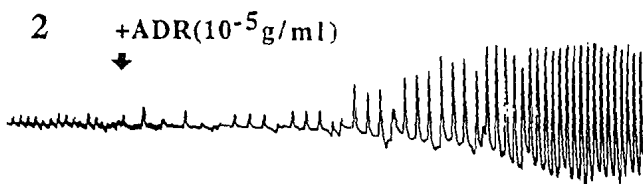
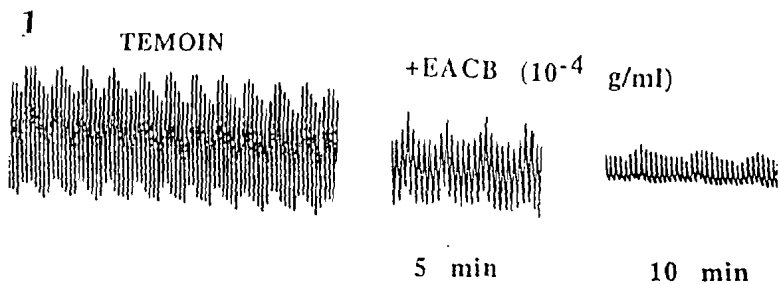
Figure 15

Etude de la pression artérielle sanguine de Cobaye enregistrée au polygraphe BECKMAN

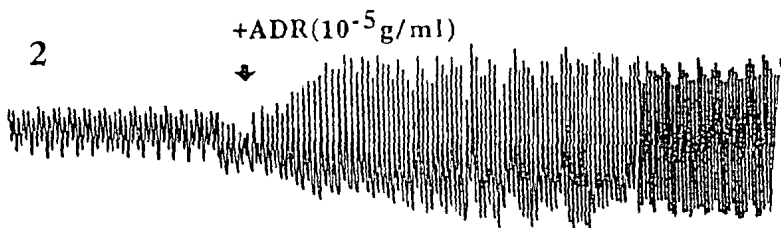
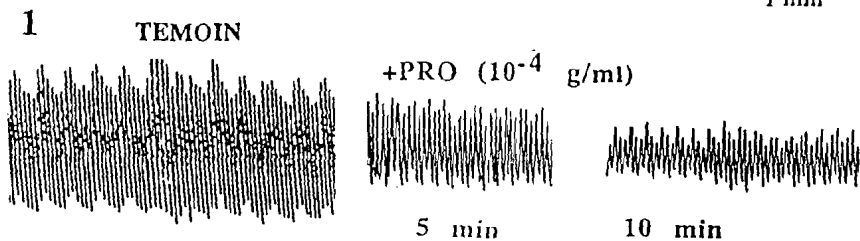
A- Enregistrement témoin suivi de l'effet de l'EACB à 10^{-4} g/ml après 5 et 10 minutes (1). Traitement à l'EACB à 10^{-4} g/ml suivi de l'administration par voie intraveineuse de l'adrénaline (ADR) à 10^{-5} g/ml (2).

B- Enregistrement témoin suivi de l'effet du propranolol à 10^{-4} g/ml après 5 et 10 minutes(1). Traitement au propranolol à 10^{-4} g/ml suivi de l'administration par voie intraveineuse de l'adrénaline (ADR) à 10^{-5} g/ml (2).


A



B



10mm



1 min

Une heure après, la tension est à 70 % de sa valeur initiale (100 %). Ce qui représente une chute de 30 %. Cette pression reste maintenue. Nous observons un effet stationnaire, 24 heures après l'injection de la substance.

Après 30 heures, suite à la première expérimentation, l'on note une récupération sensible de 17 %. Ce qui ramène la valeur à 64 ± 2 mm de Hg. Cette étude de l'action de l'extrait sur la variation de la pression artérielle confirme bien les effets dose-réponses.

2. Effets du flaxédil et de l'EACB sur la pression artérielle et l'activité respiratoire de Lapin

2.1 - Effet de l'EACB

Les résultats de la figure 16, obtenus chez le Cobaye, indiquent une nette diminution de la pression artérielle sanguine et une légère réduction de l'amplitude des mouvements respiratoires aux doses de 10^{-3} et 10^{-1} g/ml.

Une minute après l'injection de l'EACB., la pression artérielle est réduite de 35,70 % et l'amplitude des mouvements respiratoires diminue de 30 ± 2 mm (26%) pour une concentration de 10^{-3} g/ml. Pour les doses supérieures, l'animal présente des "gasps" respiratoires. Les modifications observées au niveau des mouvements respiratoires sont de courte durée de 1 à 5 minutes (fig.16). Ces effets induits par l'EACB à 10^{-1} g/ml sont irréversibles.

2. 2 - Effet du flaxédil

Le flaxédil, administré par voie intraveineuse (veine saphène) chez le Lapin à une concentration 10^{-3} g/ml, entraîne la mort de l'animal après 5 minutes, suite à une hypotension de $20 \pm 1,25$ mm de Hg (n=4) et un arrêt des mouvements respiratoires.

A des doses plus faibles ($5 \cdot 10^{-4}$, 10^{-4} g/ml), on observe une diminution prononcée de la pression sanguine. Cette valeur est de $11,10 \pm 3,10$ mm de Hg.

Figure 16

Effets de l'EACB à deux concentrations sur l'activité respiratoire et de la pression artérielle sanguine de Lapin

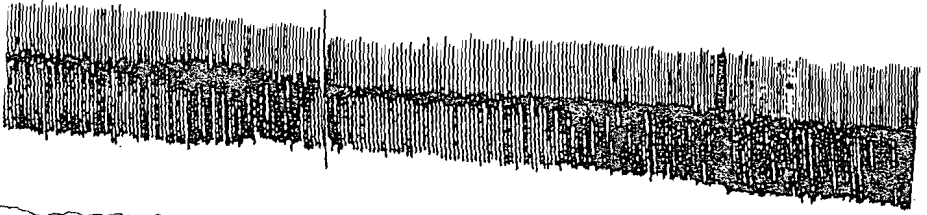
A- EACB à 10^{-3} g/ml

B-EACB à 10^{-1} g/ml.

Pour chaque enregistrement, la trace supérieure représente l'activité respiratoire (1) et la trace inférieure (2) la pression artérielle

A +EACB(10-3g/ml)

-78-



B +EACB(10-1g/ml)

10 mm

1 min



2.3 - Interaction flaxédil - EACB

Le flaxédil, injecté au Lapin à 10^{-3} g/ml, provoque une baisse notable de l'amplitude des mouvements respiratoires. Cet effet est irréversible.

Lorsque cette injection du flaxédil est associée immédiatement (20 secondes) à celle de l'EACB à la dose de 10^{-4} g/ml, on note une reprise des mouvements respiratoires (fig. 17A). L'utilisation de l'EACB à des doses supérieures à 10^{-4} g/ml antagonise de façon très nette l'effet du flaxédil. L'EACB reverse l'action du flaxédil.

Sur la figure 17B, la prostigmine administrée à une concentration de 10^{-4} g/ml reverse également l'effet du flaxédil. Elle provoque une nette reprise des mouvements respiratoires. Les effets de l'EACB sont comparables à ceux de la prostigmine vis à vis du flaxédil. La pression artérielle est peu modifiée.

2.4 - Interaction venin de *Bitis arietans* et l'EACB

La figure 17C montre que le venin de *Bitis arietans* diminue de façon significative l'amplitude des mouvements respiratoires et le niveau de la pression artérielle. L'association de l'EACB et du venin entraîne une suppression de l'effet du venin et une reprise du rythme normal des mouvements respiratoires. Le venin induit une hypotension très nette. La remontée de la pression artérielle reste très lente.

3. Discussion - Conclusion

Les résultats observés montrent que l'EACB et le propranolol induisent une hypotension chez le Cobaye ou le Lapin . Le propranolol développe des effets comparables à ceux de l'EACB. Aux faibles concentrations, l'hypotension est réversible. Par contre, en présence de doses élevées, l'hypotension induite par la substance est maintenue.

Le propranolol induit une action dose-réponse sur la pression artérielle. Cela implique que cette substance agit sur les récepteurs correspondant du propranolol localisés sur les organes essentiels (coeur et vaisseaux), responsables du développement de l'hypertension.

Figure 17

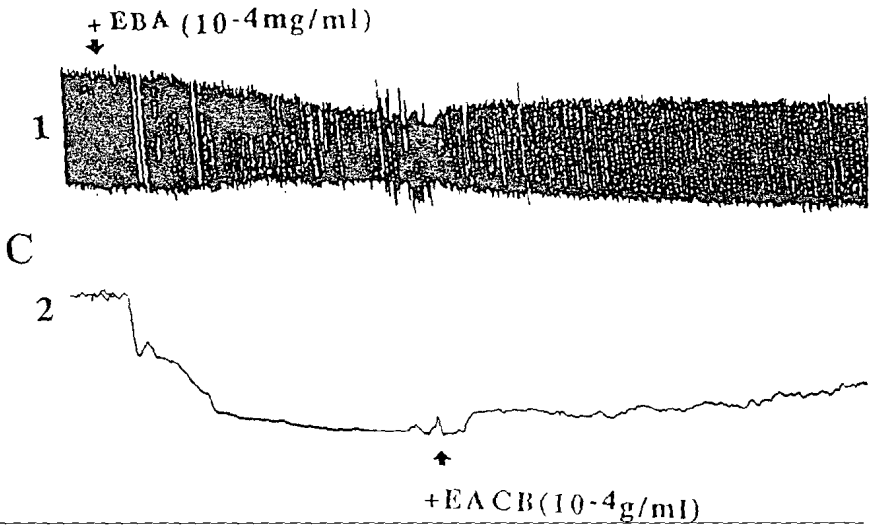
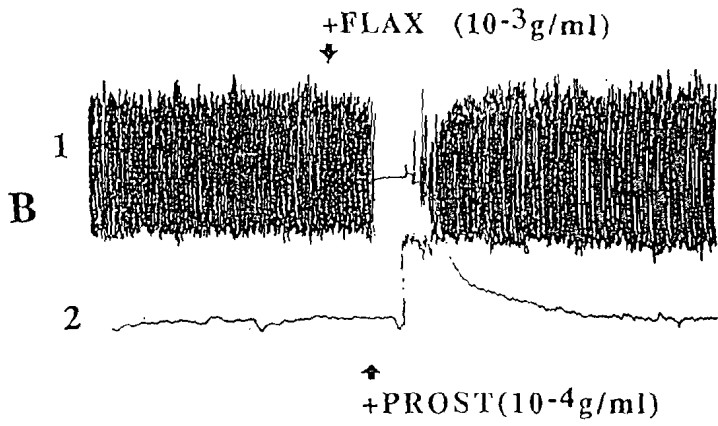
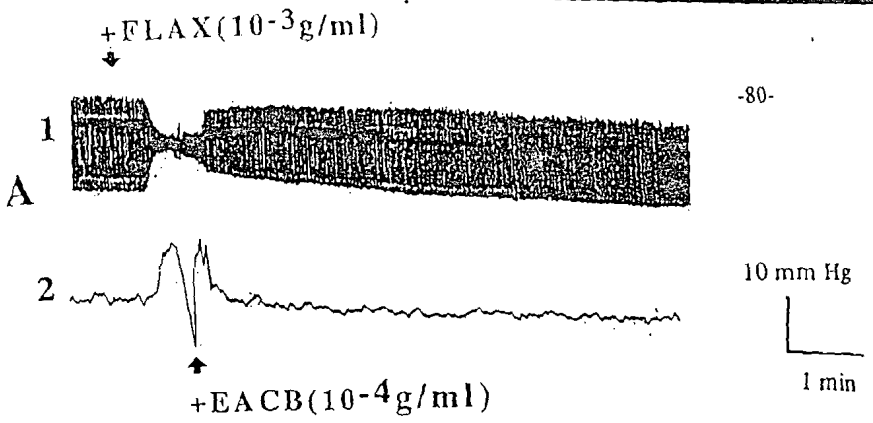
Interaction EACB-flaxédil et antagonisme venin de *Bitis* - EACB sur l'activité respiratoire et de la pression artérielle sanguine de Lapin

A- en présence du flaxédil (FLAX) à 10^{-3} g/ml suivi de l'administration par voie intraveineuse (veine saphène) de l'EACB à 10^{-4} g/ml.

B- en présence du flaxédil (FLAX) à 10^{-3} g/ml suivi de l'injection par voie intraveineuse (veine saphène) de la prostigmine (PROST) à 10^{-4} g/ml.

C- en présence du venin de *Bitis arietans* (EBA) à 10^{-3} g/ml suivie de l'injection par voie intraveineuse de de l'EACB à 10^{-4} g/ml.

Pour chaque enregistrement, la trace supérieure représente l'activité respiratoire (1) et la trace inférieure (2) la pression artérielle



Sur le coeur, les récepteurs bêta adrénérgiques induisent un accroissement de l'activité du coeur (DUSTING et Coll., 1989). Le propranolol étant un bêta bloquant, la réduction de la pression artérielle pourrait, en partie, due à une inhibition des récepteurs bêta adrénérgiques du coeur (JOHENNING et LINDHEIMER, 1993). L'EACB qui, provoque un effet comparable sur la pression sanguine pourrait également agir sur les récepteurs bêta bloquants.

BONDURAND et Coll. (1980), ont montré que le propranolol induit chez l'Homme une hypotension dose-dépendante. L'action plus prononcée, obtenue avec les doses élevées de l'EACB renforce le caractère comparable des effets de l'EACB et du propranolol. Ces deux substances exerçant des effets similaires semblent se comporter comme des substances agonistes.

L'adrénaline est une substance, qui exerce une action hypertensive (CHAPPLE et Coll., 1980). Cette substance reverse, de façon très nette, l'action hypotensive du propranolol et de l'EACB. Cela nous permet d'émettre l'hypothèse suivant laquelle le propranolol et l'EACB ont pour site d'action les sites adrénérgiques et plus précisément les sites bêta bloquants; c'est à dire que l'adrénaline est une substance antagoniste vis à vis de l'EACB et du propranolol. Le caractère bêta bloquant est révélé par les travaux de DURAO et Coll.(1977).

Le flaxédil ou curare est une substance qui agit de façon spécifique sur la transmission de l'influx nerveux au niveau de la jonction neuro-musculaire (POTREAU et RAYMOND, 1978). Il occupe les récepteurs cholinergiques de la membrane post-synaptique, c'est-à-dire les sites de fixation des molécules d'acétylcholine, jouant un rôle de médiateur cholinergique (DUSTING et MAC DONALD, 1991).

Nos résultats indiquent une très nette diminution des mouvements respiratoires en présence du flaxédil. L'EACB associé au flaxédil antagonise l'effet du flaxédil. Cette action est significative avec les doses plus fortes de l'EACB. Cela peut s'expliquer par une compétition entre les molécules du flaxédil et de l'EACB au niveau de l'occupation des sites cholinergiques dans la plaque motrice (nerf phrenique-diaphragme et nerfs intercostaux-muscles intercostaux).

La prostigmine administrée à 10^{-4} g/ml reverse également les effets du flaxédil sur l'activité respiratoire. Il apparaît ainsi que les effets de la prostigmine et de l'EACB vis à vis du flaxédil sont comparables. Ces effets sont liés au mode d'action du flaxédil (curare) qui est un curarisant. L'EACB développerait notamment un effet anticurarisant.

Le venin de serpent est une substance curarisante qui est capable de bloquer également la transmission du message nerveux dans la jonction neuro-musculaire des muscles respiratoires (KONE, 1980; COPPOLA et HOGGAN, 1994). Nous avons noté que l'association de l'EACB et du venin de *Bitis arietans* entraîne une abolition de l'effet du venin. Ces résultats sont en accord avec ceux de KONE (1980), ce qui se traduit par une reprise de l'activité respiratoire.

Il ressort de cette observation que l'EACB antagonise, de façon notable, l'effet du venin qui est attribué à une inhibition de la libération du médiateur chimique, acétylcholine, ou à une diminution du taux d'acétylcholine dans l'espace synaptique. L'EACB pourrait induire des effets antagonistes vis à vis du venin, ce qui nous permet d'émettre l'hypothèse, selon laquelle, l'EACB aurait une propriété antivenimeuse.

Dans le but d'apporter des éclaircissements sur les effets de l'EACB sur le cœur, nous envisageons d'étudier l'action de cette substance sur l'activité électrique globale (ECG).

IV - INFLUENCE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *CAESALPINIA BONDUC* SUR L'ELECTROCARDIOGRAMME (ECG) DE COBAYE

La pharmacopée africaine renferme des espèces dont l'utilisation, entraîne une hypotension artérielle. Ainsi, les premières expérimentations réalisées sur l'extrait de *Caesalpinia bonduc* ont montré un effet hypotenseur chez le chien (WATT et BREYER, 1962). Il nous a paru intéressant de voir si ces effets s'accompagnent d'une bradycardie ou tachycardie au niveau du fonctionnement du muscle cardiaque. C'est dans le but de vérifier cette action au niveau du coeur, que nous avons entrepris cette étude de l'activité électrique globale. Pour cela, il est donc nécessaire de comparer les effets de l'EACB à ceux du propranolol et de l'adrénaline, sur l'électrocardiogramme (ECG) de Cobaye.

1. Effet de l'extrait de *Caesalpinia bonduc* (EACB)

1.1. Effet de l'EACB à doses croissantes

La figure 18 présente les enregistrements des différentes ondes P, Q, R, S et T de l'ECG de Cobaye. Elles sont caractéristiques du cycle cardiaque. L'EACB aux doses de 10^{-4} , $5 \cdot 10^{-4}$, 10^{-3} g/ml, induit une diminution de 12 % de l'amplitude de l'onde R et une réduction du rythme cardiaque de 30,12 %. L'enregistrement témoin présente, en effet, une fréquence cardiaque de $270 \pm 3,10$ cycles/minute, qui passe à $194 \pm 6,15$ cycles/minute après le traitement à 10^{-3} g/ml (n=8), ce qui correspond à une réduction de la fréquence de 28,48 % de la valeur normale. L'EACB entraîne sur l'ECG de Cobaye un effet chronotrope négatif.

