



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologies

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

**Etude de la réponse tissulaire digestive d'une suspension
pharmaceutique à base d'argile synthétique hydroxydes double
lamellaire (HDL) chez la souris**

Présenté par M^{elle}. AMROUCHE Wafa

M^{elle}. MERROUCHE Naziha

Devant le Jury :

<i>LOURAD. Y</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Présidente</i>
<i>MEKHLOUF. C</i>	<i>MAA</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>CHEMAT. Z</i>	<i>Pr</i>	<i>FSc, Blida 1</i>	<i>Promotrice</i>
<i>DJAZOULI ALIM. FZ</i>	<i>Pr</i>	<i>SNV, Blida 1</i>	<i>Co-Promotrice</i>

Session 2019 / 2020

Dédicaces

Nous dédions ce modeste travail

A nos chers parents

Pour leurs encouragements durant toutes nos années d'études, Vous êtes l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de nous encourager et de prier pour nous. Puisse dieu, le tout puissant, vous préserve et vous accorde santé, longue vie et bonheur.

A nos chères sœurs et frère

Amani et Hanane / Mouna et Fouzi

En témoignage de nos affections fraternelles, de nos profondes tendresses et reconnaissances, nous vous souhaitons une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

W. A mon oncle Sofiane et sa femme Faiza

N. A ma grand- mère Yamina

Aux personnes qui nous ont encouragé, qui étaient toujours à nos côtés, et qui nous ont accompagné et aidé à élaborer notre mémoire.

Remercîment

*En premier lieu, on remercie **Dieu** « الله » le tout puissant qui nous a guidés vers le savoir et qui nous a donné la force de concevoir ce modeste travail.*

*Nos sincères remerciements s'adressent à notre promotrice Madame **Z.CHEMAT** pour avoir accepté la responsabilité d'encadrer dans la réalisation ce travail de mémoire et de proposer ce sujet d'une valeur scientifique, pour la qualité de son encadrement, ses conseils, sa disponibilité et ses qualités humaines qui nous ont permis de mener à bien ce mémoire.*

*On remercie aussi du fond du cœur notre co-promotrice M^{me} **FZ.DJAZOULI-ALIM**, qui a été toujours là pour nous, et qu'elle ne nous a pas épargné de rien du tout.*

On tient à remercier le président et les membres de jury, pour l'honneur qu'ils nous font d'accepter la tâche d'examiner notre travail pour la soutenance de notre mémoire.

*Enfin, Un très grand merci à **nos parents** pour leurs innombrables sacrifices, et qui nous ont toujours entouré et aidé de près ou de loin.*

On ne saura oublier toutes les autres personnes qui, plus ou moins directement, ont contribué aussi bien à la réussite de ce travail.

Merci 

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Liste des figures	ix
Liste des tableaux	xi
Liste des abréviations	xii
Résumé	xiv
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	
I.RAPPELS DE PHYSIOLOGIE GASTRIQUE	3
I.1. Anatomie de l'estomac	3
I.2. Histologie de l'estomac	3
I.2.1. La muqueuse.....	4
I.2.2. La sous-muqueuse.....	4
I.2.3. La couche musculaire.....	4
I.2.4. La séreuse.....	4
I.3. Micro-anatomie de la muqueuse gastrique	4
I.4. Types de la muqueuse gastrique en fonction de la zone anatomique	5
I.4.1. La muqueuse cardiale.....	5
I.4.2. La muqueuse antropylorique.....	6
I.4.3. La muqueuse fundique.....	6
I.5. Population cellulaire de la muqueuse	7
1/ Les glandes endocrines.....	7
2/ Les glandes exocrines.....	8

I.6.Mécanisme de la section acide gastrique	9
I.7.Mécanisme de régulation cellulaire et moléculaire	10
II.FACTEURS INFLUENCANT L'INTEGRITE DE LA MUQUEUSE GASTRIQUE	13
II.1. Facteurs d'agression de la muqueuse gastrique	13
III. PROTECTION EXOGENE MEDICAMENTEUSE CONTRE LES ALTERATION DE LA PAROI GASTRIQUE LUMINALE	14
III.1. Les antiulcéreux	14
III.1.1. Sucralfate	14
III.1.2. Antihistaminique H ₂	14
III.2. Les antiacides	15
III.2.1. Définition	15
III.2.2. Mode d'action	15
III.2.3. Principaux antiacides	16
III.2.4. Métabolisme des antiacides	17
III.2.4.1. Antiacides systémiques.....	17
III.2.4.2. Les antiacides non systémiques.....	18
III.2.5. Propriétés pharmacologique	19
III.2.5.1. Effet sur l'acidité au niveau gastrique et duodéal.....	19
III.2.5.2. Effet sur la pepsine.....	19
III.2.5.3. Effet protecteur des muqueuses	19
IV. DONNÉS SUR LES HYDROXYDES DOUBLES LAMELLAIRES	19
IV.1. Définition	19
IV.2. Historique	20

IV.3. Description structural	20
IV.4. Méthodes de synthèse des HDLs.....	22
IV.5. Propriétés des HDLs	23
IV.5.1. Capacité d'échange anionique	23
IV.5.2. Porosité et surface spécifique	23
IV.5.3. Délamination	23
IV.6. Application des HDLs	24
IV.6.1. Applications thérapeutique.....	25
IV.6.1.1. HDL comme agent antiacide gastrique.....	25
IV.6.1.2. HDLs comme hôtes pour biomolécules	25
IV.6.1.3. HDLs comme nano véhicule des traitements tumoraux	26
IV.6.1.4. HDLs et autres propriétés thérapeutiques	26
 CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	
Introduction	28
I. Synthèse des hydroxydes double lamellaires	28
I.1. Matériels	28
I.2. Méthode de synthèse	28
I.2.1. Etape 1 : préparation des solutions A et B.....	30
I.2.2. Etape 2 : la cristallisation.....	31
I.2.3. Etape 3 : la filtration et lavage des cristaux formés.....	31
I.2.4. Etape 4 : le séchage.....	32
I.2.5. Etape 5 : le broyage.....	32
I.3. Caractérisation du Mg-Al-HDL	33

I.3.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier (IRTF)	33
I.3.1.1.Principe.....	33
I.3.1.2. Mode opératoire.....	33
I.3.2. Diffraction de rayons X (DRX)	33
I.3.2.1. Principe	33
I.3.2.2. Mode opératoire.....	33
I.4. Préparation de la suspension buvable	34
I.4.1. Matériels	34
I.4.1.1. Appareillages	34
I.4.1.2. Réactifs et matières premières	34
I.4.2. Mode opératoire	35
II. Expérimentation animale	36
II.1. Matériel biologique	36
II.2. Induction de l'ulcère gastrique par l'indométacine	36
II.2.1. Protocole	36
II.2.2. Sacrifice et dissection.....	37
II.3. Etude histologique	37
II.3.1.Méthode Histologique	37
II.3.1.1.Fixation	37
II.3.1.2.Déshydratation	38
II.3.1.3. Eclaircissement et imprégnation	38
II.3.1.4.Inclusion à la paraffine	38
II.3.1.5.Confection des coupes	39

II.3.1.6.Coloration	39
1. Déparaffinage.....	39
2. Réhydratation.....	39
3. Coloration à l'Héματοxyline-Eosine (H&E).....	40
II.3.1.7.Montage	40
1. Déshydratation.....	40
2. Conservation et collage entre lame et lamelle.....	40
3. Observation au microscope optique	40
 CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	
I. Caractérisation du Mg-Al-HDL.....	41
I.1. Diffraction des rayons X.....	41
I.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR).....	42
II. Effet de l'indométacine et pathologie cellulaire et moléculaire de l'ulcérogenèse	43
III. Effet protecteur des HDLs	46
IV. Processus cicatriciel et thérapeutique des HDLs	49
CONCLUSION	52
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	54
ANNEXE	64

Liste des figures

Figure 1. Anatomie et physiologie de l'estomac	3
Figure 2. Les différentes couches de la paroi d'estomac	3
Figure 3. Coupe histologique longitudinale de la muqueuse cardiale	5
Figure 4. Coupe histologique longitudinale de la muqueuse pylorique	6
Figure 5. Coupe histologique longitudinale de la muqueuse fundique	7
Figure 6. Unités fonctionnelles de la muqueuse gastrique	9
Figure 7. Les médiateurs impliqués dans la sécrétion acide gastrique	10
Figure 8. Mécanismes intercellulaires de régulation de la sécrétion acide gastrique.....	11
Figure 9. Régulation physiologique intégrée de la sécrétion acide gastrique par les facteurs nerveux et hormonaux	12
Figure 10. Mécanisme d'action des antihistaminiques H2	15
Figure 11. Mode d'action des antiacides	16
Figure 12. Métabolisme de carbonate mono sodique.....	17
Figure 13. Métabolisme du carbonate de calcium.....	18
Figure 14. Métabolisme des antiacides non systémiques.....	18
Figure 15. Hydrocalcite naturel	20
Figure 16. Représentation de la structure de l'hydroxyde double lamellaire	21
Figure 17. Méthodes de synthèse des HDLs	23
Figure 18. Processus de délamination	24
Figure 19. Transfère de fragment l'ADN jusqu'à la cellule par les HDLs.....	26
Figure 20. Etapes de préparation des HDLs par la méthode de co-précipitation.....	29
Figure 21. Co-précipitation des deux solutions A et B	30
Figure 22. Cristallisation du gel résultant	31
Figure 23. Lavage de la solution obtenue	31
Figure 24. Produit final avant et après séchage	32

Figure 25. Produit final après broyage Mg-Al HDL	32
Figure 26. Souris <i>Balb/c</i>	36
Figure 27. Les étapes de l'inclusion	39
Figure 28. Confection des coupes à partir d'un bloc de paraffine	39
Figure 29. Diffractogramme d'un échantillon de Mg-Al-HDL non calciné.....	41
Figure 30. Spectre IR de l'échantillon Mg-Al-HDL non calciné.....	42
Figure 31. Photographie d'estomac de souris.....	43
Figure 32. Le taux de lésions gastrique induites par l'administration d'indométacine.....	44
Figure 33. Micrographies d'estomacs de rats traités à indométacine A,B-1(X 100), B-2(X 200) (A) contrôle, (B) traités avec indométacine. Coloration Hématoxyline-Eosine).....	45
Figure 34. Effet de l'hydrotalcite sur les lésions gastriques induites par l'éthanol ou l'indométacine	47
Figure 35. Atténuation des lésions gastriques induites par l'indométacine après l'administration de l'hydrotalcite	48
Figure 36. Aspect microscopique de la marge de l'ulcère gastrique au jour 8 chez les rats traités aux antiacides. (Hématoxyline et éosine, grossissement d'origine X 100, X200)	50
Figure 37. Aspect microscopique de la cicatrice de l'ulcère gastrique muqueux au jour 15 chez les rats traités aux antiacides (hématoxyline et éosine, grossissement X 100, x 200).....	50

Liste des tableaux

Tableau 1. Les différentes cellules gastriques	8
Tableau 2. Différents antiacides et produit de leur réaction avec HCl	16
Tableau 3. Les principaux antiacides	17
Tableau 4. Principales matrices inorganiques lamellaires.....	22
Tableau 5. Réactifs de la formulation d'une suspension buvable	35
Tableau 6. Principaux bandes d'un HDL dans le spectre IR	42
Tableau 7. Indice de l'ulcère induit par l'administration d'indométacine	44

Liste des abréviations

AINS = Anti-inflammatoire non stéroïdien

Ach = Acétylcholine

ADN = Acide désoxyribonucléique

AMPc = Adénosine monophosphatecyclique

ARNm = Acide ribonucléique messenger

ATP = Adénosine triphosphate

bFGF = Basic fibroblast growth factor

CGRP = Calcitonin gene-related peptide

CMC = Carboxylméthyle cellulose

COX1 = Cyclooxygenase 1

COX2 = Cyclooxygenase 2

DRX = Diffraction des rayons x

ECL = Cellule entérochromaffine

EGF = Epidermal growth factor

EROs = Espèces réactives de l'oxygène

GALT = Gut-associated lymphoïde tissue

HCL = Acide chlorodrique

HDLs = Hydroxydes double lamellaire

H₂O₂ = Peroxyde d'hydrogène

H&E = Hématoxyline éosine

HOCl = Acide hypochloreux

H pylori = Helicobacter pylori

HSP = Heat shock proteins

IRTF = Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

IND = Indométacine

MC = Méthylcellulose

MDA = Malondialdéhydes

M^{II} = cation divalent (Mg²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺,...)

M^{III} = cation trivalent (Al³⁺, Fe³⁺, Mn³⁺,...)

MPO = Myloperoxidase

MTX = Méthotrexate

MTX-HDL = Nano hybride Méthotrexate –hydroxyde double lamellaire

NO = Oxyde nitrique

O₂⁻ = Anion superoxyde

OH = Radical hydroxyle

pH = Potentiel hydrogène

PG = Prostaglandines

PGE2 = Prostaglandine E2

SEM = Standard error of the mean

SSTR = Récepteur de la somatostatine

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة رد فعل الأنسجة الهضمية لمعلق صيدلاني اصطناعي قائم على هيدروكسيد الصفائح المزوجة (HDL-Al-Mg).

يتم تصنيع HDL-Al-Mg بواسطة طريقة الترسيب المشترك ، ثم يتعين علينا صياغة Al-Mg في شكل معلق شفوي ، ليتم إعطاؤه للفئران قبل تحريض القرحة. بواسطة إندوميثاسين. تنقسم الفئران إلى أربع مجموعات وفقاً لنوع العلاج: المجموعة 1 (مجموعة التحكم) ، المجموعة 2 (الإندوميثاسين) ، المجموعة 3 (الإندوميثاسين + معلق HDL) و المجموعة 4 (اختبار قياسي).

بعد تشريح الفئران وإزالة المعدة ، يجب إجراء ملاحظة عيانية تليها دراسة نسيجية.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من الدراسات المختلفة حول تأثير هيدروكسيد الصفائح المزوجة أنه يسمح بتنشيط انزيمات الأكسدة الحلقية 1 و 2 في الغشاء المخاطي في المعدة ، مما يسمح بزيادة وإطلاق البروستاغلاندين ، وبالتالي الحفاظ على سلامة الغشاء المخاطي في المعدة. يزيد هيدروكسيد الصفائح المزوجة أيضاً من إفراز البيكربونات والمخاط ، مما يؤدي إلى ارتباط وتعطيل البيبسين والليوليسيئين والأحماض الصفراوية. يسرع هيدروكسيد الصفائح المزوجة التئام الأضرار الحادة التي تصيب الغشاء المخاطي في المعدة ، ويعزز الحماية من الأضرار التي يسببها الحمض والبيبسين ، من خلال تنشيط الجينات التي تشفر عامل نمو النسيج الطلائي.

الكلمات الدالة :

هيدروكسيد الصفائح المزوجة ، معلق شفوي، القرحة، الغشاء المخاطي في المعدة.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier la réponse tissulaire digestive d'une suspension pharmaceutique synthétique à base d'hydroxyde double lamellaire (Mg-Al-HDL).

La synthèse du Mg-Al-HDL est précédée par la méthode de co-précipitation, ensuite nous devons formuler l'Mg-Al sous forme d'une suspension buvable, pour l'administrer à des souris avant l'induction de l'ulcère par l'indométacine. Les souris sont divisées en quatre groupes selon le type de traitement : groupe 1 (témoin), groupe 2 (indométacine), groupe 3 (indométacine + suspension HDL) et groupe 4 (test standard).

Après la dissection des souris et le prélèvement des estomacs, une observation macroscopique suivie d'une étude histologique doit être effectuée.

Les résultats obtenus de différentes recherches sur l'effet d'hydroxyde double lamellaire ont montré qu'il permet l'activation des Cyclooxygénase 1 et 2 dans la muqueuse gastrique ce qui permet l'augmentation et la libération des prostaglandines, donc le maintien de l'intégrité de la muqueuse gastrique. L'hydroxyde double lamellaire permet aussi l'augmentation de la sécrétion de bicarbonate et de mucus, la liaison et l'inactivation de la pepsine, la lysolécithine et les acides biliaires. L'hydroxyde double lamellaire accélère la guérison des lésions aiguës de la muqueuse gastrique, il favorise la protection contre les dommages causés par l'acide et la pepsine, par l'activation des gènes codant pour le facteur de croissance épidermique.

Mots clés :

Hydroxyde double lamellaire, suspension buvable, ulcère, muqueuse gastrique.

Abstract

The objective of this work is to study the digestive tissue response of a synthetic pharmaceutical suspension based on double lamellar hydroxide (Mg-Al-HDL).

The synthesis of Mg-Al-HDL is carried out by the co-precipitation method, and then we will have to formulate the Mg-Al in the form of an oral suspension, to be administered to mice before the induction of the ulcer by indomethacin. The mice are divided into four groups according to the type of treatment: group 1 (control), group 2 (indomethacin), group 3 (indomethacin + HDL suspension) and group 4 (standard test).

After dissection of the mice and removal of the stomachs, a macroscopic observation followed by a histological study should be performed.

The results obtained from various studies on the effect of lamellar double hydroxide have shown that it allows the activation of Cyclooxygenase 1 and 2 in the gastric mucosa, which allows the increase and the release of prostaglandins, therefore the maintenance of the integrity of the gastric mucosa. Lamellar double hydroxide also increases the secretion of bicarbonate and mucus, the binding and inactivation of pepsin, lysolecithin and bile acids. Lamellar double hydroxide accelerates the healing of acute damage to the gastric mucosa; it promotes protection against damage caused by acid and pepsin, by activating genes encoding epidermal growth factor.

Keywords:

Lamellar double hydroxide, oral suspension, ulcer, gastric mucosa.

INTRODUCTION

L'estomac est l'organe essentiel de la digestion, il assure le brassage des aliments par des contractions de leur paroi musculaire [1]. De plus, il sécrète des sucs gastriques participant à la digestion des aliments. C'est le cas de l'acide chlorhydrique et de la pepsine qui permettent la digestion des protéines. Ces deux substances maintiennent un niveau important d'acidité dans l'estomac [2].

L'intégrité de la muqueuse gastrique est maintenue par des mécanismes de défense [3] comprennent les jonctions intercellulaires serrées, le mucus, le bicarbonate, le flux sanguin muqueux, la restitution cellulaire et le renouvellement épithélial [4].

Les prostaglandines interviennent également dans la protection en assurant le développement des vaisseaux de la muqueuse et en favorisant la sécrétion du mucus et des bicarbonates [4].

L'exposition de la muqueuse gastrique aux facteurs nocifs endogènes tels que : l'acide chlorhydrique, la pepsine, les acides biliaires, la lysolécithine, les toxines de la bactérie *Helicobacter pylori*, et exogènes tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens et l'éthanol [5], peuvent altérer la défense de la muqueuse en permettant la rétrodiffusion des ions hydrogène [4], de plus une diminution du mucus et des bicarbonates, altération du mucus et/ou inhibition des prostaglandines. La paroi devient alors vulnérable à l'acidité ambiante [1]. Il s'agit donc d'un déséquilibre entre les facteurs agressifs décrits ci-dessus ainsi que les mécanismes de défenses de l'intégrité de la muqueuse gastrique ce qui provoque des érosions (correspond à une disparition de la couche de mucus protégeant les cellules des agressions par l'acide et la pepsine), et des ulcères qui entraînent des lésions de la paroi allant jusqu'à la sous-muqueuse [6][7].

Pour le traitement de l'ulcère, des médicaments réduisant les sécrétions acides sont généralement prescrits. Ils permettent d'éliminer rapidement les symptômes tout en favorisant la cicatrisation de l'ulcère [8]. Dans cette gamme apparaît les suspensions composées de sel d'Aluminium et de Magnésium qui diminuent les symptômes en neutralisant l'acidité gastrique [9].

Dans le développement de nouveaux traitements et en particulier, le traitement d'hyperacidité et de l'ulcère, les recherches se focalisent sur l'élaboration de nouveaux matériaux aux propriétés performantes et sélectives de neutralisation d'hyperacidité gastrique ou de guérison des ulcères. Les hydroxydes doubles lamellaires constituent une famille de matériaux présentant des propriétés acido-basiques [10], en ramenant le pH gastrique à une valeur

optimale de 3 à 6 après une administration par voie orale, ils ont aussi une action antipepsiniques, et ils peuvent ainsi agir contre les ulcères gastriques [11]. Pour cela nous avons proposé l'élaboration de ces matériaux pour la contribution au traitement d'hyperacidité gastrique et d'ulcère, grâce à leurs propriétés acido-basiques mais aussi à leur synthèse facile et moins coûteuse.

Nous avons pour cela choisi l'indométacine comme anti-inflammatoire non stéroïdien connu par leur effet ulcérogène par la génération de radicaux libres, l'initiation de la peroxydation lipidique en diminuant les niveaux des antioxydants enzymatiques, l'inhibition de la synthèse des prostaglandines et par l'infiltration des leucocytes [12] [13], afin de tester l'effet antiacide d'une suspension buvable à base d'Mg-Al-HDL sur les estomacs des souris par une étude histopathologique.

Dans ce manuscrit nous allons aborder, dans le premier chapitre les mécanismes physiologiques et physiopathologique cellulaire et moléculaire de la muqueuse gastrique. Les effets cellulaires et moléculaire de la médication préexistante et enfin les données générales sur les HDLs autant qu'un antiacide.

Dans le chapitre matériel et méthodes nous avons décrit, la synthèse de l'hydroxyde double lamellaire et sa caractérisation ainsi que la formulation de la suspension et l'expérimentation animale et dans troisième chapitre nous avons présenté consécutivement une synthèse de résultats et de discussion de travaux similaires à notre travail.

