

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en
Biochimie appliquée

Thème

**Etude de la toxicité aiguë et sub-chronique de
l'extrait méthanolique de la graine de *Nigella
damascena* sur des souris Swiss Albinos**

Présenté par :

Amara Samira et Djerroud Imen

Devant le Jury :

Président :	Dr KHETTAL B.	(M.C.B)
Examineurs :	M ^{me} AMROUCHE W.	(M.A.A)
	M ^r TACHERFIOUT M.	(M.A.B)
Promoteur :	M ^r BOUGUEZZA Y.	(M.A.A)

Promotion 2011-2012

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous tenons à remercier celui qui nous a protégé, soutenu et surtout donné la foi qui nous a guidé à la réalisation et l'aboutissement de ce travail, nous nous inclinons à dire

« Dieu merci ».

Nous avons la reconnaissance et la gratitude à remercier notre promoteur Mr Bouguezza Y, de nous avoir confié ce thème et de nous avoir orienté et conseillé afin de réaliser ce modeste pas de recherche.

Nos remerciements vont aussi au docteur Khettaf B qui nous a accueillis au niveau de son laboratoire, et qui nous fait le grand honneur de présider ce jury et d'évaluer ce mémoire. A Mr Tacherfiout M, nous tenons à vous exprimer notre reconnaissance pour votre aide et vos conseils apporter tout au long de ce parcours. Nous tenons aussi à remercier M^{me} Amrouche W pour ses conseils et sa gentillesse, et d'avoir accepté d'examiner et de juger notre travail.

Nous tenons à remercier l'équipe du laboratoire d'anatomopathologie du CHU de Sétif pour leur aide et leur chaleureux accueil.

Nous remercions également Mr Bachir Bey M pour l'étude statistique.

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à réalisation de ce mémoire.

DÉDICACES

A la mémoire de ma grand-mère « Djida »

Avant tout, j'adresse ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma très chère mère, qui a su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances, qui n'a pas cessé de m'encourager durant toutes mes années d'études et en me prodiguant de ses précieux conseils, les mots ne suffiront pas et n'exprimeront pas tout ce que j'aimerais te dire. J'espère pouvoir te rendre une petite partie de ton amour, tu es la personne la plus chère du monde.

J'aimerais dédier aussi ce travail à mon cher père, qui a été toujours à mes côtés. Sans ta confiance, ta compréhension, ton soutien et surtout la bonne éducation que tu nous as donnée, je ne serais jamais ce que je suis aujourd'hui. Trouve à travers ce modeste travail tout mon respect et mon affection.

A ma grand-mère Imma lili, Puisse l'Éternel te récompenser et te garder longtemps parmi nous

Aux meilleurs frères du monde : Khellaf, Tarik et Walid qui ont toujours cru en moi même dans les moments de doute.

A mon fiancé Salim, pour son soutien, sa compréhension et sa patience.

A toute ma famille et ma belle famille.

A mes cousines : Yasmina, Ouahiba, Kayssa, Soraya...

A mes meilleurs amis(es) : Lahna, Souad, Afaf, Naima, Karima, Lynda, Myada, Farid, Azeddine, Mhand. J'ai passé avec vous des moments inoubliables, continuons dans la voie de la consolidation de nos liens d'amitié. Bonne chance à nous tous ;

A toi Imene ainsi qu'à toute ta famille.

A toute la promotion de biochimie appliquée 2012.

Samira .A

DÉDICACES

A la mémoire de ma grande mère ;

A mes cher grands- parents, pour leur tendresse qui m'ont permis de braver les vicissitudes inhérentes à la vie et pour tous les sacrifices consentis à mon égard, puisse l'éternel vous récompense et vous garde longtemps pour nous ;

A mes parents pour leur présence tout au long de mes années d'études et pour la bonne éducation qui m'ont offert ;

A mon époux pour son affection les sacrifices consentis et pour son soutien sans faille ;

A mon fils Anis, que ce travail soit pour lui un exemple à suivre ;

A mes frères Amar, Billel et Fares, ainsi qu'à mes sœurs meriem et louisa ;

A mes chers tantes, leurs époux et enfants ;

A mes chers oncles, leurs femmes et leurs enfants ;

A toute ma belle famille

A mes amis pour leur soutien, leur aide et pour l'ambiance studieuse, fraternelle et sympathique qui a toujours régner entre nous ;

A toi Samira je ne saurais jamais t'exprimer mes sincères et profonde reconnaissances pour ta présence à mes cotés et ton aide, ainsi qu'à ta famille ;

A toi Nora ; une amie très spéciale et a ta famille ;

A toute la promotion Biochimie Appliquée 2012

Imen. D

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Schéma représentatif de <i>Nigella Damascena</i> .	2
Figure 2	Photographie par microscope électronique de la graine de <i>N. damascena</i> .	3
Figure 3	Structure chimique de la damascenine.	4
Figure 4	Structure des polyphénols de <i>Nigella damascena</i> .	7
Figure 5	Ultrastructure hépatique.	10
Figure 6	Etapes métaboliques et immunologiques des hépatopathies toxiques médicamenteuses.	12
Figure 7	Excrétion de la bilirubine par le foie.	14
Figure 8	Origine des différentes enzymes présentes dans le sérum humain.	16
Figure 9	Exemples de substances associées avec des atteintes rénales : sites et mécanismes d'atteinte.	18
Figure 10	Métabolisme de la créatine et production de la créatinine.	19
Figure 11	Graine de <i>Nigella damascena</i> .	23
Figure 12	Souris blanche dans une cage transparente.	24
Figure 13	Administration orale de 200µl pour chaque souris.	25
Figure 14	Protocole suivi durant l'étude de la toxicité aigue	25
Figure 15	Photographie d'une souris isolée après 4h de l'administration d'EM.	26
Figure 16	Photographie d'une souris du lot 2.	26
Figure 17	Protocole suivi durant l'étude de la toxicité subchronique.	27
Figure 18	Découpage des organes et dépôt dans des cassettes en plastique.	35
Figure 19	Les étapes d'inclusion par un automate.	35
Figure 20	Confection des blocs.	36
Figure 21	Réalisation des coupes au microtome (LEICA RM 2145).	36
Figure 22	Les étapes de déparaffinage.	37
Figure 23	Coloration des coupes (SHANDON [O]).	37
Figure 24	Variation du poids corporel des différents lots au cours de l'évaluation de la toxicité aigue.	39
Figure 25	Variation du poids corporel des différents lots au cours de l'évaluation de la toxicité sub-chronique.	41
Figure 26	Poids des organes (Foie et reins) des différents lots traités et témoin dans les	42

	conditions de la toxicité subchronique.	
Figure 25	Dosage de l'ALT des différents lots traités et témoin	43
Figure 26	Dosage de l'ASAT des différents lots traités et témoin	44
Figure 27	Dosage de l'Albumine des différents lots traités et témoin	44
Figure 28	Dosage de l'Albumine des différents lots traités et témoin	45
Figure 29	Paramètres sériques d'évaluation de la fonction rénale (urée et créatinine).	47
Figure 30	Paramètres sériques d'évaluation de l'équilibre homéostatique (glucose, cholestérol et protéines totales).	48
Figure 31	Parenchyme hépatique d'une souris témoin (Gx20).	49
Figure 32	Parenchyme hépatique d'une souris du lot1 (100mg/Kg/jour) (Gx20).	49
Figure 33	Parenchyme hépatique d'une souris de lot2 (400mg/Kg/jour) (Gx20).	50
Figure 34	Parenchyme rénal d'une souris témoin (Gx20).	50
Figure 35	Parenchyme rénal d'une souris de lot 1(100mg/Kg/jour) (Gx20).	51
Figure 36	Parenchyme rénal d'une souris de lot 2 (400mg/Kg/jour).	51

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
I	Systématique de l'espèce de <i>Nigella damascena</i> .	2
II	Composition de l'huile essentielle de <i>N. damascena</i> .	5
III	Différents acides gras de <i>Nigella damascena</i> .	6
IV	Classes de toxicité selon l'échelle de Hodge et Sterner chez les rats de laboratoire.	9
V	Principales fonctions du foie.	11
VI	Mortalité après une dose unique de l'extrait méthanolique de ND.	41
VII	Symptômes de toxicité aigue de l'extrait méthanolique de ND.	42
VIII	Analyses biochimiques de traitement sub-chronique des souris males par l'extrait méthanolique de <i>N. damascena</i> .	44

ADN: Acide Désoxyribo-Nucleique.

ADP : Adénosine Diphosphate

ALAT: Alanine aminotransférase

AMM : Dose minimale mortelle

ASAT: Aspartate aminotransférase

ATP : Adénosine Triphosphates

BH : bilan hépatique

CHT: Cholesréról total

CYP450 : Cytochrome P450

DL₅₀ : Dose Létale 50

EAG: Equivalent d'Acide Gallique

EM: extrait méthanolique

EQ: Equivalent de Quercétine

GOD: Glucose Oxydase

GOT: Glutamate Oxaloacétate

GPT: Glutamate Pyruvate Transaminase

HDL: High density lipoproteins

LDH: Lactate-Déshydrogénase

LDL: Low density lipoproteins

MDH: Malate-Déshydrogénase

NADH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide

ND : *Nigella damascena*

OCDE: Organisation pour coopération et développement économiques

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

ONAB: Office National d'Aliments de Bétails

POD: Peroxydase

TG: Triglyceride

VLDL: Very low density lipoproteins

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur Nigella damascena

I.1. Description botanique de Nigella Damascena2

I.2. Dénomination vernaculaire de Nigella Damascena3

I.3. Les graines de Nigella damascena3

I.3.1. Description.....3

I.3.2. Composition chimique.....4

I.3.2.1 Alcaloïdes.....4

I.3.2.2. Les huiles essentielles.....4

I.3.2.3. Les huiles fixes.....5

I.3.2.4. Les composés phénoliques.....6

I.3.2.5. Autres composants.....7

I.3.3. Activités biologiques et propriétés pharmacologiques.....7

Chapitre II : Hépatotoxicité et Néphrotoxicité

II. Notions de toxicité.....9

II.1. Toxicité aigue.....10

II.2. Toxicité subaiguë.....	10
II.3. Hépatotoxicité.....	10
II.3.1 Physiologie du foie.....	10
II.3.2. Métabolisme hépatique.....	12
II.3.3. Tests hépatiques.....	13
II.3.3.1. Bilirubine	13
II.3.3.1.1. Signification clinique.....	14
II.3.3.2. Albumine.....	15
II.3.3.2.1. Signification clinique.....	15
II.3.3.3. Transaminases.....	15
II.4. Néphrotoxicité.....	16
II.4.1. Physiologie du rein.....	16
II.4.2. Elimination rénale.....	17
II.4.3. Néphrotoxicité.....	17
II.4.4. Bilan sanguin.....	19
II.4.4.1. Créatinine.....	19
II.4.4.1.1 Créatinine plasmatique en clinique.....	20
II.4.4.2. Urée.....	20
II.4.5.2.1 Urée en clinique.....	20
II.5. Les marqueurs de l'équilibre homéostatique.....	21
II.5.1. Le cholestérol.....	21
II.5.1.1. Variation pathologique de cholestérol.....	21

II.5.2.La glycémie.....	22
II.5.2.1.La glycémie et les pathologies hépatiques et rénales.....	22

Partie pratique

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III.1. Matériel végétal.....	23
III.1.1. Collection du matériel végétal.....	23
III.1.2. Préparation de l'extrait.....	2
III.2. Matériel animal.....	24
III.2.1. Animaux.....	24
III.2.2. Étude de toxicité orale aiguë.....	24
III.2.3. Étude de toxicité orale sub-chronique.....	26
III.3 Bilan biochimique sanguin.....	28
III.3.1. Paramètres hépatiques.....	28
III.3.1.1. Dosage des transaminases ALAT et ASAT.....	28
III.3.1.2. Dosage de l'albumine plasmatique.....	30
III.3.1.3. Dosage de la bilirubine.....	30
III.3.2. Paramètres néphrétiques.....	31
III.3.2.1. Dosage de l'urée.....	31
III.3.2.2. Dosage de la créatinine.....	32
III.3.3. Paramètres d'équilibre homéostatique.....	32
III.3.3.1. Dosage des protéines totales.....	32
III.3.3.2. Dosage du cholestérol.....	33

III.3.3.3. Dosage du glucose	33
III.4. Etudes histopathologiques.....	34
III.4.1. Prélèvement d'organe.....	34
III.4.2 Fixation.....	34

Chapitre IV : Résultats et Discussions

IV.1. Matériel végétal	38
IV.1.1. Rendement.....	38
IV.2. Evaluation de la toxicité	39
IV.2.1. Toxicité aiguë.....	39
IV.2.2. Toxicité sub-chronique.....	41
IV.2.2.1. Paramètres biochimiques.....	42
IV.2.2.1.1. Paramètres hépatiques.....	43
IV.2.2.1.2. Paramètres néphrétiques.....	45
IV.2.2.1.3. Paramètres d'équilibre homéostatique.....	46
IV.2.3. Étude histopathologique.....	48
IV.2.3.1. Histologie hépatique.....	48
IV.2.3.2. Histologie rénale.....	49
V. Conclusion.....	53

Références bibliographiques

Glossaire

Annexe

Introduction

La phytothérapie gagne la popularité dans les pays en voie de développement car il a été estimé que 80% de la population du monde dépendent toujours principalement de la médecine traditionnelle et du traitement traditionnel comportant l'utilisation des extraits de plante (OMS, 2000). Il est donc nécessaire de fournir des informations sur la potentielle dangerosité de ces remèdes.