1.2. Effet de l'EACB à dose unique

Les paramètres étudiés sont l'amplitude de l'onde R et les intervalles R-T, durée de l'activité électrique ventriculaire (dépolérisation ventriculaire) et P-Q, temps de conduction auriculo-ventriculaire. Les valeurs des paramètres sont indiquées dans le tableau n°III.

Figure 18

Electrocardiogramme (ECG) de Cobaye enregistré au PRAXIGRAPH.

A- Témoin

B- Effet de l'EACB à doses croissantes de 10^{-4} ; $5 \cdot 10^{-4}$ et 10^{-3} g/ml

A

TEMOIN



B

1

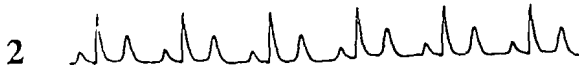
+EACB (10^{-4} g/ml)



0,4 mV

100 ms

+EACB ($5 \cdot 10^{-4}$ g/ml)



+EACB (10^{-3} g/ml)



Tableau n°III: Effet de l'EACB à 10^{-4} g/ml sur l'ECG pendant une durée d'une heure (E.S.M. = erreur sur la moyenne, n=5).

Paramètres étudiés	Témoin	15 min	30 min	45 min	60 min
Intervalle R-T(ms)	108,02	115	116,06	133,33	138,96
E.S.M	0,10	0,96	0,19	0,13	0,38
Intervalle P-Q(ms)	56,8	62,5	60,1	68,03	75,66
E.S.M	0,75	0,42	0,81	0,75	0,91
Onde R amplitude(mV)	0,379	0,330	0,312	0,267	0,242
E.S.M	0,085	0,0145	0,023	0,022	0,017

Le traitement des animaux avec l'EACB entraîne un allongement des intervalles R-T et P-Q. La durée de ces paramètres passent respectivement de $108,02 \pm 0,10$, $56,8 \pm 0,75$ ms aux valeurs de $138,96 \pm 0,38$ et $75,66 \pm 0,91$ ms. L'onde R est réduit de 36,10 % de sa valeur normale une heure après.

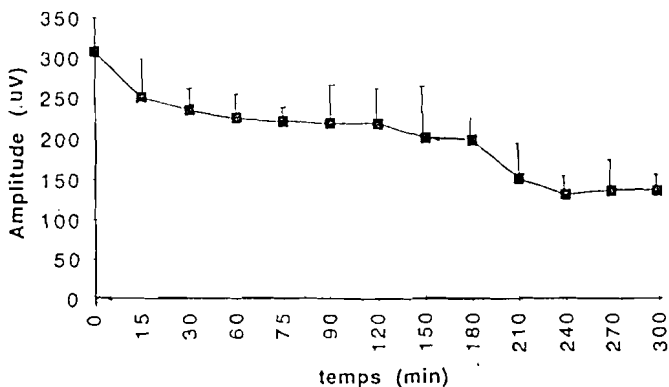
La figure 19 correspond à l'action de l'EACB ($5 \cdot 10^{-4}$ g/ml) sur l'amplitude de l'onde R et le rythme cardiaques pendant une période de 5 heures.

Les observations portent sur la fréquence cardiaque et les modifications des différentes ondes de la révolution cardiaque. Le rythme normal est de $271,72 \pm 18,28$ cycles/minute et l'amplitude de l'onde R est de $0,307 \pm 0,012$ mV. La baisse est de 5,51 % de la valeur initiale 5 minutes après. L'onde R est peu modifiée, par contre l'onde T présente une inversion de polarité.

Au cours de l'expérience, la fréquence cardiaque passe à une valeur de $157,22 \pm 12,72$ cycles/minute et l'onde R a une amplitude de $0,232 \pm 0,018$ mV, une heure après. Ce qui correspond à une diminution de 42 % de la fréquence cardiaque. Après 3 heures, on note des modifications remarquables des ondes R et T. Cette diminution de la fréquence s'accompagne d'une nette dépolarisation du complexe QRS, qui voit l'onde R diminuée de plus de 50 % de son amplitude.

Il serait intéressant de comparer les effets de l'EACB à ceux d'une substance cardiomodératrice, le propranolol, utilisé fréquemment en Cardiologie; pour l'étude de l'activité électrique globale d'un animal d'expérimentation: le Cobaye.

A



B

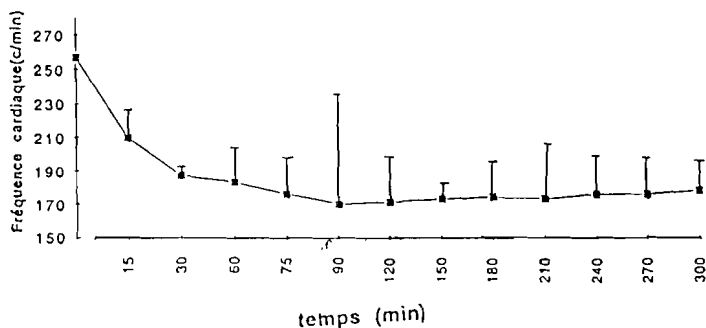


Figure 19

Courbe exprimant l'évolution de l'amplitude de l'onde R (mV) et de la fréquence cardiaque (cycle/minute) de Cobaye en fonction du temps, en présence de l'EACB, pendant une durée de 300 min (n=4).

2. Effets du propranolol sur l'ECG de Cobaye

2.2. Effet du propranolol à doses croissantes

La figure 20 montre les enregistrements des modifications des différentes ondes de l'ECG en présence du propranolol. L'injection du propranolol par voie intraveineuse aux doses croissantes de 10^{-4} et 10^{-3} g/ml montre une réduction de l'onde R (25 %) une baisse très nette de la fréquence cardiaque, qui passe de 237 ± 19 à $150 \pm 11,10$ cycles/minute, ce qui correspond à une réduction de 36 % de la fréquence par rapport au rythme normal (251 cycles/minute).

2.2. Effet du propranolol à dose unique

Les paramètres étudiés sont les intervalles R-T et P-Q, et l'amplitude de l'onde R. Les valeurs mesurées en présence du propranolol à 10^{-4} g/ml, pendant une durée d'une heure, sont consignés dans le tableau n°IV.

Tableau n°IV: Effet du propranolol à 10^{-4} g/ml. Sur ce tableau, il faut noter la diminution de l'amplitude de l'onde R et l'allongement du temps de conduction P-Q et R-T (E.S. M. = erreur sur la moyenne, n=5).

Paramètres étudiés	Témoin	15 min	30 min	45 min	60 min
Intervalle R-T(ms)	123,6	136,00	129,16	152,08	138,8
E.S.M	0,1823	0,1415	0,2200	0,276	0,2575
Intervalle P-Q(ms)	66,66	69,78	77,60	77,5	81,25
E.S.M	0,1666	0,1361	0,124	0,104	0,1452
Onde R amplitude (mv)	0,361	0,325	0,304	0,296	0,282
E.S.M	0,03	0,036	0,024	0,012	0,0135

L'ECG témoin présente une fréquence cardiaque de $264 \pm 0,31$ cycles/min avec des intervalles R-T de $123,6 \pm 0,18$ ms, p-q de $66,6 \pm 0,16$ ms et une amplitude de l'onde R égale à $0,361 \pm 0,030$ mV. Après une heure d'expérimentation, ces paramètres passent respectivement aux valeurs de $138,8 \pm 0,25$; $81,25 \pm 0,14$ ms et $0,28 \pm 0,013$ mV. Ce qui correspond à une baisse de 12,3 et 23 % pour R-T et P-Q, et 22 % pour l'onde R.

Tout comme l'EACB, le propranolol provoque des effets chronotrope et inotrope négatifs.

Figure 20

Electrocardiogramme (ECG) de Cobaye enregistré au PRAXIGRAPH.

A- Témoin

B- Effet du propranolol (PRO) à doses croissantes [10^{-4} g/ml(1) à 5×10^{-4} g/ml (2) à 10^{-3} g/ml g/ml (3)].

C- Témoin(1). Effet de l'EACB à 10^{-4} g/ml. + PRO à 10^{-4} g/ml(2).

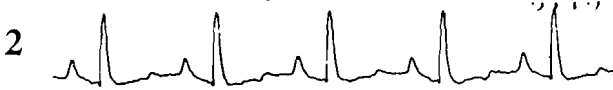
TEMOIN



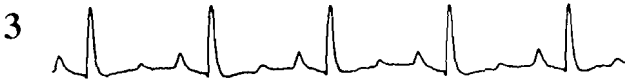
+PRO (10^{-4} g/ml)



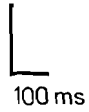
+PRO ($5 \cdot 10^{-4}$ g/ml)



+PRO (10^{-3} g/ml)



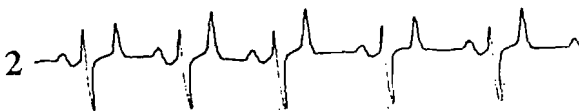
0,4 mV



TEMOIN



+PRO (10^{-4} g/ml)



+EACB (10^{-4} g/ml)

3. Effets de l'EACB associé au propranolol .

Les propriétés cardio-vasculaires du propranolol sont prouvées en clinique (BASSETT et HOFFMAN, 1971). Ainsi, son utilisation pour les cardiopathies relatives à l'accélération du rythme cardiaque est connue. C'est pourquoi cette étude comparative s'avère importante pour mieux connaître les effets de l'EACB sur l'activité cardiaque.

3.1. Effet comparé de l'EACB et du propranolol

La figure 21A présente les enregistrements de l'effet de l'adrénaline chez le Cobaye prétraité à l'EACB. Sur cet enregistrement, le rythme cardiaque normal ($200 \pm 5,19$ cycles/minute), modifié en présence de l'EACB, est rétabli avec l'adrénaline à 10^{-5} g/ml. Le rythme passe alors de $150 \pm 3,10$ à $225 \pm 5,12$ cycles/minute. L'adrénaline reverse les effets de l'EACB. Cette observation est semblable à celle obtenue en présence du propranolol. Dans ce cas, la fréquence cardiaque passe de $277 \pm 8,42$ à $187 \pm 2,35$ cycles/minute avec le propranolol à 10^{-4} g/ml. Ce rythme est rétabli (235 cycles/minute), en présence de l'adrénaline à 10^{-5} g/ml (fig.21B). Les effets observés sont également reversés par l'adrénaline.

Le traitement des cobayes à l'EACB seul entraîne une baisse du rythme cardiaque et une diminution de l'amplitude de l'onde R. Ce qui correspond à une réduction de 25 % de la fréquence cardiaque et de 20 % de l'amplitude de l'onde R. L'administration du propranolol provoque également une diminution de 36 % du rythme et une baisse de l'amplitude de l'onde R de 22 %. Le traitement simultané des animaux au propranolol et à l'EACB entraîne une baisse très prononcée du rythme (43,50 %).

3. 2. Effet de l'EACB et du propranolol

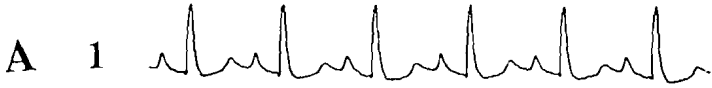
Lorsque l'adrénaline à 10^{-5} g/ml est injectée aux Cobayes prétraités à l'EACB et au propranolol, il y a une reprise de l'activité globale du coeur; les valeurs sont portées dans le tableau n°V.

Figure 21

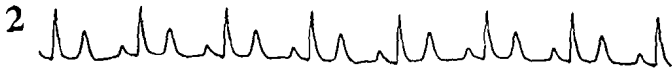
Electrocardiogramme (ECG) de Cobaye enregistré au PRAXIGRAPH.

A- Témoin (1). Effet de l'EACB à 10^{-4} g/ml (2) et à 10^{-4} g/ml. suivi de l'adrénaline (ADR) à 10^{-5} g/ml (3).

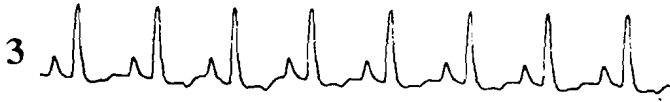
B- Témoin (1). Effet du propranolol (PRO) à 10^{-4} g/ml (2) et à 10^{-4} g/ml suivi de l'adrénaline (ADR) à 10^{-5} g/ml (3).



+EACB (10^{-4} g/ml)

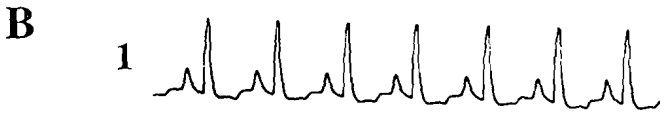


+ADR (10^{-5} g/ml)



0,4 mV
100 ms

TEMOIN



+PRO (10^{-4} g/ml)



+ADR (10^{-5} g/ml)

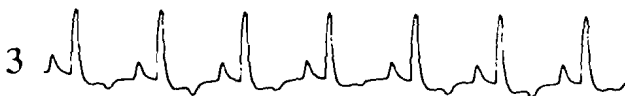


Tableau n°V. Influence de l'adrénaline à 10^{-5} g/ml sur les effets de l'EACB (10^{-4} g/ml) associé au propranolol (10^{-4} g/ml) , n=5.

Paramètres étudiés		Amplitude Onde R (mv)	Intervalle P-Q (ms)	Intervalle R-T (ms)
Témoin		$0,311 \pm 0,031$	$32,63 \pm 0,28$	$66,6 \pm 0,70$
	1 mn	$0,311 \pm 0,012$	$36,16 \pm 0,28$	$70,83 \pm 0,50$
EACB(10^{-4} g/ml)	15 mn	$0,310 \pm 0,031$	$38,54 \pm 0,54$	$76,33 \pm 0,51$
+ Propranolol	30 mn	$0,309 \pm 0,03$	$40,05 \pm 0,51$	$88,10 \pm 0,30$
(10^{-4} g/ml)	45 mn	$0,301 \pm 0,03$	$43,05 \pm 0,52$	$101,66 \pm 0,30$
	60 mn	$0,289 \pm 0,07$	$50,10 \pm 0,26$	$107,29 \pm 0,32$
Adrénaline (10^{-5} g/ml)		$0,319 \pm 0,07$	$35,41 \pm 0,36$	$70,8 \pm 0,31$

Les intervalles R-T et P-Q qui présentent des valeurs de $66,6 \pm 7$ ms et $32,63 \pm 2,83$ ms passent respectivement à $107,3 \pm 3$ ms et $50,10 \pm 3,7$ ms, après 60 minutes. Ce qui correspond à 60 % et 34,9 % d'augmentation du temps des intervalles R-T et de P-Q. Par contre le traitement à l'adrénaline provoque une restauration de l'activité cardiaque, avec des valeurs pour les intervalles R-T et P-Q égale à $77,08 \pm 3,1$ ms et à $35,46 \pm 3,6$ ms; soit une reprise globale de 28 % pour R-T et de 29 % pour P-Q.

5. Discussion - Conclusion

L'EACB réduit l'activité électrique globale du coeur de Cobaye qui se traduit par une modification du rythme et de l'amplitude des différentes ondes cardiaques à la concentration de 10^{-4} g/ml.

Depuis les travaux de CORABOEUF et Coll. (1955), de GARGOUIL (1958) et de TRICOCHÉ (1967) sur le système cardio-vasculaire de mammifères, il est admis qu'il existe une spécificité de la réponse électrique cardiaque aussi bien au niveau tissulaire qu'à l'échelle de l'animal entier. Ainsi, il pourrait s'agir d'une différence de sensibilité de cellules atriales et ventriculaires vis-à-vis de l'EACB, soit d'une fixation éventuellement plus facile de ce dernier au niveau ventriculaire qu'auriculaire. Il pourrait également s'agir d'une réduction de la conduction intraventriculaire qui déprimerait plus rapidement la contractilité ventriculaire (JOHNSON, 1979).

L'EACB augmente le temps de conduction auriculo-ventriculaire. Il pourrait modifier le centre de réactivité de type pacemaker, ce qui induit la baisse du seuil d'excitabilité du centre de l'automatisme de l'oreillette droite.

L'effet inhibiteur de l'EACB nous permet de suggérer que l'EACB est constitué de substances cardioinhibitrices. Par ailleurs, certaines substances naturelles cardiotoniques comme la mansonine agissent en entraînant un blocage de l'ATPase - Na^+ , K^+ (GUEDE et ATTIAS, 1977; GUEDE et Coll., 1989). Cet effet activerait un flux entrant d'ions calcium, qui favoriserait, à son tour, un effet inotrope positif (EHILE et Coll., 1991).

L'EACB provoque un effet chronotrope négatif (bradycardie). L'effet bradycardisant pourrait résulter d'un ralentissement de la conduction intracardiaque ou auriculoventriculaire. Il agirait également sur les propriétés bathmotropes négatives en réduisant l'automatisme cardiaque (HOU et Coll., 1989; VOGT et Coll., 1993).

Les effets chronotrope et inotrope négatifs observés avec l'EACB sont comparables à ceux du propranolol. De telles observations ont déjà été faites par BONDURAND et Coll. (1980) avec la chloroquine. Comme dans le cas de la

chloroquine, l'EACB entraîne une réduction de l'amplitude du complexe QRS avec une augmentation de l'intervalle R-R.

L'utilisation de l'EACB associée au propranolol entraîne un renforcement des effets de l'EACB seul, c'est à dire des effets chronotrope et inotrope de plus en plus négatifs. Il pourrait s'agir d'un phénomène de synergie entre ces deux substances pour leur fixation sur les sites des récepteurs membranaires.