CHAPITRE I

DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

I. RAPPELS DE PHYSIOLOGIE GASTRIQUE

I.1. Anatomie de l'estomac

L'estomac est un organe creux, qui se situe entre l'oesophage et l'intestin grêle, dans la cavité abdominale. Il est délimité par 2 sphincters : le cardia et le pylore, et est constitué de 3 parties: le fundus, le corps et l'antré (fig.1). [14]

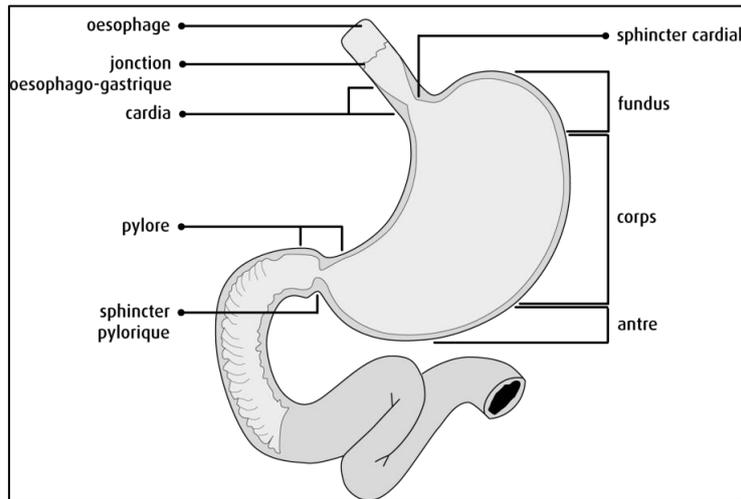


Figure 1. Anatomie et physiologie de l'estomac [15]

I.2. Histologie de l'estomac

La paroi de l'estomac est constituée de plusieurs couches (fig. 2) :

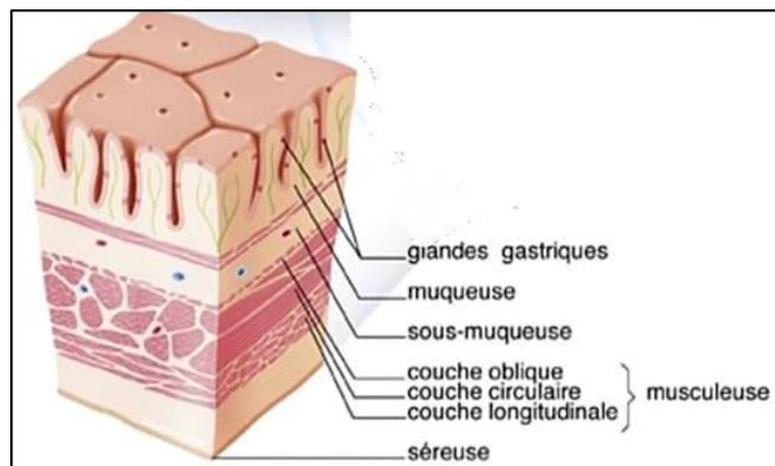


Figure 2. Les différentes couches de la paroi d'estomac [16]

I.2.1. La muqueuse

Ou couche superficielle interne de l'estomac, elle contient des glandes qui secrètent du mucus, substance qui la protège contre l'acidité gastrique. Elle comporte également d'autres glandes qui produisent des acides et enzymes qui vont désintégrer le bol alimentaire. [16]

I.2.2. La sous-muqueuse

Qui soutient la muqueuse, elle contient des nerfs et des vaisseaux sanguins. [16]

I.2.3. La couche musculaire

Dite musculuseuse, elle-même constituée de plusieurs couches de muscle (longitudinaux, circulaires et obliques), qui se contractent et contribuent au processus de brassage et de progression du bol alimentaire. [16]

I.2.4. La séreuse

La membrane fibreuse qui recouvre l'extérieur de l'estomac. La séreuse de l'estomac est aussi appelée péritoine viscéral (qui recouvre et soutient la plupart des organes abdominaux). [17]

I.3. Micro-anatomie de la muqueuse gastrique

La muqueuse gastrique constituée d'un épithélium prismatique, c'est-à-dire une couche unique de cellules serrées les unes contre les autres et dotées de cils. A ce niveau se trouvent les glandes gastriques qui produisent le mucus protégeant la muqueuse et les constituants des sucs gastriques (enzymes, acide chlorhydrique...) [18].

Du fait de l'exposition régulière aux sucs gastriques, la muqueuse possède une capacité de régénération très importante grâce à la division rapide des cellules épithéliales afin de remplacer les cellules mortes (renouvellement tous les 3 à 6 jours) [18]. La muqueuse gastrique humaine, épaisse d'un peu moins de 1mm, est la structure la plus interne de la paroi de l'estomac. Elle recouvre intérieurement la musculuseuse dont elle est séparée par la sous-muqueuse contenant les vaisseaux. Elle est formée par :

- **1. L'épithélium de surface**, constitué d'une couche de cellules contiguës.
- **2. Le chorion ou lamina propria**, composé d'un tissu conjonctif richement vascularisé et innervé ; il contient également le tissu lymphoïde associé à l'intestin

(gut-associated lymphoïde tissue : GALT), plus abondant dans l'antra que dans le fundus.

- **3. La musculaire muqueuse**, qui limite en profondeur la muqueuse. Elle forme une mince lame faite de deux couches de muscle lisse, circulaire interne et longitudinale externe. Son tonus et sa contraction sont responsables du plissement muqueux. [19]

I.4. Types de muqueuse gastriques en fonction de la zone anatomique

Il existe des différences morpho-fonctionnelles permettant de reconnaître trois zones histologiques de la muqueuse gastrique : la muqueuse cardiaque, la muqueuse fundique (ou oxyntique) et la muqueuse antropylorique [20].

I.4.1. La muqueuse cardiaque

Les cryptes cardiales sont largement ouvertes, les cellules sont toutes du type mucipare. Les glandes sont peu profondes, souvent obliques et coupées transversalement sur les préparations microscopiques. Les cellules glandulaires sont également toutes de type muqueux (Fig. 3).

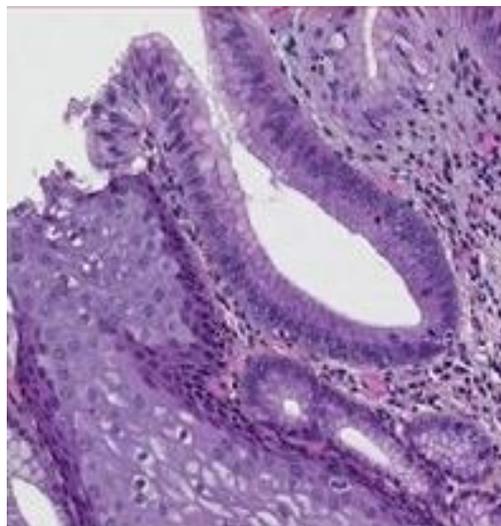


Figure 3. Coupe histologique longitudinale de la muqueuse cardiaque (hématoxyline /éosine) [97]

On retrouve dans le chorion de la muqueuse et de la sous-muqueuse, un riche plexus veineux. Ces veines peuvent devenir turgescents (varices œsophagiennes) au cours des hypertensions portales et provoquer par rupture des hémorragies graves [20].

I.4.2. La muqueuse antropylorique

Au niveau de l'antra, les cryptes sont hautes et étroites : elles sont également revêtues par l'épithélium unistratifié de surface, constitué de cellules mucipares. Les glandes antrales prolongent la zone du collet. Elles sont nombreuses et combent la lamina propria. Ce sont des glandes de type tubulo-ramifié et la plupart des cellules sont du type muqueux, proches de celles observées sur l'épithélium cryptique (Fig. 4) [20].



Figure 4. Coupe histologique longitudinale de la muqueuse pylorique (Trichrome de Masson modifié Goldner x 250) [98]

La caractéristique cytologique la plus remarquable est la présence d'un très grand nombre de cellules endocrines isolées et disséminées dans l'épithélium glandulaire (ces cellules étaient peu nombreuses dans les glandes cardiales). Ces cellules ont un rôle cytophysiologique majeur. Elles sont caractérisées par la nature des granules sécrétoires qui sont localisés au pôle basal et dont le contenu permet de reconnaître de très nombreux types de cellules endocrines [20].

La zone antropylorique est la zone de l'épithélium du tube digestif où la densité en cellules endocrines est la plus forte. Les cellules à gastrine, cellules "G", sont les plus nombreux [20].

I.4.3. La muqueuse fundique

Au niveau du fundus, les cryptes sont nombreuses, peu profondes et étroites. L'épithélium unistratifié de surface est également constitué de cellules mucipares (Fig. 5) [20].

Des glandes fundiques tubuleuses, rectilignes, qui s'enfoncent perpendiculairement à la surface épithéliale. Ces glandes comportent deux types principaux de cellules : les cellules pariétales sécrétant l'acide chlorhydrique et le facteur intrinsèque, et les cellules principales sécrétant le pepsinogène [19].

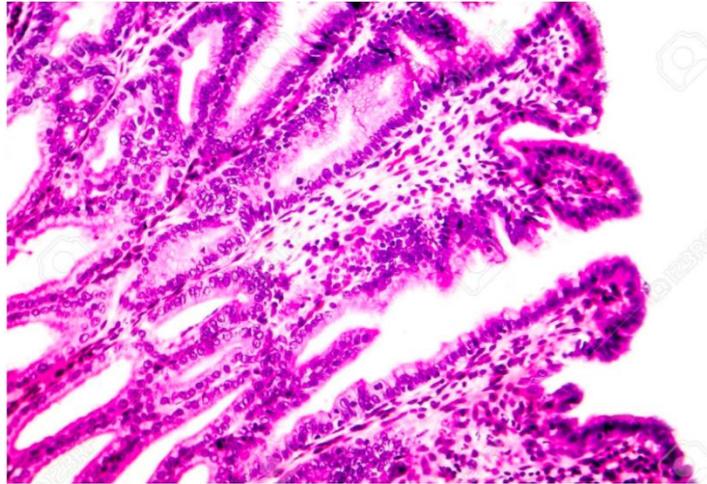


Figure 5. Coupe histologique longitudinale de la muqueuse fundique (hématoxyline/éosine) [99]

I.5. Population cellulaire de la muqueuse

La muqueuse gastrique est constituée de nombreuses cellules endocrines et exocrines, qui se différencient par leurs modes de sécrétion endo ou exocrine (Tab. 1) [14].

1/ Les glandes endocrines : déversent leurs produits de sécrétion directement dans le sang. Elles sont constituées de :

- **1.1. Cellules G :** sont retrouvées dans la muqueuse de l'antra, activé par la distension de l'estomac et la présence de nutriments contenus dans les aliments, et responsables de la sécrétion de **gastrine**. Celle-ci permet ensuite l'activation de la sécrétion gastrique et des cellules principales produisant le pepsinogène [14].
- **1.2. Cellules D :** sont retrouvées dans les muqueuses des différentes zones gastriques sécrétant la somatostatine, présentes dans tout l'estomac et permettant l'inhibition de la sécrétion gastrique par un rétrocontrôle négatif [14].
- **1.3. Cellules entéro-chromaffines :** sont retrouvées dans le fundus et l'antra (fig. 6), elles sécrètent la **sérotonine** et l'**histamine** [14].

2/ Les glandes exocrines : à sécrétion externe dans la lumière gastrique, elles sont constituées de plusieurs types de cellules :

- **2.1. Cellules principales :** sécrètent le **pepsinogène** et permettent le clivage des chaînes peptidiques du bol alimentaire [14].
- **2.2. Cellules pariétales :** situées exclusivement au niveau de la muqueuse du corps gastrique sécrètent l'**HCl**, responsable de l'acidité gastrique indispensable à la digestion des aliments [14].
- **2.3. Cellules à mucus :** leur produit de sécrétion est constitué de glycoprotéines hydrophiles et ayant un rôle protecteur physico-chimique. Leur synthèse est stimulée par les prostaglandines, expliquant les effets secondaires des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui inhibent leur synthèse [14].

Tableau 1. Les différentes cellules gastriques [21]

Cellules	Localisation	Sécrétion	Rôle
A mucus	Toute la paroi	Mucus et HCO ₃	Protection de la muqueuse
Principales	Fundus	Pepsinogène	Dégradation des protéines
Pariétales	Fundus	HCL Facteur intrinsèque	Activation des Pepsinogène Absorption vit B12
Cellule G	Antre	Gastrine	Stimule les glandes pariétales
Cellule ECL	Dans le chorion sur toute la paroi	Histamine	Stimule la sécrétion d'HCL
Cellule D	Dans tout l'estomac	Somatostatine	Inhibe la sécrétion

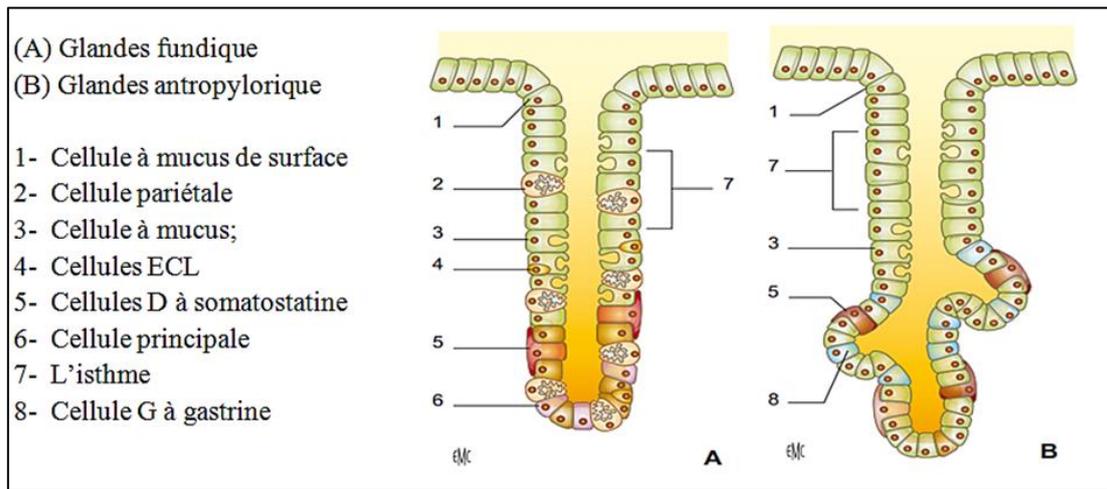


Figure 6. Unités fonctionnelles de la muqueuse gastrique [19]

I.6. Mécanisme de la sécrétion acide gastrique

Les cellules pariétales secrètent l'acide chlorhydrique HCl dans la cavité des cryptes qui se vident dans la cavité gastrique, sous la dépendance de trois stimulus : l'histamine, l'acétylcholine et la gastrine [22].

Ce sont des cellules volumineuses, pourvues d'un noyau cellulaire repoussé en périphérie. Elles présentent une structure spécifique :

- 1. Un cytoplasme riche en mitochondries, apportant une grande source en ATP mitochondrial.
- 2. Un vaste réseau de canalicules internes, formé des invaginations membranaires au niveau de la lumière du tube stomacal.
- 3. Un transporteur membranaire, pompe à proton ou pompe $H^+/K^+/ATPase$, dont le rôle principal est d'assurer la sortie des protons au niveau de la lumière stomacale, qui vont se lier aux ions chlorure Cl^- afin de former de l'acide chlorhydrique HCl [22].

Les cellules pariétales contiennent aussi des récepteurs membranaires situés au niveau du pôle basal spécifiques de certains médiateurs, (récepteur à acétylcholine, récepteur à gastrine, récepteur à histamine H_2 , récepteur à prostaglandine) (Fig. 7) [23].

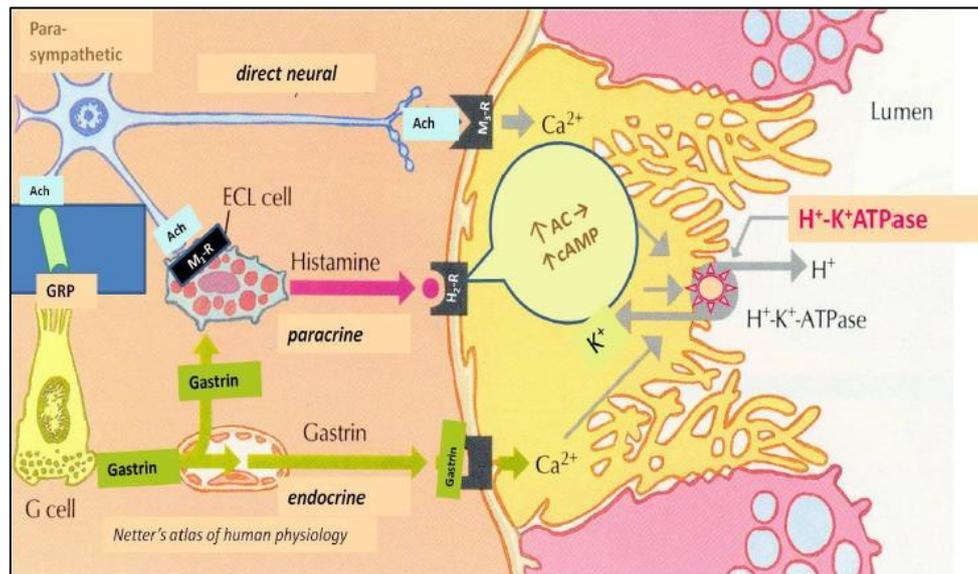


Figure 7. Les médiateurs impliqués dans la sécrétion acide gastrique [24]

L'ion Cl^- du plasma est transféré activement dans la lumière gastrique contre un gradient de concentration et un gradient électrochimique alors que le transfert de l'ion H^+ se fait activement contre un fort gradient de concentration, qui provient à partir la dissociation de l'acide carbonique H_2CO_3 en H^+ et HCO_3^- par une enzyme intracellulaire, l'anhydrase carbonique. [22]

Les bicarbonates ainsi formés passent dans le sang veineux, élevant transitoirement le pH sanguin après les repas. L'ion H^+ est excrété grâce à l'énergie provenant de clivage de l'ATP au niveau de la membrane sécrétoire par une H^+/K^+ ATPase, il est échangé contre un ion K^+ issu de la lumière gastrique. Les ions HCO_3^- et Cl^- sont transportés dans des directions opposées par des antiporteurs $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ situés dans la membrane basolatérale. C'est ainsi que les ions Cl^- pénètrent dans la cellule pour ensuite passer dans la lumière de l'estomac, où ils contribuent à la formation du HCl. [22]

I.7. Mécanisme de régulation cellulaire et moléculaire

Au niveau de la membrane basale des cellules pariétales, se trouvent les récepteurs à médiateurs de la sécrétion gastrique. Ces médiateurs (la gastrine, l'acétylcholine, l'histamine et la somatostatine) peuvent être activateurs ou inhibiteurs et sont véhiculés par voie endocrine, paracrine ou nerveuse. L'activation de ces récepteurs est couplée à des systèmes de transduction cellulaire et de transport de l'information jusqu'au pôle luminal de la cellule pariétale afin d'activer ou d'inhiber la sécrétion gastrique (Fig.8) [23].

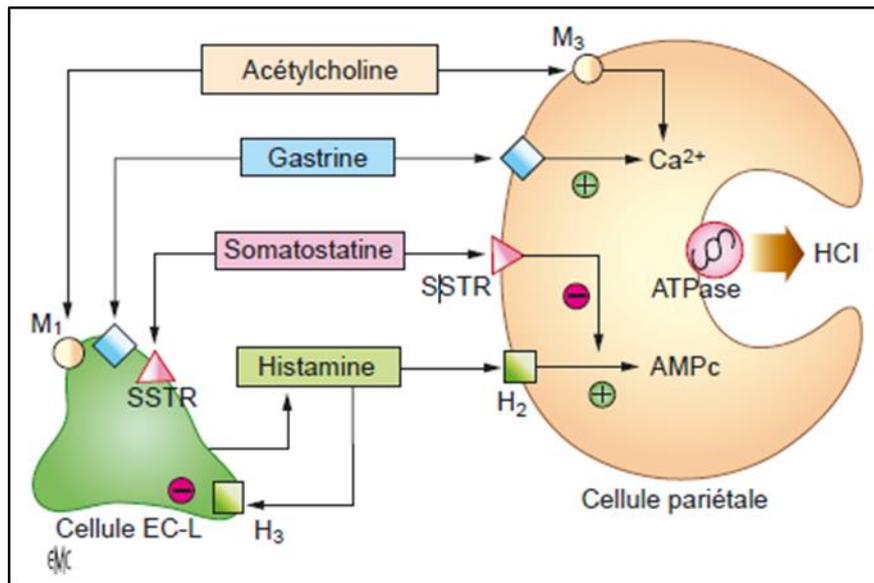


Figure 8. Mécanismes intercellulaires de régulation de la sécrétion acide gastrique [19]

I.7.1. Stimulation par la gastrine : par voie endocrine, la gastrine est sécrétée par les cellules G des glandes antropyloriques. Elle agit directement par liaison au récepteur membranaire de la cellule pariétale et indirectement par liaison au récepteur des cellules ECL stimulant ainsi la sécrétion de l'histamine [23].

I.7.2. Stimulation par l'acétylcholine : par voie nerveuse, l'acétylcholine est libérée par les neurones post ganglionnaires du système nerveux parasympathique. Elle agit directement par liaison au récepteur membranaire de la cellule pariétale, et indirectement par stimulation de la sécrétion de la gastrine par les cellules G et de l'histamine par les cellules ECL [23].