Les effets indésirables dus aux végétaux doivent stimuler la vigilance. Le suivi et la toxicité des plantes qui entrent dans la composition de spécialités pharmaceutiques est nécessaire. Le problème de la toxicité se pose pour les produits qui échappent à toute évaluation et control scientifiques bien que le marché de ces produits soit en pleine expansion. Pour le public et, malheureusement, parfois, pour le corps médical, l'idée d'une médecine naturelle est associée à celle d'une longue tradition et est considérée comme inoffensive (Fourasté, 2000).

Nigella damascena est une plante orientale herbacée annuelle qui a été utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement des affections catarrhales, contre l'aménorrhée et comme diurétique. La poudre de la graine a été utilisée comme sternutatoire (Fico et al, 2004). Plusieurs études ont fait l'objet de déceler les différents constituants chimiques de cette espèce à savoir les alcaloïdes, flavonoïdes, saponines, et les composées phénoliques simples ensemble avec les polyols et les acides gras ont été décelés au niveau de la graine. Peu de travaux dans la littérature font l'objet des effets de cette plante. Seulement l'effet antipyrétique et analgésique (Bekemeier et al., 1967), activité oestrogénique (Fico et al., 2004), activité antibactérienne et molluscicide (Fico et al., 2004), activité antioxydante (Javorcova, 2011). De plus les composés libérés du l'écorce de la graine semblent jouer un rôle allélopathique (Fico and Tomè, 1998).

Ce travail est le premier qui a été fait sur la toxicité de cette plante car aucun n'a fait l'objet de cette étude auparavant dans la littérature. Notre travail a pour but d'évaluer la toxicité aigue et sub-chronique de l'extrait méthanolique de *Nigella damascena* sur des souris adultes Swiss Albinos. Pour cela une évaluation de certains paramètres biochimiques de la fonction hépatique et rénale ainsi qu'une étude histopathologique ont été réalisés pour permettre de confirmer ou affirmer le potentiel effet toxicologique de notre extrait.

I.1. Description botanique de *Nigella Damascena*

Nigella L. (Ranunculaceae) comprend environ 20 espèces telles que *Nigella sativa*, *Nigella damascena*, *Nigella arvensis*... (Tulukcu, 2011). Largement distribuées dans les régions méditerranéennes et Asie de l'Ouest (Zaitoun *et al.*, 2008), *Nigella damascena* est nommée d'après la capitale de la Syrie, Damas, se référant à l'origine Est méditerranéenne de la plante (Andreas et Oeggli, 2005). Elle est originaire de la Syrie et de l'Afrique du nord : Maroc, Tunisie et Egypte (Toma *et al.*, 2007).

Nigella damascena est une plante dicotylédone de la famille des Ranunculaceae, appartenant au genre *Nigella*. C'est une plante annuelle à courte demi-vie et à court cycle de régénération, elle pousse dans les zones tempérées du moyen orient et d'Europe. Elle est d'une taille moyenne, ses feuilles sont alternées sessiles et découpées, ses fleurs, de couleur bleue, sont grandes entourées par une collerette feuillée et multifide. Ses capsules sont lisses et forment par leur soudure complète un fruit renflé, presque globuleux ou ovoïde (Diane *et al.*, 2007). Les graines de couleur noir sont ovoïdes aplanies, à trois faces et aromatiques (Palese *et al.*, 1990).

Tableau I : Systématique de l'espèce de *Nigella damascena* (Guignard, 2001).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Végétale
Sous règne	Cormophyte
Supra embranchement	Rhizophyte
Embranchement	Spermaphyte
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Eudicotylédone
Sous classe	Audicots archaïques
Ordre	Ranunculales
Famille	Renonculacées
Sous famille	Helloboroidées
Genre	<i>Nigella</i>
espèce	<i>Nigella Damascena</i>



Figure 1 : schéma représentatif de *Nigella damascena* a : sépale, b : pétale (feuille de miel), c, d : capsule, e : graines (Andreas et Oeggli, 2005).

I.2. Dénomination vernaculaire de *Nigella Damascena*

En fonction de la population ou du dialecte du pays, l'espèce *Nigella Damascena* porte différents nom. Par exemple en Angleterre est appelée love-in-a-mist, devil-in-the-bush; en Allemagne (Damascener Schwarzkummel); en Espagne (Aranas); en France (Nigelle de Damas); en Italie (Damigella, scapigliata, anigella); en Portugal (Barbas-de-velho); en Russie (чернушка дамаская [černuška damasskaja]); en Suède (Junfgrun i det grona) (Hanelt, 2001 ; Andreas et Oeggel, 2005).

I.3. Les graines de *Nigella damascena*

I.3.1. Description

Les graines de *Nigella* sont consommées et traitées en Europe méridionale, Russie, Afrique du Nord, Soudan, Ethiopie, le Kenya, la Syrie, l'Iran et Afghanistan (Tanis *et al.*, 2009). Au microscope électronique, la graine possède une structure réticulée qui se compose de trois striations en long sur chaque bord et des striations continues et croisées qui se sont reliées entre eux. Les cellules hexagonales sont placées à l'intérieur de cette réticulation qui est caractérisé par la présence conformée d'un mucro effilant au centre des cellules. Les murs anticlinaux sont droits et enfoncés. Les striations sont des composés arrondis, parfois cellules un peu ovales, comprimées des deux côtés se ressemblent à l'érythrocyte (Dadandi *et al.*, 2009).

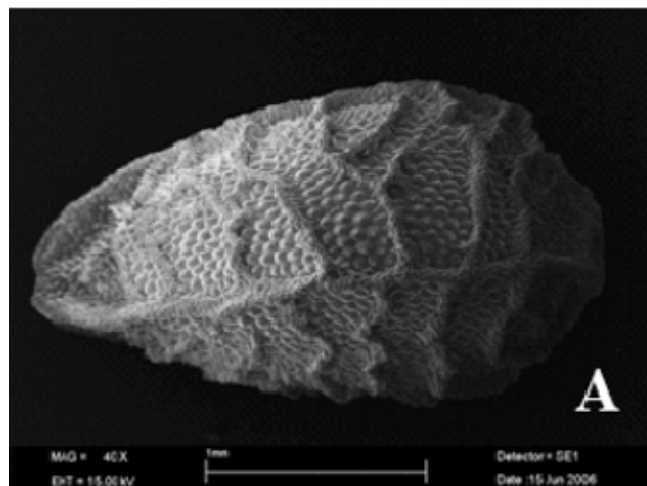


Figure 2: Photographie par microscope électronique de la graine de *N. damascena* : Gx40 (Dadandi *et al.*, 2009).

I.3.2. Composition chimique

Des études étendues ont été réalisées pour déterminer les différents constituants chimiques de la graine à savoir alcaloïdes, flavonoïdes, saponines et les composés phénoliques simples ainsi que des polyols et des acides gras ont été détectés (**Fico *et al.*, 2001**).

I.3.2.1 Alcaloïdes

La damascenine, l'alcaloïde présent seulement au niveau de la graine de *Nigella damascena* a été isolé pour la première fois par Schneider en 1830. Il le décrit en solide cristallin dont le point d'ébullition est de à 270°C et lui assigna la composition C₁₀H₁₅O₃N. Quelques années plus tard Ewins corrigea la formule et lui assigna la formule C₉H₁₁O₃N (**Ewins, 1912**). Les études intenses par **Doepke et Fritsch (1970)** ont montré par la suite la présence des deux alcaloïdes : damascenine et damascinine, si bien que le premier alcaloïde est majoritaire et représente 0.1 à 0.7% du poids sec de la graine (**Mohan, 1960**).

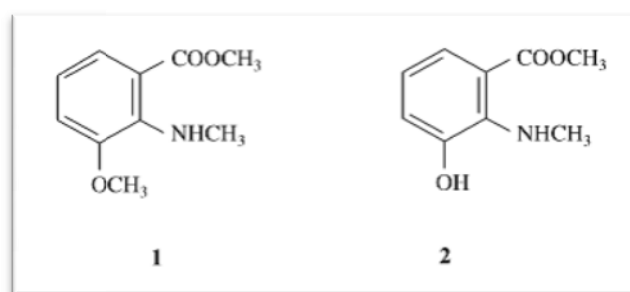


Figure 3 : Structure chimique de la damascenine **(1)** : (3-methoxy-2-(methylamino) benzoic acid methyl ester) et damascinine **(2)** : (3-hydroxy-2-(methylamino) benzoic acid methyl ester) (**Fico *et al.*, 2004**).

I.3.2.2. Les huiles essentielles

La graine de *N. damascena* contient 0,4 à 2,5% d'huiles essentielles (**Hosseinzadeh *et al.*, 2007**) composée environ de 10 composants volatiles, dont le composant majoritaire est le β-Elemène. Ces composés sont présentés dans le tableau (II) (**Moretti *et al.*, 2004**).

Tableau (II) : Composition de l'huile essentielle de *N. damascena* (Moretti et al ,2004).

L'élément	La teneur (g /100g)
B-Elemene	73,24
Myrcene	0,02
Thymol	0,03
Limonène	0,04
Thujol	0,07
Thymoquinone	0,08
B-bourbonene	2,10
Longifolene	2,68
B-selinene	4,75
Germacrene A	10,45
7-Epi-selinene	6,54

I.3.2.3. Les huiles fixes

La graine de *N. damascena* est très riche en acides gras saturés et insaturés mais à des teneurs plus ou moins différentes. Le pourcentage des acides gras totaux contenus dans l'huile est de 97,08% tandis que le pourcentage des acides gras libres s'élève à 30% (Mohan ,1960). L'acide gras insaturé majeur est l'acide linoléique à 39,72%, suivi par l'acide oléique à 36,03%, tandis que l'acide gras saturé majeur est l'acide palmitique à 12,73% (Kokdil et Yilmaz, 2005).

D'une manière générale, l'huile fixe de *N. damascena* contient (en g /100g d'acides gras totaux) : 16,63 d'acides gras saturés ; 36,8 d'acide gras mono-insaturés ; 43,67 d'acides gras poly- insaturés. La composition de la graine en acides gras est présentée sur le tableau (III).

Tableau (III) : Différents acides gras de *Nigella damascenas*.

Acides gras	La teneur (g/100g) (Uccian, 1995)	La teneur (g/100g) (Kokdil et Yilmaz, 2005)	La teneur (%) (Matthaus et Özcan., 2011)
Myristique (C14 :0)	0,25	0,3	0,00
Palmitique (C16 :0)	12,73	13,3	10.10
Palmitoléique (C16 :1)	/	0,1	0.20
Stearique (C18 :0)	3,65	2,5	2.90
Oléique (C18 :1)	36,03	31,4	28.10
Asclépique (C18 :1)	/	0,7	0.70
Linoléique (C18 :2)	39,72	47,2	39,72
Linoléinique (C18 :3)	/	0,20	0.2
Arachidique (C20 :0)	0,77	0,1	0,2
Gonodoïque (C20 :1)	/	0,4	0.5
Eicosadiénoïque (C20 :2)	3,95	3,3	3,5

I.3.2.4. Les composés phénoliques

Plusieurs composés phénoliques ont été identifiés chez *Nigella Damascena*, telle que :

le 3, 4-dihydroxy- β -phenethyl alcohol (1), le dihydroxyphenylacetic acid (2) et le dihydroxyphenylacetic acid methyl ester (3) (Agradi *et al.*, 2001), le p-coumaric (4), l'acide caféique (5), le kaempferol (6) et le kaempferol-3-O-glucopyranoside (7), (Fico *et al.*, 2004).