Le ralentissement du rythme cardiaque peut donc provenir de l'action directe de l'EACB ou du propranolol sur des éléments responsables de l'automatisme cardiaque de type pacemaker ou une diminution de la vitesse de conduction. Cet effet pourrait être également sous la dépendance du système nerveux central ou sous l'excitabilité de la membrane cardiaque cellulaire.

Le propranolol est connu comme inhibiteur spécifique des récepteurs bêta-adrénergiques (BASSETT ET HOFFMAN, 1971). Cette action comparable à l'effet de l'EACB, peut s'expliquer soit par une stimulation de l'appareil contractile du centre cardiomodérateur, soit par une diminution de la durée de l'activité électrique ventriculaire ou de la conduction auriculo-ventriculaire.

L'emploi de l'adrénaline après traitement de l'animal avec l'EACB ou le propranolol entraîne un retour aux valeurs témoins. L'adrénaline entraîne un rétablissement partiel du rythme cardiaque sur l'animal prétraité durant une heure au propranolol et à l'EACB. Les effets inotrope et chronotrope positifs de l'adrénaline, expliquent, en partie, l'antagonisme observé avec l'EACB et le propranolol.

Au niveau du myocarde de grenouille, les effets inotropes positifs de l'adrénaline ont déjà été mis en évidence par ERLIJ et Coll.(1965). L'adrénaline est la plus active des amines biogènes (OUMAROU,1981). Pour ROSEMBLUM (1974), l'adrénaline élève la pression artérielle beaucoup plus par une vasoconstriction qu'une élévation du débit cardiaque. L'effet chronotrope positif de l'adrénaline a été attribué à une augmentation de la pente de dépolarisation diastolique (HUTTER et TRAUTWEIN, 1956).

De nombreux auteurs rapportent que l'action de l'adrénaline sur l'amplitude du potentiel électrique peut être expliquée par une augmentation du courant entrant lent calcico-sodique. Il est actuellement admis que les ions calcium sont étroitement impliqués dans la genèse et le développement du plateau du potentiel d'action

(ROUGIER et Coll., 1969; VASSORT et ROUGIER, 1972; AKA, 1980; BERTOLET et PEPINE, 1995). L'action de ces substances cardiomodératrices pourraient être liées à des modifications des perméabilités membranaire ioniques du coeur, en particulier les perméabilités calcique, sodique et potassique.

Les effets inotrope et chronotrope positifs induits par l'adrénaline seraient dus à une augmentation de l'influence calcique cardiaque (GILLIS, 1977). Elle agit ainsi sur les récepteurs alpha et bêta. Mais sur le coeur de grenouille, pour ERLIJ et Coll. (1965), les récepteurs cardiaques impliqués dans les réponses adrénergiques seraient uniquement de type bêta.

OUMAROU (1981) a montré que le propranolol et l'adrénaline développent un antagonisme de type compétitif, ce qui pourrait expliquer le mode d'action de l'EACB utilisé. Mais l'adrénaline n'est pas compétitif avec les autres amines biogènes comme la dopamine et la tryptamine. L'EACB serait également en compétition avec l'adrénaline. Les effets de l'EACB reversés par l'administration de l'adrénaline, rend compte de l'action antagoniste de l'adrénaline.

En conclusion, les effets de l'EACB sur l'ECG, indiquent que l'EACB exerçant un effet inhibiteur sur le coeur de Cobaye, a une action comparable à celle du propranolol, substance adrénergico-bêta bloquante.

L'adrénaline étant capable de reverser à la fois l'effet de l'EACB et celui du propranolol, il nous est permis de suggérer que l'EACB et le propranolol ont des effets synergiques; et que l'adrénaline, antagoniserait l'effet de l'EACB et celui du propranolol. Ces résultats sont en accord avec nos observations sur les effets de l'EACB sur la pression artérielle sanguine, vis-à-vis du propranolol et de l'adrénaline.

Ces hypothèses émises ne pourront être confirmées que par une étude fine de la structure de la fibre musculaire cardiaque de Cobaye avec la technique de la microélectrode couplée à une étude des différents courants ioniques transmembranaires cardiaques en présence de l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc*.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DE L'INFLUENCE DE L'EXTRAIT ACQUEUX DE *CAESALPINIA BONDUC* SUR L'ACTIVITE CONTRACTILE DU MUSCLE TIBIAL ANTERIEUR DE RAT IN SITU

L'étude de la toxicité aigüe du venin de *Bitis arietans* en présence de l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* (EACB) sur les souris blanches et celle de l'influence du venin sur l'activité respiratoire du Cobaye ou du Lapin, ont révélé le caractère inhibiteur de l'EACB vis-à-vis du venin.

En vue de confirmer ou d'infirmer ces observations, nous envisageons de mener une étude sur l'interaction venin de *Bitis* - EACB sur la préparation nerf-muscle tibial antérieur de Rat, pour préciser le mode d'action de l'EACB au niveau de la plaque motrice. La contraction du muscle tibial antérieur in situ est enregistrée au moyen d'un transducer GRASS FT-03C et d'un enregistreur sur papier GOULD 2200.

1 - Effet de l'EACB et du propranolol sur la contraction du muscle tibial antérieur de rat in situ

1 1 - Effet de l'EACB

La figure 22 montre des secousses isolées du muscle tibial de rat, obtenues par stimulation électrique du nerf sciatique. Le stimulus a une intensité efficace et une fréquence de 0,2 cycle/minute. Ces secousses isolées déclenchées dans ces conditions ont la même amplitude ($6,15 \pm 1,55$ g, $n=7$). On note que l'EACB utilisé à 10^{-6} à 10^{-3} g/ml augmente l'amplitude maximale de la contraction du muscle antérieur tibial. La valeur de l'amplitude de la contraction maximale passe de $7,94 \pm 0,02$ g à $9,82 \pm 0,05$ g, ce qui correspond à un accroissement de 15 % à 36 %.

Sur la figure 23A, l'effet de l'EACB est étudié à doses croissantes, durant les périodes de 2 à 10 minutes après l'injection. Les effets d'accroissement de la contraction induite par l'EACB sont plus nets à partir de 10 minutes pour les doses élevées (10^{-3} , 5.10^{-3} g/ml).

Figure 22

Enregistrement de la contraction du muscle tibial de Rat mâle, in situ par stimulation répétitives du nerf sciatique

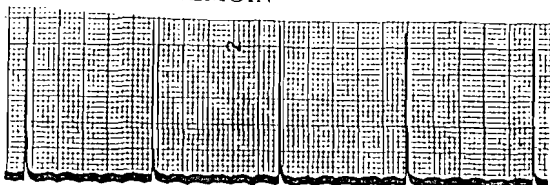
A- Témoin

B- Effet de l'EACB à doses croissantes de 10^{-6} , 10^{-5} et 10^{-3} g/ml

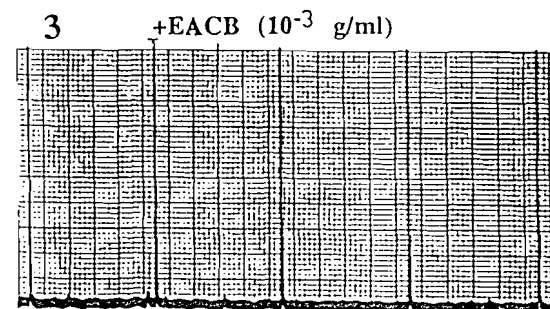
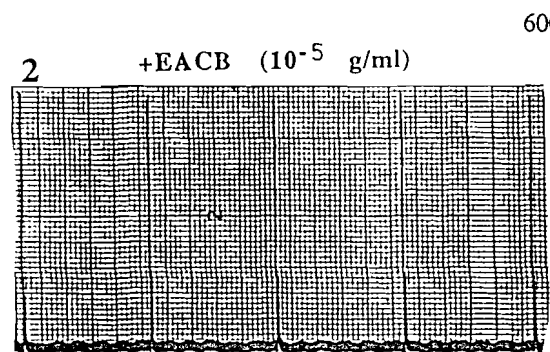
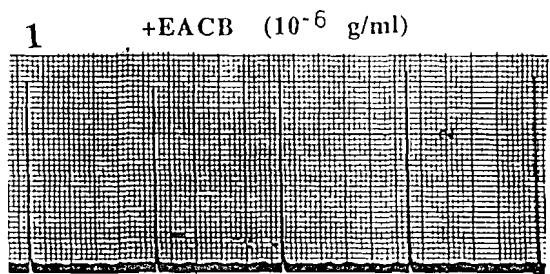
TEMOIN

-96-

A



B



600 mg

2 s

1. 2 - Effet du propranolol

Le propranolol administré par voie intraveineuse chez le rat, est utilisé à différentes concentrations. Aux faibles doses uniques de 10^{-8} ou 10^{-7} g/ml, il se développe un accroissement de la contraction du muscle tibial, ce qui entraîne une augmentation de la tension maximale de contraction de 26 % (fig. 22C). Ce résultat est semblable à celui de l'EACB.

La figure 23B montre qu'aux doses croissantes (10^{-6} à 10^{-3} g/ml), le propranolol induit une diminution de la tension maximale des contractions obtenues après une période de 2 et 10 minutes. Cette baisse est de 38,90 % par rapport à la valeur obtenue dans les conditions normales.

1. 3 - Action de l'EACB associé au propranolol

L'observation des effets de l'EACB et du propranolol indique que, l'EACB a une activité stimulante sur la contraction musculaire, alors que le propranolol a une action qui est fonction de la dose utilisée (inhibiteur aux fortes concentrations et stimulant aux faibles doses).

L'administration successive de l'EACB et du propranolol renforce l'effet de l'EACB (10^{-4} g/ml) (fig. 22D). Le traitement à l'EACB, suivi de l'injection du propranolol à doses croissantes (10^{-6} à 10^{-3} g/ml) montre une augmentation sensible de la force contractile, qui passe de $7,40 \pm 0,12$ g à $8,43 \pm 0,21$ g; ce qui correspond à un accroissement de 22,61 %, 5 minutes après. Le propranolol utilisé à 10^{-4} g/ml développe une tension de $10,12 \pm 0,34$ g; soit 39,20 % d'augmentation de la contraction. Cette expérimentation rend compte de l'effet agoniste aux faibles concentrations de ces deux composés sur la contraction musculaire.

L'EACB peut avoir un site d'action au niveau de la plaque motrice et par conséquent pourrait atténuer ou inhiber l'effet de substances curarisantes. Afin d'étayer cette propriété, utilisons un agent curarisant (le flaxédil).

Figure 22

Enregistrement de la contraction du muscle tibial de Rat mâle, in situ par stimulation répétitives du nerf sciatique

C- Enregistrement témoin(1) suivi de l'effet du propranolol à 10^{-6} g/ml (2) et à 10^{-4} g/ml (3)

D- Influence de l'EACB à 10^{-4} g/ml et du propranolol à 10^{-3} g/ml sur l'activité du muscle tibial antérieur pendant une période de 5 minutes (1) et 10 minutes(2)

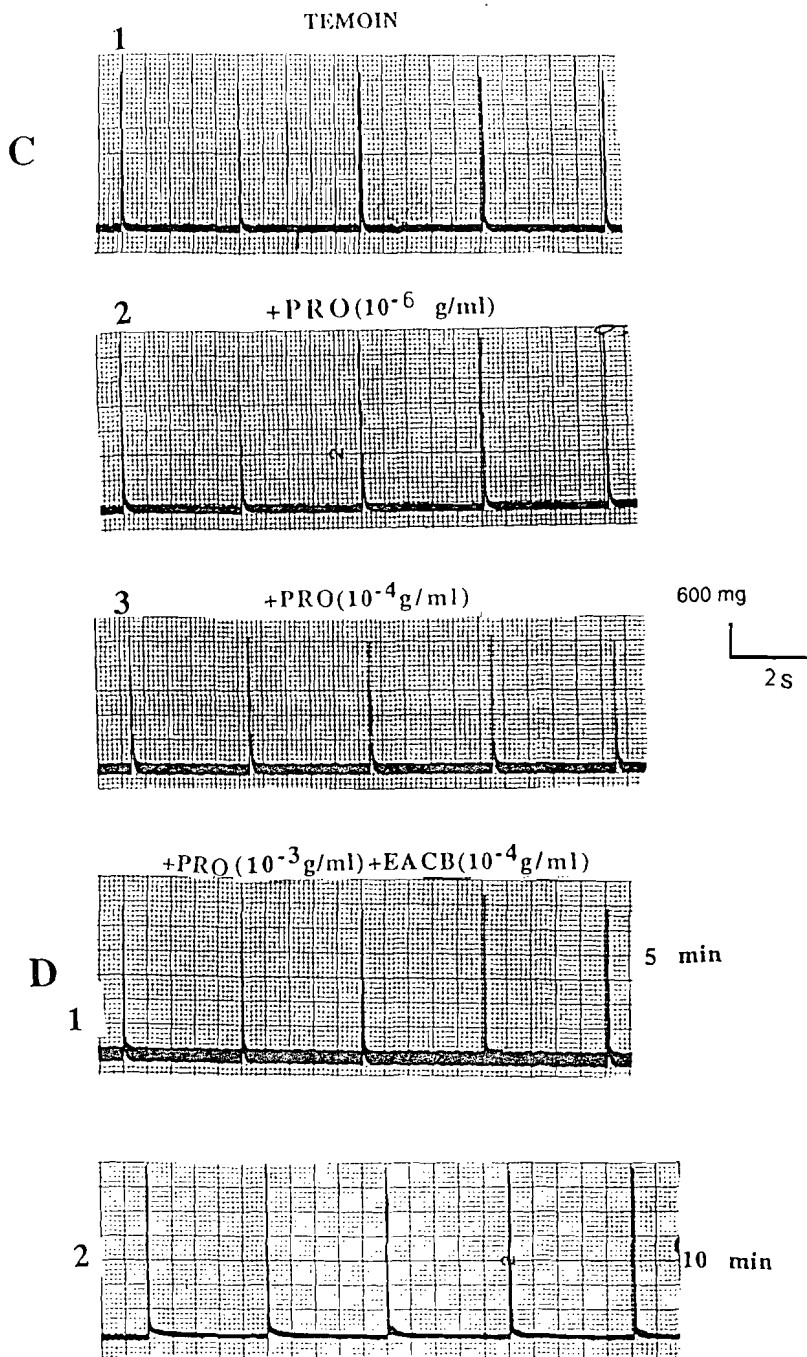


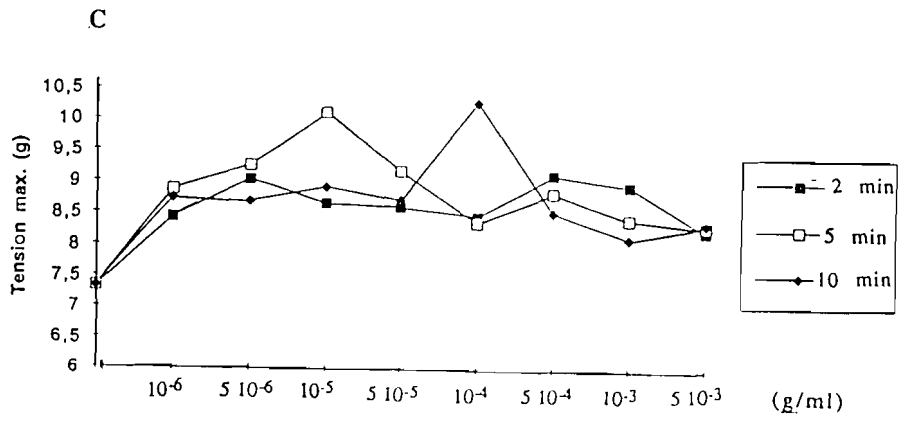
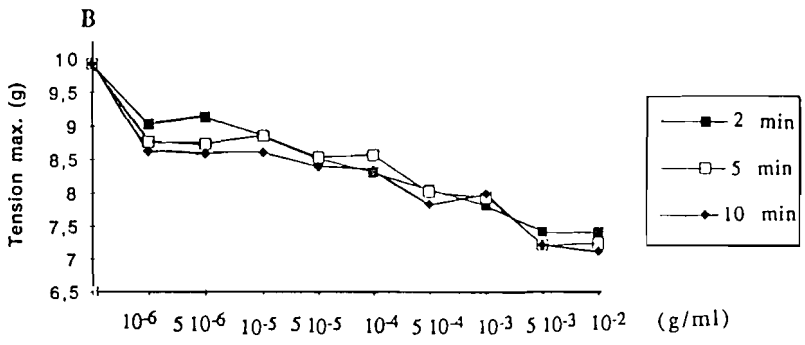
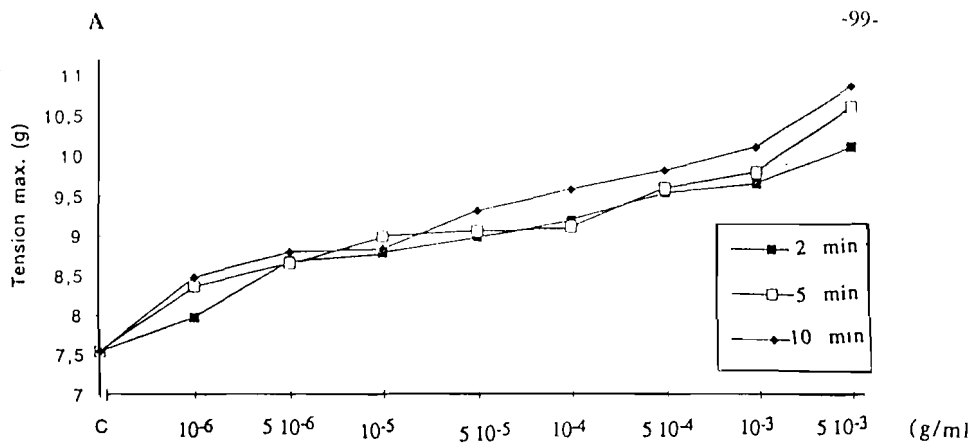
Figure 23

Courbes de variation de la tension maximale de secousses isolées du muscle tibial pendant une période d'action de 2; 5 et 10 minutes en présence

A- de l'EACB à doses croissantes de 10^{-6} à 5×10^{-3} g/ml

B- du propranolol à différentes doses de 10^{-6} à 10^{-2} g/ml

C- de l'EACB et du propranolol de 10^{-6} à 5×10^{-3} g/ml



2 - Effet du flaxédil et de l'EACB sur la contraction du muscle tibial antérieur de Rat

2.1 - Effet du flaxédil

L'injection du flaxédil (10^{-3} g/ml) provoque une baisse de façon notable de la tension musculaire deux minutes après le traitement (fig. 24A). Dans ces conditions, il se développe chez l'animal des "gaspes respiratoires" entraînant une agonie suite à une réduction spectaculaire de l'activité contractile. Cette réduction peut atteindre 90% de la valeur normale.