I.7.3. Stimulation par l'histamine : par voie paracrine, l'histamine est produite par les cellules ECL, elle stimule directement par liaison au récepteur histaminique H2 au niveau de la cellule pariétale [23].

I.7.4. Inhibition par la somatostatine : par voie paracrine, la somatostatine est produite par les cellules D de l'antre pylorique, et représente le principal facteur inhibiteur de la sécrétion acide. Elle agit directement par liaison au récepteur membranaire au niveau de la cellule pariétale et indirectement par l'inhibition de la libération d'histamine par les cellules ECL. La libération de somatostatine reste sous la dépendance d'une réaction en cascade. En effet, la sécrétion de somatostatine est favorisée d'une part par une augmentation de la concentration des ions H⁺ dans la lumière gastrique, et d'autre part par une hormone duodénale, la sécrétine, dont la libération est stimulée par l'arrivée des nutriments digérés dans le duodénum [23].

I.7.5. Autres facteurs d'inhibition de la sécrétion acide

- Les facteurs de nature peptidique tels que l'urogastrone, la vagogastrone, l'entéroglucagon, la neurotensine et les peptides de la famille du neuropeptide Y (PP, PYY) sont capables d'inhiber la sécrétion gastrique acide, mais à des doses le plus souvent extraphysiologiques. l'entéroglucagon ou oxyntomoduline, son action principale est d'inhiber la sécrétion acide gastrique par des mécanismes indirects mettant en jeu une augmentation de la libération de somatostatine [19].
- les prostaglandines (PG) sont efficaces pour inhiber les sécrétions acides basales. Les PG agissent directement sur les cellules pariétales via des récepteurs spécifiques couplés à une inhibition de l'accumulation intracellulaire d'AMP cyclique induite par l'histamine [19].

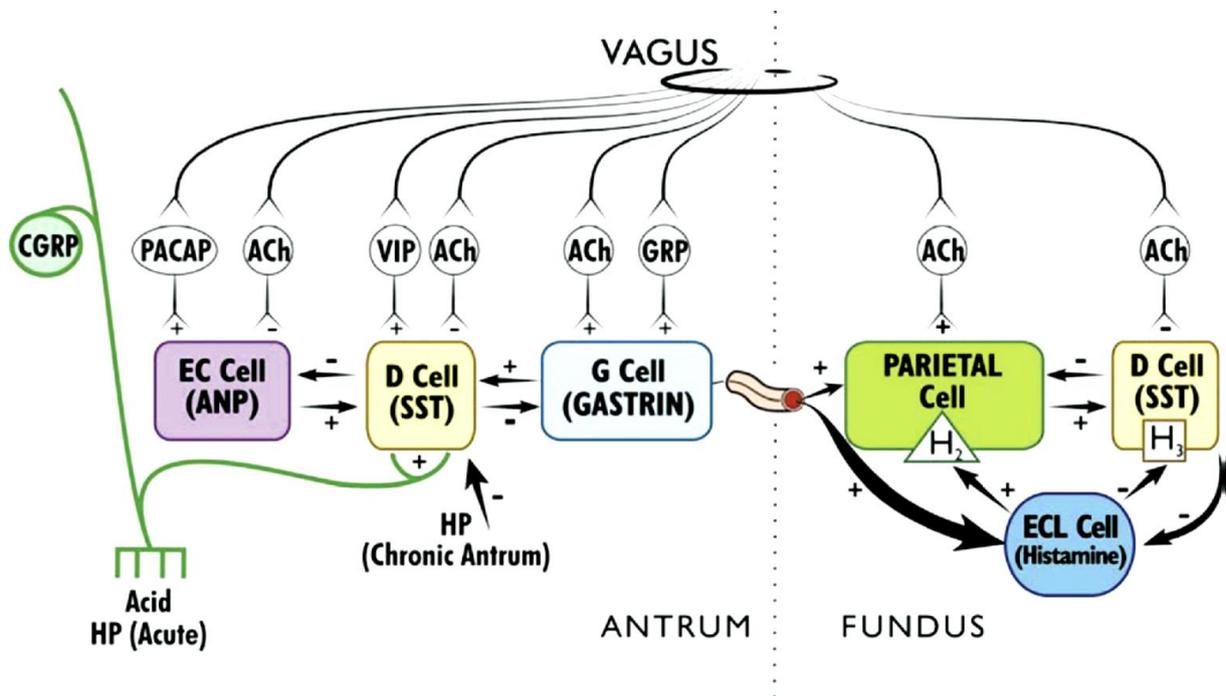


Figure 9. Régulation physiologique intégrée de la sécrétion acide gastrique par les facteurs nerveux et hormonaux [25]

II. FACTEURS INFLUENÇANT L'INTEGRITE DE LA MUQUEUSE GASTRIQUE

II.1. Facteurs d'agression

L'intégrité de la muqueuse gastrique est maintenue par un processus dynamique de la prolifération et la mort cellulaire, parmi les différents facteurs impliqués dans les lésions de la muqueuse gastrique, les dommages oxydatifs et l'apoptose provoquée par diverses agents ulcérogènes. La muqueuse gastrique est continuellement exposée à des facteurs d'agression [26], tels que :

- **1. L' HCL :** Cet agent est connu pour son induction de dommages gastriques lorsqu'il est introduit de manière exogène en quantité excessive dans l'estomac normal. L'HCl endogène dénature les protéines dans la membrane plasmique et catalyse les groupements polysaccharidiques des protéoglycanes dans la couche de la muqueuse protectrice recouvrant la surface luminale de l'estomac induisant la fragilité de la muqueuse [26]
- **2. Le Pepsinogènes :** c'est un précurseur enzymatique inactif transformé par l'acidité gastrique en une enzyme protéolytique active, la pepsine, cette dernière ne permet cependant pas une décomposition complète des protéines alimentaires mais laisse simplement subsister des morceaux grossiers [26]
- **3. L'alcool :** est un puissant agent ulcérogène, sa consommation excessive provoque des lésions hémorragiques aiguës, l'exfoliation de l'épithélium, infiltration de cellules inflammatoires et des érosions gastriques [26]
- **4. Le tabac :** le tabagisme possède un impact direct sur la formation, la sévérité, et la rechute d'ulcère puisque les cigarettes contiennent la nicotine, qui peut augmenter le risque de développer un ulcère par l'augmentation de la production d'acide gastrique et la réduction de la production du mucus, qui diminue la protection de la doublure d'estomac contre l'acide [26].
- **5. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens :** La prise de ces médicaments en cures courtes ou prolongées peuvent être à l'origine d'un ulcère gastro-duodéal, les AINS inhibent des enzymes (cyclo-oxygénases 1 et 2) essentielles à la synthèse d'acides gras dénommés prostaglandines. En temps normal, celles-ci stimulent la sécrétion de mucus protecteur des parois gastriques et refrènent la production d'acide chlorhydrique par l'estomac [27]. La plupart de ces médicaments induisent des érosions hémorragiques aiguës et la potentialisation d'ulcérogenèse gastrique. [26].

- **6. Le stress** : le stress peut diminuer le flux sanguin gastrique au niveau de la muqueuse et l'altération des cellules endothéliales [28]. l'ulcère de stress survient chez des patients hospitalisés en réanimation et qui ont au moins une défaillance viscérale. [29]

III. PROTECTION EXOGENE MEDICAMENTEUSE CONTRE LES ALTERATION DE LA PAROI GASTRIQUE LUMINALE

III.1. Les antiulcéreux

III.1.1. Le sucralfate

Le sucralfate appartient à la classe des médicaments appelés agents cytoprotecteurs gastroduodénaux. Il s'utilise pour le traitement des ulcères duodénaux et gastriques et pour la prévention d'un ulcère duodéal [30].

Le sucralfate est un disaccharide polysulfaté qui se polymérise par liaison électrostatique en milieu acide, et forme un gel visqueux et adhésif capable de tapisser la muqueuse digestive afin de la protéger des agressions [31]. Cette affinité pour les tissus lésés s'explique par une interaction électrostatique entre le sucralfate chargé négativement et les protéines de l'exsudat inflammatoire chargées positivement [32]. De plus, il a été décrit que le sucralfate peut fixer le facteur de croissance basique des fibroblastes (bFGF) et le délivrer à haute concentration dans le site de l'ulcère. Ceci stimulerait la formation de tissu de granulation, l'angiogenèse et la réépithélialisation favorisant la cicatrisation de l'ulcère. [33]

III.1.2. Les antihistaminiques H2

Les anti-H2 sont des médicaments antagonistes des récepteurs à l'histamine de type 2. Ils agissent au niveau des cellules pariétales de l'estomac pour diminuer sa sécrétion acide [34].

Les anti-H2 inhibent la sécrétion acide par un blocage sélectif des récepteurs membranaire H2 à l'histamine de la cellule pariétale. Ils inhibent la part dépendante de l'histamine de l'activation de la pompe à proton (H^+/K^+ ATPase) effecteur final de la sécrétion acide gastrique, située sur le pôle apical de la cellule pariétale fundique (fig. 10) [35].

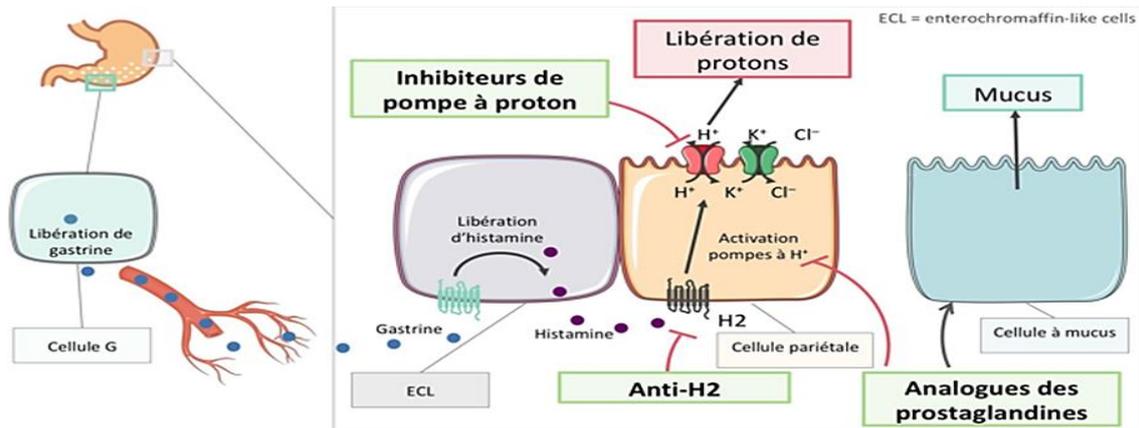


Figure10. Mécanisme d'action des antihistaminiques H2 [35]

L'histamine est libérée par les cellules ECL sous l'action de la gastrine. L'induction de la libération d'histamine est la voie d'action principale de la gastrine. L'action des anti-H2 est donc limitée à une partie des mécanismes de stimulation de la sécrétion acide gastrique. Elle est sans effets sur la production acide liée à la stimulation des récepteurs muscariniques ou des récepteurs à la gastrine situés sur la cellule pariétale fundique. [35]

III.2. Les antiacides

III.2.1. Définition

Les médicaments antiacides sont formés par une combinaison de divers composés de sels de calcium, de magnésium et d'aluminium comme ingrédients actifs [36].

L'effet des antiacides sur l'estomac est dû à la neutralisation partielle de l'acide chlorhydrique gastrique HCL et à l'inhibition de l'enzyme protéolytique, la pepsine. Chaque sel cationique a ses propres caractéristiques pharmacologiques qui sont importantes pour déterminer quel produit peut être utilisé pour certaines indications. [36]

III.2.2. Mode d'action

Les antiacides peuvent être composés par des sels d'aluminium, de magnésium, du carbonate de calcium (CaCO_3) ou du bicarbonate de sodium (NaHCO_3). Ces sels neutralisent de façon transitoire l'acide chlorhydrique sécrété par la cellule pariétale dans la lumière de l'estomac en exerçant un effet tampon (fig.11) [37].

Après l'administration des antiacides il y aura une interaction entre les sels (d'aluminium, de magnésium, de calcium contenant dans l'antiacide), qui sont chargés négativement avec un ou plusieurs proton (H^+) chargé positivement présent dans la lumière gastrique, cette

interaction va produire un composé dont leur charge est électriquement neutre (il 'y aura une neutralisation) , et l'ion de chlorure (Cl⁻) associé initialement au proton acide (H⁺) est retrouvé dans le produit de la réaction sous forme inchangée (Tab. 2). Ensuite, il sera éliminé au niveau plasmatique [37].

Tableau 2. Différents antiacides et produit de leur réaction avec HCl [37]

	Aluminium	Magnésium	Calcium
Sels	Al(OH) ₃ , AlPO ₄	Mg(OH) ₂ , MgCO ₃	CaCO ₃
Produits	Chlorure d'aluminium AlCl ₃ soluble	Chlorure de magnésium MgCl ₂	Chlorure de calcium CaCl ₂

Le produit formé après la réaction d'interaction entre les sels des antiacides et les protons d'acide chlorhydrique est absorbé dans la circulation sanguine pour être ensuite éliminé par voie rénale, et terminer dans les urines.

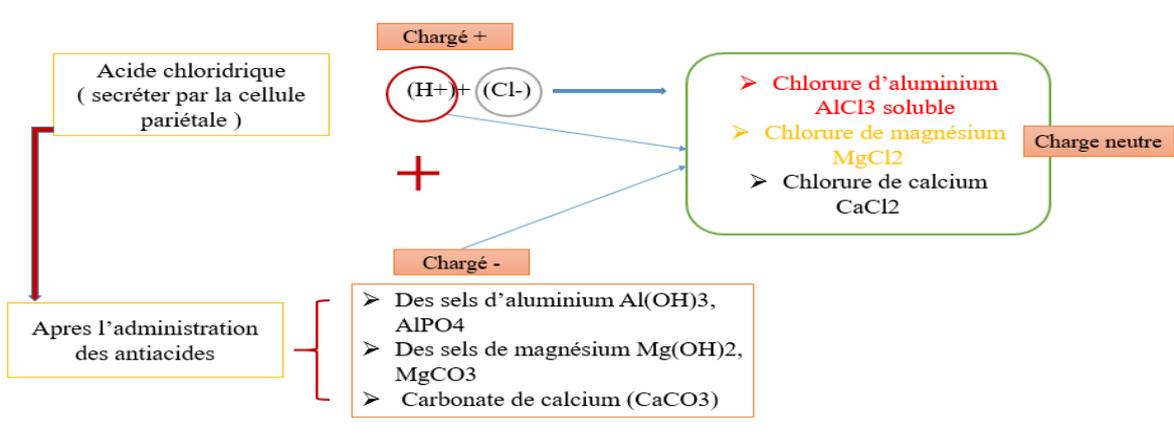


Figure 11. Mode d'action des antiacides

III.2.3. Principaux antiacides

La réaction des antiacides vis-à-vis de l'acide chlorhydrique dépend de leurs structures et de leurs propriétés physicochimiques. Ils sont classés en deux groupes selon que leur réaction dépend de la partie anionique de la molécule (carbonate monosodique, carbonate de calcium) ou de la partie cationique (sels d'aluminium et de magnésium) (tab.3) [38].

Tableau 3. Les principaux antiacides [11]

Spécialités	Principes actifs		Divers
GELOX	Hydroxyde d'aluminium	Hydroxyde de magnésium	Montmorillonite
MAALOX	+	+	
MUTESA	+	+	Oxétacaine Acide benzoïque
PHOSPHALUGEL			Phosphate d'aluminium
ROCGEL	+	+	Oxyde d'aluminium

III.2.4. Métabolisme des antiacides

Au point de vue de leur devenir dans l'organisme, les antiacides peuvent être divisés en deux groupes, selon qu'ils exercent des effets généraux ou non [39].

III.2.4.1. Antiacides systémiques :

Ce groupe est représenté par les antiacides anioniques.

- **Le carbonate mono sodique :** Cet antiacide est capable de perturber l'équilibre hydro électrolytique. Au contact de l'acide chlorhydrique, le carbonate mono sodique est transformé en chlorure de sodium soluble, qui est résorbé et qui entraîne une hyper natrémie. Le carbonate mono sodique provoque une économie des bicarbonates d'origine pancréatique qui ne sont pas neutralisés au niveau du duodénum, puisqu'il n'y a plus d'acide. Ils sont donc à leur tour réabsorbés et éliminés par voie rénale, entraînant un risque d'alcalose métabolique [39].

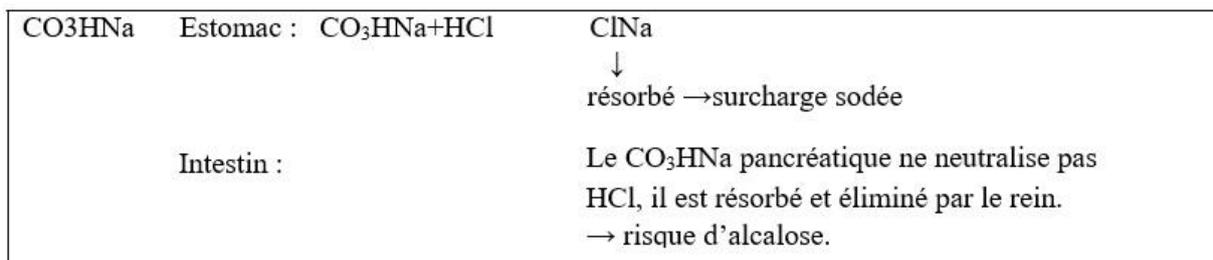


Figure 12. Métabolisme de carbonate mono sodique [39]

- **La carbonate de calcium :** Au niveau gastrique, il est transformé en chlorure de calcium qui subit une nouvelle insolubilisation au niveau duodénal par les bicarbonates pancréatiques qui forment du carbonate de calcium. Une faible partie reste cependant sous forme de chlorure de calcium est résorbée au niveau de l'intestin. Ce calcium non neutralisé par les bicarbonates correspond à une économie d'agents alcalins, entraînant un risque d'alcalose coexistant avec un risque d'hypercalcémie [39].

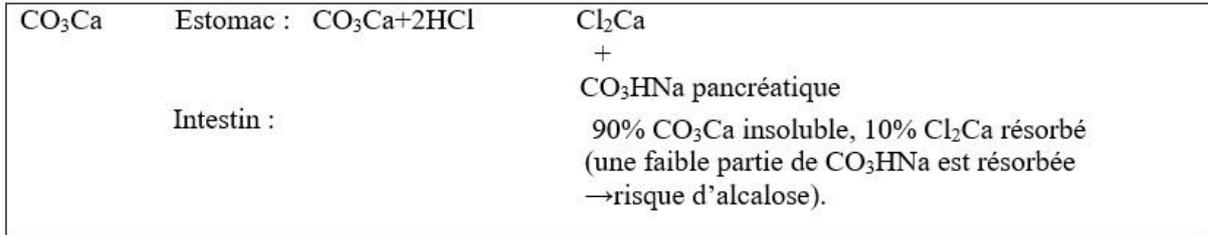


Figure 13. Métabolisme du carbonate de calcium [39]

III.2.4.2. Les antiacides non systémiques :

Ils correspondent aux antiacides cationiques et sont représentés par les hydroxydes d'aluminium et de magnésium. Au niveau gastrique, ces hydroxydes sont transformés en chlorures qui sont acheminés dans le duodénum pour être métabolisés [39].

- **L'hydroxyde de magnésium :** Il est transformé en carbonates et en savons insolubles.
- **L'hydroxyde d'aluminium :** Il donne des composés basiques et des carbonates qui à leur tour produisent des savons et des phosphates insolubles [39].

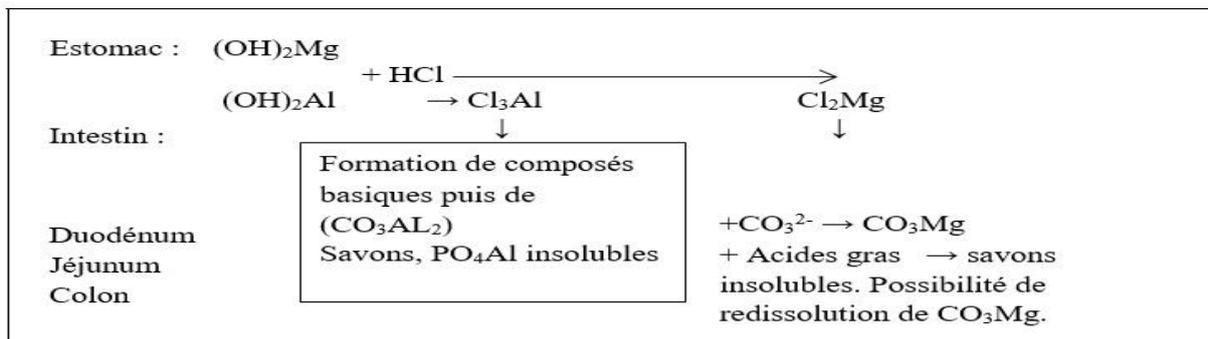


Figure 14. Métabolisme des antiacides non systémiques [39]

III.2.5. Propriétés pharmacologique

III.2.5. 1. Effet sur l'acidité au niveau gastrique et duodénal

Les antiacides élèvent le pH intra gastrique par un effet de neutralisation ou s'opposent à une chute de pH par effet tampon. L'action des différents antiacides et de leur forme galénique élève le pH intra gastrique basal de (1,1 - 1,4) à (5,7 - 7,) [38]

Le temps nécessaire pour atteindre le p H maximal est plus rapide pour les suspensions (2 minutes) que pour les comprimés (10 minutes). La durée pendant laquelle s'exerce l'effet antiacide en maintenant le pH à une valeur supérieur à 3 est de 20 à 45 minutes [38].