Un Nouvel composé phénolique a été identifié par Fico et ses collaborateurs en 2001, il s'agit d'un ester phénolique qui a été isolé à partir de la graine et sa structure a été établie en tant que 1-O-(2,4-dihydroxy) phénylacétyl glycérol(8) (Fig.4).

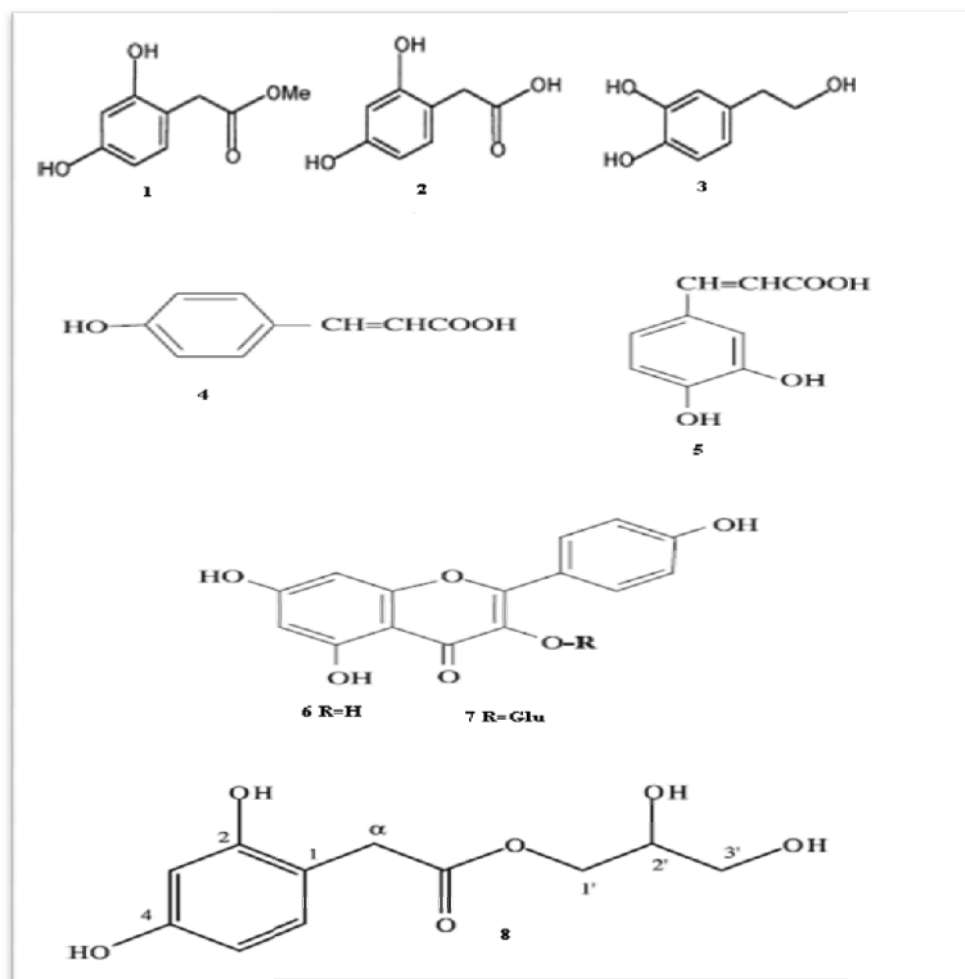


Figure 4: Structure des polyphénols de *Nigella damascena* (Agradi *et al.*, 2001, fico *et al.*, 2001 et Fico *et al.*, 2004).

I.3.2.5. Autres composants

La graine de *N. damascena* est constituée d'autres molécules : sesquiterpène, saponines, polyols (Fico *et al.*, 2001), ainsi la plante contient une hormone tel que la gibbérelline qui est une famille de phytohormone (Raman et Greyson, 1975).

I.3.3. Activités biologiques et propriétés pharmacologiques

Les graines de *Nigella Damascena* ont été utilisées largement dans la médecine folklorique dans les pays Arabes et l'Europe (D'Antuono *et al.*, 2002). Elles sont utilisées pour leurs effets suivants :

➤ **Effets antimicrobien et antiparasitaire:**

L'extrait chloroformique de *Nigella Damascena* a montré une activité antimicrobienne modérée comparée à l'antibiotique ampicilline (Tanis, 2009). En effet l'huile essentielle des

graines possède des effets sur les bactéries à Gram positif tel que : *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Fico *et al.*, 2004). En plus, les graines ont démontré une activité anti-parasitaire contre la leishmaniose (Toma *et al.*, 2007).

➤ **Effet analgésique**

L'huile fixe issue des graines est responsable d'un important effet analgésique dû à la présence d'un principe opioïde présent dans cette huile (Teuscher *et al.*, 2005).

➤ **Effet emménagogue**

L'activité oestrogénique a été établie dans l'extrait méthanolique des graines. Cet extrait est riche en deux composés phénoliques : 3,4-dihydroxy- β -phénethyl alcool et l'acide 2,4-dihydroxyphénylacétique, ces derniers se fixent au récepteur d'oestrogène et exercent le même effet que l'oestrogène dans la régulation de cycle menstruel de la femme et stimule la lactation (Agradi *et al.*, 2001; Agradi *et al.*, 2002). Des études antérieures sur les graines de *Nigella damascena* ont révélé une activité oestrogénique, cette activité peut être due aux flavonoïdes, alcaloïdes, et aux terpènes (Landa *et al.*, 2006).

➤ **Autres effets et utilisation**

- L'huile fixe de *Nigella damascena* inhibe la lipoperoxydation non enzymatique et exerce un important effet piègeur de radicaux libres (Teuscher *et al.*, 2005).
- *Nigella damascena* est utilisée en phytothérapie orientale pour le traitement des affections catarrhales et l'aménorrhée; les graines en poudre sont utilisées comme sternutatoire (Fico *et al.*, 2004).
- Les graines de *Nigella* sont utilisées contre les ulcères, les maladies pulmonaires, et comme agent carminatif, diurétique et vermifuge, elles sont connues aussi comme stimulateur de lactation depuis le moyen âge, ces effets peuvent être dû aux huiles essentielles et aux saponines (Brückner, 1993 ; Fico *et al.*, 2001).
- Elles sont utilisées aussi comme des antidotes pour traiter les morsures de serpents et les piqûres de scorpions (Andreas et Oeggel, 2005).
- Les graines ont une saveur aromatique douce, ressemblant légèrement à celle des fraises, elles ont été utilisées dans le passé pour garnir les gâteaux et les biscuits (Filippo D'Antuono., 2002).
- Elles sont utilisées aussi pour l'aromatisation de pain, fromage et des bombons (Andreas et Oeggel, 2005).

II. Notions de toxicité

Théophraste Von Hohenheim, surnommé Paracelsus (1493-1541), commença à remettre en question les enseignements transmis depuis l'Antiquité. A partir de la connaissance des substances actives il créa un système de prescription, s'opposant ainsi aux absurdes mélanges de la médecine du Moyen Age. En raison du succès de ses ordonnances, il fut même accusé d'empoisonnement et se défendit par une phrase devenue un axiome en pharmacologie : « Si vous voulez expliquer de façon précise l'action de chaque poison, il faut alors se demander ce qui n'est pas un poison ? Toute substance est un poison et aucune n'est inoffensive. C'est simplement la dose qui fait qu'une substance n'est pas toxique » **(Lullmann et Mohr, 2006)**.

Il n'existe pas de définition acceptée de manière générale pour la notion de toxique. Traditionnellement, on qualifie de toxique un composé qui peut nuire à la santé des organismes vivant, en particulier à celle des hommes. L'effet d'un toxique dépend toujours de l'espèce et de la dose. Selon leur origine, on distingue les toxiques synthétiques et les toxiques naturels (toxines) provenant des microorganismes, des plantes ou des animaux **(Reichl, 2004)**.

Tableau IV : Classes de toxicité selon l'échelle de Hodge et Sterner chez les rats de laboratoire **(Hodge et Sterner, 1949)**.

DL ₅₀ orale	Indice de toxicité
Jusqu'à 1 mg/kg	1 = extrêmement toxique
1 à 50 mg/kg	2 = hautement toxique
50 à 500 mg/kg	3 = modérément toxique
500 à 5 000 mg/kg	4 = légèrement toxique
5 000 à 15 000 mg/kg	5 = presque pas toxique
Plus de 15 000 mg/kg	6 = relativement inoffensif

On distingue classiquement trois formes essentielles de toxicité : la toxicité aiguë, la toxicité à court terme (subaigüe ou subchronique) et la toxicité à long terme (ou chronique). Si la toxicité est une propriété inhérente à la substance, d'autres facteurs peuvent intervenir pour en moduler la nature et l'étendue **(Viala et Botta, 2007)**.

II.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë résulte de l'absorption d'une forte quantité de produit en une seule fois ou plusieurs fois très rapprochées. Les signes cliniques se manifestent très rapidement après l'ingestion. La toxicité relative des produits est caractérisée par une valeur, la dose létale 50 (DL₅₀). L'étude se fait sur des souris ou des rats le plus souvent (Claverie et Hedde., 2008).

II.2. Toxicité subaiguë

Toxicité à moyen terme ou toxicité subaiguë, le toxique est administré plusieurs fois pendant une période plus longue, n'excédant pas trois mois. On cherche à définir les organes et les fonctions touchées par ce toxique (Claverie et Hedde., 2008).

II.3. Hépatotoxicité

II.3.1 Physiologie du foie

Le foie pèse environ 1500g, de couleur rouge marron. Il est constitué par des cellules spéciales, les cellules hépatiques (hépatocytes) qui sécrètent une substance, la bile (Ramé et Thérond., 2007). L'activité métabolique du foie a lieu dans les cellules parenchymateuses, qui représentent 80% de la masse organique ; le foie contient également les cellules de Kupffer du système réticulo-endothélial. Les cellules parenchymateuses sont contigües aux sinus veineux, qui véhiculent le sang en provenance de la veine porte et de l'artère hépatique, et aux canalicules biliaires, qui sont les plus petites ramifications du système biliaire (Fig.5). Les substances destinées à une excrétion biliaire sont sécrétées par les hépatocytes dans les canalicules, passent par les canaux intrahépatiques et atteignent le duodénum via le canal biliaire commun (Marchall et Bangert, 2005).

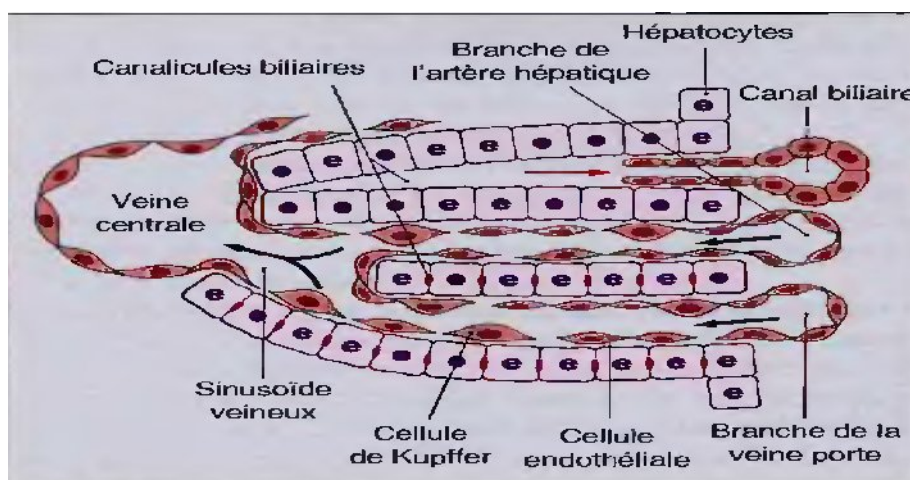


Figure 5: Ultrastructure hépatique (Marchall et Bangert, 2005).

Le foie est un organe très richement vascularisé qui joue un rôle important dans les métabolismes glucidique, protidique et lipidique de l'organisme. Il assure également un rôle majeur dans l'élimination des déchets endogènes (élimination de la bilirubine) et dans l'élimination des xénobiotiques, médicaments et toxiques (Viala et Botta, 2007). Il reçoit par la veine porte 1,1L de sang par minute et environ 350 ml/min par l'artère hépatique. Le volume de sang contenu dans les vaisseaux et les sinus hépatiques est d'environ 500ml (Lullmann et Mohr, 2006). Les principales fonctions du foie sont résumées dans le tableauV.