2.2 - Effet du flaxédil associé à l'EACB

L'administration du flaxédil à 10^{-3} g/ml chez le rat entraîne la mort de l'animal. Si après une minute, cette injection est suivie de celle de l'EACB à 10^{-4} g/ml (figure 24B), on observe, d'abord, un ralentissement des mouvements de la cage thoracique, suivie d'une augmentation de l'amplitude maximale de la contraction d'environ 11 % par rapport à l'amplitude normale. Elle passe de $8,69 \pm 0,07$ g à $8,71 \pm 0,05$ g deux minutes après. Cette contraction augmente jusqu'à une tension de $9,08 \pm 0,06$ g, ce qui correspond à une augmentation de 21,12 % par rapport à la valeur initiale.

2.3 - Effet du flaxédil associé à la prostigmine

La prostigmine ($5 \cdot 10^{-4}$ g/ml) induit une augmentation des amplitudes de contraction. L'amplitude de contraction dans ces conditions passe de $8,50 \pm 0,03$ g à $10,47 \pm 0,06$ g. Cette augmentation correspond à un accroissement de 23,13 % par rapport à la contraction normale.

Si l'administration du flaxédil (10^{-3} g/ml) est suivie de celle de la prostigmine à $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml, on assiste à une reprise de l'activité contractile (fig. 25C). Ces effets obtenus avec la prostigmine sont semblables à ceux induits par l'EACB suite à l'action du flaxédil.

Figure 24

Contraction du muscle tibial antérieur de Rat in situ

A- Témoin

B- en présence du flaxédil à 10^{-3} g/ml pendant 2 (1) et 5 minutes(2);
suivie du traitement à l'EACB à 5 (3) et 10 minutes (4)

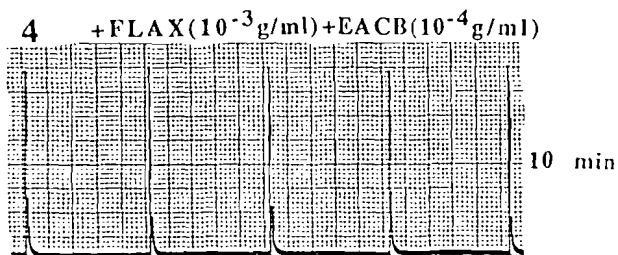
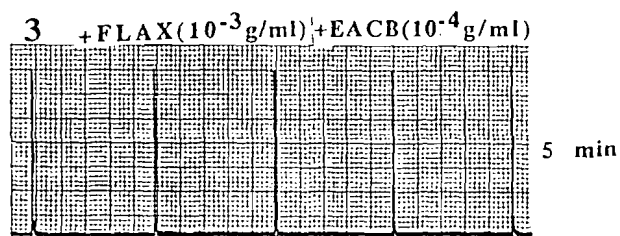
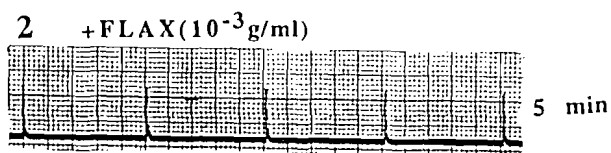
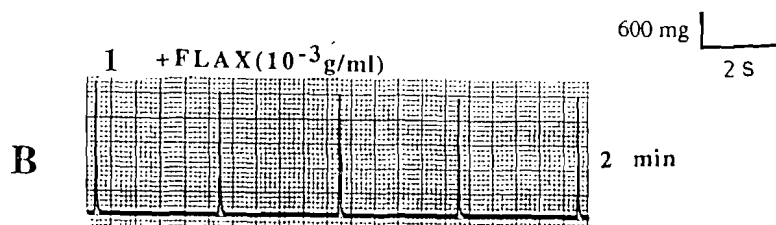
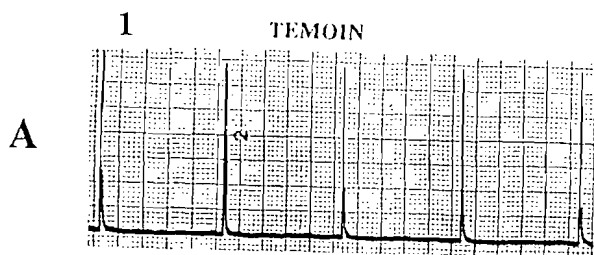


Figure 25

Effets de substances sur l'activité contractile du muscle tibial antérieur de Rat in situ en fonction du temps

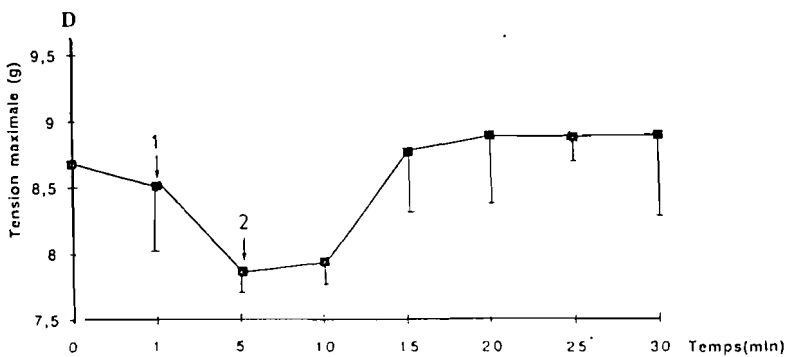
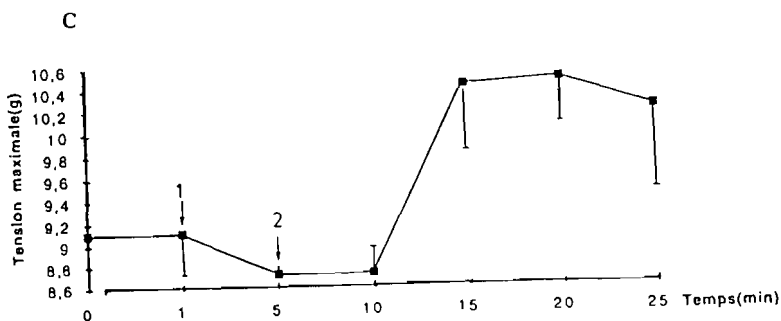
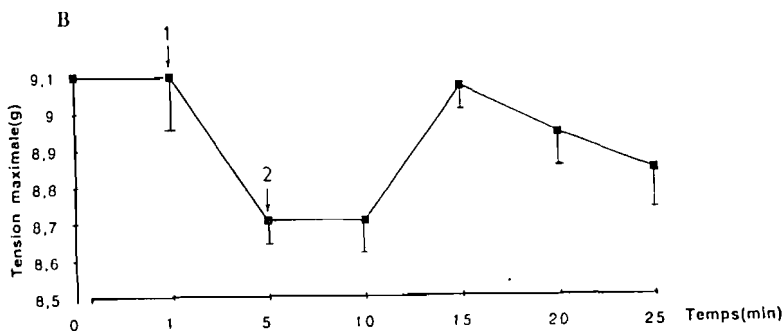
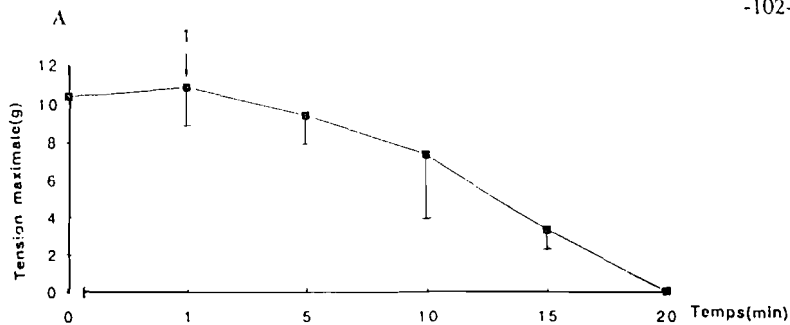
A- Effet du flaxédil (FLAX) à 10^{-3} g/ml

B- en présence du flaxédil à 10^{-3} g/ml suivie de l'EACB à 10^{-4} g/ml

C- en présence du flaxédil (10^{-3} g/ml) suivie de la prostigmine (PROST) à 10^{-4} g/ml

D- Venin de *Bitis arietans* (EBA) à 10^{-4} mg/ml et de l'EACB à 10^{-4} g/ml. La flèche en (1) pour les figures A, B et C indique l'injection du flaxédil et celle de la figure D, l'administration du venin de *Bitis*. La flèche en (2) montre l'injection en B de l'EACB, en C de la prostigmine et en D de l'EACB.

Les courbes sont tracées en coordonnées représentant la force contractile du muscle en fonction des doses des différentes substances. Chaque point représente la moyenne \pm erreur standard de n expériences (n=6)



2. 4 - Effet du venin de *Bitis arietans* associé à l'EACB

Le venin de *Bitis* (10^{-4} mg/ml) diminue la force contractile du muscle. Cette baisse de la contraction est de 20% et 40% respectivement à 5 et 10 minutes après l'injection. L'association de l'EACB (10^{-4} g/ml) et du venin (10^{-4} mg/ml) entraîne une restauration quasi totale de la contraction musculaire (fig. 25D). L'EACB reverse nettement l'effet du venin de *Bitis*.

3. Discussion - Conclusion

La contraction de la préparation nerf-muscle déclenchée, indirectement par l'intermédiaire du nerf moteur, met en jeu les structures de la jonction neuro-musculaire et en particulier la plaque motrice.

L'EACB injecté seul au rat, par voie intraveineuse, provoque une augmentation dose-dépendante de la contraction maximale. L'observation d'une augmentation de l'activité contractile de la préparation nerf- muscle tibial antérieur en présence de l'EACB, peut être liée, soit à une action directe sur le muscle tibial antérieur, soit à une action sur les phénomènes métaboliques au niveau de la jonction neuromusculaire ou aux deux à la fois. L'EACB semble donc favoriser la transmission de l'influx nerveux à travers la plaque motrice, cet extrait favoriserait la mobilisation du médiateur chimique de la jonction neuro-musculaire qui est l'acétylcholine (HODGKIN et HUXLEY, 1952; HODGKIN et HOROWICZ, 1960). L'action favorisante de l'EACB peut être également liée à une sensibilisation des ions calcium responsables de l'influx calcique au niveau du bouton synaptique.

Le propranolol utilisé dans les mêmes conductions développe un double effet sur la contraction du muscle tibial in situ. On note un effet stimulant qui, induit un accroissement de la contraction maximale du muscle pour les faibles doses (10^{-8} g/ml) et au contraire, exerce une réduction notable de la contraction pour les fortes concentrations (10^{-3} g/ml). Ces résultats sont en accord avec les travaux d'ALI (1989) sur le valium.

2. 4 - Effet du venin de *Bitis arietans* associé à l'EACB

Le venin de *Bitis* (10^{-4} mg/ml) diminue la force contractile du muscle. Cette baisse de la contraction est de 20% et 40% respectivement à 5 et 10 minutes après l'injection. L'association de l'EACB (10^{-4} g/ml) et du venin (10^{-4} mg/ml) entraîne une restauration quasi totale de la contraction musculaire (fig. 25D). L'EACB reverse nettement l'effet du venin de *Bitis*.

3. Discussion - Conclusion

La contraction de la préparation nerf-muscle déclenchée, indirectement par l'intermédiaire du nerf moteur, met en jeu les structures de la jonction neuromusculaire et en particulier la plaque motrice.

L'EACB injecté seul au rat, par voie intraveineuse, provoque une augmentation dose-dépendante de la contraction maximale. L'observation d'une augmentation de l'activité contractile de la préparation nerf- muscle tibial antérieur en présence de l'EACB, peut être liée, soit à une action directe sur le muscle tibial antérieur, soit à une action sur les phénomènes métaboliques au niveau de la jonction neuromusculaire ou aux deux à la fois. L'EACB semble donc favoriser la transmission de l'influx nerveux à travers la plaque motrice, cet extrait favoriserait la mobilisation du médiateur chimique de la jonction neuro-musculaire qui est l'acétylcholine (HODGKIN et HUXLEY, 1952; HODGKIN et HOROWICZ, 1960). L'action favorisante de l'EACB peut être également liée à une sensibilisation des ions calcium responsables de l'influx calcique au niveau du bouton synaptique.

Le propranolol utilisé dans les mêmes conductions développe un double effet sur la contraction du muscle tibial in situ. On note un effet stimulant qui, induit un accroissement de la contraction maximale du muscle pour les faibles doses (10^{-8} g/ml) et au contraire, exerce une réduction notable de la contraction pour les fortes concentrations (10^{-3} g/ml). Ces résultats sont en accord avec les travaux d'ALI (1989) sur le valium.

L'association de l'EACB (10^{-4} g/ml) et du propranolol (10^{-6} à 10^{-4} g/ml) semble potentialiser l'effet stimulant de l'EACB. Cet effet semble obéir à un effet de type dose-réponse., même avec de fortes doses de propranolol, il apparaît une nette augmentation de l'amplitude de contraction du muscle tibial. Cette observation nous fait penser à un effet inhibiteur exercé par l'EACB vis-à-vis de l'action du propranolol à doses élevées. L'EACB reversant l'action inhibitrice du propranolol pourrait s'expliquer par leur sensibilité sur les mêmes sites d'action au niveau de la plaque motrice.

JONES et BIGLAND (1986) ont rapporté que l'inhibition induite par le propranolol peut être restaurée par des substances comme l'épinephrine et le salbutamol. Pour ces auteurs, cette baisse de la force contractile serait due à une dépolarisation et une inexcitabilité de la membrane plasmique. L'étude faite par CLAUSEN et EVERTS (1991) sur le muscle isolé de rat dans les mêmes conditions montre l'intervention de la pompe sodium potassium dans la contractilité du muscle chez le rat. En effet, l'augmentation de la concentration de potassium dans le milieu extracellulaire entraîne une diminution de la force contractile.

A partir de ces suggestions, nous allons entreprendre l'étude des effets comparés de l'EACB et du flaxédil, substance pharmacodynamique curarisante.

L'injection du flaxédil réduit notablement la contraction du muscle tibial. L'administration du flaxédil suivie de l'emploi de l'EACB, une minute après, provoque une reprise de l'activité contractile, c'est-à-dire l'EACB reverse l'effet inhibiteur du flaxédil sur la contraction du muscle tibial. Le matériel biologique utilisé étant la préparation nerf-muscle, le siège de l'interaction de l'EACB et du flaxédil est naturellement la plaque motrice.

Il est classiquement connu que le flaxédil ou le curare bloque la transmission de l'influx nerveux. Cette action se traduit par une compétition entre les molécules d'acétylcholine et celles du flaxédil vis-à-vis des sites cholinergiques (JONES, 1981 et BIGLAND-RITCHIE, 1984). Les molécules d'acétylcholine étant agonistes et celles du flaxédil antagonistes de ces sites. Son association avec l'EACB reversant son effet, il nous est permis de dire que l'EACB antagonise l'effet du flaxédil, c'est-à-dire exerce un effet anticurarisant.

Le traitement de la préparation biologique par l'injection du flaxédil, suivie de celle de la prostigmine, a également indiqué que ce dernier supprime l'effet inhibiteur du flaxédil. L'antagonisme entre ces deux substances est connu (HOLMBERG et WALDECK; 1980 et 1986). Nous notons que les effets des associations du flaxédil et de l'EACB sont comparables à ceux induits par le couple flaxédil-prostigmine. L'interaction flaxédil-prostigmine a été décrite par de nombreux auteurs (POTTER et GERGELY, 1974; KOVACS et SCHEIDER, 1978). Et il est rapporté que sur la jonction neuro-musculaire et plus précisément à l'échelle cellulaire, ces deux substances (flaxédil - prostigmine) sont antagonistes.

En effet, plusieurs drogues utilisées comme agents bloquants neuro-musculaires sont connues pour leur effet antimuscariniques (KUDLACAZ et Coll, 1990). L'effet du flaxédil entraîne une suppression de la transmission nerveuse par fixation compétitive de celui-ci et l'acétylcholine sur les récepteurs muscariniques post-synaptiques. Les travaux de HOLMBERG et WALDECK et (1986) ont montré que le blocage curarisant entraîne une réduction des amplitudes de contraction du muscle stimulé de 30 à 92 % par blocage du potentiel post-synaptique exciteur.

Les travaux de KONÉ (1980) et de NDOIKAN (1987) ont permis de savoir que les venins de *Naja nigricollis* et de *Bitis gabonica* ont un effet bloquant sur la transmission de l'influx nerveux. Par contre certains venins comme celui de scorpion agirait en bloquant seulement les canaux potassium, mais n'aurait aucun effet sur le courant sodique (MARSHALL et HARVEY, 1989). Pour ces auteurs, ce même venin faciliterait la libération de l'acétylcholine au niveau de la fonction neuro-musculaire.