III.2.5.2. Effet sur la pepsine

Les antiacides peuvent diminuer l'activité protéolytique du suc gastrique de façon indirecte, puisqu'ils modifient le pH intra gastrique. Les pepsines responsables de la protéolyse exercent leur activité optimale à un pH proche de 2. L'élévation du pH intra gastrique à une valeur optimale, permet l'inhibition de la transformation du pepsinogène en pepsine. L'inactivation complète de la pepsine est réalisée à partir de pH= 6. Entre pH =4 et pH= 6, la pepsine est stable mais inactive [38].

III.2.5.3. Effet protecteur des muqueuses

Les préparations antiacides comportent parfois des éléments complémentaires capables de protéger la sécrétion de mucus. Il s'agit en général de substances naturelles, en particulier l'argile. L'addition de composés comme les pectines, augmente l'adhésivité du médicament sur la muqueuse, retardant ainsi la vidange de l'antiacide [38].

IV. DONNÉS SUR LES HYDROXYDES DOUBLES LAMELLAIRES

IV.1. Définition

Les argiles anioniques ou les hydrotalcites, connus aussi sous le nom de doubles hydroxydes lamellaires HDLs, sont des matériaux rares dans la nature mais faciles et simples à préparer au laboratoire [40].

Depuis la fin des années soixante, les HDLs font l'objet d'un intérêt croissant pour leurs propriétés d'échange anionique, leurs capacités d'adsorption, leur utilisation en catalyse et leurs applications pharmaceutiques [40].

La structure peut être décrite par l'empilement de feuillets de composition $M(OH)_2$ analogues à ceux de la brucite. La présence de métal trivalent conduit à donner une charge positive aux feuillets. De telles phases existent comme minéraux : Hydrotalcite [Mg-Al], Hydrocalumite [Ca-Al], les « rouilles vertes » [Fe^{2+} - Fe^{3+}] [41].

IV.2. Historique

Le premier solide de la famille des HDL a été décrit pour la première fois en 1842 par le minéralogiste *Hochstetter* [42], il se présente dans la nature sous forme de poudre de couleur blanche nacré (Fig. 15).



Figure 15. Hydrotalcite naturel [38]

Les premiers travaux de synthèse ont été initiés en 1930 par Treadwell et Bernasconi, qui ont remarqué que la précipitation de Mg^{2+} en présence de $Al(OH)_3$ s'effectuait à un pH inférieur à celui nécessaire pour précipiter $Mg(OH)_2$ [43].

En 1942, Feitknecht a synthétisé un grand nombre de composés à structure hydrotalcite, auxquels il donna le nom de «doppelschichtstrukturen» (structures à double feuille) [44], appelés par la suite hydroxydes doubles lamellaires (HDL), considérant l'empilement simple de feuillets de brucite $Mg(OH)_2$ et de feuillets $Al(OH)_3$ [45].

Cette structure simple fut démontrée à partir des années 60 par Allmann [41] et Taylor [45] au moyen de l'analyse des rayons X des monocristaux. Ils conclurent que les deux cations (Mg^{2+}) et (Al^{3+}) étaient situés sur la même couche et montrèrent la présence d'ions carbonates et de l'eau dans le domaine inter lamellaire [45].

IV.3. Description structurale

La structure des HDL est de type brucite ($Mg(OH)_2$ minéral constitué d'hydroxyde de magnésium); les cations métalliques entourés de six atomes d'oxygène des groupes hydroxyles forment des octaèdres (M, L) $(OH)_6$. (fig. 16).

La substitution partielle des cations trivalents L aux cations divalents M, génère un excès de charges positives sur les feuillets.

Afin de compenser cet excès de charges, des anions accompagnés de molécules d'eau s'insèrent entre les feuillets et permettent l'électro neutralité de l'édifice [46] [48].

Dans le cas d'une composition à deux cations (divalent et trivalent), ces composés sont définis par la formule générale : $[M^{II}_{1-x}M^{III}_x(OH)_2]^{x+}[A^{n-}_{x/n} \cdot yH_2O]$ [48].

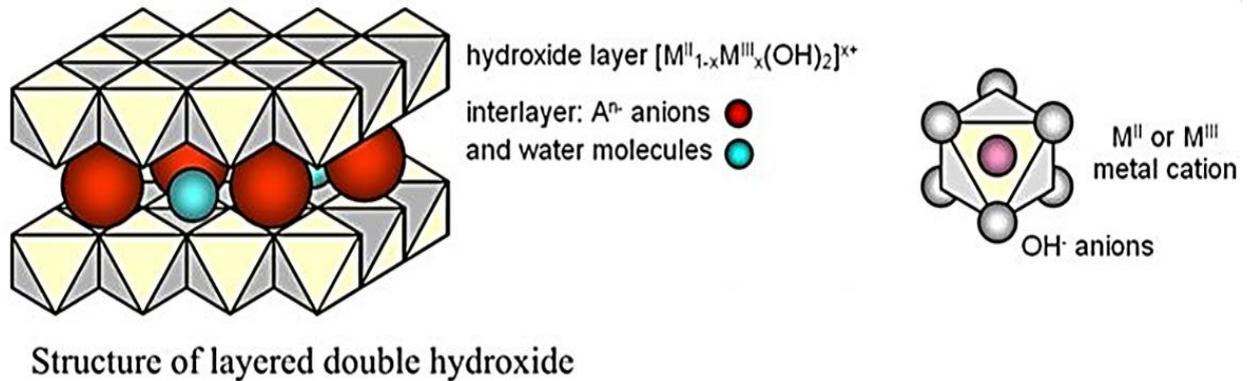


Figure 16. Représentation de la structure de l'hydroxyde double lamellaire [38]

Une grande diversité de composés Hydroxydes Doubles Lamellaires peut être synthétisée en faisant varier la composition chimique du feuillet et l'anion intercalé.

La composition chimique du feuillet correspond à la formule abrégée $[M^{II}_{1-y}L^{III}_y]$, Il est alors possible de jouer sur la nature des cations métalliques [47], [48].

De nombreux métaux divalents et trivalents peuvent former les feuillets de HDL. Les feuillets les plus souvent synthétisés sont à base de magnésium et d'aluminium, comme dans l'hydrotalcite naturelle, mais d'autres métaux peuvent être également utilisés [49] comme les : Métaux divalents (Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+} ...) et les métaux trivalents : Cr^{3+} , Fe^{3+} , Co^{3+} , Mn^{3+} , V^{3+} , Ga^{3+} ... (Tab. 4)

Tableau 4. Principales matrices inorganiques lamellaires [38]

Feuillets négatifs	Feuillets neutres	Feuillets positifs
Smectites et silicates $\text{Na}_{0,6}[\text{Li}_{0,6}\text{Mg}_{0,54}]\text{Si}_8\text{O}_{20}(\text{OH}, \text{F})_4$	Chalcogénures $\text{MS}_2, \text{MSe}_2$ $\text{M}=\text{Ti}, \text{Zr}, \text{Hf}, \text{V}, \text{Nb}, \text{Ta}$	(HDL) $\text{Mg}_4\text{Al}_2(\text{OH})_{12}\text{CO}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$
Hectorite $\text{Ca}_{0,35}[\text{Al}_{3,3}\text{Mg}_{0,7}]\text{Si}_8\text{O}_{20}(\text{OH})_4$	$\text{MPS}_3, \text{MPSe}_3$ $\text{M}=\text{Mg}, \text{V}, \text{Mn}, \text{Fe}, \text{Co}, \text{Ni}..$ AMS_2 $\text{M}=\text{Ti}, \text{V}, \text{Cr}, \text{Mn}, \text{Fe}$	Hydrotalcite $[\text{M}^{\text{II}}_{1-x}\text{M}^{\text{III}}_x(\text{OH})_2]^{x+}[\text{A}^{\text{m-}}_{x/m} \cdot n\text{H}_2\text{O}]^{x-}$ avec $\text{M}^{\text{II}}=\text{Zn}, \text{Cu}, \text{Mn}, \text{Co}..$ $\text{M}^{\text{III}}=\text{Al}, \text{Cr}, \text{Mn}, \text{Fe}, \text{Ga}..$ $\text{A}^{\text{m-}}=\text{anion organique ou inorganique}$
Montmorillonite $(\text{Na}, \text{Ca})_{0,3}(\text{Al}, \text{Mg})_7\text{Si}_6\text{O}_{20}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	$\text{A}=\text{groupe I}$ Oxydes métalliques M_xO_y $\text{M}=\text{Fe}, \text{Cr}, \text{V}$	Sels basiques d'hydroxydes $\text{Cu}_2(\text{OH})_3(\text{X}) \cdot \text{H}_2\text{O}$ $\text{X}=\text{NO}_3^-, \text{CH}_3\text{COO}^-$
Titanates et niobates $\text{K}_2\text{Ti}_4\text{O}_9, \text{KTiNbO}_5$ $\text{K}[\text{Ca}_2\text{Na}_{(n-3)}\text{NbO}_{2(n+1)}]$ $3 < n < 7$	Phosphonates $\text{M}^{\text{II}}(\text{O}_3\text{PR}) \cdot x\text{H}_2\text{O}$ $\text{M}=\text{Mg}, \text{Fe}, \text{Co}, \text{Ni}, \text{Mn}, \text{Cu}, \text{Zn}, \text{Cd}$ $\text{R}=\text{phényl}, \text{n-alkyl}, \text{t-butyl},$ $\text{C}_2\text{H}_4\text{CO}_2\text{H}, \text{C}_2\text{H}_4\text{Br}$	
Vandates, molybdates	$\text{M}^{\text{IV}}(\text{O}_3\text{PR})_2$	
Phosphonates $\text{HM}^{\text{III}}(\text{O}_3\text{Pr})_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ HUP $\text{M}=\text{Fe}, \text{Bi}, \text{Al}, \text{Ln}$		

IV.4. Méthodes de synthèse des HDLs

Plusieurs méthodes de synthèse peuvent être utilisées pour élaborer des HDLs, telles que : la co-précipitation, l'échange anionique, la reconstruction, la synthèse par voie sol-gel, la méthode par chimie douce, la méthode urée et la synthèse électrochimique (fig. 17). Cependant, la co-précipitation reste la méthode la plus utilisée et la plus simple pour préparer facilement des grandes quantités d'HDL [50]

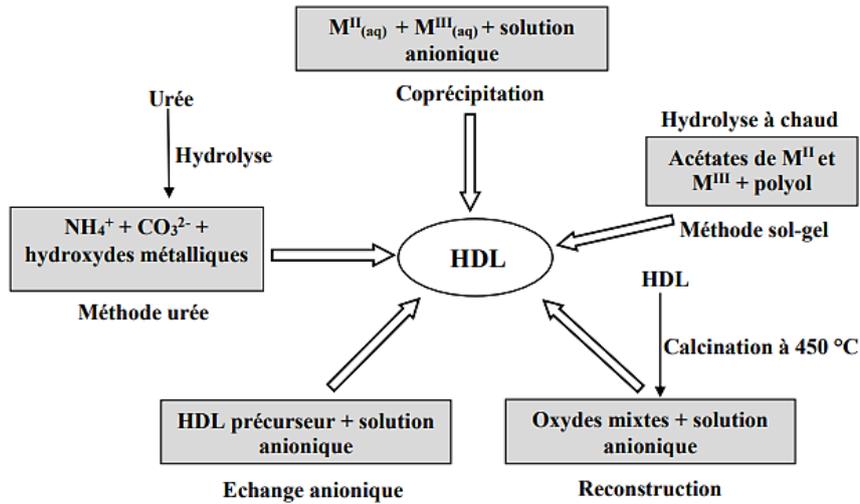


Figure 17. Méthodes de synthèse des HDLs [50]

IV.5. Propriétés des HDLs

Pour définir un HDL de façon la plus complète possible, il faut connaître plusieurs propriétés essentielles :

IV.5.1. Capacité d'échange anionique (CEA)

En raison de leur structure particulière, les argiles anioniques ont une bonne capacité d'échange anionique, cette capacité est définie comme étant le nombre total de la quantité d'anions échangeable monovalents qu'il est possible de substituer aux anions compensateurs afin de compenser la charge électrique de 100 grammes d'argile, elle est plus grande que dans les argiles cationiques, et varie entre 2-5 m mole/g. [51].

IV.5.2. Porosité et surface spécifique

La porosité et la surface spécifique des HDLs sont des paramètres très importants, les HDLs possèdent une surface spécifique très importante qui varie entre 50–80 m^2/g pour les HDLs non calcinés, alors qu'elles dépassent 200 m^2/g pour les phases calcinées [38].

IV.5.3. Délamination

La délamination est un processus unique des composés lamellaires. Elle consiste à un gonflement infini des feuillets d'HDLs, conduisant à des solutions colloïdales stables [38].

Les réseaux inorganiques bidimensionnels des HDLs, permettent l'intercalation et l'expansion dans les domaines interfeuillettes (fig 18). La délamination des HDLs a été récemment mise en évidence en utilisant des HDLs modifiés par des molécules de tensioactif (dodécylsulfate) dans du butanol, d'autres molécules organiques telles que les acides aminés sont aussi utilisées pour délaminer les HDLs, et différents solvant comme le formamide induisent également la délamination des HDLs [38].

A partir des Solutions de feuillettes d'HDLs délaminées, il est possible de reconstituer les phases HDLs .Ou encore des hétéro-structures, dans l'eau tout en gardant les propriétés des feuillettes intactes [38].

La structure peut être décrite par l'empilement de feuillettes de composition $M(OH)_2$ analogues à ceux de la brucite. La présence de métal trivalent conduit à donner une charge positive aux feuillettes. De telles phases existent comme minéraux : Hydrotalcite [Mg-Al], Hydrocalumite [Ca-Al], les « rouilles vertes » [Fe^{2+} - Fe^{3+}] [42].

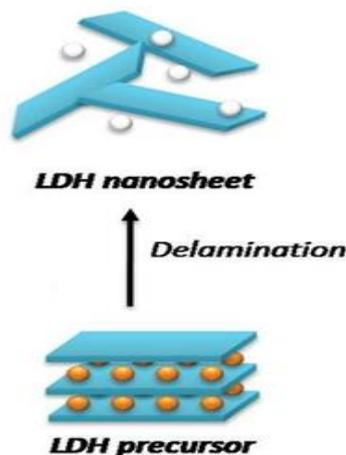


Figure 18. Processus de délamination [52]

IV.6. Applications des HDLs

L'ensemble des propriétés précédemment évoquées, explique l'intérêt porté aux HDL dans des applications très diverses. Les premières utilisations de HDL furent dans l'industrie chimique comme catalyseurs basiques, catalyseurs redox, support de catalyseur et comme échangeurs d'anions dans les applications pharmaceutiques en tant qu'agents antiacides ou anti-pepsiniques [10].

IV.6.1. Applications thérapeutique

IV.6.1.1. HDL comme agent antiacide gastrique

Dans le domaine médical, les matériaux HDLs sont utilisés pour leurs propriétés basiques et leur effet tampon dans le traitement des sécrétions d'hyperacidité gastrique, ils ont une action antipepsiniques, et ils peuvent ainsi agir contre les ulcères gastriques grâce à leurs propriétés acido-basiques. Par exemple l'hydrotalcite $MgAlCO_3$ est utilisée comme agent-antiacide, en ramenant le pH gastrique à une valeur optimale de 3 à 6 après une administration par voie orale. Aussi les phases HDL sont utilisées pour maîtriser l'action de l'acide chlorhydrique et de la pepsine dans l'estomac [11].

IV.6.1.2. HDLs comme hôtes pour biomolécules

Les HDLs présentent également des propriétés adéquates pour hôtes de biomolécules. En plus d'être biocompatibles [29], Ces matériaux présentent une structure ouverte due à leur caractère bidimensionnel favorable à l'intercalation d'une large diversité de biomolécules anioniques tel que (ADN, ATP, acides aminés) [38] [48]. Les molécules invitées sont alors préservées entre deux feuillets inorganiques présentant une expansion modulable en fonction de la taille de la molécule à intercaler. Leur charge positive permet l'immobilisation de molécules fonctionnelles dont les propriétés électriques sont compatibles avec les feuillets [48].

L'immobilisation de fragments d'ADN a été réalisée par *Choy* dans l'objectif d'élaborer des vecteurs de gène pour la thérapie génique par simple échange anionique. L'étude montre que la molécule ne se détériore pas, et que le matériau hybride pénètre bien à l'intérieur de la cellule avant que la matrice HDL ne se dissolve, en raison du pH acide, et libère les fragments d'ADN (fig. 19) [38].

Une étude *in vivo* plus approfondie a montré que le matériau hybride HDL-ADN pénètre dans la cellule par voie endocytomique. Une fois dans la cellule, la dissolution progressive de la matrice hôte due au faible pH du lysosome et l'échange anionique possible avec les ions contenus dans l'électrolyte de la cellule libèrent les fragments d'ADN [48].

Récemment, des fragments plus longs, 6000 à 8000 paires de bases, ont pu être introduits dans une structure HDL par co-précipitation. L'immobilisation d'enzymes sur des solides est également étudiée pour des applications en biotechnologie. L'objectif est de protéger

efficacement leur activité contre les processus de dénaturation. Des travaux récents ont montré que l'uréase a une forte affinité avec les phases HDLs et qu'il est possible de produire des biocapteurs en immobilisant l'enzyme sur la matrice HDL [38].

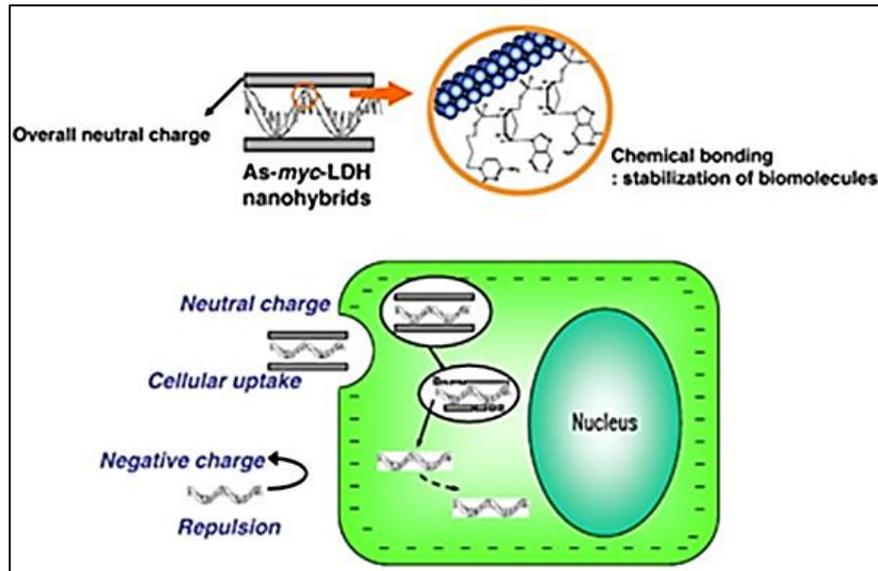


Figure 19. Transfère de fragment d'ADN jusqu'à la cellule par les HDLs [38]

IV.6.1.3. HDL comme nano véhicule des traitements tumoraux :

L'efficacité du méthotrexate (MTX), qui est un traitement de certain cancer tel que le cancer de sein , peut être limitée par sa demi-vie plasmatique très courte, et pour une efficacité de ce traitement (MTX) , **Choi et al .,(2013)** ont utilisé l'hydroxyde double lamellaire comme un nano véhicule cible la tumeur dans un modèle de cancer du sein orthopique , chez des souris porteuses de tumeurs mammaires orthotopiques humaines [54]. L'étude montre que le nano hybride (MTX-HDL) a présenté un effet de ciblage supérieur résultant en une efficacité anti tumorale élevée induisant une réduction de 74,3% du volume tumoral par rapport au MTX seul, et par conséquent, des avantages de survie importants, et il a permis l'inhibition de la prolifération cellulaire tumorale , de plus cette étude montre que le nano hybride (MTX-HDL) fournit un système de support non toxique pour l'administration de médicaments de tumeurs [54].

IV.6.1.4. HDLs et Autres propriétés thérapeutiques

D'autre part, des maladies liées à des déficiences en fer sont révélées et traitées par des phases HDLs à base de Mg, Al et de Fe, ou encore utilisées comme inhibiteurs de caries en tant qu'un additif aux pâtes dentaires [11]

En outre, les propriétés d'échange anionique contribuent à d'autres applications médicales. Des molécules biologiquement actives comme des acides carboxyliques chargé négativement peuvent être intercalés dans les HDLs afin d'induire une libération contrôlée [38].

Ces molécules peuvent être des agents cardiovasculaire ou encore anti-inflammatoire. Plus particulièrement, l'intérêt remarquable des HDLs a été généré en utilisant ce type de matériaux dans le stockage et le relargage contrôlé des biomolécules telle que, des médicaments ou des vitamines sensibles à l'environnement , cette intercalation permet aux vitamines d'acquérir une stabilité vis-à-vis de la lumière, de la chaleur et de l'oxygène qu'elles n'ont pas lorsqu'elles sont en solution [52].

De plus, des nano hybrides bio-inorganiques sont obtenus par intercalation de macromolécules biologiques (ADN, adénosine triphosphate, nucléosides) dans des HDL Mg-Al- NO_3 , qui ont des applications potentielles pour le transport ciblé dans des organismes vivants, pour la livraison de matériel génétique aux cellules [52].