Tableau (V) : Principales fonctions du foie (Marchall et Bangert, 2005).

Fonctions principales du foie
Métabolisme glucidique Néoglucogenèse Synthèse et catabolisme de glycogène
Métabolisme lipidique Synthèse des acides gras Synthèse et excrétion du cholestérol Synthèse des lipoprotéines Cétogenèse Synthèse des acides biliaires Hydroxylation de la vitamine D
Métabolisme protéique Synthèse des protéines plasmatiques (incluant quelques facteurs de coagulation mais pas les immunoglobulines) Synthèse de l'urée
Métabolisme hormonal Métabolisme et excrétion des hormones stéroïdiennes Métabolisme des hormones polypeptidiques
Métabolisme des substances étrangères Métabolisme et excrétion
Stockage Glycogène Vitamine A Vitamine B ₁₂ Fer
Métabolisme et excrétion de la bilirubine

II.3.2. Métabolisme hépatique

Notre organisme est fondamentalement xénophobe, et pour se protéger des substances étrangères, il a développé deux systèmes de défense: d'une part le système du cytochrome P450 (CYP450), et de l'autre le système immunitaire. Bien que ces deux systèmes accomplissent bien leur tâche ; la plupart du temps, ils sont également responsables de nombreux effets indésirables hépatotoxiques de médicaments. Le système P450 peut générer des espèces réactives moléculaires qui attaquent les lipides insaturés, les protéines et l'ADN, et une réponse immune à un épitope modifié par un médicament peut provoquer la lyse cellulaire (Fig.6) (Russmann et Lauterburg, 2002).

On distingue dans les réactions du métabolisme hépatique, les réactions de la phase I qui permettent la formation d'un métabolite plus polaire (hydrophile), ce qui favorise l'élimination rénale et les réactions de la phase II qui correspondent à la formation d'une molécule conjuguée éliminée dans l'urine ou la bile (Claverie et Hedde, 2008).

Les pathologies hépatiques les plus fréquentes sont (Marchall et Bangert, 2005):

- Les hépatites, caractérisées par des lésions des hépatocytes ;
- La cirrhose, dans laquelle une fibrose conduit à un rétrécissement du tissu hépatique métaboliquement actif, à une diminution des fonctions hépatocellulaires et à l'obstruction du flux biliaire ;
- Les tumeurs, la plus part du temps, secondaire ; par exemple, des métastases des cancers du gros intestin, de l'estomac et des poumons.

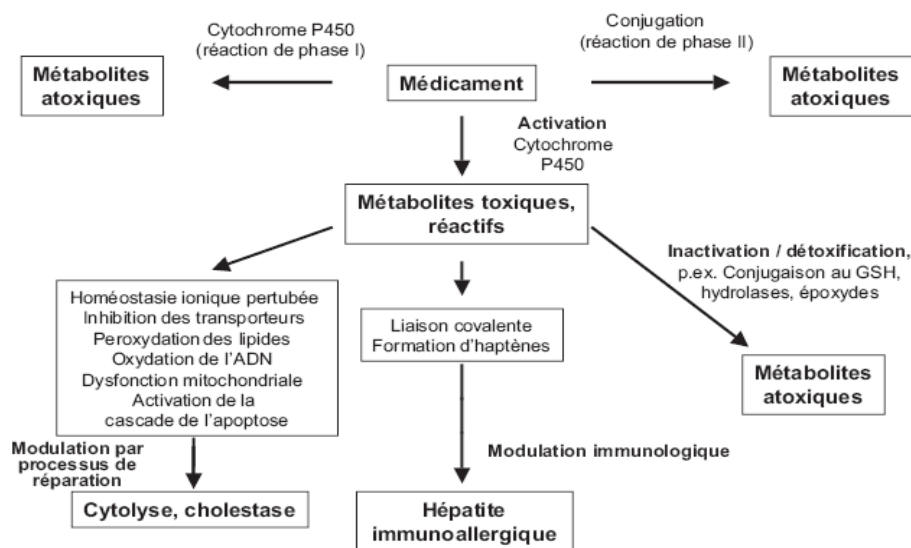


Figure 6: Etapes métaboliques et immunologiques des hépatopathies toxiques médicamenteuses (Russmann et Lauterburg, 2002).

II.3.4. Tests hépatiques

Ce que l'on appelle couramment « Bilan hépatique » (BH) n'est pas un ensemble d'évaluations quantitatives de la capacité du foie à effectuer l'une quelconque des fonctions de ce dernier. Le BH comprend des dosages de substances sanguines qui apportent simplement une orientation sur l'existence, l'ampleur et le type d'une lésion hépatique. Habituellement, une demande de BH consiste à doser la bilirubine, les transaminases et la phosphatase alcaline dans un échantillon de sérum. Le dosage de la concentration sérique d'albumine peut également avoir un certain intérêt pour l'exploration d'une maladie hépatique. Ces analyses biochimiques peuvent aider au diagnostic différentiel des pathologies suivantes (**Gaw *et al.*, 2004**):

- Obstruction des voies biliaires ;
- Lésions hépatocytaires aiguës ;
- Maladies hépatiques chroniques ;

II.3.4.1. Bilirubine

La bilirubine est issue principalement de la fraction hémique des molécules d'hémoglobine et elle est libérée lorsque les globules rouges sénescents sont retirés de la circulation par le système réticulo-endothélial (Fig.7) ; le fer de l'hème est réutilisé mais le noyau tetrapyrrolique est catabolisé en bilirubine. Les autres sources de la bilirubine sont la myoglobine et les cytochromes (**Marchall et Bangert, 2005**). La molécule de ce pigment rouge brun qui apparaît dans le sang de la veine splénique est la bilirubine libre, non conjuguée, insoluble dans l'eau et donc prise en charge par le transporteur non spécifique du plasma, la sérum-albumine (**Valdiguié, 2000**). Elle est captée par les cellules hépatiques et conjuguée pour former des mono- et di-glucoronides, qui sont beaucoup plus solubles dans l'eau que la bilirubine libre (non conjuguée). La bilirubine conjuguée est éliminée dans la bile (**Gaw *et al.*, 2004**) et une partie parvient dans la circulation générale (« bilirubine directe ») et est excrétée par le rein. L'excrétion biliaire de la bilirubine est de 200 à 250mg par jour, dont 15% environ sont à nouveau réabsorbés par l'intestin, uniquement sous forme conjuguée (cycle entérohépatique) (**Silbernagl et Despopoulos, 2008**).

La majeure partie de la bilirubine est transformée par la flore bactérienne intestinale en stercobilinogène et urobilinogène qui, oxydés en stercobiline et urobiline, donnent aux matières fécales leur coloration. Une petite partie est réabsorbée, passe ensuite dans les veines

sous-hépatiques pour être finalement éliminée par le rein sous forme d'urobilinogène et d'urobiline, qui participent à la coloration normale des urines (Valdigué, 2000).

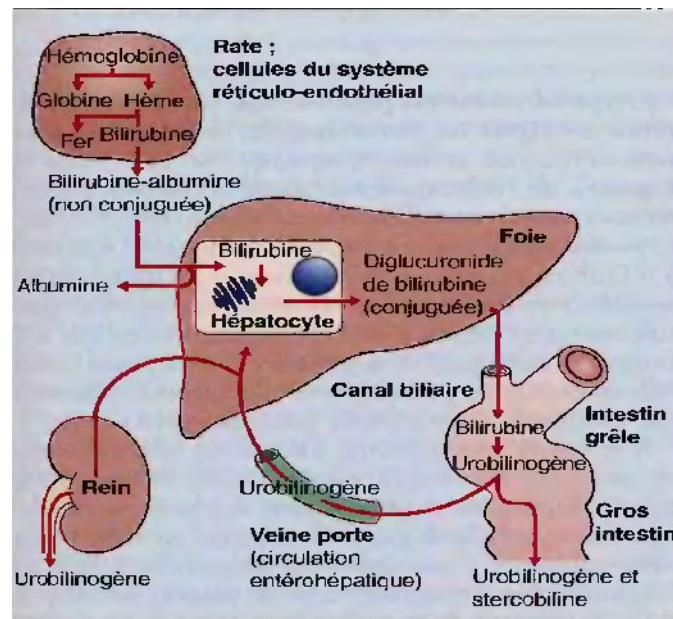


Figure 7: Excrétion de la bilirubine par le foie (Marchall et Bangert, 2005).

II.3.4.1.1. Signification clinique

La bilirubine présente dans le plasma est principalement sous forme non conjuguée (environ 95%) ; dans la mesure où elle est liée aux protéines, elle n'est pas filtrée par les glomérules rénaux et, chez les individus sains, elle n'est donc pas détectable dans l'urine. Une bilirubinémie reflète une augmentation de la concentration plasmatique en bilirubine conjuguée, et elle est toujours pathologique (Marchall et Bangert, 2005). Normalement la concentration plasmatique en bilirubine est de 3 à 10mg/L environ. Lorsque cette concentration dépasse 18mg/L environ, la conjonctive de l'œil (sclérotique) et ensuite la peau deviennent jaunes : il s'agit donc d'un ictère (Silbernagl et Despopoulos, 2008). Cet ictère provient lorsque les voies biliaires sont obstruées ; par conséquent la bilirubine n'est pas excrétée et sa concentration sérique augmente. De ce fait le patient devient ictérique (Gaw *et al.*, 2004). L'ictère peut provenir d'une hémolyse ou de la maladie de Gilbert, une affection héréditaire du métabolisme de la bilirubine. Dans l'hémolyse, l'hyperbilirubinémie est due à une augmentation de la production de bilirubine, qui dépasse les capacités de captation et de conjugaison du foie (Valdigué, 2000 ; Gaw *et al.*, 2004 ; Marchall et Bangert, 2005). L'hyperbilirubinémie conjuguée est associée à une baisse de l'excrétion de la bile due à des maladies du foie (hépatite ou cirrhose), ou cholestasis intrahépatique ou extrahépatique (Friedman et Young, 2001 ; Burtis *et al.*, 2005).

II.3.4.2. Albumine

L'albumine est la principale protéine plasmatique. Elle est synthétisée et sécrétée par le foie et elle représente environ 50% de la production hépatique totale de protéines. L'albumine a une demi-vie de 20 jours environ est la protéine la plus abondante du plasma humain, elle représente 60% des protéines totales du plasma. Les taux normaux sont de 40 à 50 g/L soit 0,5 à 0,7 mmol/L (**Valdigué, 2000**). Elle intervient dans plusieurs processus physiologiques ; elle contribue au maintien de la pression oncotique dont elle est responsable de 75% environ de la pression osmotique totale du plasma, elle intervient dans le transport des nutriments, des ions métalliques tel que le (Cu⁺⁺, Zn⁺⁺ et Ca⁺⁺), des drogues endogènes et exogènes tel que la bilirubine, acides gras libres, les stéroïdes et des médicaments tel que la streptomycine (**Rochu, 1986**). Elle a un pouvoir tampon du fait de son affinité pour les ions et constitue une fonction de réserve mobile d'acides aminés (**Bach-Ngohou et al., 2004**).

II.3.4.2.1. Signification clinique

L'hypoalbuminémie est une caractéristique d'une maladie hépatique chronique avancée. Elle peut aussi survenir dans les lésions hépatiques aiguës sévères (**Gaw et al., 2004**), mais elle reste habituellement normale dans les stades précoces d'hépatite aiguë, en raison de sa demi-vie longue (**Marchall et Bangert, 2005**).

Les hyperalbuminémies (supérieures à 54 g/L) sont physiologiques et correspondent très probablement à l'extrémité de la courbe gaussienne de répartition statistique. Ils sont rares, de l'ordre de 1 pour 1 000. Les hyperalbuminémies associées à une pathologie sont peu fréquentes et généralement dues à une hémococoncentration, à des pertes liquidiennes ou à un diabète insipide (**Bach-Ngohou et al., 2005**).

II.3.4.3. Transaminases

La mesure de l'activité des différentes enzymes du sérum humain a pris depuis quelques années une grande importance. Ces enzymes se trouvent normalement dans le sérum en faible quantité et à des taux bien déterminés. Dès qu'un organe ou un tissu est lésé, il libère dans la circulation générale des enzymes qui lui sont propres. Par exemple, pour déterminer l'organe lésé au lieu de faire une biopsie d'organe il est beaucoup plus facile et confortable pour le malade d'effectuer une prise de sang (**Valdigué, 2000**).