Il est rapporté par de nombreux auteurs que le venin est un agent bloquant neuro-musculaire développant un effet antimuscarinique c'est-à-dire que les molécules du venin sont sensibles aux sites cholinergiques (MINTON, 1974; TU, 1978).

Nos résultats nous permettent de conclure que l'EACB exerce une action favorisante sur l'activité mécanique du muscle tibial in situ, stimulé par l'intermédiaire de son nerf moteur. Cette action peut être liée à une transmission facilitée au niveau de la plaque motrice. Ce qui impliquerait un accroissement de la mobilisation des molécules d'acétylcholine dans la fente synaptique.

Le propranolol utilisé aux fortes doses potentialise l'effet de l'EACB c'est-à-dire exerce un effet stimulant sur la plaque motrice. Mais le flaxédil et le venin qui agissent comme des bloquants neuro-musculaires, ont leurs effets inhibés à la fois par la prostigmine et l'EACB, substance naturelle extraite de *Caesalpinia bonduc*. Il apparaît ainsi que l'EACB développerait des propriétés antivenimeuse et antivenin.

Dans le but d'apporter des informations sur les effets de l'EACB, nous nous proposons de mener une étude comparative de l'influence de l'EACB et de l'acétylcholine sur l'excitabilité membranaire d'une structure contractile (myomètre), à l'aide de techniques électrophysiologiques adaptées comme le propose GARGOUIL (1958) pour l'étude des modalités d'action des substances employées, à l'échelle cellulaire.

TROISIEME PARTIE

ETUDE DES EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *CAESALPINIA BONDUC* SUR L'ACTIVITÉ CONTRACTILE DU MUSCLE LISSE UTÉRIN DE RATE GESTANTE

Les bandelettes de myomètre placées dans une solution physiologique de type Mac Ewen, soumises à un barbotage de carbogène, développent des contractions isométriques spontanées. L'imprégnation de ces bandelettes de l'EACB pourrait induire des modifications de l'activité contractile du muscle lisse utérin. Cette expérimentation pourrait ainsi, nous permettre de mettre en évidence l'action directe de l'EACB sur les cellules utérines et de préciser les sites d'action à l'échelle cellulaire.

1. Effet de l'EACB sur les contractions rythmiques du muscle lisse utérin

En solution physiologique normale (de type Mac Ewen), l'amplitude maximale des contractions est de $436,70 \pm 60,59$ mg. Lorsque l'EACB est ajouté à la solution physiologique à doses croissantes (10^{-7} à 10^{-4} g/ml), il apparaît un accroissement de l'amplitude maximale des contractions rythmiques. L'EACB à $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml induit une contracture du myomètre (fig. 26A). Une représentation graphique de la variation du pourcentage d'augmentation de l'amplitude de contraction maximale en fonction des doses croissantes de l'EACB, montre un accroissement significatif de la tension maximale de 44 et 80% respectivement pour les concentrations de $5 \cdot 10^{-7}$ g/ml et 10^{-5} g/ml (fig. 26B).

2. Contractures du muscle lisse utérin induites par l'EACB et par l'acétylcholine

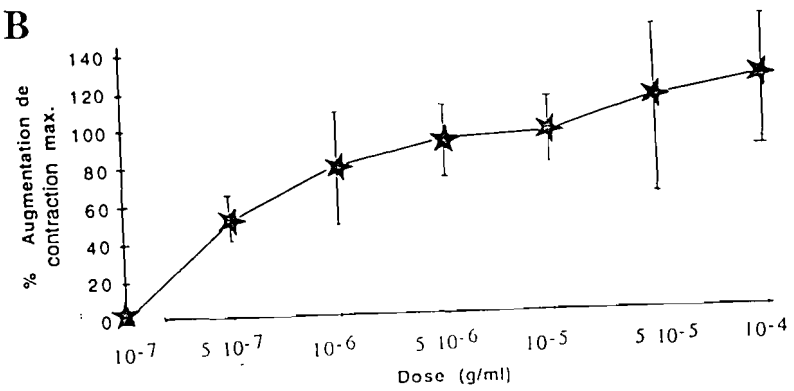
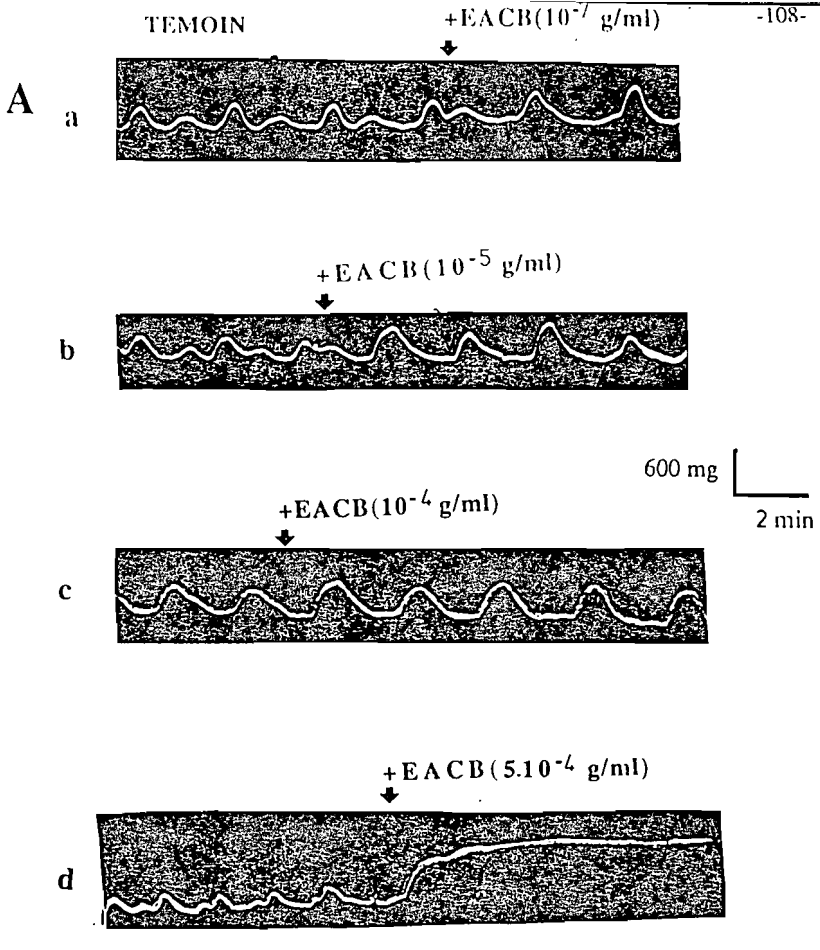
2.1- contracture induite par l'EACB

L'EACB à dose élevée (10^{-4} g/ml) développe une contracture du muscle lisse. Cette contracture est supprimée en présence d'atropine ($5 \cdot 10^{-5}$ g/ml). Sur la figure 27A, on note que l'association de l'atropine à l'EACB induit une relaxation du myomètre.

Figure 26

A- Enregistrement normal des contractions rythmiques isométriques de faisceaux de myomètre suivi de l'effet de l'EACB à doses croissantes (10^{-7} à 5×10^{-4} g/ml)

B- Courbe de variation du pourcentage de l'augmentation maximum de la contraction développée par le lambeau de myomètre sous l'influence de l'EACB à doses croissantes (10^{-7} à 10^{-4} g/ml).



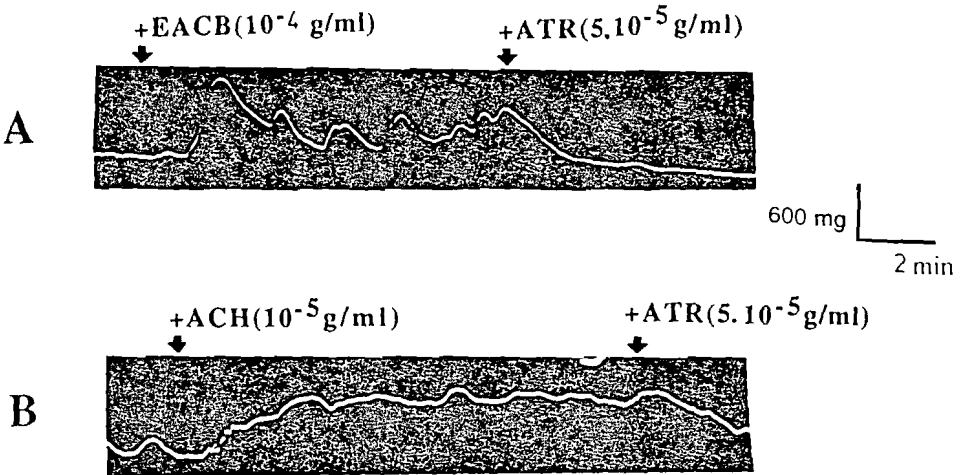


Figure 27

Contraction du myomètre induite par

A- l'EACB à 10⁻⁴ g/ml suivie de l'impregnation du myomètre d'atropine (ATR) à 5x10⁻⁵g/ml

B- l'acétylcholine à 10⁻⁵g/ml suivie de l'administration d'atropine(ATR) à 5x10⁻⁵g/ml

On a également noté que la contracture musculaire développée sous l'effet de l'acétylcholine (10^{-5} g/ml) est réduite sous l'action de l'atropine à $5 \cdot 10^{-5}$ g/ml (fig. 27B). Par rapport à l'acétylcholine, l'EACB induit une contracture à forte concentration.

2. 2 - Effet de l'EACB sur la contraction du myomètre en milieu dépourvu de calcium.

Les contractions spontanées du myomètre développées en solution normale sont abolies en milieu dépourvu de calcium. Le tonus musculaire de base reste maintenu à un niveau stable. L'imprégnation du lambeau d'une solution sans calcium contenant l'EACB à $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml entraîne le développement de contracture (fig. 28A). L'association de cette même solution à l'EDTA 10^{-4} M, induit également une élévation du tonus de base, une contracture maintenue à $180 \pm 20,10$ mg (fig. 28B).

2. 3 - Variation de la contracture induite par l'acétylcholine en présence de l'EACB

L'acétylcholine est capable de provoquer une nette augmentation du tonus de base du muscle, c'est-à-dire de développer une contracture musculaire. Quand on associe l'acétylcholine à 10^{-5} g/ml à des doses croissantes de l'EACB (10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml), on constate une augmentation de l'amplitude de la tension maximale du muscle dépendant de la concentration de l'EACB utilisé (fig. 29 et 30).

3. Contractures du myometre induites en milieu hyperpotassique

3.1- Contractures en milieu hyperpotassique sans calcium.

En milieu hyperpotassique (70,10 mM) sans calcium, le myomètre est relaxé. Lorsque ce milieu est additionné de calcium (1 mM), il se développe une contracture maintenue à une valeur de $400 \pm 31,10$ mg (fig. 31A). La tension de base revient à sa valeur initiale 5 minutes après le retour en solution hyperpotassique sans calcium.

Figure 28

A- Enregistrement témoin (1) suivi de la contracture du lambeau du myomètre induite par l'EACB à 10^{-4} g/ml, en solution physiologique de type Mac Ewen (ME) sans calcium (2)

B- Enregistrement témoin (1) suivi de la contracture du myomètre provoquée par l'EACB à 10^{-4} g/ml en milieu dépourvu de calcium en présence de l'EDTA à 10^{-4} g/ml (2) (ME:solution physiologique de type Mac Ewen)

Les flèches dirigées vers le bas, indiquent que le faisceau de myomètre est imprégné de la solution contenant la substance étudiée. Celles dirigées vers le haut, montrent un retour à la solution de référence (ME).

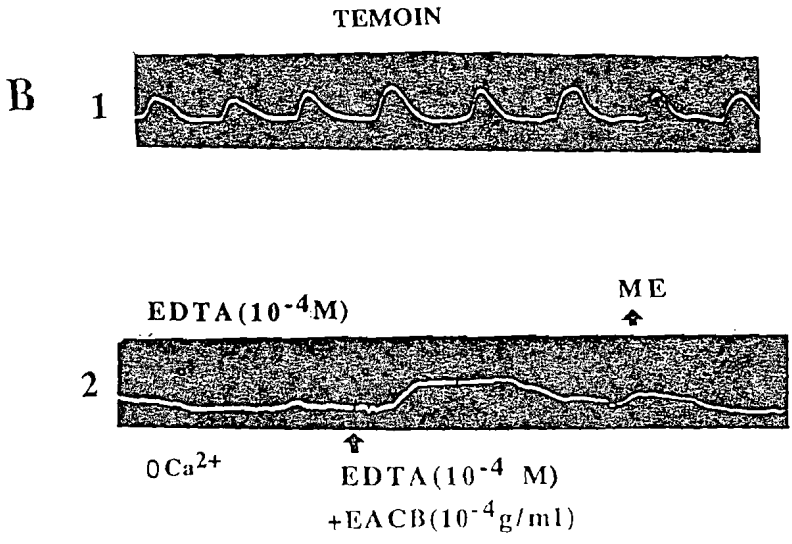
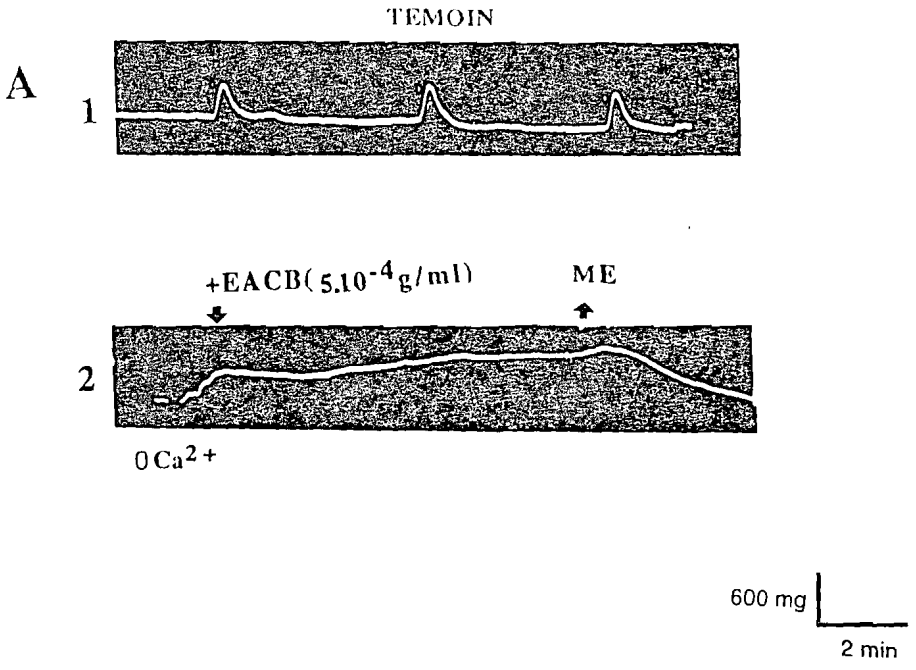
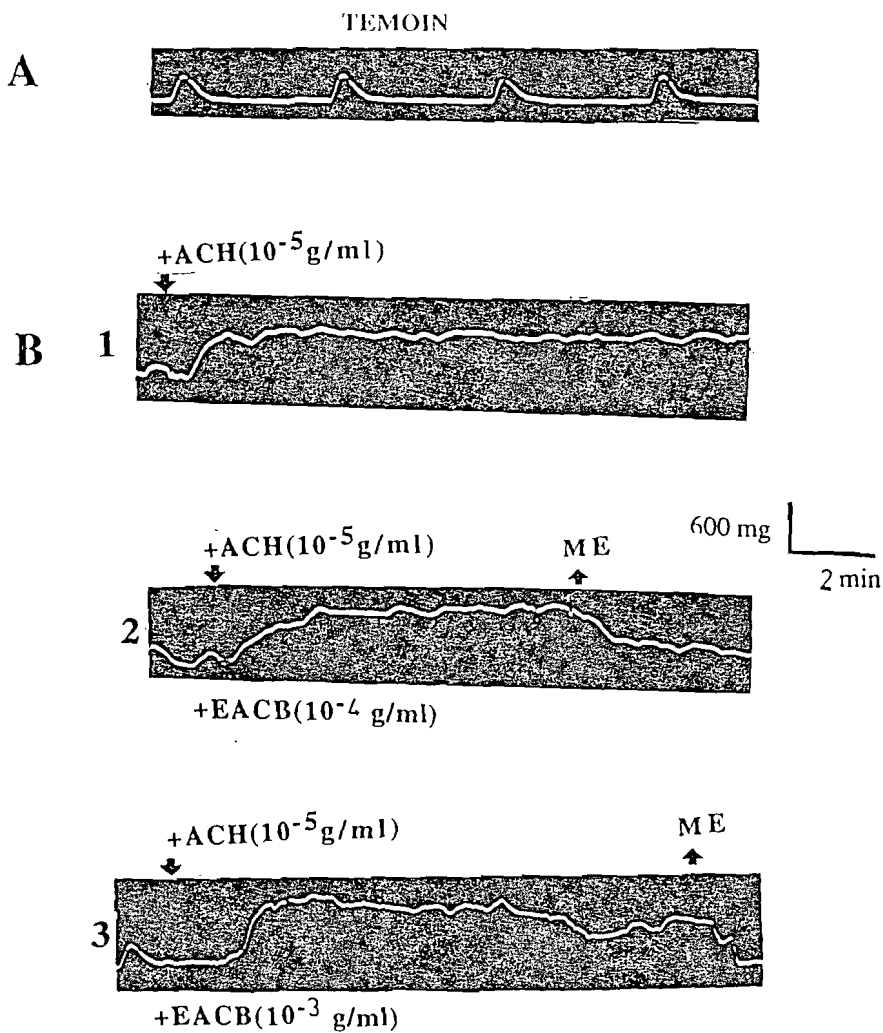