CHAPITRE II

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Introduction :

La réalisation de cette étude nécessite deux volets expérimentaux à savoir à savoir : la synthèse des hydroxydes double lamellaires HDLs et l'expérimentation animale qui consiste à l'introduction par voie orale des HDLs dans le tube digestif d'un rongeur après irritation de la muqueuse gastrique par un anti-inflammatoire non stéroïdien. Dans le but de vérifier la capacité protectrice de ce produit.

I. Synthèse des hydroxydes double lamellaires

La synthèse des hydroxydes double lamellaire a été réalisé au niveau de laboratoire 166 du département de Génie des Procédés, la faculté de Technologie à l'université « BLIDA.1. ». L'objectif de l'étude consiste dans un premier temps, à préparer le principe actif à base d'HDL en utilisant les sels de magnésium et d'aluminium pour obtenir des phases d'hydroxyde de type (Mg-Al-CO₃).

En dernier lieu, nous procédons à la formulation de la suspension avec le Mg-Al-HDL comme principe actif.

I.1. Matériels

Pour la synthèse d'hydroxyde double lamellaire, et la préparation des solutions aqueuses dans les différentes conditions expérimentales, nous avons utilisé des matériaux tel que, les produits chimiques, les verreries, les appareils et quelques autres matériaux qui sont mentionnés dans l'annexe (voir annexe A).

I.2. Méthode de synthèse

Le solide Mg-Al HDL a été préparé par la méthode de Co-précipitation à pH ≈10, qui consiste à mélanger deux solutions, le protocole de préparation est illustré sur la figure 20.

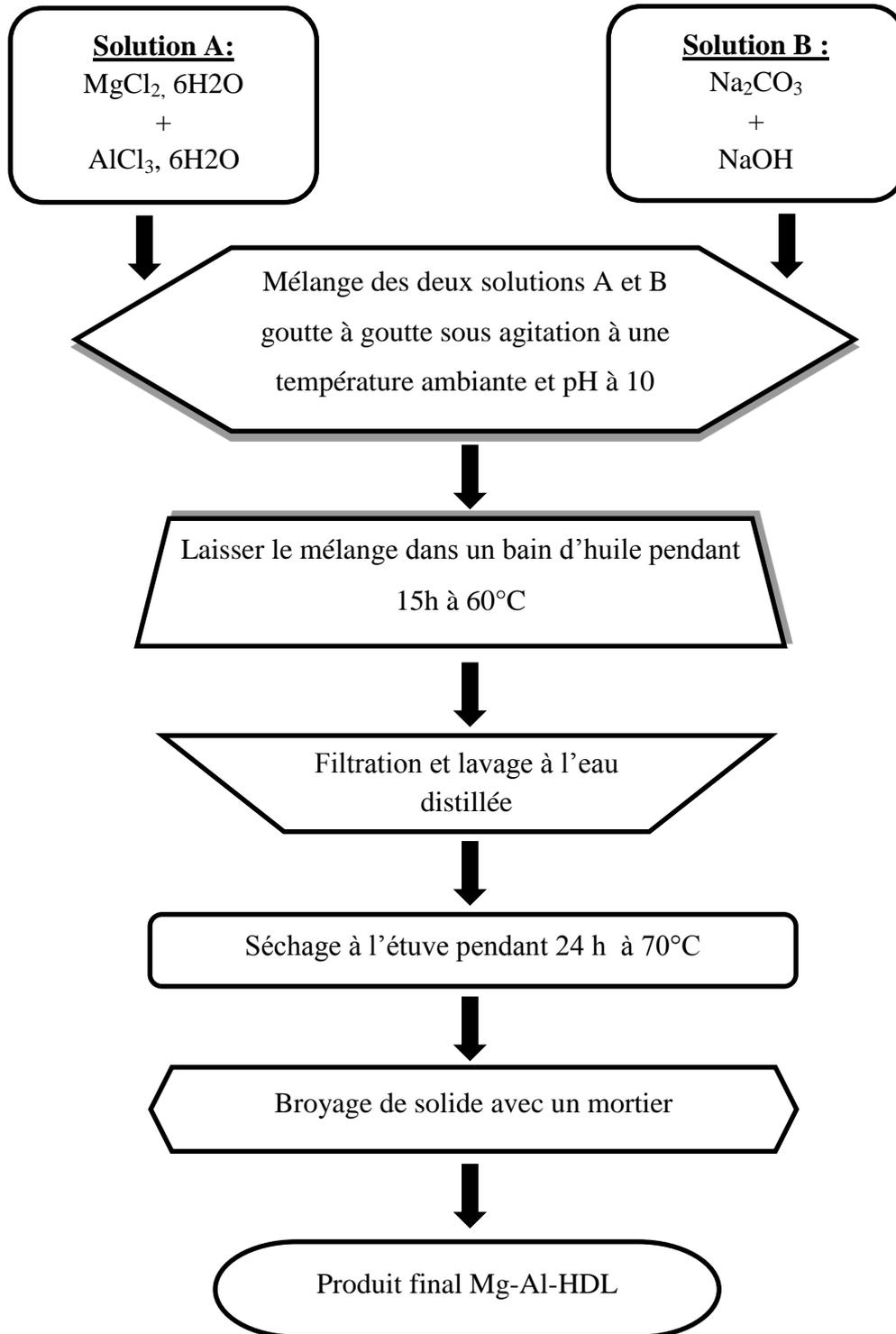


Figure 20. Etapes de préparation des HDLs par la méthode de Co-précipitation

1.2.1. Etape 1 : préparation des solutions A et B

1.2.1.1. Solution (A) : Contient un mélange de sel de chlorure d'un métal divalent M(II) (Cl_2). $6\text{H}_2\text{O}$ (M=Mg) et de sel de Chlorure d'un métal trivalent : M(III) (Cl_3). $6\text{H}_2\text{O}$ (M= Al), définie par un rapport molaire égal à 2 [55].

- Dans une erlenmeyer bien sec, sont dissout **26,835g** de $\text{MgCl}_2 (6\text{H}_2\text{O})$ dans de 200 ml l'eau distillée.
- Dans une autre erlenmeyer on dissout **15,935g** de $\text{AlCl}_3 (6\text{H}_2\text{O})$ dans 200 ml d'eau distillée.

Nous avons mélangé les deux solutions ainsi préparées dans un bécher de 500 ml à l'aide d'un agitateur magnétique.

1.2.1.2. Solution (B) : Contenant 1M de carbonates de sodium (Na_2CO_3) et 2M d'hydroxydes de sodium (NaOH).

- Dans une erlenmeyer bien sec, sont dissout **16g** de NaOH dans de 200 ml l'eau distillée.
- Dans une autre erlenmeyer on dissout **21,2g** de Na_2CO_3 dans 200 ml d'eau distillée.

Nous avons mélangé les deux solutions ainsi préparées dans un bécher de 500 ml à l'aide d'un agitateur magnétique [55].

Le mélange des deux solutions A et B est préparé, en versant goutte à goutte et au même temps 400 ml d'une solution (A) avec 400 ml d'une solution (B) à l'aide de deux ampoules à température ambiante sous une forte agitation et à pH constant de valeur 10 ± 1 (Fig. 21).

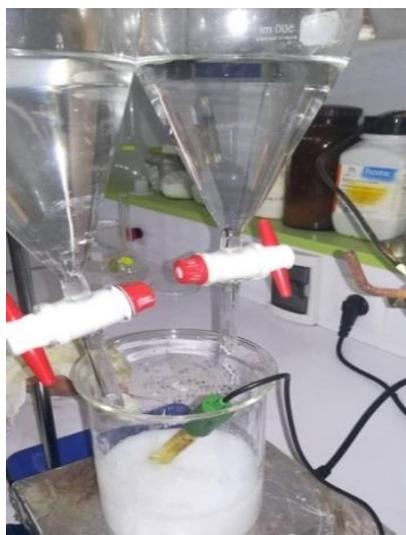


Figure 21. Co-précipitation des deux solutions A et B

1.2.2. Etape 2 : la cristallisation

Lorsque la réaction de précipitation est achevée, le gel résultant est mis dans un bain d'huile à 60°C pendant 18 heures afin de permettre la croissance des cristaux (fig. 22).



Figure 22. Cristallisation du gel résultant

1.2.3. Etape 3 : la filtration et lavage des cristaux formés

La solution obtenue est ensuite filtrée et lavée plusieurs fois avec l'eau distillée pour éventuellement éliminer les chlorures où le contrôle de degré de propreté du gel se fait par l'ajout des gouttes de solution d' AgNO_3 (0,1M) (fig. 23).



Figure 23. Lavage de la solution obtenue

1.2.4. Etape 4 : le séchage

Le produit est séché à l'étuve à 70°C durant 24 h (fig. 24).

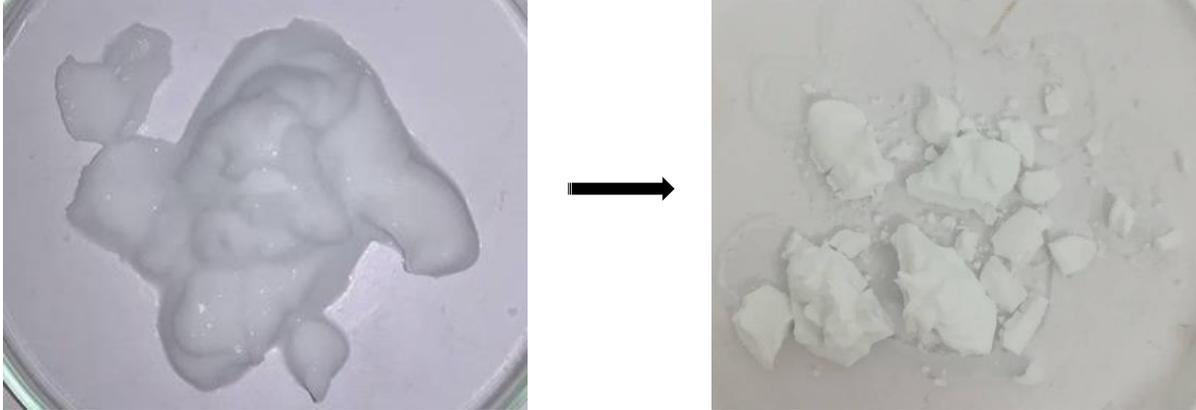


Figure 24. Produit final avant et après séchage

1.2.5. Etape 5 : le broyage

Le produit obtenu est sous forme d'un solide fritté, est broyé en suite à l'aide d'un mortier, ce qui donne une poudre très fine (Fig. 25).



Figure 25. Produit final après broyage Mg-Al HDL

I.3. Caractérisation du Mg-Al-HDL

I.3.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier (IRTF)

I.3.1.1.Principe

Les spectres infrarouges ont été réalisés avec un appareil Perkin Elmer dans le domaine situé entre $4000-400\text{ cm}^{-1}$.

Cette technique est très puissante pour mettre en évidence les bandes de vibrations des liaisons formant le matériau lamellaire, elle nous a permis aussi de détecter la présence d'anions carbonates, via la bande de vibration caractéristique $(\text{CO}_3)^{2-}$ aux alentours de 1360cm^{-1} [56].

I.3.1.2. Mode opératoire

Les échantillons sont confectionnés sous forme de pastilles circulaires constituées de 2 mg de produit répartie dans 200 mg de bromure de potassium (KBr) utilisé comme support.

I.3.2. Diffraction de rayons X (DRX)

I.3.2.1. Principe :

L'analyse DRX est effectuée essentiellement par la méthode des poudres, une technique facile à réaliser, rapide et non destructive avec laquelle on peut avoir des renseignements sur le feuillet et sur l'espace inter feuillet, et on peut identifier le matériau par l'intermédiaire des distances inter réticulaire d_{hkl} et de l'intensité des raies de diffraction correspondantes [42].

I.3.2.2. Mode opératoire

Une quantité de quelques grammes de poudre bien fine est placée sur une plaquette en une surface la plus régulière possible ; la plaquette est positionnée au centre goniomètre de telle manière que le faisceau diffracté soit focalisé sur le détecteur, la surface irradiée comprend des milliers de grains qui nous donnent des informations fiables sur la structure de poly-cristal. Les résultats sont identifiés par un logiciel spécialisé de type « Miniflex » ; les pics sont comparés avec le Diffractogramme de référence des matériaux lamellaires [11].

I.4. Préparation de la formulation suspension buvable

I.4.1. Matériels

I.4.1.1. Appareillages

Le matériel utilisé dans le cadre de ce travail est dédié spécifiquement à la formulation d'une suspension buvable :

- Un agitateur magnétique muni d'un thermocouple (STUART) pour la dissolution de méthyle et propyle parabène pour le mélangeage des suspensions.
- Une balance électronique (OHAUS-AR124CN) pour la pesée des matières premières.
- Un pH mètre (HANNA INSTRUMENTS HI 2210 PH MOTOR) pour la mesure du pH de suspension.
- Un homogénéisateur (IKAT1.BASIC_ulta turraxrotor/stator) pour l'homogénéisation de la suspension.

I.4.1.2. Réactifs et matières premières

La formulation d'une suspension buvable nécessite la présence d'un principe actif qui est le Mg-Al-HDL et des excipients qui sont mentionnés dans le tableau 5 [11].

Tableau 5. Réactifs de la formulation d'une suspension buvable

Nom Usuel	Formule chimique	Concentration % dans les suspensions	Rôle
Sorbitol	$C_6H_{14}O_6$	70	Dans les préparations liquides le sorbitol est utilisé comme un humectant et comme agent stabilisateur de médicament, édulcorant et suspensions antiacides
Saccharine sodique	$C_7H_4NNaO_3S$	(0,075-0,6)	La saccharine est un édulcorant, elle est fréquemment utilisée dans les formulations pharmaceutique tel que les suspensions, son pouvoir édulcorant est d'environ 300 à 600 fois à celui de saccharose
Méthyle parabène	$C_8H_8O_3$	(0,015-0,2)	Le méthyle parabène et propyle parabène jouent le rôle de conservateur dans la Formulation du Maalox®
Propyle parabène	$C_{10}H_{12}O_3$	(0,01-0,02)	Conservateur
Xanthane	$(C_{35}H_{49}O_{29})_n$	0,2	Agent gélifiant et suspendant

I.4.2. Mode opératoire

Dans un premier lieu, Nous incorporons à une quantité appropriée d'eau purifiée de la saccharine sodique sous agitation jusqu'à dissolution totale. Le sorbitol est ensuite ajouté avec le principe actif Mg-Al-HDL sous agitation puis le Xanthane ajouté en dernier, graduellement pour éviter la formation des grumeaux. A la fin, une quantité de conservateurs est ajouté et le tout est placé dans l'homogénéisateur [11].

II. Expérimentation animale

II.1. Matériel biologique

Un total de 40 souris mâles de type *Balb/c* (*Mus musculus*) (fig. 26), pesant de 40 à 50 g élevé au laboratoire de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), ont été obtenues après avoir l'autorisation du service des animaux.



Figure 26. Souris *Balb/c* (photographie originale)

L'expérimentation devait être réalisée au niveau de l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université de Blida 1.

Les souris ont été élevées, après marquage et répartition en lots, dans des cages en polystyrène au sein de l'animalerie de l'université de Blida 1, recevant une alimentation et un abreuvement *ad libitum* (accès libre à l'eau et à la nourriture aliment bouchon) et un cycle de 12 h lumière/12h obscurité à une température ambiante maintenue à 25 ± 2 °C.

II.2. Induction de l'ulcère gastrique par l'indométacine

II.2.1. Protocole

L'activité anti-ulcère de la suspension HDL doit être testée sur l'ulcère expérimental induite par l'indométacine, selon le protocole de Djahanguiri, avec quelques modifications [57].

Les souris ont été réparties de manière aléatoire en quatre lots ($n= 10$), et doivent être privées de nourriture 18 heures précédant chaque expérimentation. Ces dernières doivent être privées d'eau, pesées puis marquées une heure avant que les différents traitements leurs soient administrés par voie intra-gastrique. MAALOX[®] à **750mg/kg**, ainsi que les différentes

concentrations d'HDL **80-750mg/kg** doivent être administrées une heure avant l'administration de **25mg/kg** de l'indométacine [57-59].

Les souris sont divisés en quatre groupes différents selon le type de traitement qui leurs a été administré.

Groupe1 : témoin accès à l'eau physiologique seule.

Groupe2 : introduction par gavage de l'indométacine et véhicule CMC (la solution de CMC doit être préparée en dissolvant la poudre de carboxymethyl cellulose à **0,8g** dans **100 ml** d'eau distillée) + indométacine à **25mg/kg**.

Groupe 3 : introduction par gavage de la suspension HDL de 5ml/kg à des doses (5 souris **80mg/kg** et 5 souris **750mg/kg**) et l'indométacine à **25mg/kg**.

Groupe 4 : pour le test standard, introduction par gavage de MAALOX (Hydroxyde de magnésium + hydroxyde d'aluminium) **750mg/kg** dans 5ml/kg d'eau distillé et (l'indométacine à **25mg/kg** + la solution CMC).

II.2.2. Sacrifice et dissection

Les souris doivent être sacrifiées 4 heures suivant l'administration de l'indométacine, par dislocation cervicale sous anesthésie au chloroforme. Les estomacs doivent être prélevés suite à une dissection ventro-médiane, ces derniers seront incisés selon la grande courbure, lavés avec une solution saline puis étalés sur une lame en verre et observés sous la loupe.

II.3. Etude histologique

II.3.1. Méthode Histologique

Après dissection le prélèvement de l'estomac et le lavage à l'eau physiologique, une observation macroscopique est effectuée, les zone d'intérêt sont sélectionnées. Par la suite, les tissus sont passés par plusieurs traitements. Les différentes instruments et réactifs utilisés sont mentionnés dans l'annexe B.

II.3.1.1. Fixation

Afin de conservé la microstructure et les composants des tissus à un état aussi proche que possible de l'état vivant. La fixation entraine un durcissement ce qui permet de maintenir les diverses formations tissulaires en place, ainsi ces cellules seront protégées contre les attaques bactériennes, les distorsions et les rétractions. La fixation doit se faire immédiatement après le prélèvement, les échantillons sont placés dans des cassettes en

plastique et plongés dans un liquide fixateur qui est le formaldéhyde tamponné à 10%, pendant au moins 24 h plusieurs jours et à une température ambiante (25°C) [60-63].

II.3.1.2. Déshydratation

C'est étape indispensable avant l'imprégnation, la paraffine n'étant pas miscible à l'eau, les pièces fixées devront être déshydratées dans des bains d'alcool à degrés croissants. La durée du cycle de déshydratation dépend de la nature des échantillons et de leurs tailles [61].

Les cassettes contenant les tissus fixés sont placés dans des bains d'alcool à degré croissants 100, 90, 70 (2 bains pour chaque concentration), et on laisse les cassettes pendant ½ une demi-heure pour chaque bain. Cette étape vise à remplacer graduellement l'eau avec l'alcool.

II.3.1.3. Eclaircissement et imprégnation

Cette étape a pour objectif de remplacer l'alcool contenu dans les tissus par le xylène, celui-ci est un solvant puissant de la paraffine. Cette étape permet la pénétration de la paraffine et l'éclaircissement de l'échantillon.

Les tissus contenus dans les cassettes sont placées dans deux bains de xylène pendant une demi- heure pour chaque bain. , puis imprégner dans deux autres bains de paraffine liquide chauffée à 60° C, pendant une demi-heure h pour le premier bain et pendant une nuit pour le deuxième bain.

II.3.1.4. Inclusion à la paraffine

Cette étape permet l'enrobage du tissu imprégnée introduisant les échantillons dans des moules métalliques préalablement chauffés (fig.27). Un faible volume de paraffine est alors introduit dans le fond du moule dans lequel les tissus seront immergés. Une fois la paraffine durcie, le moule est rempli jusqu'à ras bord de paraffine, ce qui permet d'empêcher la remontée des tissus, et la cassette est déposée au-dessus de la paraffine encore liquide. Les blocs ainsi formés sont laissés à température ambiante pendant 20 minutes puis placés au congélateur durant une nuit. C'est après le démoulage que les blocs peuvent être coupés au microtome [63].



Figure 27. Les étapes de l'inclusion [64]

II.3.1.5. Confection des coupes

Les coupes sont confectionnées à l'aide d'un microtome (fig. 28). Après le montage du bloc sur le porte-bloc du microtome et l'orientation dégrossissement et le réglage de l'épaisseur à 5 μ m, des rubans de paraffine contenant le tissu sont obtenus. Ces rubans sont déposés délicatement dans un bain marie réglé à 45°C. Puis étalé sur lames gélatinées.



Figure 28. Confection des coupes à partir d'un bloc de paraffine

II.3.1.6. Coloration

1. Déparaffinage

Les lames doivent être déparaffinées avant leur coloration par l'immersion dans deux bains de xylène pendant 10 min chacun.

2. Réhydratation

Elle se fait on plongeant les lames dans différents bains d'alcool d'ordre décroissant, alcool 100, 90 puis à 70 pendant deux minutes, puis un rinçage avec l'eau courante pendant une minute.

3. Coloration à l'Hématoxyline-Eosine (H&E)

Elle a pour but de différencier topographiquement les constituants tissulaires. Dans la coloration (H&E) l'hématoxyline colorant bleu est acidophile, il colore les structures nucléaires en bleu. L'éosine colorant rouge est basophile, il colore le cytoplasme en rose [60] (voir fiche technique, annexe C).

II.3.1.7. Montage

1. Déshydratation

Après coloration, il est nécessaire de faire une déshydratation, les coupes sont trempées dans différents bains d'alcool à degré croissant 70, 90, 100 pendant deux minutes. Suivie de deux bains de xylène de 15 minutes chacun. Cette étape nous permet d'éliminer l'eau présente dans les coupes.