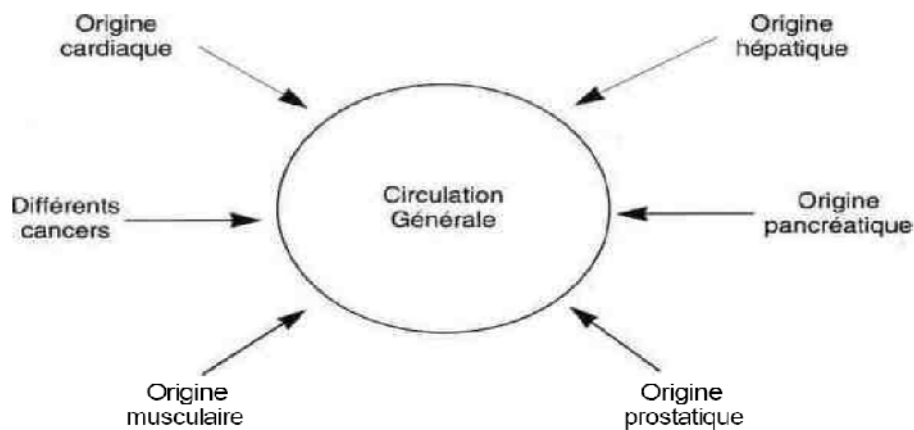


Figure 8: Origine des différentes enzymes présentes dans le sérum humain (Valdigué, 2000).

Les activités des deux transaminases, ALT (Alanine aminotransférase) et AST (Aspartate aminotransférase), sont largement utilisées dans la pratique clinique comme indice sensible, quoique non spécifique, de lésions hépatocytaires aiguës, indépendamment de toute considération étiologique (Gaw *et al.*, 2004). L'activité ALT est plus spécifique du foie que l'AST. L'augmentation de l'activité des aminotransférases conduit à une cytolyse ; les activités plasmatiques peuvent être 20 fois plus élevées que la limite supérieure de la normale en cas d'hépatite (Marchall et Bangert, 2005). Les causes des lésions hépatiques sont l'hépatite- quelle qu'en soit l'origine- et les lésions toxiques qui peuvent accompagner un grand nombre d'agression pour le foie, dont un surdosage de médicament. Les lésions hépatiques aiguës peuvent également résulter d'un choc, d'une hypoxie sévère ou d'une insuffisance cardiaque aiguë (Gaw *et al.*, 2004).

II.4. Néphrotoxicité

II.4.1. Physiologie du rein

Les reins sont les organes sécrétant l'urine, ils sont au nombre de deux, de couleur rougeâtre leur forme est celle d'un haricot mesurant 12 cm de longueur, 6cm de largeur et 3 cm d'épaisseur (Delmas *et al.*, 2009).

Chaque rein contient plus d'un million de minuscules néphrons, les unités structurales et fonctionnelles des reins qui assurent la formation de l'urine. Chaque néphron comprend deux structures principales : un glomérule du rein, qui est un bouquet de capillaires, et un tubule rénal dont l'extrémité fermée est évasée et en forme de coupe ; elle enveloppe complètement le glomérule (Marieb, 2008).

Une des fonctions essentielles du rein est de contrôler l'élimination du sel et de l'eau et donc d'éliminer les variations du volume et de l'osmolarité du milieu extracellulaire. Le rein aussi :

- Maintien la concentration du K⁺ extracellulaire et le pH sanguin constant.
- Permet l'excrétion des produits terminaux du métabolisme (urée, acide urique).
- Conserve des composants essentiels (glucose, acides aminés).
- Joue un rôle dans le métabolisme (dégradation des protéines et des peptides, néoglucogenèse) et dans la synthèse de certaines hormones (rénine, érythropoïétine, vitamine D, prostaglandine). **(Silbernagl et Despopoulos, 2008).**

II.4.2. Elimination rénale

L'élimination rénale est liée à une structure particulière de l'endothélium des capillaires du glomérule. La membrane basale qui sépare l'endothélium du capillaire de l'épithélium se compose de glycoprotéines chargées négativement et constitue pour les molécules de masse plus élevée, et en fonction de leur charge, une barrière de filtration d'étanchéité variable **(Lullmann et Mohr, 2006).**

Au cours de 24 heures, la machinerie merveilleusement complexe des reins filtre de 150 à 180 L environ de plasma sanguin à travers les glomérules du rein ; les tubules rénaux traitent alors le filtrat en captant des substances (réabsorption) et en ajoutant (sécrétion). Au cours de la même période, les reins n'excrètent qu'environ 1 à 1,8 L d'urine. De toute évidence, le filtrat glomérulaire et l'urine sont bien différents. Le filtrat glomérulaire contient les mêmes éléments que le plasma sanguin (sauf les protéines). Or, une fois parvenu dans les tubules rénaux collecteurs, il a perdu la plus grande partie de l'eau, des nutriments et des ions essentiels qu'il contenait à l'origine. Ce qui reste l'urine, est composé principalement de déchets azotés et de substances inutiles pour l'organisme. La formation de l'urine est le résultat de trois processus : La filtration, la réabsorption tubulaire et la sécrétion tubulaire **(Marieb, 2008).**

II.4.3. Néphrotoxicité

Le rein est l'un des principaux organes cibles de la toxicité induite par les xénobiotiques du fait de ses fonctions de filtration, transport, réabsorption et métabolisme de substances chimiques. Les néphrotoxicités d'origine iatrogène, professionnelle ou environnementale seraient l'étiologie la plus fréquente d'atteinte rénale aigüe dans la population générale. Elles sont généralement provoquées par l'usage des médicaments ou par une infection.

L'exposition à ces substances néphrotoxiques peut induire des effets transitoires ou définitifs et concerner les structures glomérulaires, tubulaires et plus rarement le tissu interstitiel. Les patients atteints de déficience rénale chronique ou aigue souffrent de nombreuses complications pouvant conduire à une dialyse, une transplantation ou une mort prématurée. Même si les atteintes rénales peuvent être classées en fonction du type de structure touchée ou du mécanisme mis en œuvre, chaque molécule est susceptible d'induire une néphrotoxicité par un mécanisme qui lui est propre. La Figure (10) illustre la grande variabilité des substances néphrotoxiques ainsi que leur(s) cible(s) respective (s) (Gueguen *et al.*, 2012).

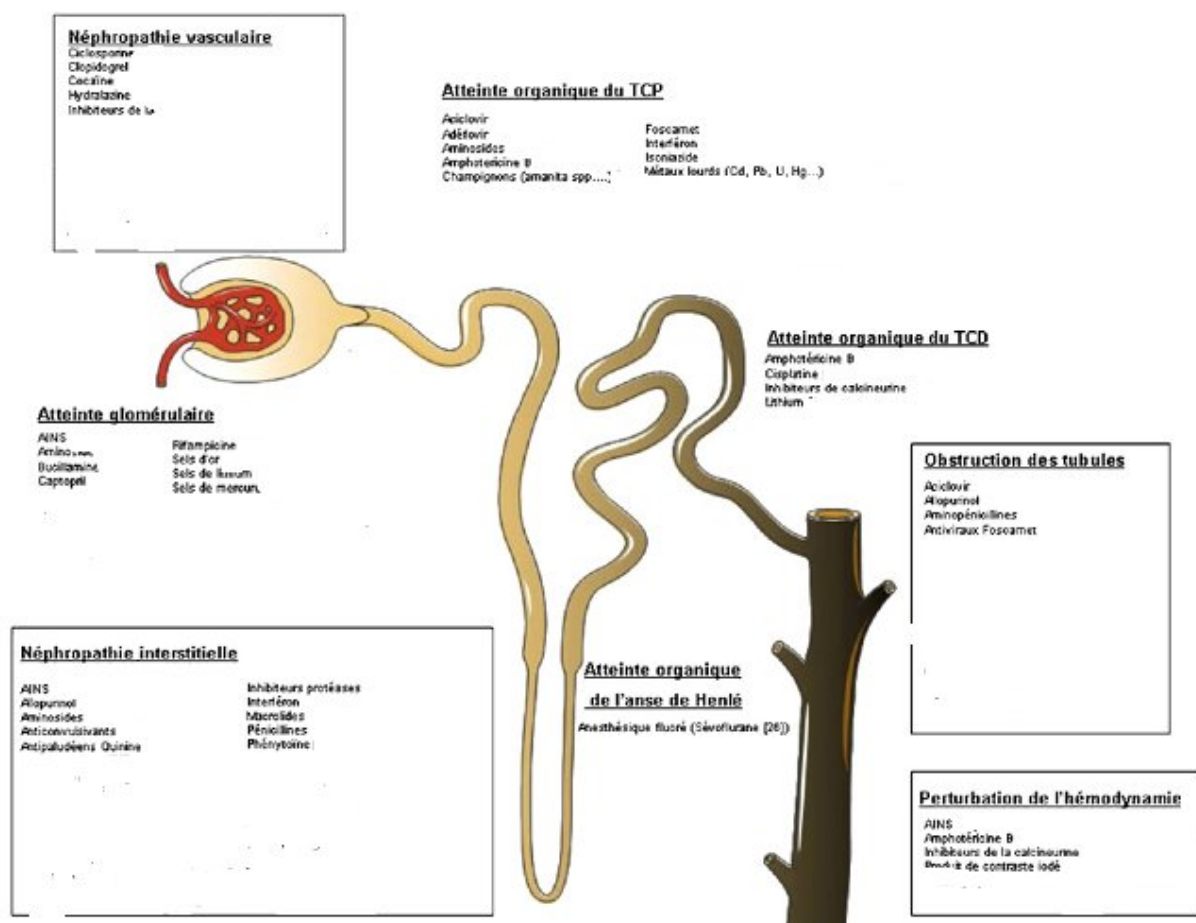


Figure 9: Exemples de substances associées avec des atteintes rénales : sites et mécanismes d'atteinte (Gueguen *et al.*, 2012).

II.4.4. Bilan sanguin

II.4.4.1. Créatinine

La créatine (acide N-méthylguanidoacétique) et de sa forme phosphorylée, la créatine phosphate (a guanidophosphate) servent d'un tampon ATP dans le métabolisme musculaire. Le résidu phosphate de la créatine phosphate à un niveau élevé du potentiel chimique comme dans l'ATP et est donc facilement transférés à l'ADP. Inversement, lorsqu'il ya un excès d'ATP, le phosphate de créatine peut provenir de l'ATP et de la créatine. Les deux processus sont catalysés par de la créatine kinase.

S' il n'y a pas un risque de baisse sévère du niveau de l'ATP au cours de contraction, le niveau peut être maintenu pendant un temps par synthèse de l'ATP à partir de la créatine phosphate et d'ADP. Dans une réaction non enzymatique, de petites quantités de créatine et de la créatine phosphate de cycliser pour former en permanence de la créatinine, qui ne peuvent plus être phosphorylée et est donc éliminé avec l'urine.