Figure 29

A- Témoin

B- Contracture du myomètre induite par l'acétylcholine (ACh) à 10^{-5} g/ml (1) et l'association de l'ACh et de l'EACB aux doses de 10^{-5} , 10^{-4} et 10^{-3} g/ml. (2 et 3) (ME: solution physiologique de type Mac Ewen)



Tension max.(%)

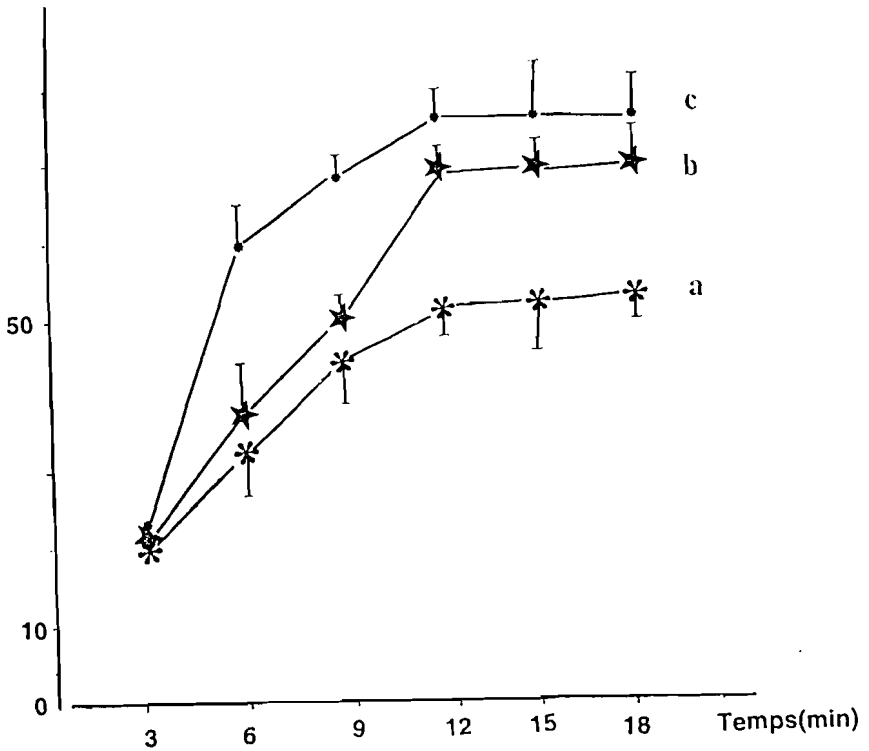


Figure 30

Courbe de type dose-réponse de la contracture développée par le myomètre en milieu acétylcholine (ACh) à 10^{-5} g/ml avec différentes doses de l'EACB pendant une période de 18 minutes

a. 10^{-5} g/ml

b. 10^{-4} g/ml

c. 10^{-3} g/ml

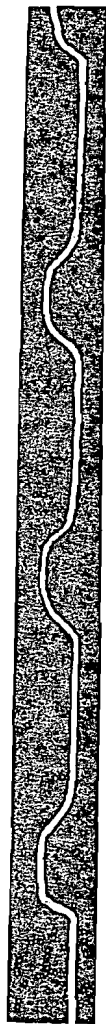
Figure 31

A- Témoin

B- Enregistrement en solution hyperpotassique sans calcium suivie de l'addition de 1 mM de calcium (1 mM Ca⁺⁺), puis retour en milieu hyperpotassique(HK⁺)

C- Contractions normales du myomètre suivies de l'effet de l'EACB à 10⁻⁴g/ml en milieu dépolarisant hyperpotassique et retour en solution hyperpotassique sans calcium (HK⁺)

D- Imprégnation du myomètre de l'EDTA à 10⁻⁴M suivie de l'effet de l'EACB à 10⁻⁴g/ml et retour en solution hyperpotassique sans calcium (HK⁺). Les flèches dirigées vers le bas, indiquent que le faisceau de myomètre est imprégné de la solution contenant la substance étudiée. Celles dirigées vers le haut, montrent un retour à la solution de référence (HK⁺).



A

HK⁺

1 mM Ca₂⁺

HK⁺



B

600 mg

2 min

HK⁺

+EACB(10⁻⁴ g/ml)

HK⁺



C

+EDTA(10⁻⁴ M)

HK⁺



D

HK⁺

EDTA
+EACB(10⁻⁴ g/ml)

3. 2- Contracture du myomètre induite par l'EACB

Dans le milieu hyperpotassique dépourvu de calcium, l'addition de l'EACB à une concentration de 10^{-4} g/ml fait apparaître une contracture maximale dont l'amplitude est égale à $240 \pm 40,10$ mg. Ce qui correspond à une élévation du tonus de base de 58,11%. Le retour en solution hyperpotassique sans calcium entraîne une nette relaxation du myomètre (fig. 31C).

3.3 - Contracture du myomètre induite par l'EACB en présence de l'EDTA

La figure 31D montre l'enregistrement de l'activité mécanique, obtenue en milieu hyperpotassique dépourvu de calcium. Nous constatons qu'en présence de l'EDTA (10^{-4} M), aucune modification du tonus de base n'est observée. Mais lorsque l'EACB est ajouté à l'EDTA, il se manifeste le développement d'une contracture maintenue à une amplitude égale à $220 \pm 31,02$ mg. Le retour à la solution de référence induit une relaxation du myomètre.

4. Discussion - Conclusion

L'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* (EACB) provoque une augmentation nette de l'amplitude et du rythme des contractions spontanées du muscle lisse utérin. Ces effets de l'EACB sont comparables à ceux de l'ocytocine décrits par MIRONNEAU et Coll.(1977); GARFIELD et BEIER (1989). En pratique obstétrique, l'ocytocine est utilisé pour faciliter les contractions du myomètre pendant le travail (SOMLYO et FRANZINI, 1985; CRANKSHAW, 1987).

L'EACB est capable d'induire à doses élevées une contracture du myomètre. Ce résultat rend compte de l'effet stimulant et dépolarisant de cette substance. OFFOUMOU (1980) a obtenu des résultats similaires, avec les extraits totaux de *Alchornea cordifolia* qui sont capables de développer une contracture ou une contraction spontanée sur le myomètre.

L'action utérotonique de l'EACB peut être également comparée à celle de la prostaglandine E₂ qui induit une contracture notable du myomètre (FUCHS, 1983).

Cette substance (prostaglandine E₂) est classiquement reconnue comme substance abortive, à cause de ses propriétés utérotoniques(GILLIN, 1994).

L'EACB développe une contracture en milieu sans calcium. Cette observation permet de suggérer que l'influx calcique qui se trouve réduit pendant l'activité en solution sans calcium, serait couplé à un facteur activateur de l'activité contractile.

L'influx calcique réduit en solution sans calcium n'est pas favorable au développement de contracture du muscle lisse utérin. Cela nous permet de dire que la contracture provoquée par l'EACB en milieu sans calcium; serait lié à un certain facteur capable d'activer le phénomène contractile.

Afin de montrer ce facteur responsable de la contracture sous de l'effet de l'EACB, nous avons réalisé une expérimentation en solution dépourvue de calcium, additionnée d'EDTA (agent chélatant d'ions calcium).

Dans ces conditions, l'EACB a entraîné également le développement d'une contracture du myomètre. Cette réponse mécanique induite, qui se traduit par une contraction musculaire soutenue, peut s'expliquer par une mobilisation de calcium intracellulaire; l'influx calcique étant pratiquement aboli en milieu privé de calcium. De tels résultats ont été décrits par BONVALLET et Coll. (1980), qui expliquent qu'une telle activité, résulterait de la libération de calcium intracellulaire.

De nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle activateur de calcium intracellulaire dans le développement de la composante lente de l'activité contractile du muscle lisse utérin. L'activité mécanique peut être dissociée en deux composantes une composante phasique et une composante tonique (BOGDAVON et Coll., 1979; OFFOUMOU,1980; MIRONNEAU et Coll., 1984, LUDMIR et ERULKAR , 1993).

La dépression de la contraction phasique peut être causée par une diminution de l'influx calcique transmembranaire (FEINSTEIN, 1966). Certains auteurs ont montré, dans ces conditions, que les contractions spontanées du myomètre de rate sont sous la régulation de sites superficiels de liaison de calcium (HURWITZ et JOINER 1970; CHOW et MARSHALL,1981; MIRONNEAU et Coll, 1984).

Le passage en solution de référence (solution hyperpotassique sans calcium) provoque une relaxation du muscle. L'addition de calcium (1mM) dans le milieu hyperpotassique entraîne l'apparition d'une contracture maintenue. Cette relaxation en milieu hyperpotassique serait due à l'absence d'influence calcique, suivie d'une décharge d'ions calcium à partir des réservoirs calciques internes (BATRA, 1982). La relaxation du myomètre est liée à l'existence des pompes calciques ATP-dépendantes sur les membranes réticulaires, dans ces conditions expérimentales, elle serait attribuée à une déplétion du calcium dans le myomètre (BOZLER, 1948; HURWITZ et Coll, 1973; SAVINNEAU, 1978).

La contracture observée dans cette solution par addition de calcium, indique que le calcium est le facteur activateur principal (WILSON et QWEST, 1995). Il s'agit naturellement, d'un influx calcique déclenchant une décharge de calcium ionisé libre, à partir des réservoirs internes.

Les travaux de KAWANISHI et Coll, (1984) ont montré que lorsque la concentration externe de potassium est augmentée à 40 mM, en solution sans calcium, l'interaction sodium-calcium se traduit par une prédominance de la composante calcique. Ce qui explique le développement de la contracture.

Afin d'apprécier la contribution de calcium, dans l'effet de l'EACB, nous avons réalisé une expérimentation en milieu sans calcium additionné d'EDTA.

L'association de l'EDTA dans la solution hyperpotassique sans calcium entraîne une contracture du myomètre. Cette contraction maintenue sous l'effet de l'EACB, nous permet de dire que l'EACB, agent stimulant et dépolarisant, pourrait mobiliser, de façon notable, le calcium intracellulaire et par voie de conséquence, accroître la composante calcique lente, c'est-à-dire la contraction tonique du myomètre.

La contraction maintenue en milieu hyperpotassique, nous permet d'émettre l'hypothèse suivant laquelle, l'EACB peut mobiliser le calcium intracellulaire et par voie de conséquence la composante lente par accroissement du taux de calcium intracellulaire, mais son action se manifeste également sur la composante rapide

(influx calcique) ou calcium dépendant du potentiel (BATRA et Coll., 1988 et BYGDEMAN et Coll., 1994).

En conclusion, l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* (EACB) et l'acétylcholine exercent une action stimulante sur la contraction du muscle lisse utérin. L'EACB est une substance utérotonique. Cet effet utérotonique de l'EACB se caractérise par le développement de contracture en solution normale de type Mac Ewen ou en milieu dépolarisant (solution hyperpotassique dépourvue de calcium). Cette activité peut être liée à une mobilisation de calcium extracellulaire. Il s'agit donc d'une action de type ocytocique.

Dans ces différents milieux, l'addition de l'EACB provoque le développement de contracture en présence d'EDTA, ce qui permet d'affirmer que l'EACB agirait sur le double flux calcique comme la prostaglandine. Cette activité prostaglandine-like se résumerait par la capacité de mobilisation du calcium intra- et extracellulaire, ce qui confirme la propriété utérotonique de l'EACB qui pourrait ainsi présenter un grand intérêt en obstétrique.

E- CONCLUSION GENERALE

Au terme de cette étude, les propriétés bioactives de l'extrait aqueux de *Caesalpinia bonduc* étudiées sur les différents paramètres physiologiques, nous ont permis de relever les conclusions suivantes.

Au niveau de l'étude toxicologique, il est montré que l'EACB présente un effet contraire à celui du venin de *Bitis arietans*. Il provoque une diminution de la toxicité du venin de serpent. Les tests réalisés, nous permettent de suggérer que l'EACB aurait un site d'action au niveau de la plaque motrice (nerf phrénique-diaphragme, préparation nerf-muscle), cela confirme le caractère antivenimeux de l'EACB.

Au niveau du système cardio-vasculaire, l'EACB induit une hypotension chez le Cobaye et le Lapin. L'EACB provoque également des effets chronotrope et inotrope négatifs. Les effets chronotrope et inotrope négatifs observés, en présence de l'EACB, sont essentiellement attribués à un allongement de l'intervalle P-P et une diminution de l'onde R. Ces résultats sont comparables, à ceux du propranolol, utilisé pour le traitement des cardiopathies.

L'étude de la contraction du myomètre montre que l'EACB exerce une action stimulante et dépolarisante. L'EACB serait une substance ocytotique-like. L'activité de type prostaglandine démontre la capacité de mobilisation de l'EACB du double flux calcique. Cet extrait présente donc des propriétés utérotoniques, qui lui confère un grand éventail d'intérêt gynéco-obstétrique.

Nos résultats montrent que la substance active de l'EACB pourrait agir de différentes manières selon la structure considérée. Elle agirait comme un antivenimeux au niveau de la transmission neuro-musculaire, en levant le blocage induit par le venin de serpent. Par ailleurs, elle présenterait des propriétés cardiomodératrice et utérotonique. A la lumière des différents résultats, il a été possible de caractériser quelques modalités d'action de l'EACB, ce qui a permis de jeter les bases de nouvelles perspectives d'action pharmacologique d'une substance naturelle d'origine végétale.

Ainsi, l'intérêt clinique de cette substance résiderait dans le fait que pendant les périodes gravidaires, les femelles présentent une hypertension fugace ou maintenue. Cette fraction de *Caesalpinia bonduc* pourrait être utilisée pour le traitement des hypertensions sanguines artérielles et être également, employée comme substance utérotonique lors du travail difficile chez les parturientes.

Au terme de ce travail, il serait donc souhaitable que cette expérimentation permette une amélioration des techniques utilisées, afin de réduire la toxicité de ces drogues dans le traitement de nombreuses affections. Cette étude permet d'espérer que l'usage thérapeutique de *Caesalpinia bonduc* pourrait ainsi améliorer le traitement de certaines affections. Mais une collaboration s'avère nécessaire entre Médecine moderne et Médecine traditionnelle, en vue d'une exploitation rationnelle de l'énorme richesse que renferme notre patrimoine floristique.

PERSPECTIVES

Ce travail sur les propriétés pharmacologiques de *Caesalpinia bonduc* pourrait être poursuivi suivant deux axes d'orientation :

- premièrement, la caractérisation des principes actifs à l'aide de technique chimique d'extraction. Ainsi, l'obtention d'extraits fractionnés avec différents solvants, nous permettra de connaître la nature des substances chimiques actives;
- deuxièmement, l'étude plus approfondie des mécanismes d'action biologiques, ce qui suppose une étude de l'influence des extraits fractionnés de *Caesalpinia bonduc* sur différentes fonctions : la régulation cardio-vasculaire et l'activité contractile de structures musculaires lisse, cardiaque et vasculaire. Cette étude sera complétée par des coupes cytologiques et histologiques de différents organes.

Les travaux de cette deuxième partie seront comparés à ceux obtenus avec des substances pharmacodynamiques. L'objectif sera de rechercher le groupe chimique et même la molécule du principe actif. Ces techniques nous permettront de contribuer à la préparation de nouveaux médicaments, pour la santé des populations en l'an 2000 .

**F-REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- ADJANOHOOUN, E. J. (1990)
Etat d'évolution de l'ethnopharmacopée africaine.
Bull. Med. Trad. Pharm, vol 4, n°1, 59-63.
- ADJANOHOOUN, E. J. et AKE, A.L. (1979)
Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire.
Ed. Centre National de Floristique, Tome 1, p. 63.
- AHLQUIST, R.P. (1948)
A study of adrenotropic receptors.
Am. J. Physiol, 154, 586-599.
- AKA, K. J. (1980)
*Analyse de la repolarisation du myocarde ventriculaire de singe en relation avec la fibrillation cardiaque. Influence d'une substance cardioactive africaine (extrait de *Mansonia altissima*)*
Thèse d'Etat Es Sciences, n° 55, p 20.
- AKE ASSI, L. (1991)
Médecine traditionnelle et pharmacopée.
Rapport sur le colloque international sur la médecine traditionnelle africaine à Abidjan, Côte d'Ivoire.
Bull. Med. Trad. Pharm., Acct, vol 4 n°2, 203 p.
- AKE ASSI, L. et TAHIRI ZAGRET, C. (1979) :
Plantes médicinales actives dans le domaine génital selon la Pharmacopée ivoirienne - *Université Nationale d'Abidjan*, 2p.
- ALI, T.(1989)
Contribution à l'étude des propriétés bioactives du flumazenil (Ro 15-1788). antagoniste spécifique des Benzodiazépines.
Thèse de Doctorat de spécialité, Université d'Abidjan
- ALMERS et ADRIAN (1976)
Charge movement in the membrane of striated muscle.
J. Physiol. (London), 254, 339-350.
- ARMSTRONG, C.M. et BEZANILLA, L.(1973)
Currents related to movements of the gating particles of the sodium channels
Nature (London), 242, 459-460.