2. Conservation et collage entre lame et lamelle

Les lames colorées doivent être protégées contre l'altération pour rendre possible leurs examens microscopiques à long terme. Dans ce but les tissus sur les lames sont recouverts par un milieu de montage comme : l'Eukit. Les lames ainsi préparées peuvent être archivées sans risque.

II.3.2. Observation au microscope optique

Les lames ainsi préparées sont mises à observer au microscope optique avec les grossissements $\times 100$ et $\times 400$ (oculaire et objectif).

CHAPITRE III

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. CARACTERISATION DU Mg-Al-HDL

L'identification des hydroxydes doubles lamellaires fait appel à plusieurs techniques de caractérisation qui nous permettent de connaître leur nature, leur structure, et leur classification. Parmi les plus importantes on peut citer :

I.1. Diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X permet d'identifier la nature des phases cristallines et les paramètres de la maille élémentaire d'un solide cristallin [65]. Dans notre cas, cette technique permet d'avoir des renseignements sur le feuillet et sur l'espace inter feuillet des matériaux.

Nous présentons le diffractogramme de Mg-Al-HDL sur (fig 29).

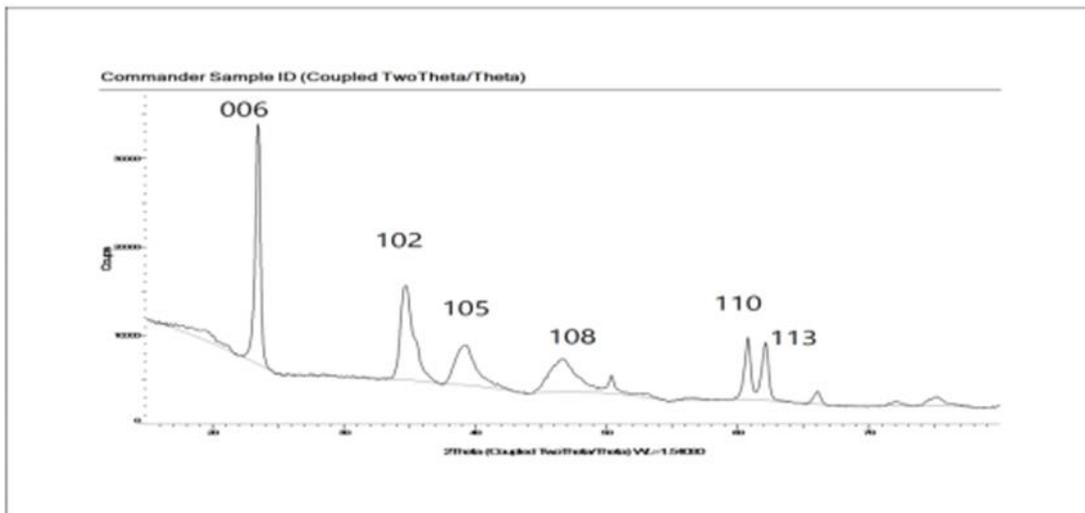


Figure 29. Diffractogramme d'un échantillon de Mg-Al-HDL non calciné [11]

Le Diffractogramme montre que l'allure est bien cristalline du fait de la présence de plusieurs pics caractérisant l'hydroxyde double lamellaire.

Nous remarquons la présence de la raie (110) rencontrées dans ces composés à structure lamellaire qui correspond que la distance inter réticulaire $d(110)$ représentant la moitié de la distance métal-métal dans les feuillets. Alors que la raie (003) qui correspond à la distance inter réticulaire $d(003)$ correspond à la distance inter feuillet est inexistante à cause de la détection de l'appareil qui commence à partir de 20 égale à 15.

I.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR)

La spectroscopie infrarouge est une technique analytique simple et rapide permettant de déterminer la présence de divers groupes fonctionnels. Dans cette étude, les analyses infrarouge ont été réalisées sur un spectrophotomètre à transformé de Fourier (FTIR). Les spectres infrarouges se situent dans la partie comprise entre 4000 et 400 cm^{-1} [66].

L'étude se fait sur un échantillon broyé, puis mélangé au bromure de potassium (KBr) sous forme de pastille. Le spectre infrarouge de HDL est représenté sur (fig. 30).

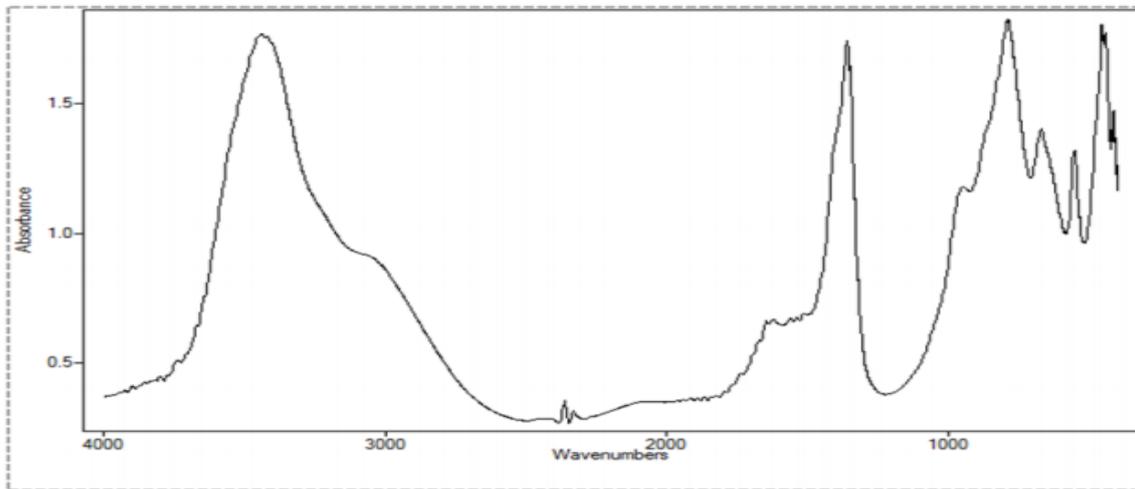


Figure 30. Spectre IR de l'échantillon Mg-Al-HDL non calciné [11]

Le tableau 6 regroupe les principales bandes de Mg-Al-HDL dans le spectre IR.

Tableau 6. Principaux bandes d'un HDL dans le spectre IR [11]

Une large bande aux environs de 3400 cm^{-1}	liés aux différents métaux
métaux Petite bande de vibration observée au voisinage de 3000 cm^{-1}	L'élongation des molécules d'eau liées aux anions carbonates (CO_3^{2-})
Bande de vibration observée au voisinage de 1630 cm^{-1}	Déformation des molécules d'eau intercalées
Bande de vibration observée au voisinage de 1380 cm^{-1}	l'élongation antisymétrique du carbonate inter lamellaires (CO_3^{2-})

II. Effet de l'indométacine et pathologie cellulaire et moléculaire de l'ulcérogenèse

L'ulcère gastrique est une maladie caractérisée par une aggravation des zones d'inflammation avec une perte de substance de la muqueuse d'au moins 0,5 cm de diamètre atteignant la musculaire muqueuse. Cette altération histopathologique résulte d'un déséquilibre entre la production de l'HCl et la pepsine gastrique, et les mécanismes de défenses de l'intégrité de la muqueuse [6] [14]. On retrouve parmi les principales causes de ce trouble, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) [7].

L'administration intra-gastrique de l'indométacine (25mg/Kg) à des souris, pourrait engendrer des lésions gastriques au niveau de la partie glandulaire de l'estomac correspondant à des ulcérations et se manifestant par des rougeurs de la muqueuse en signe d'hémorragies, d'autres signes visibles sont des œdèmes et inflammations en réponse aux ulcérations B (fig. 31) [57].

D'autre part, les estomacs des souris du groupe témoin A (fig. 31) ne présentent aucune des lésions décrites précédemment [57].

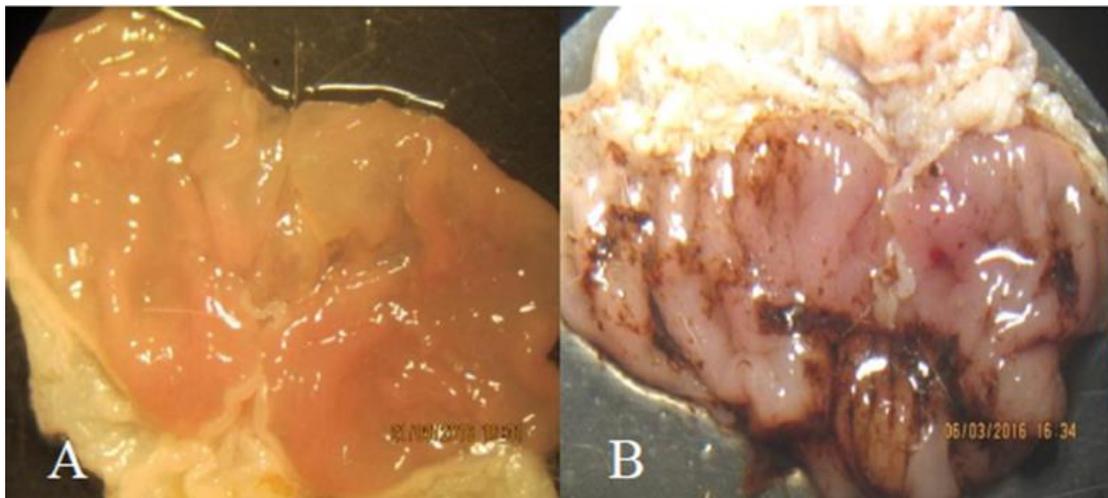


Figure 31. Photographie d'estomac de souris.

A. sain (témoin), B. ulcéré par l'indométacine [57]

De plus, l'administration de l'indométacine entraîne une augmentation significative de la zone de l'ulcère gastrique dans la muqueuse de l'estomac, par rapport au groupe normal non traité (* P <0,05) [68].

Les lésions gastriques ont été jugées en mesurant la zone de l'ulcère gastrique sur la surface de la muqueuse gastrique dans tous les groupes expérimentaux (fig. 32) [68].

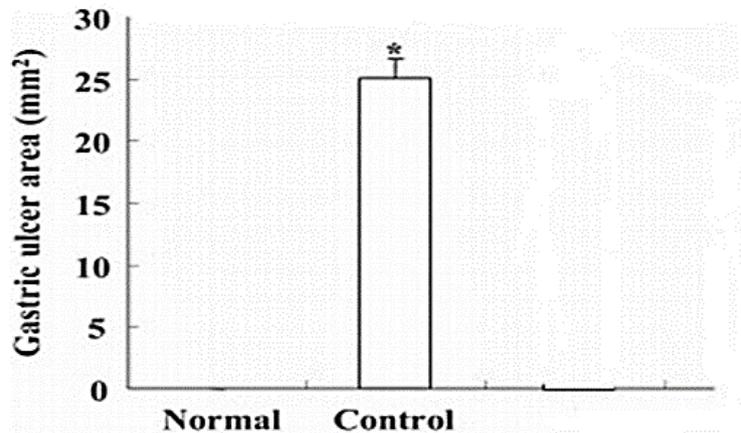


Figure 32. Le taux de lésions gastrique induites par l'administration d'indométacine [68]

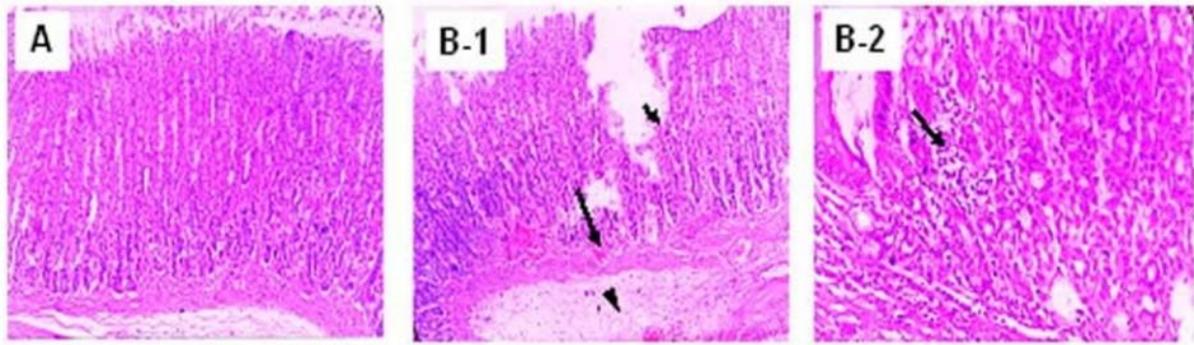
Autres études, montre que l'administration d'indométacine par une injection intrapéritonéale avec une dose de (30 mg /kg), a causé un indice d'ulcère remarquablement élevé ($21,6 \pm 2,01$) lorsque on compare par rapport au groupe témoin [Les données représentent la moyenne \pm S.E.M. d'observations de 8 rats] (tab .7) [12].

Tableau 7. Indice de l'ulcère induit par l'administration d'indométacine [12]

Groupes	Induction ulcère
Témoin	1.1 ± 0.01
Indométacine	21.6 ± 2.01

(**Abdallah et al., 2011**), ont montré l'effet ulcérogène de l'indométacine sur le rat. L'estomac de rats du groupe témoin (A) (fig. 33) a révélé une muqueuse gastrique normale [12].

Par contre, l'estomac de rats du groupe (B) (fig. 33) traiter par l'indométacine (IND) a montré une nécrose de la lame épithéliale, congestion des vaisseaux sanguins associée à une infiltration massive de cellules leucocytaires dans lamina propria [12].



**Figure 33. Micrographies d'estomacs de rats traités à indométacine
A, B-1(X 100), B-2(X 200)
(A) contrôle, (B) traités avec indométacine.
Coloration Hématoxyline-Eosine) [12]**

(B-1) montre une nécrose de la lame épithélial (flèche courte), congestion des vaisseaux sanguins (flèche longue), associés avec œdème sous muqueux (tête de flèche).

(B-2) montre une infiltration massive de cellules leucocytaires dans la lamina propria. .

Plusieurs recherches ont montré que l'indométacine a la capacité de provoquer l'ulcère gastrique par la génération de radicaux libres, l'initiation de la peroxydation lipidique qui fait diminuer les niveaux des antioxydants enzymatiques, l'inhibition de la synthèse des prostaglandines et l'infiltration des leucocytes [12], [69].

L'inhibition de la biosynthèse des prostaglandines endogènes par l'inhibition de la cyclooxygénase (enzyme responsable de la synthèse des prostaglandines) est le principal mécanisme d'induction de l'ulcère par l'indométacine. En effet le mécanisme par lequel l'indométacine provoque des ulcères gastriques comprend essentiellement l'inhibition non sélective de la cyclo-oxygénase 1 (COX-1) et la cyclooxygénase 2 (COX-2) qui sont des enzymes responsables de la synthèse des prostaglandines, conduisant ainsi à des dommages de la muqueuse et laissant apparaître au final des ulcères gastriques [70-71].

Le traitement des souris par l'indométacine produit des blessures gastriques associées à une diminution significative des taux des prostaglandines E2 (PGE2) [72]. Les prostaglandines jouent un rôle cytoprotecteur important au niveau de la muqueuse gastrique en exerçant une influence positive sur la sécrétion du mucus et du bicarbonate sur les cellules de l'épithélium de surface et sur la circulation des muqueuses [73-74].

De plus, il a été rapporté que l'indométacine est capable de générer des espèces réactives de l'oxygène (ERO) comme l'anion superoxyde (O_2^-) ; le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyl (OH), ce qui favorise la peroxydation lipidique [75].

En effet les EROs, particulièrement le radical hydroxyl, initie la peroxydation des membranes cellulaires et libère ainsi le radical 'peroxyl lipidique'. Ce dernier induit à son tour la peroxydation d'autres lipides, enlève un groupement hydrogène à partir des acides gras et commence une réaction en chaîne dans laquelle le produit final est le malondialdéhyde (MDA) (indicateur de peroxydation lipidique) [58].

Cette série d'événements conduits éventuellement à une augmentation dans l'activité de la myéloperoxydase (MPO), une enzyme clé dans la formation de l'acide HOCl à partir du H_2O_2 lors de la présence des ions de chlorure [76]. Cette enzyme (MPO), est souvent sécrétée par les leucocytes activés. Sa surexpression est communément associée à des affections inflammatoires, elle est donc considérée comme un indicateur fiable de l'infiltration des neutrophiles leucocytes. De récentes études ont rapporté que l'infiltration des neutrophiles au niveau de la muqueuse gastrique est impliquée dans l'ulcère induit par l'indométacine [77].

III. Effet protecteur des HDLs

Les antiacides contenant de l'aluminium et du magnésium comme Hydrotalcite, ont montré qu'ils exercent une puissante action protectrice des muqueuses contre divers facteurs nocifs, notamment l'éthanol, la pepsine, acides biliaires, stress, ischémie et les AINS [78-79].

D'après les résultats de (**Lambrecht et al.**, 1993), l'administration d'hydrotalcite a diminué les lésions gastriques induites par l'éthanol ou l'indométacine, et l'acidification d'hydrotalcite augmentant nettement l'effet (Fig. 34) [60].

D'après une comparaison entre l'hydrotalcite et l'hydrotalcite acidifié sur des dommages induits par l'éthanol ou l'indométacine, montre que l'acidification des hydrotalcites améliore leur effet dans la diminution d'altération des lésions gastrique [60].

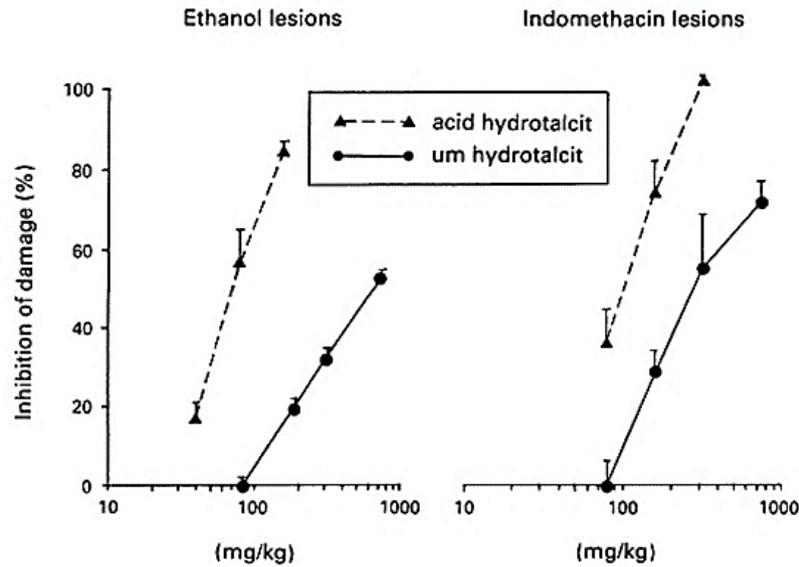


Figure 34. Effet de l'hydrotalcite sur les lésions gastriques induites par l'éthanol ou l'indométacine [60]

Les rats ont été traités par voie orale avec de l'hydrotalcite non modifié (um) ou acidifié (acid) 60 minutes avant l'administration orale d'éthanol (1-5 ml) ou d'indométacine (20 mg/kg) [60].

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition des dommages produits par l'éthanol (indice de lésion 47 (4), n = 12) ou indométacine (indice de lésion 21 (3), n = 12) chez des rats témoins traités avec un véhicule méthylcellulose (MC). Chaque point représente la moyenne (SEM) de 6 expériences [60].

Une protection par hydrotalcite a également été observée lorsque le médicament était administré jusqu'à 2 heures après l'administration d'indométacine (fig. 35). L'administration orale d'indométacine (20 mg / kg) seule produit des lésions mineures de la muqueuse gastrique (indice de lésion 5 (3), n = 4) en 2 heures [60]. Cela peut expliquer l'indice de lésion légèrement plus élevé chez les rats recevant de l'hydrotalcite 2 heures après l'indométacine (fig. 35) [60].

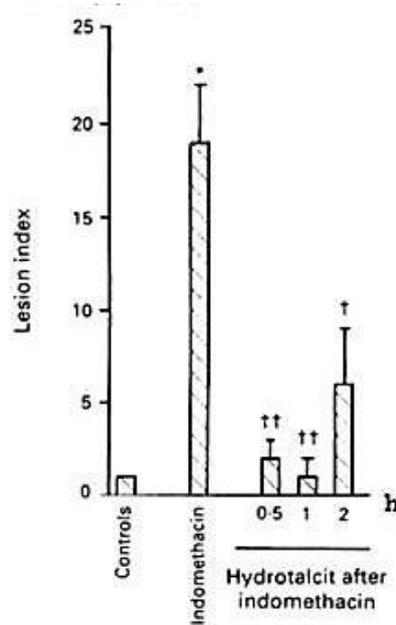


Figure 35. Atténuation des lésions gastriques induites par l'indométacine après l'administration de l'hydrotalcite [60]

Les AINS peuvent causer des lésions de la muqueuse gastrique chez l'homme en plus des animaux de laboratoire en inhibant la biosynthèse des PG, agissant ainsi comme inhibiteurs de la cyclooxygénase [80]. Ces données suggèrent que la PG joue un rôle physiologique dans le maintien de l'intégrité de la muqueuse gastrique.

Des études récentes ont montré que l'ARNm et la protéine de COX-2 étaient fortement exprimés dans l'estomac ulcéré de la souris, avec une augmentation parallèle de la PG muqueuse, suggérant un rôle important de la COX-2 dans la guérison des ulcères gastriques [81].