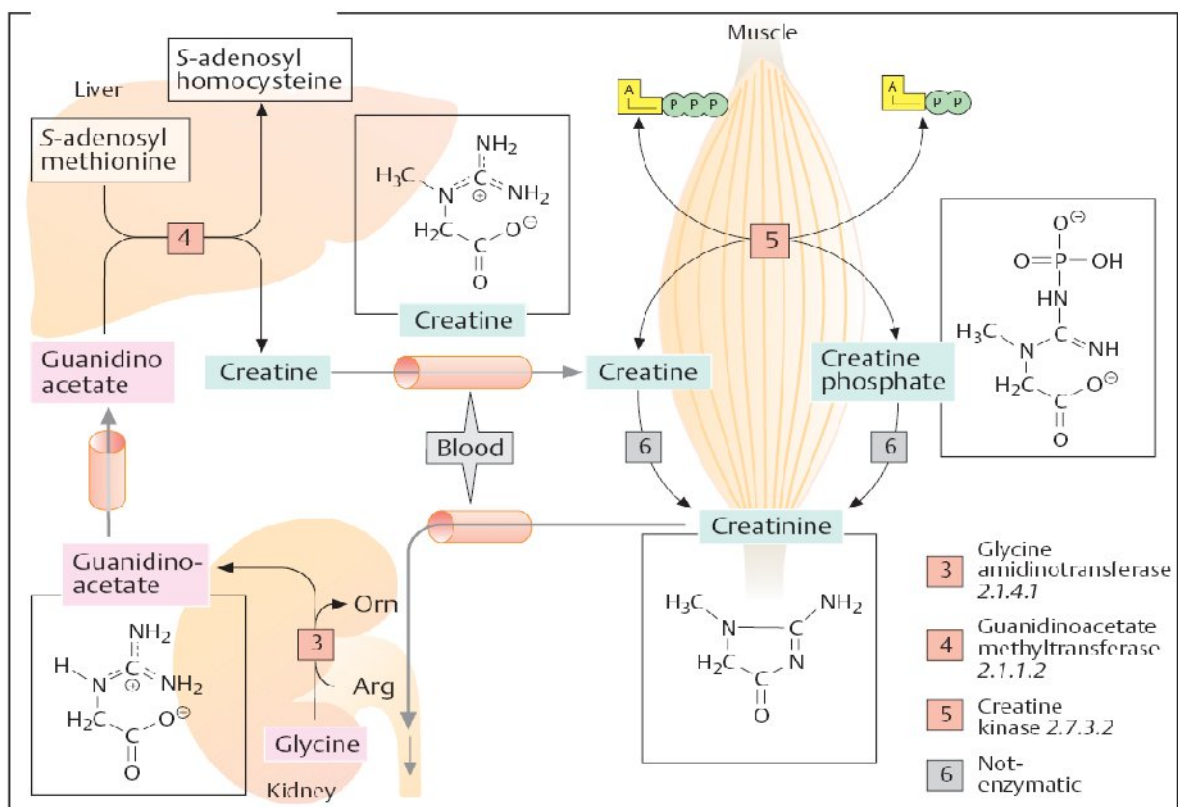


Figure 10: Métabolisme de la créatine et production de la créatinine (Koolman et Roehm, 2005).

II.4.4.1.1 Créatinine plasmatique en clinique

La créatinine est un métabolite de créatine, excrété complètement dans l'urine par filtration glomérulaire (**Frank, 1992**). Le taux plasmatique et la quantité de créatinine éliminée quotidiennement dans les urines constituent des paramètres biologiques remarquablement fixes (**Valdigué, 2000**). Pour ces raisons la mesure de la concentration en créatinine est utilisée principalement pour l'évaluation de la fonction rénale (perfusion rénale détériorée, perte de fonction du néphron) et le contrôle des dialyses rénales (**Friedman et Young, 2001 ; Burtis et al., 2005**), des données sur sa concentration sanguine et urinaire peuvent être utilisées pour estimer le taux de filtration glomérulaire (**Frank, 1992**).

II.4.4.2. Urée

L'urée est le terme ultime principal du catabolisme protéique chez l'homme. Atoxique, très soluble, elle s'élimine à 90 % dans les urines, un peu dans la sueur et la salive, très peu dans les matières fécales. Le dosage de l'urée dans le sang ou azotémie et dans l'urine est le paramètre le plus ancien de la biochimie clinique ; associé aux dosages du glucose et des éléments de l'ionogramme, il reste aujourd'hui l'un des plus demandés. En néphrologie pure, le dosage de l'urée plasmatique et urinaire est dépassé par celui de la créatinine, mais il reste un précieux élément d'appoint (**Valdigué, 2000**).

II.4.5.2.1 Urée en clinique

Bien que la concentration plasmatique de l'urée soit souvent utilisée comme indice de la fonction glomérulaire, le dosage de la créatinine plasmatique est un moyen d'évaluation plus précis. Un taux élevé indique généralement une atteinte glomérulaire ou une hépatotoxicité (**Frank, 1992**), mais la concentration peut être aussi modifiée par un régime riche en protéines, d'un catabolisme des protéines augmenté, après une hémorragie gastro-intestinale, légère déshydratation, état de choc, insuffisance cardiaque ou traitement avec glucocorticoïdes (urémie pré-rénal) (**Young, 2000 ; Friedman et Young, 2001**).

II.5. Les marqueurs de l'équilibre homéostatique

II.5.1. Le cholestérol

Le cholestérol est un constituant vital des membranes cellulaires et le précurseur des hormones, stéroïdes et des sels biliaires (Voet et Voet, 2005). Le cholestérol est synthétisé dans toutes les cellules vivantes. Certains tissus (comme le foie, la muqueuse intestinale et les cortico-surrénales) sont sans doute beaucoup plus actifs que d'autres ; le tissu nerveux adulte, quoique riche en cholestérol, a un métabolisme très lent. On estime à plus de 1g la quantité total de cholestérol formée par jour par un homme adulte (Boulanger et al., 1981).

Il est exporté sous 03 formes : cholestérol biliaire, acides biliaires et, enfin, cholestérol circulant des lipoprotéines (cholestérol libre et esters de cholestérol) (Kamoun et al., 2003).

Le cholestérol et les triacylglycérols sont transportés dans les fluides corporels sous la forme de particules lipoprotéiques. Ces particules sont classées par densité croissante : chylomicrons, résidus de chylomicrons, lipoprotéines de très faible densité (VLDL), lipoprotéines de densité intermédiaires (IDL), lipoprotéines de faible densité (LDL) et lipoprotéines de haute densité (HDL) (Stryer et al., 2003). Une partie du cholestérol de l'organisme est éliminée par voie intestinale dans les fèces (0,7g par jour environ). Les bactéries intestinales le transforment partiellement en coprostérol (encore appelé coprastanol) par réduction de la double liaison avec formation du dérivé 5β . La seule voie catabolique importante du cholestérol chez l'homme est son oxydation en acides biliaires, qui s'effectue dans le foie (Boulanger et al., 1985).

II.5.1.1. Variation pathologique de cholestérol

En pratique les valeurs limites supérieures de cholestérol sont de 6mmol/L à 30ans et 6.60mmol/L à 6.60 à 50ans.

Un abaissement du taux de cholestérol total (au-dessous de 4 mmol/L chez l'adulte) évoque une dénutrition, une insuffisance hépatocellulaire, une hyperthyroïdie. Plus rarement, elle peut être physiologique en rapport avec les habitudes alimentaire, ou témoigner d'une affection familiale (déficit en LCAT, apolipoprotéine A, maladie de « Tangier » ou en apolipoprotéine B « a-beta lipoprotéïnémie »).

L'élévation de la cholestérolémie, outre dyslipidémies familiale primitives, se rencontrent dans un certain nombre de situations pathologiques (isolée ou associée à une hyperglycémie) hyperthyroïdie, cholestase, syndrome néphrotique, corticothérapie, chez les pléthoniques avec un rapport alimentaire excessif en cholestérol et graisse saturée (Borel et al., 1981).

II.5.2. La glycémie

Le glucose est un substrat énergétique essentiel. Les sources de glucose sont représentées par les glucides alimentaires et la production endogène (principalement hépatique), par la glycogénolyse (libération de glucose stocké sous forme de glycogène) et la néoglucogenèse (synthèse de glucose à partir, par exemple, du lactate, du glycérol et la plupart des acides aminés). La concentration sanguine, ou la glycémie, dépend des proportions relatives de glucose entrant dans la circulation et de glucose utilisé (**Marshall et Bangert., 2005**). La valeur fondamentale de la glycémie est de 5.5 mmol/L, la remarquable stabilité de cette constante biologique, souvent citée en exemple pour illustrer le principe de l'homéostasie, et le résultat d'une régulation neuro-hormonale complexe (**Serge., 1985**).

Le glucose est en mouvement entre ses sites d'absorption (muqueuse intestinale) ou de production (foie) et ceux de son métabolisme à visée essentiellement énergétique, notamment : cerveau, muscles striés, reins, surrénales.

Des facteurs hormonaux hypoglycémisants (glucagon, cortisol, hormone de croissance, amines biogènes comme l'adrénaline) ou hyperglycémiant (l'insuline) régulent les variations de la glycémie afin de maintenir sa concentration au plus près de sa valeur physiologique (**Durand et Beaudeau., 2008**).

II.5.2.1. La glycémie et les pathologies hépatiques et rénales

Bien que le foie soit un organe central de l'homéostasie glucidique, ses réserves fonctionnelles sont si importantes qu'une hypoglycémie est rarement un signe clinique de pathologie hépatique. Elle peut toute fois survenir en cas de destruction hépatocellulaire rapide et massive faisant suite à une intoxication par le paracétamol ou d'autres toxiques. En dehors du foie, le rein, est le seul organe capable de réaliser la néoglucogenèse ; il est aussi impliqué dans le catabolisme de l'insuline. Ces éléments peuvent expliquer en partie les hypoglycémies sévères qui surviennent occasionnellement au stade terminal de l'insuffisance rénale (**Marshall et Bangert., 2005**).

III.1. Matériel végétal

III.1.1. Collection du matériel végétal

Les graines fraîches de *Nigella damascena* ont été obtenues à partir d'une source commerciale (bazar égyptien) à Istanbul en Turquie. Une fois réceptionnées, les graines ont été soigneusement nettoyées et conservées à l'abri de la lumière dans un endroit sec. Après avoir séché à l'étuve pendant 48 h à une température de 30°C, les graines étaient étroitement gardées dans des récipients fermés avant l'utilisation.



Figure 11: Graine de *Nigella damascena*
(Photographie prise au laboratoire d'enzymologie)

III.1.2. Préparation de l'extrait

La poudre des graines de *Nigella damascena* (100g) obtenue après broyage par un broyeur électrique, subit une macération dans un volume total d'1L de méthanol. Ce volume est divisé sur trois macération successive, après décantation et filtration sur papier Wattman N°03, le filtrat est récupéré pour une nouvelle macération. Chaque macération dure 24h sous une faible agitation et à une température ambiante. Le filtrat est concentré par évaporation du méthanol à 40 °C sous une faible pression par un rotavapeur puis éliminé du filtrat par évaporation à 30°C dans l'étuve, permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur brune foncée, qui est considéré comme étant l'extrait brut. Le rendement de l'extrait a été calculé par rapport à la masse initiale de la matière sèche.

$$\text{Rendement (R}_d\text{)} = \left(\frac{m}{m_i} \right) \times 100$$

- m : masse de l'extrait brut
- m_i : masse de la matière sèche initiale
- R_d : rendement massique

III.2. Matériel animal

III.2.1. Animaux

Toutes les étapes qui suivent ont été menées conformément à la Directives de l'OCDE (organisation pour coopération et développement économiques, Guideline-407, adopté le 03 octobre, 2008) avec de légères modifications.

L'étude a été réalisée sur des souris Swiss albinos des deux sexes pesant entre 20 et 25 g obtenus à partir du centre animal de l'institut Pasteur d'Alger et aléatoirement distribuées dans différents groupes expérimentaux. Les animaux sont identifiés individuellement et placés dans les cages huit jours avant le début de l'étude, pour leur permettre de s'acclimater aux conditions du laboratoire. Les souris sont logées dans des cages en plastique transparent à une température ambiante de 25 à 30°C et d'humidité relative de 45-55%, avec un cycle de 12:12 h lumière/obscurité (de 07:00 h à 19:00 h), et disposé de granules d'aliment standards provenant de l'ONAB, El-Kseur de Bejaïa et de l'eau. La litière utilisée est la sciure renouvelée deux fois par semaine pour assurer le bon état hygiénique des animaux.

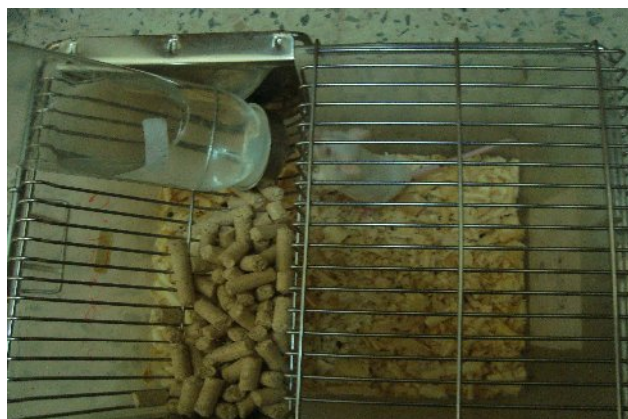


Figure 12: Souris blanche dans une cage transparente.

III.2.2. Étude de toxicité orale aiguë

Les essais de la toxicité aiguë permettent d'évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court (de 1 à 14 jours) après l'administration d'une substance. Afin d'étudier des effets toxiques possibles ou changements du comportement normal ainsi que la mortalité.