- ARON, Y ; KONE, P.P et SIMAGA, A (1986)
Les Serpents en Côte d'Ivoire : Etude biologique in "Résumé des communications des premières journées scientifiques,FAST", Abidjan p.63
- ATIN, O. (1988)
Techniques expérimentales de Physiologie Animale et de Psychophysiologie Application à l'étude comparée des propriétés pharmacologiques des venins de deux élapidés de Côte d'Ivoire Dendroaspis viridis et Naja nigricollis. DEA de physiologie animale, 100p.
- AYITEH-SMITH, E. et VARMA, D.R. (1970)
Assesment of the role of the sympathetic nervous system in experimental hypertension using normal and immuno-sympathectomized rats.
Bristish.J. Pharmacol., **40**, 175.
- BARNETT, S.A. et COWAN, P.E. (1976)
Activity, exploration, curiosity and fear : An ethological study.
Interdisciplinary Science Review, **1**, 43-62.
- BASSETT, A.L. et HOFFMAN, B.F. (1971)
Antiarrhythmic drugs : Electrophysiological actions
Ann. Rev. Pharmacol., **11**, 143-170.
- BATRA, S. (1982)
Uptake and energy-dependent extrusion of calcium in the rat uterus
Acta Physiol. Scand., **114**, 447-452.
- BATRA, S. (1986)
Calcium et contractilité utérine in "Control and management of parturition".*Colloque INSERM, Eurotext*, **151**, PP 37-48.
- BATRA, S.; KOSTRZEWSKA, A. et LAUDANSKI, T. (1988)
Effect of calcium and calmodulin antagonists on contractile responses of the human uterine artery.
Br. J. Pharmacol., **94**, 1037-1042.
- BATRA, S. et POPPER, L.D. (1989)
Characterization of membrane calcium channels in non pregnant and pregnant human uterus. *Gynecol. Obstet Invest.*, **27**, 57-61.
- BEDFORD, C.E.; CHALLIS, J.R.G.; HARRISSON, F.A. et HEAP, R. (1972)
The role of oestrogens and progesterone in the onset of parturition in various species.*J. Reprod. Fert.*, **16**, 1-23.

- BEEVERS, D.G. (1977)
Facteurs hormonaux et hypertension in "Conception actuelle de l'hypertension".
Exp. Medica. (Eds), 38-52.
- BELL, C. (1972)
Autonomic nervous control of reproduction : circulatory and other factors.
Pharmacol Rev, **24**, 657-736.
- BELL, J.M., WHITMORE, W.L. et SLOTKIN, T.A (1986)
Effects of difluoromethylanithine, a specific irreversible inhibitor of ornithin decarboxylase, on nucleic acids and proteins in developing rat brain. Critical perinatal periods for regional selectivity.
Neurosci, **17**, 299-407.
- BENNET, T.M.R. et ROGERS, D.C. (1967)
A study of the innervation of the taenia coli.
J. Cell. Biol. **33**, 573-596.
- BERHAUT, F. (1967)
Flore illustrée du Sénégal
Dakar, Ed. *Claire-Afrique*, **2**, p 223.
- BERTHOLET, B. M. et PEPINE, C. J.(1995)
Daily life cardiac ischaemia: Should be treated ?
Drugs, **49**(2), 176-195.
- BIGLAND-RITCHIE, B (1984)
Muscle fatigue and the influence of changing neural drive.
Clin. Chest. Med. **5**, 21-34.
- BODGDANON, K.Y. , ZAKHAROV, PS.I. et ROSENSHTRAUKH, L.V. (1979)
The original of two components in contraction of Guinea pig papillary muscle in the presence of noradrenaline.
Can. J. physiol pharmacol ; **57**, 866-872.
- BOISSIER, J.R. et SIMON, P. (1962)
La réaction d'exploration chez la Souris.
Thérapie, **XVII**, 1225-1232.
- BOISSIER, J.R ; SIMON, P et LWOFF, (1964)
L'utilisation d'une réaction particulière de la souris (methode de la planche à trous) pour l'étude des médicaments psychotropes.
Thérapie, **19**, 571-589.

- BOLTON, T.B. (1979)
Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol. Rev.*, **59**, 606-718.
- BOLTON, T. B. et BIANCHI, C.P. (1967)
Action of local anesthetics on coupling systems in muscle.
J. Pharmacol. Exp. Therap., **157**, 388-405.
- BONDURAND, A.; TRICOCHÉ, R.; OFFOUMOU, A.M.; N'DRI D. et COFFI, K (1980) Intoxications aiguës à la chloroquine. *Encyclop. Med. Chir.*, **51**, (4), 21-23
- BONETTI, E.P.; PIERI, L.; CUMIN, R. et HAEFELY, W. (1982)
Benzodiazepine antagonist. Neurological and behavioral effects
Psychopharma, **78**, 8-18.
- BONVALLET, R. R ILDEFONSE, M. & ROUGIER, O (1980)
Mise en évidence d'une libération intracellulaire de calcium induite par les ions sodium au niveau de trabécules auriculaires de grenouille. *C.R. Acad. sci-Paris*, **291**, 557-560.
- BOUQUET, A. et DEBRAY, M. (1965)
Travaux et documents de L'ORSTOM, Paris, n°32, p 56-60.
- BOUVERET, P. (1981)
Tree myosin heavy-chain isozymes appear sequentially in rat muscle development. *Nature* **292**, 805-809.
- BUHEL, L. et LEVY, J. (1962)
Test d'évasion avec la cage tremblante.
J. Physiol., **54**, 304-305.
- BOZLER, E. (1948)
Conduction, automaticity and tonus on visceral muscle
Experientia, **4**, 213-218.
- BRODY, M.J. et ZIMMERMAN, (1976)
La circulation périphérique dans l'hypertension artérielle.
Acquis. Nouv. Path. Cardiovas, **18**, 601-631.
- BYGDEMAN M., SWAHN M.L., GEMZELL-DANIELSON K., GOTTLIEB C. (1994) The use of progesterone antagonists in combination with prostaglandin for termination of pregnancy. *Hum Repro*, **9**(1), 121-125.

- CADWELL, P.C. (1969)
Calcium chelation and buffeen symposium on calcium and cellular function. Edited by A. W. Cathbert, Cambridge University, p10.12.
- CARSTEN, M.E. (1974)
Hormonal regulation of myometrial calcium transport.
Gynec. invest., **5**, 269-275.
- CASTEELS, R. et KURIYAMA, H. (1965)
Membrane potential and ionic content in pregnant and non pregnant rat myometrium. *J. Physiol. (London)*, **177**, 263-287.
- CAVILLE, F. (1985)
The contractile proteins of the human myometrium. *Acta Physiologica Hungarica*, **65**, 4, 453-460.
- CAVILLE, F. et LEGER J.J. (1983)
Characterization and comparison of the contractile proteins from human gravid and non gravid myometrium. *Gynecol. Obstet. Invest.* **16**, 341-353.
- CHAMPLAIN, J. (1972)
Hypertension and sympathetic nervous system in SNYDER, S. (Ed)
Perspectives in Neuro pharmacology. London, Oxford, p 215.
- CHANDLER, W.K. ; SCHNEIDER, M.F. ; RAKOWSKI, R.F. et ADRIAN, R.H.
(1975) Charge movement in skeletal muscle.
Phil. Trans. R. Soc. B, **270**, 501-505.
- CHAPPLE, D.J. ; DUSTING, G.J. , HUCHES, R. et VANE, J.R (1980):
Some direct and reflex cardiovascular actions of prostacyclin (PGI₂) and prostaglandin PGE₂ in anaesthetised dogs. *Br.J. Pharmacol*, **68**, 437-47
- CHIARANDINI, D.J. et STEFANI, E (1976)
Calcium and excitation- contraction coupling in frog skeletal muscle, fibers- in *Electrobiol. Nerve. Synapse and muscle*, ed RAVEN, J.P., BENETT, M.J.L, p 321 New York, Raven Press.
- CHOW, E.H.M et MARSHALL J.M. (1981)
Effets of catecholamines on circular and longitudinal uterine muscle of the rat. *Eur. J. Pharmacol*, **76** ; 583-596.
-

- CLAUSEN, T. et EVERTS, M.E. (1991)
Potassium induced inhibition of contractile force in rat skeletal muscle.
Role of active $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ transport.
Am. J. Physiol..
- COCKER, W. (1966)
Some aspects of the chemistry of diterpenoid, bitter principles. *Deutsche
Apoteker Zeitung*, **28**, p1007.
- CONSTANTIN, L.L. et PODOLSKY, R.J. (1967)
Depolarisation of the internal membrane system in the activation of frog
skeletal muscle.
J. Gen. Physiol., **50**, 101-124
- CONSTANTIN, L.L. et TAYLOR, S.R. (1973)
Active and passive shortening in voltage frog muscle fibers.
J. Physiol. (London), **218**, 13 p.
- COPPOLA, M. et HOGGAN, D.E. (1994)
When a snake bites. *J. Am. Osteoph. Assoc*, **94**(6), 494-501
- CORABOEUF, E. (1971)
Courants ioniques transmembranaires dans les cellules Cardiaques :
application à la pharmacologie.
Actual Pharmacol, 153-182.
- CORABOEUF, E. ; DISTEL, R. et BOISTEL, J. (1955)
Activité électrique normale des différents tissus du coeur de chien. *C.R.
acad. Sci, Paris*, **240**, 1927- 1928.
- CRAIG, R ; SMITH, R. J KENDRICK, et JONES, J. (1983)
Light-chain phosphorylation controls the conformation of vertebrate non-
muscle and smooth muscle myosin molecules. *Nature*, **302**, 436-439
- CRANKSHAW, D.J (1987)
The sensitivity of the longitudinal and circular muscle layer of the rats
myometrium to oxytocin in vitro.
Can. J. Physiol Pharmacol, **65**, 773-774.
- CRAWLEY, J.N (1981)
Neuropharmacologic aspecificity of a simple animal model for the
behavioral actions of benzodiazepines.
Pharmacol. Bioche. Behav, **15**, 695-699.

- CSAPO, A.I.(1962)
Smooth muscle as a contractile unit.
Physiol. Rev, **42**, suppl 5., 7-33.
- CURTIS, B.A. (1966)
Some effects of calcium free choline ringh solution on frog skeletal muscle.*J. Physiol (London)*, **166**, 75-86.
- DABROWSKA, R ; AROMATORIO, D. et CHERRYYS, R. (1977)
Composition of the myosin light-chain kinase from chicken gizzard.
Biophys-Res. Commun, **78**, 1263-1272.
- DALE, H.H. et FELDBERG, W. (1964)
The chemical transmission of secretory impulses to the sweat glands of the cat.
J. Physiol. London, **82**, 121-128.
- DATTE, J.Y., (1991)
Etude des effets utérotoniques de la prostaglandine E2 et de l'extrait méthanolique de Parquetina nigescens (Périplocacée)
DEA de Physiologie Animale, Université d'Abidjan, FAST, Côte d'Ivoire.
- DHAR, M.L., DHAR, M.M., DHAWAN, B.N et RAY, G (1968)
Screening of Indian plants for biological activity
Part 1 *Ind.J. exp.Biology*, **6**, p 232-247.
- DORR, L.D. et BRODY, M.J. (1966)
Preminary observations on the role of the sympathetic nervous système in development and maintenance of experimental renal hypertension.
- DOYERE, M.P.L.N. (1840)
Memoire sur les tardigrades.
Ann. des Sci. nat. Serie 2 (Zool), **14**, 269-300.
in Thèse d'état, KONE P.P.(1980), Université d'Abidjan.
- DURAO, M., PRATA, M. M. et GONCALVES, L.M.P. (1977) :
Modification of anti-hypertensive effect of beta-adrenoceptor blocking agents by inhibition of endogenous prostaglandin synthesis. *Lancet* **2**, 1005-1007.
- DUSTING, G.J. : DICKENS, P. ; DINICOLANTONIO, R. et DOYLE, A.E (1984)
Vascular prostacyclin and Godblatt hypertensive rats.
J. Hypertens. **2**, 31-36.

- DUSTING, G.J. et Mac DONALD, P.S. (1991) :
Prostacyclin and vascular function : Implications for hypertension and arteriosclerosis. *Pharmac Ther* vol **48**, P. 33-326.
- DUSTING, G.J, Mac DONALD, P.S ; HIGGS, E.A. et MONCADA, S (1989) :
The endogenous nitrovasodilator produced by the vascular endothelium. *Aust N-Z-J. Med*, **19**, 493-498.
- EBASHI, S. et ENDO, M. (1968)
Calcium ion and muscle contraction. *Prog. Biophys. mol-biol*, **18**, 123-183.
- EHILE, E.E.; MENSAH-NYAGAN, A., GUEDE, G.F. et AKA, K. J. (1991)
Effets pharmacologiques de la mansonine sur des arythmies induites au niveau du coeur isolé de Rat. *J. Ethnopharma*, **33**, 179-183.
- ENDO, M. et NAKAJIMA, Y. (1973)
Release of calcium induced by depolarisation of the sarcoplasmic reticulum membran. *Nature - New Biol*, **246**, 216-218.
- ENDO, M. et THORENS, S. (1975)
Release of calcium from the sarcoplasmic reticulum induced by hypotonic solutions.
J. Physiol. Soc. Jap. **37**, 422-424.
- ERLIJ, D. C, RANGOLO, R et VALADEZ, R. (1965) :
Adrenotropic receptors in the frog.
J. Pharmacop. Exp. Ther., **149**, 65-70.
- FEINSTEIN, M.B. (1966)
Inhibition of contraction and calcium exchangeability in rat uterus by local anesthetics. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, **152**, 516-524.
- FENG, P.C ; HAYNES, LJ ; MAGNUS, K.E. et PLIMMER, J.R (1964)
Further pharmacological screening of some west indian medicinal plants.
J. Pharma **16**, pp 115-117.
- FOLKOW, B. ; HALLBACK, M et LUNDGREN, R. (1972)
The effects of "immunosympathectomy" on blood pressure and vascular "reactivity" in normal and spontaneously hypertensive rats.
Acta. Physiol. Scand. **84**, 512
- FORD, L.E. et PODOLSKY, R.J. (1970)
Regenerative calcium release within muscle cells
Science, N.Y., **167**, 58-59.

- FUCHS, F (1983)
Endocrinology of parturition
ed. by Fuchs, Klopper. 247-270.
- GABBIANI, G.; KOCHER, O., BLOOM, W.S. et WEBER, K. (1984)
Action expression in smooth muscle cells of rat aortic thickening, human
atheromatous plaque and cultured rat aortic media.
J. Clin. Invest., **73**, 148, 153.
- GARFIELD, R.E (1984)
Control of myometrial function in preterm versus term labor.
Clin. Obstet. Gynecol, **27** , 572-591
- GARFIELD, R.E. et BIEIR, S. (1989)
Increased myometrial responsiveness to oxytocin during term and
preterm. *Am. J. of obst and gynecol.*, **2**, 454-461.
- GARFIELD, R.E., BLENNERHASSETT, M.G. ; et MILLER, S.M. (1988) :
Control of myometrial contractility . Role and regulation of gap. junctions.
Oxf. Rev. Reprod Biol. ,**10**, 436-490.
- GARFIELD R.E, PURI C.P. et CSAPO A.I (1982)
Endocrinal, structural, and functional changes in the uterus during
premature labor, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **142** ; 21
- GARGOUIL , Y. M. (1958) .
*Relation entre l'activité électrique cellulaire et globale du coeur, et certains
aspects de son métabolisme.* Thèse de Sciences, Poitiers, France.
- GILLIN A .G.(1994)
Maintenance of high risk pregnancies: role of prostaglandins and other
mediators . *Aust. N. Z. J. Obstet Gynaecol.*, **34**, 351-356
- GILLIS, J.M. (1977)
Le couplage excitation contraction dans la fibre musculaire squelettique et
cardiaque. *J. Physiol. Paris*, **73**, 863-876.
- GILLIS, J.M. et O'BRIEN, E.J. (1975)
The effect of calcium ions on the structure of reconstituted muscle
filaments. *J. Mol. Biol.*, **99**, 445-456.

- GIUDICELLI, J.F.(1971)
Classification pharmacologique des antiarythmiques, p 137-159 in
Pharmacologie clinique des troubles du rythme et de la contraction
cardiaque-Paris 17-18 déc, éd Sandoz.
- GOLDBLATT, H. (1938)
Studies on experimental hypertension, VII. the production of the
malignant phase of hypertension.
J.exp. med. **67**, 809-826.
- GUEDE G F. et ATTIAS, J., (1977).
Inhibition de la Na^+ , K^+ .ATPase microsomale du cerveau par des
extraits de *Mansonia altissima*.
C. R. Acad. Sci., Paris, **284**, 2159- 2162.
- GUEDE G F.; BERREBI-BERTRAND, I.; SMITH, M.O. et OCHILLO, R. F. (1991).
Pharmacological characterization of a novel ouabain analog from
Mansonia altissima : An in vitro investigation of effects on Na^+ , K^+ -
ATPase in Gene regulation and molecular aspects of muscle, liver,
pancreas, connective tissue and plants, Peeters Press, ed Wegmann,
R. J. et Wegmann, M. A.,Paris, 5, 241-247.
- HEISTRACHER, P et HUNT, C.C. (1969)
The relation of membrane changes to contraction in twitch muscle
fibers.*J. Physiol. (London)*, **201**, 589-
- HEUMANN, H. G. (1977)
Über die Funktion sweise glatter muskelfasern.
Electronen mikroskopische untersuchungen an der darmmuskulatur der
hansmans.*Cytol. Biol.*, **3**, 259-281
- HILL, A.V. (1949)
The abrupt transition from rest to activity in muscle. *Proc. R. Soc. B.*, **136**,
399-420.
- HODGKIN, A.L. et HOROWICZ, P. (1960)
Potassium contractives in single muscle fibers.
J. Physiol. (London), **221**, 105-120.
- HODGKIN, A.L. et HUXLEY, A.F. (1952)
Currents carried sodium and potassium ions through axon of *Loligo*.
J. Physiol. (London), **116**, 449-472.