Une étude a clairement montré une régulation à la hausse de l'expression de la COX-2 dans la muqueuse gastrique et duodénale après une ulcération avec augmentation concomitante de la production de PGE2 [81].

IV. Processus cicatriciel et thérapeutique des HDLs

Le mécanisme de cicatrisation du tissu altéré, implique plusieurs étapes telles que la formation du tissu de granulation (ou « bourgeon charnu » un tissu transitoire qui va combler la perte de substance résultant de l'agression et de la détersion [81]), la contraction du tissu ulcéré et ré-épithélialisation [82]. Ces processus sont régulés par des facteurs de croissance, tels que le facteur de croissance épidermique (EGF), le facteur de croissance basique des fibroblastes (bFGF), le facteur de croissance dérivé des plaquettes et d'autres cytokines produites localement par la régénération des cellules. Le monoxyde d'azote (NO) est maintenant reconnu comme un médiateur pivot de la muqueuse, en exerçant actions similaires des PG dans le tractus gastro-intestinal [83]. Les deux médiateurs sont capables de moduler le flux sanguin muqueux, la production du mucus et du bicarbonate, la sécrétion et la réparation des lésions muqueuses [84-86].

(Konturek et al., 1989), (Tarnawski et al., 1998), (tarnawski et al., 2000) ont montré que les antiacides et en particulier l'hydrotalcite comportent différents mécanismes d'actions protectrices tels que ; l'activation des Cox1 et Cox2 dans la muqueuse gastrique ce qui permet l'augmentation de la synthèse et la libération des prostaglandines, l'augmentation de la sécrétion de bicarbonate et de mucus, la liaison et l'inactivation de la pepsine, la lysolécithine, les acides biliaires et les toxines de *H. pylori* [87],[88],[80].

L'administration des hydrotalcite permet aussi l'activation de la réponse au choc thermique conduisant à une augmentation des niveaux de protéine de choc thermique (HSP), en particulier HSP-70 dans les cellules de la muqueuse gastrique [87],[88],[80]. En plus il a la capacité d'activer la Cox2 et le bFGF dans les cellules endothéliales, ce qui permet de protéger l'endothélium micro-vasculaire. Il permettrait aussi de maintenir le flux sanguin muqueux, et la stimulation de l'oxyde nitrique synthase et les macrophages [88].

L'Hydrotalcite stimulerait aussi les nerfs sensoriels, conduisant à une libération accrue de peptide lié au gène de la calcitonine (CGRP), ce qui conduit à son tour à l'activation de l'oxyde nitrique et à la vasodilatation. [80],[87],[88].

(Schmassmann et al ., 1994) montrent qu'après le traitement aux antiacides, la marge de l'ulcère était épaisse et bien reconstruite (fig. 36), la structure glandulaire épithéliale

était bien remodelée, le tissu conjonctif entre les glandes était rare et la lumière de la glande était petite (fig. 37) [86].

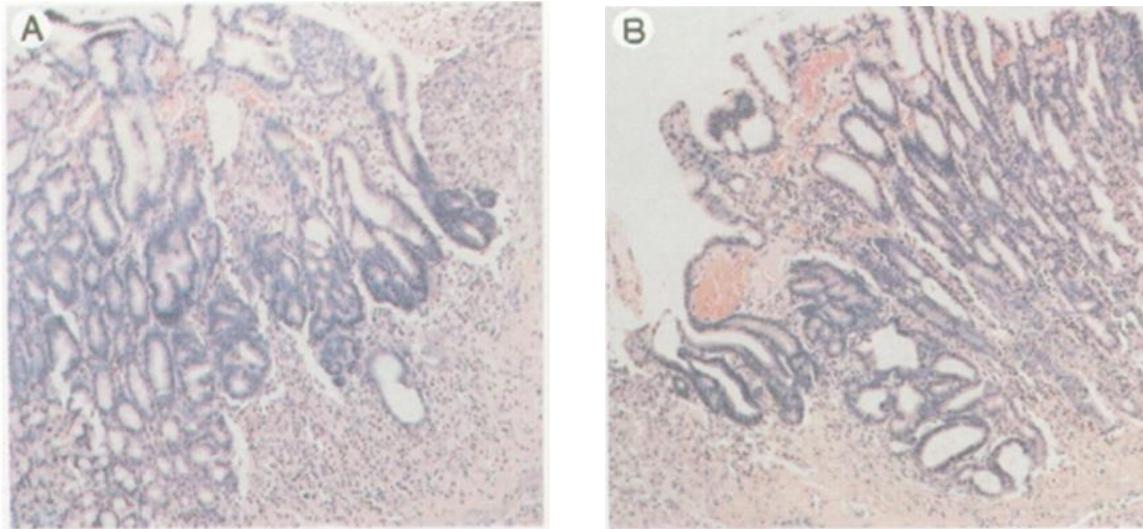


Figure 36. Aspect microscopique de la marge de l'ulcère gastrique au jour 8 chez les rats traités aux antiacides. (Hématoxyline et éosine, grossissement d'origine X 100, X200) [86]

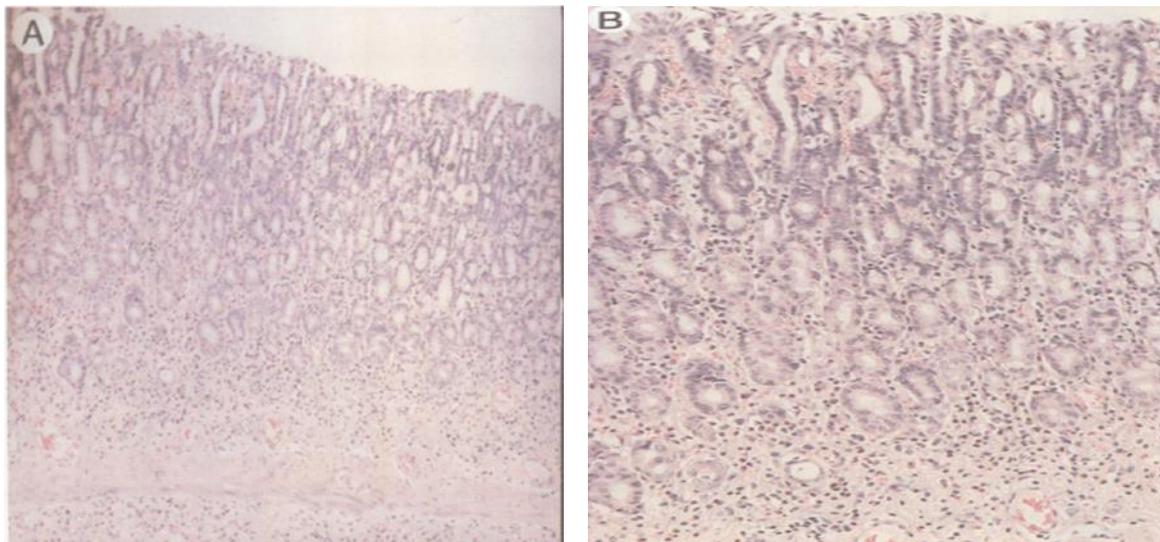


Figure 37. Aspect microscopique de la cicatrice de l'ulcère gastrique muqueux au jour 15 chez les rats traités aux antiacides (hématoxyline et éosine, grossissement X 100, X 200) [86]

Au cours de traitement par les antiacides, la muqueuse au bord de l'ulcère forme une zone de cicatrisation qui subit des changements de structure et de composition cellulaire. Ce processus est principalement contrôlé par des facteurs de croissance comme facteur de croissance épidermique (EGF) [90-91]. Les cellules dédifférenciées et proliférantes migrent de la marge

de l'ulcère sur le tissu de granulation pour réépithélialiser la base de l'ulcère lorsque l'infrastructure du tissu conjonctif le permettrait [91].

L'analyse histomorphométrique de la cicatrice de l'ulcère muqueux après l'utilisation des antiacides a montré beaucoup plus de cellules épithéliales glandulaires, moins de tissu conjonctif entre les glandes et moins de lumière glandulaire chez les rats traités aux antiacides [92-94]. Ces résultats soutiennent l'affirmation selon laquelle les antiacides similaires au sucralfate sont trophiques pour les cellules épithéliales glandulaires dans la cicatrice de l'ulcère en augmentant la prolifération cellulaire probablement grâce à une expression améliorée des facteurs de croissance et de leurs récepteurs [92-94]. Comme cette action trophique n'a été observée jusqu'à présent que pour les deux antiacides contenant de l'aluminium, l'hydrotalcite et MAALOX (hydroxyde d'aluminium + hydroxyde de magnésium), l'aluminium peut être l'un des composés chimiques pertinents pour cette action [78].

L'antiacide hydrotalcite accélère la guérison des lésions aiguës de la muqueuse gastrique. Ceci est accompli par plusieurs différents mécanismes tels que la protection contre les dommages causés par l'acide et la pepsine, en activant des gènes codant pour l'EGF et son récepteur et le facteur trèfle 2, qui favorisent la réépithélialisation ou la croissance épithéliale en stimulant l'angiogenèse via une régulation positive des gènes codant pour les facteurs pro-angiogéniques [96]. De plus, la régénération et cicatrisation des ulcères et l'activation de gènes codant pour le bFGF et ses récepteurs, ce qui entraîne une angiogenèse accrue [95].

(**Delarco et al ., 2003**) ont réalisé une étude *in vivo* sur des souris était faite pour étudier l'effet de (80 mg / kg) d'hydrotalcite (Mg-Al-CO₃) intercaler avec l'indométacine pure en comparant avec des ulcères induites par la même dose d'indométacine pure [96].

Les résultats avaient montré que l'indométacine intercalée avec l'hydrotalcite produit moins de dommages gastriques (70%) par rapport aux dommages induits par l'indométacine pure (88%) [96].

Ces résultats démontrent que l'intercalation des indométacines avec d'hydrotalcite réduit les dommages gastriques [96], et cela confirme la capacité des HDLs dans le traitement des ulcères.

CONCLUSION

Dans ce modeste travail, nous nous sommes intéressés à la synthèse et la formulation d'argile anionique l'HDL-Mg-Al. L'objectif fixé est pour étudier leur effet thérapeutique sur la muqueuse gastrique des souris qui ont subi une ulcération.

Les hydroxydes double lamellaires sont des argiles anionique appartient à la classe hydrotalcite, qui sont facile à synthétisés au laboratoire et leurs production ne prend pas beaucoup de temps et elle n'est pas couteuse.

Dans le domaine médical l'HDL est utilisé pour leurs propriétés basiques et leur pouvoir tampons dans le traitement des sécrétions d'hyperacidité gastrique, il a aussi une action antipepsiniques et peut agir contre les ulcères gastrique.

De plus, grâce à leurs propriétés acido-basiques, l' $MgAlCO_3$ est utilisée comme agent-antiacide, en ramenant le pH gastrique à une valeur optimale de 3 à 6 après une administration par voie orale. Aussi les phases HDL sont utilisées pour maitriser l'action de l'acide chlorhydrique et de la pepsine dans l'estomac.

D'après des recherches, l'administration des hydrotalcites permet :

- L'activation des COX1 et COX2 dans la muqueuse gastrique ce qui permet l'augmentation et la libération des prostaglandines.
- l'augmentation de la sécrétion de bicarbonate et de mucus.
- la liaison et l'inactivation de la pepsine, la lysolécithine, les acides biliaires et les toxines de *H. pylori*.
- Activation du facteur de croissance de base des fibroblastes (bFGF) dans les cellules endothéliales, ce qui permet de protéger l'endothélium micro vasculaire
- Maintenir le flux sanguin muqueux

L'hydrotalcite accélère la guérison des lésions aiguës de la muqueuse gastrique, il favorise la protection contre les dommages causés par l'acide et la pepsine, par l'activation des gènes codant pour le facteur de croissance épidermique (EGF), qui favorisent la réépithélialisation, la régénération et la cicatrisation des ulcères.

D'après ces résultats sur l'activité des HDLs ou l'hydrotalcite sur la muqueuse gastrique, confirment que ce dernier à un effet gastro protecteur à l'échelle cellulaire et moléculaire, et il possède une puissante action protectrice de la muqueuse gastrique contre les agents agressive.

Donc on peut dire que les HDLs ont des actions très intéressantes dans le traitement des ulcères et l'hyperacidité gastrique.

En perspective nous souhaiterons compléter notre étude, et cela par :

- Une étude de l'action d'hydrotalcite $Mg-Al-CO_3$ sur l'activation des gènes codant pour les facteurs de croissance épidermique (EGF) liés à la réépithélialisation, la régénération de la muqueuse et la cicatrisation des ulcères gastriques à l'échelle cellulaire et moléculaire.
- L'évaluation de l'activité antipepsine des $Mg-Al-CO_3$ par des essais cliniques *in vivo*.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Le figaro.fr santé. Estomac à quoi sert l'estomac?.[en ligne]. URL : <https://sante.lefigaro.fr/sante/organe/estomac/quoi-sert-lestomac>. [Page consulté le 08/09/2020]
- [2] Le figaro.fr santé.ulcère gastroduodéal comment cela se passe-t-il?.[en ligne]. URL : <https://sante.lefigaro.fr/sante/maladie/ulcere-gastroduodenal/comment-cela-se-passe-t-il>. [Page consulté le 08/09/2020].
- [3] Tarnawski, A., Ahluwalia, A., & K. Jones, M. (2012). Gastric Cytoprotection Beyond Prostaglandins: Cellular and Molecular Mechanisms of Gastroprotective and Ulcer Healing Actions of Antacids. *Current Pharmaceutical Design*, 19(1), 126–132.
- [4] Medscape. Peptic Ulcer Disease. [en ligne]. URL : <https://emedicine.medscape.com/article/181753-overview>. [Page consulté le 07/09/2020]
- [5] Syam AF, Sadikin M, Wanandi SI, Rani AA. Molecular mechanism on healing process of peptic ulcer. *Acta Med Indones*. 2009;41(2):95-98.
- [6] Vinod, N., Albina, A., Gopalakrishna, H.N., Dorababu, P., Mirshad, P.V., Bhargavan, D. et Chatterji, D. (2010). « Evaluation of the anti-ulcer activity of NR-ANX-C (a polyherbal formulation) in aspirin & pyloric ligation induced gastric ulcers in albino rats. *Indian Journal of Medical Research*, 132: 218-223.
- [7] le figaro.fr santé.estomac quelles sont les principales pathologie de l'estomac?.[en ligne]. URL : <https://sante.lefigaro.fr/sante/organe/estomac/quelles-sont-principales-pathologies-lestomac> [Page consulté le 08/09/2020].
- [8] journal des femmes santé.ulcère de l'estomac ou gastrique : reconnaître les symptômes et soigner. [En ligne]. [Consulté le 18/08/2020]. URL : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2436910-ulcere-estomac-gastrique-symptomes-cause-alimentation/>
- [9] Dajani EZ, Klamut MJ. (2000). Novel therapeutic approaches to gastric and duodenal ulcers: an update. *Expert Opin Investig Drugs*, 9(7):1537-1544.

[10] Djebbi, M., (2017). « Les hydroxydes doubles lamellaires au cœur de la biotechnologie: Evaluation des applications médicales et environnementales. Thèse de doctorat en science des matériaux, Université de Lyon, France.

[11] Bellabas k et Moussaoui H., (2018). Formulation d'une suspension buvable à base d'HDL.Mémoire de master en génie de procédés. Univercité de Blida1.p.68

[12] Abdallah, I., Khattab, H. et Gehan, H. (2011). Gastroprotective effect of Cordia Myxa L. Fruit extract against indomethacin-induced gastric ulceration in rats. Life Science Journal, 8(3): 433-445.

[13] Sabiu, S., Garuba, T., Sunmonu, T., Ajani, E., Sulyman, A., Nurain, I. et Balogun, A. (2015). Indomethacin-induced gastric ulceration in rats: Protective roles of Spondias mombin and Ficus exasperate. Toxicology Reports, 2: 261-267.

[14] Wiar Marie M., (2015). "Prescription en milieu hospitalier des inhibiteurs de la pompe à protons : a tort ou à raison ?". Mémoire pour diplôme d'études spécialisées en Sciences Pharmaceutiques et Biologique. Université de Lile 2. p15.

[15] Jungel Key. sphincter estomac. [en lingne]. [Consulté le 03/08/2020] . URL : <http://www.junglekey.fr/search.php?query=sphincter+estomac&type=image&lang=fr®ion=fr&img=1&adv=1>

[16] Institu National du Cancer. L'estomac. [en ligne]. [Consulté le 03/08/2020]. URL : <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-de-l'estomac/L-estomac>

[17] Société canadienne du cancer. Anatomie et physiologie de l'estomac. [en ligne] URL : <https://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/stomach/stomach-cancer/the-stomach/?region=on> [consulté le 09/09/2020].

[18] sirtin. Les épiluchures surprenants de l'estomac. [en ligne] 2011. [Consulté le 25/06/2020]. URL : <https://www.sirtin.fr/2011/01/20/les-epluchures-surprenants-de-lestomac/>

[19] Bado, A. and I. Sobhani (2011). "Physiologie de la sécrétion gastrique." EMC - Gastro-entérologie 6(4): 1-14.

[20] Histologie-Cytologie. Histologie morphofonctionnelle des epithéliums – l'exemple de l'appareille digestive-. [en ligne] 2010. URL : <http://www.db-gersite.com/HISTOLOGIE/EPITHDIG/epidig.html> . [Page consulté le 04/07/2020].

- [21] Bruzzoni Giovanelli, Heriberto. Appareil digestif : Bases pharmacologiques des traitements de la pathologie acido-peptique. Cours, 2017, 18p.
- [22] Redouane Y et Touati M ., (2017). Étude de l'activité de la catalase dans les estomacs de souris ulcérés en présence ou absence d'oméprazol. Mémoire de Master en Biochimie et Biologie Moléculaire, Université Abderrahmane Mira, Bejaia .p. 51.
- [23] Kahia E.,(2015). Les maladies du système digestif haut : physiopathologie, diagnostique et place des IPP dans la prise en charge thérapeutique. Diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de Bordeaux collège sciences de la santé, France.p.109.
- [24] Djellouli. S. Pharmacologie : Antiacides et antiulcéreux. Blida : Université Saad Dahleb. Cours 4ème années,2013, 39p.
- [25] Schubert, M. L., et Peura, D. A. (2008). Control of Gastric Acid Secretion in Health and Disease. Gastroenterology, 134(7), 1842–1860.
- [26] Gasmi A et Kadous Kh., (2019). Etude de l'activité anti-ulcéreuse de l'extrait nbutanol de Centaurea sp. Mémoire de Master en Toxicologie, Université Mohamed El Bachir El Ibrahim, Bordj Bou Arreridj. p.76.
- [27] SNFGE.Org - Société Savante Médicale Française d'hépatogastroentérologie et d'oncologie Digestive. Ulcères de l'estomac et du duodénum. [en ligne]. URL : <https://www.snfge.org/content/ulceres-de-lestomac-et-du-duodenum#:~:text=La%20prise%20de%20m%C3%A9dicaments%20tels,d'acides%20gras%20d%C3%A9nomm%C3%A9s%20prostaglandines> [Page consulté le 30/09/2020].
- [28] Lamarque. D. (2001). Les lésions aiguës gastroduodénales de stress. Lettre de l'hépatogastroentérologue - no 1 - vol. IV.
- [29] Doctissimo. Lésion gastroduodénale liée au stress. [en ligne] . URL : <https://www.doctissimo.fr/sante/dictionnaire-medical/lesion-gastroduodenale-liee-au-stress> [Page consulté le 12/09/2020]
- [30] Ressources santé. Apro-Sucralfate.[En ligne] [Page consulté le 11/06/2020]. URL : <https://ressourcessante.salutbonjour.ca/drug/getdrug/apo-sucralfate>
- [31] Faure, S. (2015). Topiques gastro-intestinaux. Actualités Pharmaceutiques, 54(550), 57-61

- [32] VIDAL. sucralfate. [En ligne] [Page consulté le 11/06/2020]. [URL: http://www.vidal.fr/substances/3372/sucralfate/](http://www.vidal.fr/substances/3372/sucralfate/)
- [33] Pharmacomedicale. Antiacides et pansements digestifs. [En ligne] [Page consulté le 11/06/2020]. [URL :https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antiacides-et-pansements-digestifs](https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antiacides-et-pansements-digestifs) .
- [34] Allain, p.pharmacorama. Antihistaminiques H2 [Enligne] [Page consulté le 16/06/2020]. URL: <https://www.pharmacorama.com/pharmacologie/mediateurs/medicaments-impact-histaminergique/antihistaminiques-h2/>
- [35] Pharmacomedicale.org. anti-histaminiques H2 [En ligne] [Page consulté le 16/06/2020]. URL : <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/anti-histaminiques-h2>
- [36] Paul, N.M. et Michael, E.B. Antacids Revisited : A Review of Their Clinical Pharmacology and Recommended Therapeutic Use. *Drugs*, 1999, 57 (6), 855-870.
- [37] Meslier M., (2014). Place du conseil officinal dans la prise en charge du reflux gastro-œsophagien. Thèse en vue de l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Toulouse : Université Paul Sabatier. 143p
- [38] Lettreuch R., (2017). « Synthèse, caractérisation et étude d'activité antiacide et de pouvoir adsorbant des argiles anioniques de type hydroxydes doubles lamellaires. Mémoire du diplôme d'études médicale spéciales en chimie thérapeutique, Université d'Alger. p.143.
- [39] Barbe F., (1993). Le traitement de l'hyperacidité gastrique et de l'ulcère gastroduodéal. Thèse de doctorat d'état en pharmacie, Université de Limoges .p.269.
- [40] Boudaoud, N., Derriche, Z., Tayed, AEK. Et Miloudi, H. (2012). Synthèse et caractérisation d'un nouveau matériau (HDL). Dans : 3ème Conférence Internationale sur le Soudage, le CND et l'Industrie des Matériaux et Alliages (IC-WNDT-MI'12), (p.135-138), Oran, Algérie.
- [41] Anthony C., (2005). « Etude expérimentale multiéchelle du transport ionique et aqueux en milieu poreux chargé : argile ». Thèse de doctorat en Matières Condensées. Université Pierre et Marie Curie, Paris. p.236.