04 groupes de 06 souris (4 mâles et 2 femelles) chacun ont été employés dans cette expérience ; le groupe témoin a reçu une solution d'eau physiologique (0.9% solution de NaCl), et les groupes d'essai ont reçu des doses de 1, 2, 5 g/kg d'EM par poids corporel. L'administration

d'eau physiologique et d'EM a été effectuée par gavage en utilisant une sonde gastrique orale. Ils sont privés de nourriture 24 heures avant l'essai. Aucune nourriture ou d'eau n'a été donnée jusqu'à 4 h après traitement de drogue. Ils sont pesés au moment de l'essai.



Figure 13: Administration orale de 200 μ l pour chaque souris

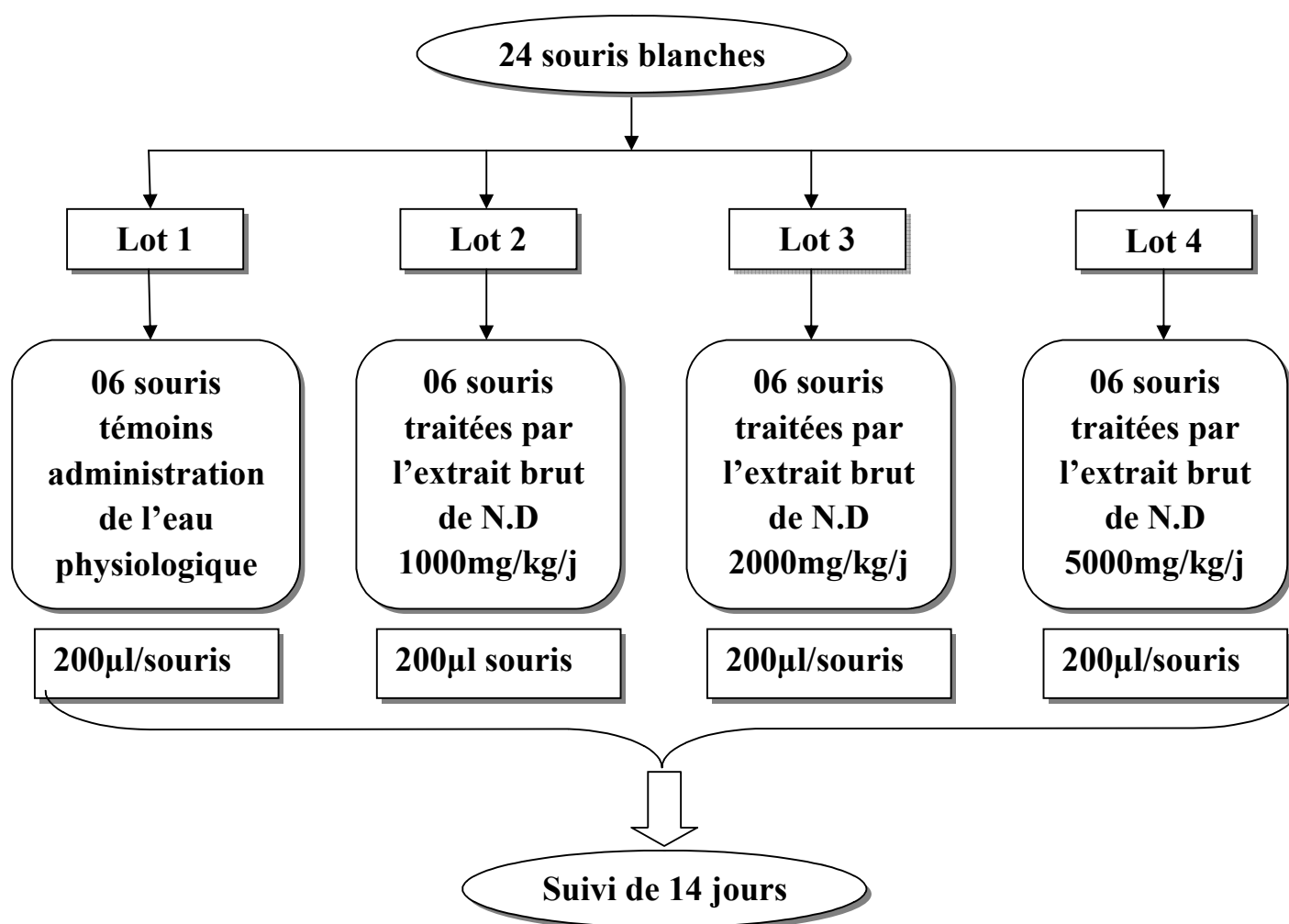


Figure 14: Protocole suivi durant l'étude de la toxicité aigue.

Les animaux ont été pesés avant le gavage (jour 1) et après le gavage (jours 7 et 14). Après l'administration de l'EM, les animaux sont observés individuellement pendant 4 heures après l'unique dose puis chaque jour pendant 14 jours. Le comportement et les symptômes cliniques des animaux sont notés pendant toute la durée de l'expérience.



Figure 15: Photographie d'une souris isolées après 4h de l'administration d'EM.

II.2.3. Étude de toxicité orale sub-chronique

La toxicité à moyen terme ou toxicité sub-chronique est la recherche à définir les organes et les fonctions touchés par un toxique administré plusieurs fois pendant une période plus longue n'excédant pas trois mois. Afin d'étudier l'effet sub-chronique de l'EM, 03 groupes de 06 souris mâles ont été employés dans cette expérience (control, L1 et L2). Ces groupes ont reçu oralement pendant 28 jours consécutifs, des doses de 0, 100 et 400 mg/kg. Le poids corporel d'animaux a été enregistré chaque semaine.



Figure 16: photographie d'une souris du lot 2.

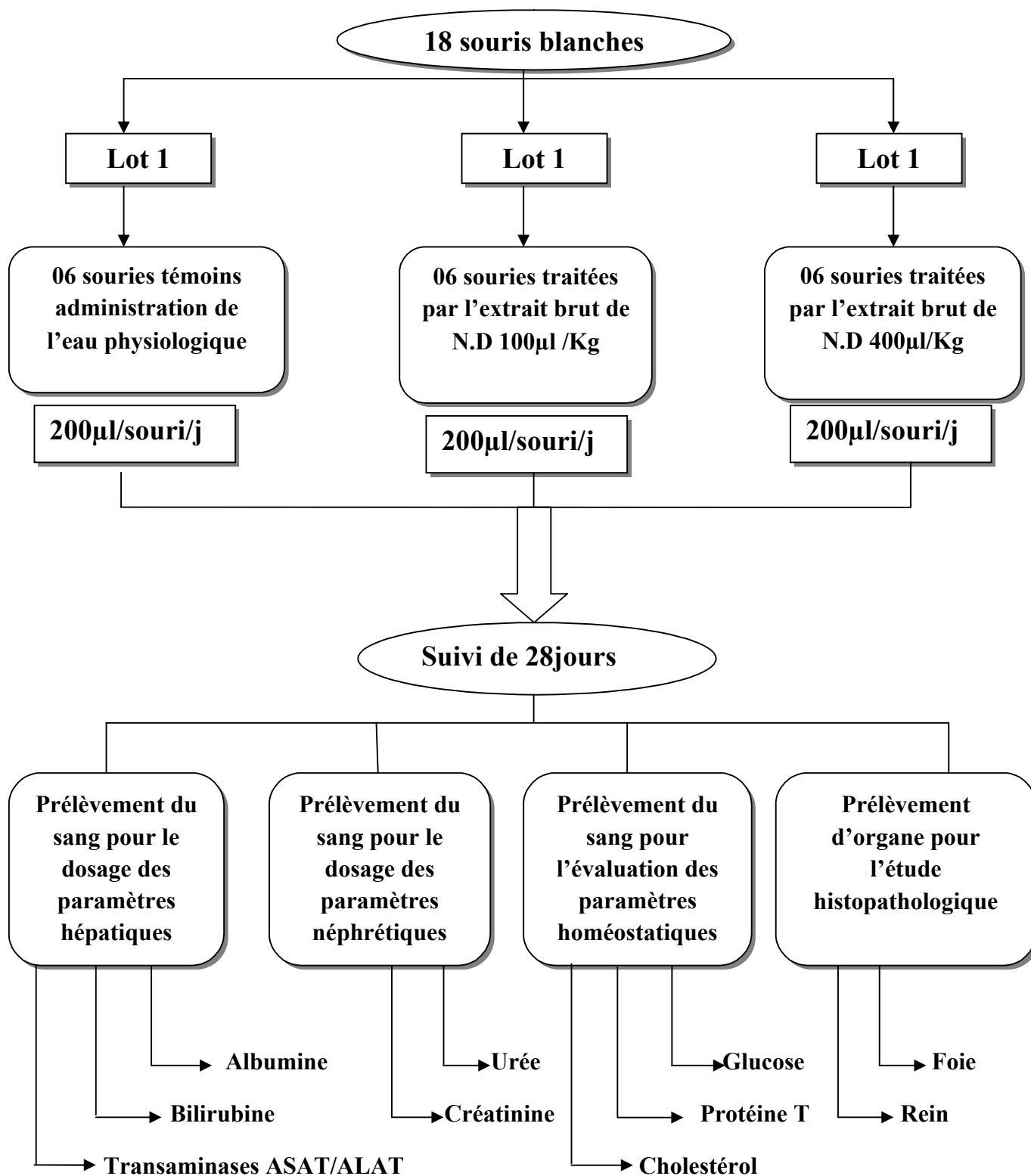


Figure 17: Protocole suivi durant l'étude de la toxicité subchronique.

III.3 Bilan biochimique sanguin

Au 29^{ème} jour de l'étude, les souris ont été mises à jeun durant la nuit avant la collection de sang et puis sacrifiées par décapitation sous anesthésie. Le prélèvement du sang est effectué au niveau de la veine jugulaire. Le recueil de sang a été effectué sur des tubes héparinés au cours de chaque prélèvement. Les tubes héparinés sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 5min. Le plasma obtenu, est dosé pour les paramètres biochimiques suivants : Glucose, Créatinine, Urée, Bilirubine, Albumine, Protéines totales, Cholestérol, Aspartate transaminase (ASAT), Alanine aminotransférase (ALAT) au niveau d'un laboratoire de biochimie clinique privée.

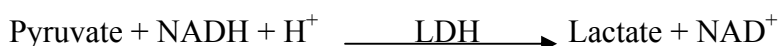
III.3.1. Paramètres hépatiques

III.3.1.1. Dosage des transaminases ALAT et ASAT

➤ Transaminase ALAT (GPT)

- Principe de la méthode

L'alanine-aminotransférase (ALAT ou GPT) catalyse le transfert du groupement amino de l'alanine au 2-oxoglutarate, en formant le pyruvate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée en utilisant la réaction couplée de la lactate-déshydrogénase (LDH), à partir de la vitesse de disparition du NADH, mesuré à 340 nm.



La diminution dans la concentration de NADH mesurée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique de GPT (ALAT) dans l'échantillon (**BioSystems, Spain 2010**).

- Mode opératoire

On verse dans chaque tube (blanc et les échantillons) 240µl de réactif R1, ajouter 25µl de plasma pour chaque échantillon et ne rien ajouter au blanc, mélanger et incuber pendant 3 minutes. Puis ajouter 60µl de réactif R2. Mélanger, incuber 1 minute, lire l'absorbance initiale à 340nm et effectuer des lectures périodiques pendant 3 minutes (annexe 1).

➤ **Transaminase ASAT (GOT)**

• **Principe de la méthode**

L'aspartate-aminotransférase (ASAT) catalyse le transfert du groupement amino de l'aspartate au 2-oxoglutarate, en formant l'oxaloacétate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée, en utilisant la réaction couplée de la malate-déshydrogénase (MDH), à partir de la vitesse de disparition du NADH, mesuré à 340 nm.



La diminution dans la concentration de NADH mesurée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique de GOT (ASAT) dans l'échantillon (**BioSystems, Spain 2010**).

• **Mode opératoire**

On verse dans chaque tube (blanc et les échantillons) 240µl de réactif R1, ajouter 25µl de plasma pour chaque échantillon et ne rien ajouter au blanc, mélanger et incuber pendant 3 minutes. Puis ajouter 60µl de réactif R2. Mélanger, incuber 1 minute, lire l'absorbance initiale à 340nm et effectuer des lectures périodiques pendant 3 minutes (annexe 2).