- HOH, J F Y , MC GRATH, P.A et WHITE, R.J (1976)
Electrophonetic analysis of multiple forms of myosin
in fast-twitch and slow-twitch of the chick. *Biochem J.* **157**, 87-95.
- HOLMBERG, E. et WALDECK, B. (1980)
The effect of insulin on skeletal muscle contractions and its relation to the
effect produced by beta adrenoceptor stimulation.
Acta Physiol. Scand. **109**, 225-229.
- HOLMBERG E. et WALDECK, B. (1986)
On the possible role of potassium ions in the action of terbutaline on
skeletal muscle contractions. *Pharmacol et Toxicol.* **46**, 141-149
- HOLTZ, P. et WOLLPERT, K. (1967)
La motilité utérine en présence de l'adrénaline
Arch. exp. Path. Pharmacol. **185**, 20-41.
- HOU. Q. C., SEIDLER, F.J. et SLOTKIN, T.A. (1989)
Development of the linkage of beta adrenergic receptors to cardiac
hypertrophy and heart rate control. Neonatal sympathectomy with 6 -
hydroxydopamine. *J. of Develop. Physiol.* **11**, 305-311.
- HURTWITZ, L., FITZPATRICK, D.F. ; DEBRAS, G et LANDON, E.J (1973).
Localization of calcium pump activity in smooth muscle.
Sciences, **179**, 384-386.
- HURTWITZ, L. et JOINER, P.D. (1970),
Mobilization of cellular calcium for contraction in intestinal smooth
muscle.
Am. J. Physiol. **218**, 12-19.
- HUSZAR, G. (1986)
The physiology and biochemistry of the uterus in pregnant Labor.
Inc. Boca.Raton, Fla. coll. Inserm, **151**, 67 p.
- HUTTER O.F. et TRAUTWEIN, W (1956)
Vagal and sympathetic effect on the pacemaker fiber in the sinus
venosus heart.
J. Gen-physiol. **39**, 715-733.
- HUXLEY, H.E (1960)
Muscle cells,
The cell, vol. IV, ed. Bachet et Mirsky. New York.
London Acad.Push.

- HUXLEY, H.E et HANSON, J (1954)
Changes in the cross striations of muscle during contraction and stretch and their interpenetration.
Nature **173**, 973-976.
- HUXLEY, A.F et HUXLEY, H. E. (1952)
A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve
J. physiol (London) **117**, 500-544;
- IYENGAR, M.A, et PENDSE, G.S. (1965)
Antidiarrhoeal activity of the nut of *Ceasalpina bonducella* (Flem).
Ind. J. Pharm., **27** n° 11 pp 307-308.
- JOHENNING, G et LINDHEIMER, M.D. (1993)
Hypertension in pregnancy.
Curr Opin Nephrol Hypertens, **2**(2), 307-313
- JOHNSON, L.C. (1979) :
Nouvelles perspectives pharmacologiques de l'action cardiovasculaire d'une substance naturelle : Extraits de Byrsocarpus coccineus (Connaracées, Sapindales).
Doctorat es Sciences naturelles, Poitiers, France n° **289**, p18-19
- JONES, D.A. (1981)
Muscle fatigue due to changes beyond the neuromuscular junction.
Physiol. Mechanisms, symposium **82**, p 178-196
- JONES, D.A. et BIGLAND RITCHIE B. (1986)
Electrical and contractile changes in muscle fatigues
Series sport sci, vol **16**, 372-392.
- KAMEYA, Y. (1969)
An electronmicroscope study on the uterine smooth muscle
J. Jap. Obstec Gynaecol. Soc, **11**, 33-47.
- KARLI, P. (1968)
Système limbique et processus de motivation
J. Physiol. Paris, **60** (1), 3-148.
- KAWANISHI, M., BABA, K and TOMITA, T (1984)
Effets of sodium removal and readmission on the mechanical response in the guinea-pig tracheal smooth muscle. *Jap J Physiol*, **34**, 127-139.

KERHARO, J. (1977)

Aperçu sur les apports de la pharmacopée africaine traditionnelle à la thérapeutique universelle. Troisième colloque du CAMES sur "Médecine traditionnelle et pharmacopée", Kigali, 8-15 octobre, 217-242.

KERHARO, J et ADAM, J.G. (1974).

La pharmacopée sénégalaise traditionnelle, plantes médicinales et toxiques. *Editions vigot frères*, Paris, p 254.

KERHARO, J. et BOUQUET, A. (1950)

Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire-Haute Volta
Ed. Vigot frères, Paris.

KONE, P.P. (1980)

Etude toxicologique, électrophysiologique et pharmacologique du venin de Naja nigricollis (Elapidé de Côte d'Ivoire) et d'une substance antivenimeuse de la pharmacopée traditionnelle africaine (extrait de Securidaca, longepedunculata polygalacée).

Thèse de Doctorat es sciences, Université d'Abidjan, 172p.

KOSTRZEWA, R. M. et SALEH, M.I. (1989)

Impaired ontogeny of striatal dopamine D₁ and D₂ binding sites after postnatal treatment of rats with spiroperidal.
Development Brain res., **45**, 95-101.

KOVACS, L. et SCHNEIDER, M.F. (1978)

Contractile activation by voltage clamp depolarisation of cut skeletal muscle fibers. *J. Physiol. (London)*, **227**, 483-505.

KREHER, P. (1973)

Activité électrique cardiaque et analyse des courants ioniques transmembranaires en fonction de la température chez un mammifère hétérotherme : Le pangolin. Thèse de Sciences, Université d'Abidjan, Côte d'Ivoire.

KREHER, P. (1978)

Role of membrane permeabilities (calcium, chlorid and potassium in the genesis of the notch observed on simian and prosimian cardiac action potentials. *Cardiov. Rev.*, **XII**, 507-515.

KUDLCAZ, E. M., NAVARRO, H.A ; EYCLERS, J.P et SLOTKIN, T.A. (1990)

Prenatal exposure to propranolol via continous maternal infusions : Effects on physiological and biochemical processes mediated by beta adrenergic receptors in fetal and neonatal rat lung.
J. of pharmacol. and Experim. therapeutics, **252**, 42-50

- KURIYAMA, H. et SUZUKI, H. (1976)
Changes in electrical properties of rat myometrium during gestation and following hormonal treatments.
J. Physiol. (London), **260**, 315-333.
- KURODA, M. (1985)
Change in actin isomers during differentiation of smooth muscle.
Biochim. Biophys. Acta, **843**, 208-213.
- LANDS, A.M ; ARNOLD, A. ; MAC AULIFF, J. P ; LUDVENA, F.P et BROWN, T.G (1967).
Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature*, **214**, 597-598.
- LUDMIR, J. et ERULKAR, S.D.(1993)
Hormone influence on ionic channels in myometrium.
Microsc Res Tech, **25**(2), 134-147
- MAC EWEN, L.M. (1956)
The effect on the isolated rabbit heart of vagal stimulation and its modification by cocaine hexamethonium or ouabain. *J. Physiol (London)*, **131**, 678-689.
- MAILLET, M. (1976)
Le tissu musculaire.
Collection histologie et histophysiologie humaines
Vigot frères édition, Tome 4, Paris.
- MALCOLM, S.A et SOFOWORA, E.A. (1969)
Antimicrobial activity of selected nigerian folk remedies and their constituent plants.
Lloydia, **32** p 312-517.
- MARK, J.ST (1956)
An electromicroscope study of uterine smooth muscle.
Anat. Rec. **125**, 473-493.
- MARSHALL, J.M. (1959)
Effects of estrogen and progesterone on single uterine muscle fibers in rat
J. Physiol. London, **197**, 935-942.

- MARSHALL, D.L. et HARVEY, A. L. (1989)
Block of potassium channels and facilitation of acetylcholine release at the neuromuscular junction by the venom of the scorpion, *Pandinus imperator* *Toxicon* vol 27, pp 493-498.
- MAZE, A. et SANKALE, M. (1988)
Guide de médecine en Afrique et Océan Indien Edicef, Paris, pp 384-388.
- MEIER, I. et THEAKSTON, R.A.G. (1986)
Approximate DL₅₀ détermination of snake venoms using eight to ten experimental animals. *Toxicon*, **24**, 395-401.
- MINTON, S.A. (1974)
Venom diseases. Ed. Charles C. Thomas, Springfield III
- MIRONNEAU, J.; SAVINEAU, J.P. et RAHETY, A. (1977)
Evidence for a component of the outward current mediated by calcium influx in uterine smooth muscle.
Biomedical Press, **5**, 117-122.
- MIRONNEAU, C., MIRONNEAU, J. et SAVINEAU, J.P. (1984)
Maintained contractions of rat uterine smooth muscle incubated in a calcium- free solution.
Br.J Pharmacol, **82**, 735-743.
- MOUSTAPHA, G (1992)
Etude des effets pharmacologiques du venin d'un viperidé, Bitis arietans sur quelques organes de vertébrés
DEA de Physiologie Animale, Université Nationale d'ABIDJAN, 26P.
- NATORI, R. (1954)
The property and contraction process of isolated myofibrils
Tikeikai Med. J., **1**, 119-126.
- N'DOIKAN, M.A. (1987) :
Effets comparés des venins de Bitis Gabonica (viperidé) et de Naja nigricollis (Elapidé), au niveau toxicologique, électrophysiologique. DEA de physiologie Animale, Université Nationale de Côte d'Ivoire
76p.
- NEEDHAM, D.M. et WILLIAMS, J.M (1963)
The proteins of the dilution precipitate obtained from salt extracts of pregant and non-pregant uterus. *Biochem.* , **89**, 534-549.

N'GUESSAN, K. F. (1989)

Contribution au recensement , à l'écologie et à la systématique de quelques angiospermes utilisés pour l'édification des habitations traditionnelles par les habitants d'Aboudé Mandeké de la sous préfecture d'Agboville (Côte d'Ivoire). DEA de Biologie Végétale Université d'Abidjan, p 103-104.

NIES, S.A.(1977)

Clinical pharmacology of antihypertensive drugs.
"Symposium on hypertension"
Medical clinics of north Amer, **61**,675-698.

NISSENSON, R. ; FLOURET, G. et HECHTER, O. (1978)

Opposing effects of estradiol and progesterone on oxytocin receptors in Rabbit uterus *Proc. Nat. Acad. Sci*, **75**, 2044-2048.

OFFOUMOU, A. M.(1973)

Analyse à l'aide de la technique de la double separation de saccharose des effets d'un anesthésique local (le chlorhydrate de procaïne), sur les propriétés électriques de la membrane du myomètre. Thèse de Doctorat de spécialité, Poitiers, P23.

OFFOUMOU, A.M. (1980)

Interactions chloroquine-diazépam sur les propriétés électrique et mécanique du myomètre- mode d'action de substance spasmogènes naturelles de la pharmacopée africaine
Thèse de Doctorat, Université d'ABIDJAN, ,n° d'ordre **56**, P90-93.

OPALI, S. et HABER, E. (1974)

The renin-angiotensin system.
New England J. med, **291**, 389-401.

OSA, T.(1973)

The effects of sodium, calcium and manganese on the electrical and mechanical activities of the myometrial smooth muscle of pregnant mice.*Jap.J Physiol*, **25**, 677-692.

OSA, T. (1975)

Effects of magnesium ion and temperature on the phasic and tonic contraction of the potassium contracture in the pregnant myometrium.
Jap.J. Physiol **28**, 357-369.

- OUMAROU, C.O (1981)
Analyse électrophysiologique et pharmacologique comparée des propriétés cardiaques de quatre amines biogènes adrénaline, dopamine, sérotonine et tryptamine.
Thèse es sciences, Université de Tours , p9-29.
- PASCOE, K.O.; BURKE, B.A. et CHAN, W.R. (1986)
Caesalpin F: a new furanoditerpene from *Caesalpinia bonducella*, J.
Natural Product, **49**(5), 913-915
- PERACCHIA, C. (1980)
Structural correlates of gap junction permeation.
Int. Rev. Cytol. **66**, 81-146.
- POHORECKY, K. et ROBERTS, P (1991)
Activity in a modified open-field apparatus : Effect of Diazepam and prenatal stress. *Neurotoxicol teratol* **13**, 129-133.
- POTREAU, D. et RAYMOND, G (1978)
Slow inward calcium current and contraction on frog single muscle fibres. *J. Physiol (London)*, **307**, 9-10.
- POTTER, J.D et GERGELY, J. (1974)
Troponin, Tropomyosin and actin interactions in the calcium regulation of muscle contraction. *Biochemistry*, **13**, 2697-2703.
- PURI, C.P. et GARFIELD, R.E. (1982)
Changes in hormone levels and gap junctions in the rat uterus during pregnancy and parturition. *Biol. reprod.* **27**, 967-975.
- QUATERO H.W. (1991)
Corticotrophin releasing factor and myometrial contractility : a role in parturition.
Colloque Inserm, Eurotext, p78
- RAHETI, A. R. (1980)
Etude électrophysiologique des effets des catécholamines sur le myomètre de Rate au cours de la gestation,
Thèse de doctorat troisième cycle, Bordeaux II, P.36-38.
- RAO , V.V., DWIVEDI, S.K. et SWARUP, D. (1994)
Hypoglycaemic effect of *Caesalpinia bonducella* in rabbits.
Fitoterapia, **65**(3), 245-247.

- REYNOLDS, S.R.M. (1965)
Physiology of the uterus
2e éd, Printing, New York Hafner
- RICHARDSON, K.C.(1962)
The fine structure of autonomic nerve endings in smooth muscle of rat
vas. defens. *J. Anat.* **96**, 427
- RINGER; S. (1883)
A further contribution regarding the influence of the different constituents
of the blood on the contraction of the heart in Thèse troisième cycle de
Mireille Masson, 1972, Poitiers, 6p.
- ROSEMBLUM, R. (1974)
Physiologic basics for the therapeutic use of catecholamines.
Am. Heart J. **87**, 527-530.
- ROUGIER, O.; VASSORT, G.; GARNIER, D., GARGOUIL, Y.M.et CORABŒUF, E
(1969)
Existence and role of a slow current during the frog atrial action
potential. *Pflügers Archiv*, **308**, 91-110
- ROUSSEAU, J.P. ; PRUD' HOMME, M.J et GERMAIN, G. (1981)
La motricité utérine.in "Utérus et Fécondité", Rap. Boury-Heyler C,
Manleon P,Rochet Y. Ed. Masson, Paris, 43-60.
- SANDOW, D. (1965)
Excitation - Contraction coupling in skeletal muscle.
Pharmacol. Rev., **17**, 265-320.
- SANDOW, A.; TAYLOR, S.R. et PREISER, H. (1965)
Role of the action potential in excitation contraction coupling
Fed. Proc. **24**, 1116-1123.
- SAVINNEAU, J.P. (1978)
*Analyse de la perméabilité potassique de la membrane des cellules
musculaires lisses de l'uterus.*
Thèse de Doctorat de Spécialité, Poitiers.
- SCHNEIDER, M.F. et CHANDLER, W.K. (1973)
Voltage dependent charge movement in skeletal muscle : A possible step
in excitation-contraction coupling. *Nature London*, **242**, 244-246.

- SHIK, M.L et ORLOVSKY, G.N (1976)
Neurophysiology of locomotor automatism
Physiol Res, 56, 3, 465-501
- SMALL, J.V. et SQUIRE, J.M. (1972)
Structural basis of contraction in vertebrate smooth muscle.
J. Pop. Biol., 67, 117-149.
- SOBIEZECK, A. (1977)
Calcium linked phosphorylation of a light-chain of vertebrate smooth muscle myosin. *Europ. J. Biochem*, 73, 477-483.
- SOMLYO, AV et FRANZINI ARMSTRONG, C(1985)
New views on smooth muscle structure using freezing, deep-etching and rotary shadowing. *Experientia*, 41, 841-856.
- SPENCER, C.F. ; ROGERS, E.F. ; SHAVELS, J. et EASTON, N.R. (1947)
Survery plants for antimalarial activity
Lloydia, 10, pp 145-174.
- THORBERT, G. (1979)
Adrenergic innervation of the human uterus, disappearance of the transmitter and transmitter forming enzymes during pregnancy.
Am T. Obstet. Gynecol, 135, 223-226.
- TOMIYASU, B.A. ; CHEN, C.J. et MARSHALL, J.M.(1988)
Comparison of the activity of circular and longitudinal myometrium from pregnant rats : coordination between muscle layers.
Experimental pharmacol. physiol, 15, 645-656.
- TU, A.T. (1978)
Venoms : Chemistry and molecular biology. Wiley New-York.
Br.J. Pharmac; 68, 437-447.
- TRICOCHÉ, R(1967) :
Spécificité de l'activité électrique transmembranaire du myocarde-Sécrétions endocrinienne et électrogénèse cardiaque.
Thèse de sciences, Poitiers-France.
- VANGAH, M. O. (1986)
Contribution à la connaissance des plantes médicinales utilisées par les ethnies Akans de la région littorale de la Côte d'Ivoire.
Thèse de Doctorat troisième cycle Spécialité Biologie végétale, n° d'ordre 100.

VASSORT, G. et ROUGIER, O. (1972)

Membrane potential and slow inward current dependence of frog cardiac mechanical activity. *Pflügers Archiv* **331**, 191-203.

VAUGHAN WILLIAMS, E.M. (1975)

Progrès dans la connaissance des nouveaux médicaments antidysrythmiques. *Ann. Cardiol. Angéiol.* **22**, 1-10.

VOGT, M., MOTZ, W.H.; SCHWARTZKOPF, B. et STRAUER, B. E. (1993)

Pathophysiology and clinical aspects of hypertensive hyperthrophy. *Eur. Heart J.*, **14**, 2-7

WATT, J.M. et BREYER-BRANDWIJK, M.G. (1962)

The medicinal and poisonous plants of southern and western Africa, 1 vol, 2è ed., **8**, 1457 p. Londres.

WILSON et QWEST (1995)

Comparative pharmacology of calcium antagonists
Can J. Cardiology, **11**(3), 243-249

YASSINE, J. (1986)

Rapport entre quelques facteurs du milieu et des propriétés pharmacologiques des venins de serpents (*Naja nigrocollis de forêt et de savane*). DEA Ecologie Tropicale, Option Physiologie Animale, Université d'Abidjan.

ZUSMAN, R.M.; CALDWELL, B.V.; SPEROFF, L. et MULROW, P.J. (1973)

Mechanisms of hypertension
Sambhi, Amsterdam, *Experta Medica*, 20 p.