- [42] Drici N., (2015). « Hydroxydes doubles lamellaires, synthèse, caractérisation et propriétés ». Thèse de doctorat en Chimie : Génie des Matériaux. Université Sorbonne, Paris. p.252.
- [43] Carlos J, Serma J. L. (1982). Crystal-chemical study of layered; $[Al_2Li(OH)] + n H_2O$ Clays and claysminerals, vol 30.p.180-184
- [44] Cavani F., F.T. (s.d). Hydrotalcite - type anionic clays Préparations, propriété and applications. . Vaccari Dipartimento di Chimical Industriale e dei Materiali Wale de 1 Risorgimento 4,40136 BOLOGNA.
- [45] Bekkouche M, (2014). « Synthèse, caractérisation d'hydroxydes doubles lamellaires type Cu-M (M= Al, Fe) et application dans le traitement de l'eau ». Mémoire de magister.
- [46] Senesi N.,Chen Y., Senesi N and Chen Y., In: Z. Gerstl, Y. Chen, U. (1989) Mingelgrin and B. Yaron, Editors, Springer-Verlag, Berlin . pp. 37-90.
- [47] Vaysse, C. (2001). Caractérisation structurale d'hydroxydes doubles lamellaires contenant des anions oxométallates (Mo, W) ou acrylate intercalés. Université Sciences et Technologies - Bordeaux I.
- [48] Vial.S., (2005). Immobilisation d'Enzymes dans des Hydroxydes Doubles Lamellaires. Réalisation de Biocapteurs pour la détection de polluants organiques. Thèse pour obtenir le grade de docteur d'université en Chimie, Sciences des Matériaux. Université Blaise Pascal France .P.334.
- [49] Zhao L., (2016). « Développement et mise en œuvre de nouveaux matériaux adsorbants d'anions à base de ferrihydrite ou d'hydroxydes doubles lamellaires intégrés dans un gel d'alginate. Thèse de doctorat, université de limoges.
- [50] Khitous, M., (2017). « Synthèse et applications des Hydroxydes Double Lamellaire comme absorbants des ions $Cr(VI)$, Ni_2+ et PO_4^{3+} dans une solution aqueuse. Thèse de doctorat en Génie des Procédés, génie de l'environnement. Université Houari Boumediene, Alger.
- [51] Tiar C.,(2010). « Etude de l'élimination du 2, 4,5-trichlorophénol sur les hydroxydes doubles lamellaires organophiles, Magister, Université ferhat Abbas- Sétif.

- [52] Touati, S, (2013). « Elaboration d'aérogels d'hydroxydes doubles lamellaires et de bionanocomposite à base d'alginate. Thèse de doctorat en Chimie, Science des Matériaux. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, France
- [53] Kefif F., (2010). « Synthèse et caractérisation des hydroxydes doubles lamellaires HDL et application dans la sorption de colorant ». Mémoire de magistère en Chimie Matériaux Mixtes. Université Mohamed Boudiaf, Oran. p.141.
- [54] Choi, G., Oh-Joon, K., Yeonji, O., Chae-Ok, Y., Jin-Ho, C. (2015). 'Inorganic Nanovehicle Targets Tumor in an Orthotopic Breast Cancer Model'. Scientific Reports, vol. 4, no. 1, p. 4430.
- [55] Miyata, S. (1975). The Syntheses of Hydrotalcite-Like Compounds and Their Structures and Physico-Chemical Properties I: The Systems $Mg_{2+}-Al_{3+}-NO_3^-$, $Mg_{2+}-Al_{3+}-Cl^-$, $Mg_{2+}-Al_{3+}-ClO_4^-$, $Ni_{2+}-Al_{3+}-Cl^-$ and $Zn_{2+}-Al_{3+}-Cl^-$. Clays and Clay Minerals, 23(5), 369–375.
- [56] Kaneyoshi, M., Jones, W. formation of Mg-Al layered double hydroxides intercalated with nitrilotriacetate anions. J. Mater. Chem. 1999, 9, 805 – 811
- [57] Kermou C et Khabache S., (2016). « Contribution à l'étude de l'activité anti-ulcéreuse de l'extrait de clématis flammula (superoxyde dimutase) ». Mémoire de master en sciences Biologiques. Université de Abderrahmane Mira, Bejaia. p.78.
- [58] Lambrecht, N., Trautmann, M., Korolkiewicz, R., Liskay, M., Peskar, B.M. Role of eicosanoids, nitric oxide, and afferent neurons in antacid induced protection in the rat stomach Gut 1993; 34: 329-337.
- [59] Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Kazaz C. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. Elsevier, Journal of Ethnopharmacology 103 (2006) 59–65.
- [60] Djediri S., (2006). « Etude histologique sur quelques organes chez les rats obèses ayant reçus un régime riche en microalgae verte ». Mémoire de master en biologie cellulaire. Université Alou Belkaid-Tlemcen.

- [61] Rhem. Preparation des tissus pour inclusion en paraffine.[en ligne]. [consulté le 22/08/2020].URL:https://www.rhem.cnrs.fr/images/stories/documents_RHEM/organisation/p_reparation_tissus_paraffine.pdf
- [62] Julie Hinsinger.,Plateforme d’Histologie_ IRIC. Les colorations histologiques: colorations de routine et colorations spéciales. .[en ligne].[consulté le 22/08/2020].URL : <http://www.u999.universite-paris-saclay.fr/images/stories/PDF/protocoles/Les%20colorations%20histologiques.pdf>
- [63] Laurent E.,archimer ifremer. Contribution à l’études histologique de l’huitre perliere saine. Pinctada margaritif era.[en ligne].[consulté le 22/08/2020].URL <https://archimer.ifremer.fr/doc/00430/54191/55533.pdf>
- [64] Visite illustrée d'un petit laboratoire amateur de microscopie et d'histologie. [en ligne]. [consulté le 22/08/2020].URL : https://www.nirgal.net/microscopie/sub_laboratoire.html.
- [65] Laribi , H., (2017). ‘‘Rétention des Nitrates en solution aqueuse par Mg-Cr-HDL, application au traitement des eaux D’irrigation Nitrates de la commune de Ain TAYA’’. Mémoire de master en génie des procédés. Université de Saad Dahleb ,BLIDA.p.57.
- [66] Lecloux ,A.J. Catalysis Science and technology. Springer-Verlag,berlin. 1981 , 2, 171-230.
- [67] Gurusamy, K. S., et Pallari, E. (2016). Medical versus surgical treatment for refractory or recurrent peptic ulcer. Cochrane Database of Systematic Reviews.
- [68] Kim, J.H., Kim, B.W., Kwon, H.J. et Nam, S.W. (2011). Curative effect of selenium against indomethacin-induced gastric ulcers in rats. Journal of Microbiology and Biotechnology, 21(4): 400-404.
- [69] Sabiu, S., Garuba, T., Sunmonu, T., Ajani, E., Sulyman, A., Nurain, I. et Balogun, A. (2015). Indomethacin-induced gastric ulceration in rats: Protective roles of Spondias mombin and Ficus exasperate. Toxicology Reports, 2: 261-267.
- [70] Gehan, H.H., Magdy, K.A.H. et Rauuia, S.A. (2009). Gastroprotective effect of Simvastatin against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: Role of nitric oxide and prostaglandins. European Journal of Pharmacology, 607(1-3): 188-193

- [71] Belli, N., Mesbah, L., Chebab, S., Tekouk, M. et Leghouchi, E. (2010). Stress oxydant induit par la coexposition au plomb et au cadmium : deux contaminants des eaux souterraines de Oued Nil (Jijel - Algérie). *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 23 (3): 289-301.
- [72] Hayder, B.A. et Matloub, S.Y.N. (2015). The Gastroprotective effect of coenzyme Q10 in indomethacin-induced gastropathy: Role of MMP-9. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 5(3): 26-30.
- [73] Dey, I., Lejeune, M. et Chadee, K. (2006). Prostaglandin E2 receptor distribution and function in the gastrointestinal tract. *British Journal of Pharmacology*, 149(6): 611- 623.
- [74] Wallace, L.J. (2008). Prostaglandins, NSAIDs and gastric mucosal Protection: Why doesn't the stomach digest itself?. *Physiological Reviews Article*, 88(4): 1547-1565.
- [75] Dinu, C., Diaconescu, C. et Avram, N. (2009). Gastric mucosa injury associated with oxidative stress. *Lucrari Stiintifice Medicină Veterinară*, 42(2): 369-374.
- [76] Almeida, E.S.D.S., Filho, V.C., Niero, R., Clasen, B.K., Balogun, S.O. et Martins, D.T.D.O. (2011). Pharmacological mechanisms underlying the anti-ulcer activity of methanol extract and canthin-6-one of *Simaba ferruginea* A. St-Hil. in animal models. *Journal of Ethnopharmacology*, 134: 630–636.
- [77] Devaraj, V.C. et Gopala Krishna, B. (2013). Antiulcer activity of a polyherbal formulation (PHF) from Indian medicinal plants. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 11: 145-148.
- [78] Tarnawski A, Hollander D, Gergely H. Antacids - new perspectives in cytoprotection. *Scand. J. Gastroenterol* 1990; 25 (Suppl 174): 9- 14.
- [79] Tarnawski A, Tomikawa M, Ohta M, Sarfeh IJ. Antacid talcoid activates in gastric mucosa genes encoding EGF and its receptor. The molecular basis for its ulcer healing action. *J. Physiol (Paris)* 2000; 94: 93-8.
- [80] Hisashi M, Choitsu S, Kohei M, Ken W, Tohru U, Hitoshi N, Tomonori A, Masato K. Induction of Cyclooxygenase 2 in Gastric Mucosal Lesions and Its Inhibition by the Specific Antagonist Delays Healing in Mice. *Gastroenterology*, 1997;112:387 –397.

- [81] cicatrisation.info.aspects anatomo-pathologique de la cicatrisation. [en ligne].URL : <http://www.cicatrisation.info/notions-de-base/histologie-de-la-cicatrisation.html>. Page consulté le 11/09/2020.
- [82] Hideo A, Yusaku K, Masahiro M, Akiko T, Koji T. Healing of Duodenal Ulcers Is Not Impaired by Indomethacin or Rofecoxib, the Selective COX-2 Inhibitor, in Rats. *Digestion* 2002;66:145–153.
- [83] Szabo IL, Pai R, Jones MK, Ehring GR, Kawanaka H, Tarnawski AS: Indomethacin delays gastric restitution: Association with the inhibition of focal adhesion kinase and tensin phosphorylation and reduced actin stress fibers. *Exp Biol Med* 2002;227:412–424.
- [84] Singer II, Kawka DW, Schloemann S, Tessner T, Riehl T, Stenson WF: Cyclooxygenase 2 is induced in colonic epithelial cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1998;115:297–306.
- [85] Elliott SN, Wallace JL: Nitric oxide: A regulator of mucosal defense and injury. *J Gastroenterol* 1998;33:792–803
- [86] Sugamoto S, Kawauchi S, Furukawa O, Takeuchi K: Interactive roles of endogenous nitric oxide and prostaglandins in acid-induced bicarbonate response in rat duodenums. *Dig Dis Sci* 2001;46:1208–1216.
- [87] Tarnawski A, Itani R, Pai R, Sarfeh IJ. Antacid Talcid activates genes encoding for basic fibroblast growth factor and its receptors in rat gastric mucosal and human endothelial cells. The molecular basis for its ulcer healing action. *Digestion* 1998; 59(3): 78.
- [88] Konturek SJ, Brzozowski T, Drozdowicz D, Nauert C. Gastroprotection by an aluminium- and magnesium hydroxide-containing antacid in rats. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24: 1113-20.
- [89] Schmassmann A, Tarnawski A, Gerber H A, Flogerzi B, Sanner M, Varga L, Halter F. Antacid provides better restoration of glandular structures within the gastric ulcer scar than omeprazole. *Gut* 1994; 35: 896-904.
- [90] Skov Olsen P, Poulsen SS, Therkelsen K, Nexø E. Effect of sialoadenectomy and synthetic human urogastrone on healing of chronic gastric ulcers in rats. *Gut* 1986; 27: 1443-9.

- [91] Wright NA, Pike C, Elia G. Induction of a novel epidermal growth factor-secreting cell lineage by mucosal ulceration in human gastrointestinal stem cells. *Nature* 1990; 343: 1300-7.
- [92] Tamawski A, Douglass TG, Ishikawa T, Gergely H. Does antacid treatment provide better quality of experimental gastric ulcer healing than omeprazole? *Gastroenterology* 1992; 102: A175.
- [93] Tamawski A, Ichikawa Y, Stachura J, Douglass TG, Sarfeh IJ. Effect of sucralfate on the quality of experimental gastric ulcer healing - quantitative histologic assessment. *Gastroenterology* 1993; 104: A206.
- [94] Tamawski A, Stachura J, Durbin T, Gergely H, Douglass TG. Sucralfate treatment induces increased expression of EGF, TGF α and their common receptor in the gastric mucosa. A key to the ulcer healing and trophic action? *Gastroenterology* 1993; 104: A206.
- [95] Tamawski A, Santos AM, Ichikawa Y, Lu SY, Sarfeh IJ. Antacid treatment stimulates angiogenesis in injured gastric mucosa. A new mechanism for its mucosal healing action. *Eur J Gastroenterol and Hepatology*, 1993; 5(3): S125-32.
- [96] M. DEL ARCO, E. CEBADERA, S. GUTIE´RREZ, C. MARTI´N, M.J. MONTERO, V. RIVES, J. ROCHA, M.A. SEVILLA. Mg,Al Layered Double Hydroxides with Intercalated Indomethacin: Synthesis, Characterization, and Pharmacological Study. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 93, 1649–1658 (2004).
- [97] Université Sorbonne Paris. histologie L2-L3. Histologie du tube digestif. [en ligne]. URL : http://moodle.sorbonne-paris-cite.fr/mod/page/view.php?id=1339&mymobile_settings=true [page consulté le 09/09/2020].
- [98] Dr. Bara. Estomac pylorique humain : épithélium. [en ligne] page consulté le 09/09/2020. URL : <http://www.edu.upmc.fr/histologie/E/estomac/pylorique/pages/estpyl08.htm>
- [99] 123RF. Banque d'images - Histologie de l'estomac humain, région fundique. Micrographie claire, isolée sur fond blanc, coloration à l'hématoxyline et à l'éosine. [en ligne] [page consulté le 09/09/2020]. URL : https://fr.123rf.com/photo_94796161_histologie-de-l-estomac-humain-r%C3%A9gion-fundique-micrographie-claire-isol%C3%A9e-sur-fond-blanc-coloration-%C3%A0-l.html

ANNEXES

ANNEXE A

Préparation du Mg-Al-HDL

Tableau A.1. Réactifs de la synthèse de HDL

Nom usuel	Formule chimique	Aspect	Valeurs
Chlorure de magnésium	$MgCl_2$	Solide de formes variables, inodore, déliquescent, blanc	M : 203,31g/mol Masse : 26,835g Volume : 0,2L
Chlorure d'aluminium hexahydraté	$AlCl_3 \cdot 6H_2O$	Solide jaune pale	M : 241,45g/mol Masse : 15,935g Volume : 0,2L
Hydroxyde de sodium	$NaOH$	Solide de formes variables, blanc, déliquescent, inodore	M : 40g/mol Masse : 16g Volume : 0,2L
Carbonate de sodium	Na_2CO_3	Poudre blanche hygroscopique (anhydre)	M : 105,99g/mol Masse : 21,2g Volume : 0,2L
Nitrate d'argent	$AgNO_3$	Cristaux inodores, incolores transparents ou blancs	M : 63,01g/mol La quantité est selon le besoin

Verreries :

- Ampoules à décanter de 500ml
- Ballon à fond rond de 1000ml
- Bêchers de 500ml et 1000ml
- Cristalliseur 1000ml
- Entonnoir

- Erlenmeyer de 250ml
- Fioles à vides
- Filtre Büchner
- Verre de montre

Appareillage :

- Bain d'huile
- Balance analytique
- Dispositif de filtration à pression réduite
- Etuve se séchage avec régulateur de température
- PH mètre de marque
- Plaque chauffante avec agitateur régulateur de température

Autres

- Barreaux magnétiques
- Mortier
- Parier filtre
- Pissette
- Spatule

ANNEXE B

Méthode Histologique

Appareillages

- Bain marie
- Congélateur
- Incubateur
- Microtome
- Microscope optique

Instruments

- Cassettes
- boîtes pétrie
- éprouvette
- lames et lamelles
- des moules
- pince
- scalpel.

Réactifs

- Alcool de concentration croissant et décroissant
- colorant hématoxyline et éosine
- l'eau de courant
- l'eukit
- formaldéhyde tomponé10%,
- paraffine
- xylène.

ANNEXE C

Fiche Technique de coloration à l'Hématoxyline-Eosine (H&E)

Les lames sont trempées successivement dans les bains suivants :

- Coloration à l'hématoxyline pendant deux minutes.
- Rincer à l'eau courante pendant deux minutes.
- Coloration à l'éosine pendant une minute.
- Rincer à l'eau courante pour éliminer l'excès du colorant.



Figure C.1. Déparaffinage

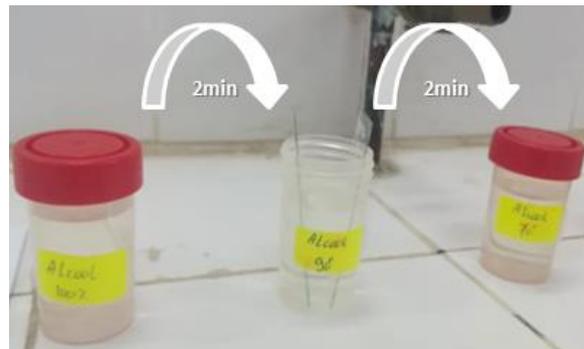


Figure C.2. Réhydratation

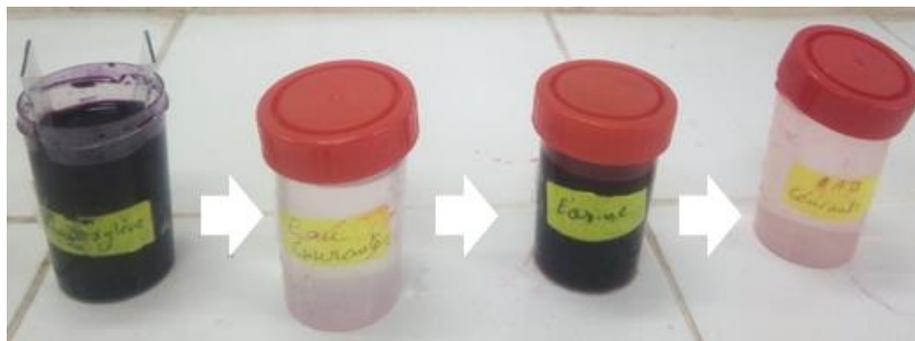


Figure C.3. Coloration à l'Hématoxyline-Eosine

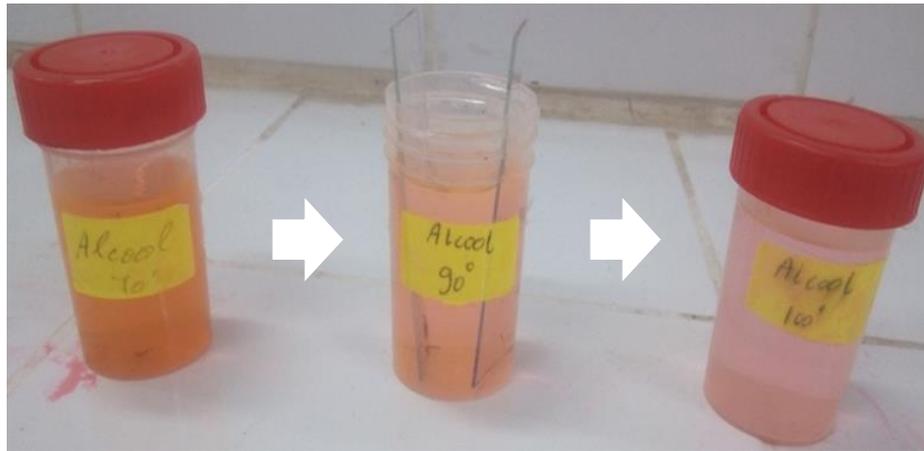


Figure C.4. Déshydratation



Figure C.5. Eclaircissement

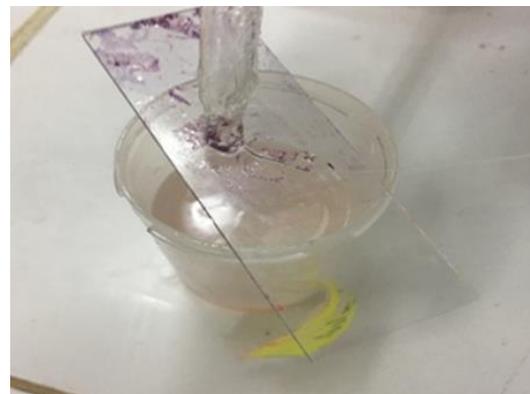


Figure C.6. Montage