III.3.1.2. Dosage de l'albumine plasmatique

• **Principe de la méthode**

L'albumine en présence de bromcresol vert et à un PH acide, produit le changement de couleur de l'indicateur de jaune - vert vers le vert – bleu. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon (**SPINREACT, Spain 2011**).

• **Mode opératoire**

On verse dans chaque tube (blanc, standard et échantillons) 1.0 ml du mélange, ne rien ajouter au blanc. Puis on ajoute 5µl d'ALBUMIN CAL dans le tube standard, et 5µl de plasma pour chaque échantillon. Après on mélange et on incube pendant 10mn à (15-25 °C), et enfin on lit l'absorbance (A) du standard et des différents échantillons à 630nm (annexe 3). La quantité de l'albumine dans le plasma est exprimée en µmol/L selon la formule suivante :

Calculer les différentes valeurs	Facteur de conversion
A Echantillon _____ x 5 = g/dL A Standard	g/dL x 144,9 = μmol/L d'albumine dans le plasma

III.3.1.3. Dosage de la bilirubine

- **Principe de la méthode**

La bilirubine est convertie en azobilirubine par le diazonium de l'acide sulfanilique, la réaction est instantanée en milieu aqueux pour la bilirubine directe. Pour doser la bilirubine totale, il faut solubiliser la bilirubine libre (indirecte) en ajoutant au milieu le diméthylsulfoxyde. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de la bilirubine présente dans l'échantillon (SPINREACT, Spain 2012).

- **Mode opératoires**

Bilirubine totale : On verse dans chaque tube (blanc et échantillon) 1,5 ml du réactif 2, ne rien ajouter au blanc. Puis on ajoute 50 μ l de réactif 3 pour chaque échantillon, on mélange et on ajoute 100 μ l de BILURUBIN CAL au blanc et 100 μ l de plasma pour chaque échantillon, après incubation à (15-25°C) pendant 5min, on lit l'absorbance à 555 mn.

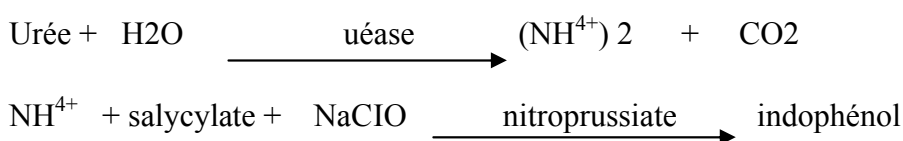
Bilirubine directe : On verse dans chaque tube (blanc et échantillon) 1,5 ml du réactif 1, ne rien ajouter au blanc. Puis on ajoute 50 μ l de réactif 3 pour chaque échantillon, on mélange et on ajoute 100 μ l de BILURUBIN CAL au blanc et 100 μ l de plasma pour chaque échantillon, après incubation à (15-25°C) pendant 5min, on lit l'absorbance à 555 mn (annexe 4).

III.3.2. Paramètres néphrétiques

III.3.2.1. Dosage de l'urée

- **Principe de la méthode**

L'hydrolyse enzymatique de l'urée donne l'ammonium (NH_4^+) et le dioxyde de carbone (CO_2). Les ions d'ammonium réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite de sodium (NaClO), en présence d'un catalyseur le nitroprussiate de sodium pour former un indophénol vert.



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'urée présente dans l'échantillon (**SPINREACT, Spain 2012**).

Mode opératoire

On verse dans chaque tube (blanc, standard et échantillons) 1.0 ml du mélange, ne rien ajouter au blanc. Puis on ajoute 10 μl d'UREA CAL dans le tube standard, et 10 μl de plasma pour chaque échantillon, et après incubation à (15-25) pendant 10mn, on ajoute 1,0 ml de R2 dans chaque tube. Après on mélange et on incube pendant 10mn à la même température, et enfin on lit l'absorbance (A) du standard et les différents échantillons à 580nm (annexe 5). La quantité de l'urée dans le plasma est exprimée en mmol/L selon la formule suivante :

Calculer les différentes valeurs	Facteur de conversion
$\frac{(A)\text{Echantillon}}{(A)\text{Standard}} \times 50 = \text{mg/dL}$	$\text{mg/ dL} \times 0.1665 = \text{mmol/L}$ <p>D'urée dans le plasma.</p>

III.3.2.2. Dosage de la créatinine

Principe de la méthode

L'analyse est basée sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium, la créatinine réagit avec le picrate alcalin, formant ainsi un complexe rouge. L'intensité de la couleur formé est proportionnelle à la concentration de la créatinine présente dans l'échantillon (SPINREACT, Spain 2012).

Mode opératoire

On verse dans chaque tube (blanc, standard et échantillons) 1,0 ml du mélange, ne rien ajouter au blanc. Puis on ajoute 100µl de CREATININE CAL dans le tube standard, et 100µl de plasma pour chaque échantillon, par la suite on mélange et on lit l'absorbance (A_1) après 30 sec, et l'absorbance (A_2) après 90 sec de l'ajout à 492 nm (annexe 6). La quantité de la créatinine dans le plasma est exprimée en µmol/L selon la formule suivante :

Calculer les différentes valeurs	Facteur de conversion
$\Delta A \text{ Echantillon} - \Delta A \text{ Blanc}$ <hr/> $\times 2 = \text{mg/dL}$	$\text{mg/dL} \times 88.4 = \mu\text{mol/L}$ de créatinine dans le plasma
$\Delta A \text{ Standard} - \Delta A \text{ Blanc}$	

III.3.3 Paramètres d'équilibre homéostatique

III.3.3.1. Dosage des protéines totales

- Principe de la méthode

Les liaisons peptidiques réagissent avec le sulfate de cuivre en milieu alcalin et donnent une coloration violette dont l'intensité mesurée à 550nm est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans l'échantillon (SPINREACT, Spain 2011).

- **Mode opératoire**

On verse dans chaque tube (blanc, standard et échantillons) 1,0 ml du mélange, ne rien ajouter au blanc. Puis on ajoute 25µl de T PROTEIN CAL dans le tube standard, et 25µl de plasma pour chaque échantillon, après incubation à (15-25°C) pendant 5min, on lit l'absorbance à 550 nm. La quantité de protéines totales dans le plasma est exprimée en g/dL (annexe 7).

III.3.3.2. Dosage du cholestérol HDL

- **Principe de la méthode**

Les VLDL (very low density lipoproteins) et les LDL (low density lipoproteins), lipoprotéines du plasma ou du sérum, se précipitent par le phosphotungstate en présence des ions de magnésium. Après centrifugation, le surnageant clair contenant les HDL est utilisé pour la détermination du cholestérol HDL.

- **Mode opératoire**

Dans un tube de centrifugation, on verse 1 ml du plasma et 100 µl de réactif R et on mélange. Après incubation pendant 10 min à une température ambiante, on centrifuge à 4000 r.p.m pendant 20 min et on récupère le surnageant, puis on mesure l'absorbance à 505 nm (annexe 8).

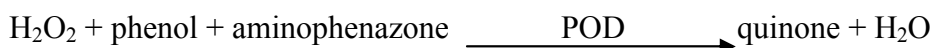
Calcul de cholestérol HDL.

CHLDL = CHT-CHDL-0,5xTG en mmol/l (SPINREACT, Spain 2011).

III.3.3.3. Dosage du glucose

Principe de la méthode

La glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) formé est détecté par un accepteur d'oxygène chromogénique phénol-aminophénazone en présence de peroxydase(POD).



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose présente dans l'échantillon (SPINREACT, Spain 2012).

- **Mode opératoire**

On verse dans chaque tube (blanc, standard et échantillons) 1,0 ml de mélange, ne rien ajouter au blanc. Puis on ajoute 10 μ l de GLUCOSE CAL dans le tube standard, et 10 μ l de plasma pour chaque échantillon, et on incube à une température ambiante (15-25°C) pendant 20-30 mn. Par la suite on lit les absorbances (A) du standard et les différents échantillons à 505nm (annexe 9). La quantité de glucose dans le plasma est exprimée en mmol/L selon la formule suivante :

Calculer les différentes valeurs	Facteur de conversion
A Echantillon _____ x 100 = mg/dL	mg/dL x 0.0555 = mmol/L de glucose dans le plasma
A Standard	

III.4. Etudes histopathologiques

III.4.1. Prélèvement d'organe

Après collection de sang, le cadavre est fixé en décubitus dorsal, sur une plaque en liège, en fixant solidement les quatre pattes à l'aide d'aiguilles de fixation. Une petite incision au niveau du périnée est pratiquée. Elle permet l'introduction d'une sonde d'incision. Suite à ça, on procède à l'autopsie de la cavité abdominale. Le rein et le foie ont été isolés pour observer les changements histopathologiques éventuels (dimension, poids, couleur, consistance, lésions, etc...).

III.4.2 Fixation

Le rein et le foie une fois isolés sont pesés puis immédiatement immergés dans une solution de formol (10%). Cette étape appelé fixation a pour buts la conservation des structures et le durcissement des tissus. Après découpage, ils sont déposés dans des cassettes en plastique (Fig .18) puis passage vers les étapes d'inclusion, coupe et coloration qui ont été effectuées au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique, CHU de Sétif.



Figure 18: Découpage des organes et dépôt dans des cassettes en plastique

➤ Déshydratation des prélèvements

L'inclusion a pour but la réalisation de coupes histologiques. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine mais comme cette dernière est hydrophobe, l'échantillon doit d'abord subir une déshydratation par immersion dans des bains d'alcool puis immergé dans des bains de toluène avant d'être infiltré par la paraffine. Pour cette raison donc les échantillons sont déshydratés par passage dans trois bains successifs de 30 min. Ethanol (70-75°, 90-95° et 100°), puis éclaircies dans deux bains de toluène pendant 20 min.

➤ Enrobage à la paraffine

Les cassettes sont immergées dans deux bains successifs de paraffine (deux bains de 2 heures chacun) pour que cette dernière s'infilte dans les échantillons (l'opération est automatisée à l'aide d'un automate TISSUE-TEK® II) (Fig. 19).

L'inclusion définitive est ensuite réalisée dans des moules métalliques (Shandon [O] Histocentre).



Figure 19: Les étapes d'inclusion par un automate (CHU de Sétif).

➤ Confection des blocs

Après leur enrobage, les cassettes sont incubées à basse température jusqu'à refroidissement de la paraffine. Le refroidissement permet l'obtention d'un bloc pour chaque prélèvement en orientant convenablement le fragment dans le sens de la coupe (Fig.20).



Figure 20: Confection des blocs

➤ Réalisation des coupes au microtome

La coupe du bloc de paraffine au microtome permet de réaliser une coupe très fine de 5 microns d'épaisseur pour chaque prélèvement (Fig.21), cette épaisseur permet aux rayons lumineux du microscope de traverser le prélèvement et d'éviter les superpositions cellulaires. La coupe est déposée et collée sur une lame en verre puis on la laisse sécher pendant une heure à 37°C.

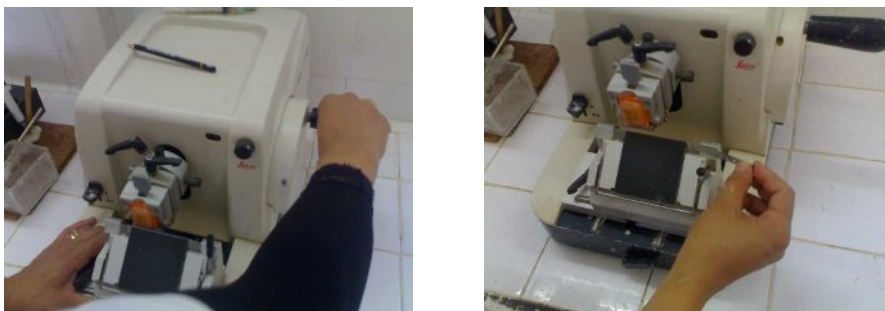


Figure 21: Réalisation des coupes au microtome (LEICA RM 2145).

➤ Déparaffinage

Les lames sont baignées dans 02 bains successifs de Xylène pendant 5 min chacun, suivi de 02 bains successifs d'éthanol à 90% et pendant 03mn chacun. Puis rincées à l'eau (Fig.22).



Figure 22: Les étapes de déparaffinage

➤ **Coloration**

Cette étape permet de mettre en évidence spécifiquement les différentes structures tissulaires et cellulaires et pour cela, on met les lames dans un bain d'hématoxyline pendant 03 min, suivi d'un bain d'éosine pendant 5 min, et on rince dans deux bains successifs d'éthanol à 90%, puis on laisse sécher (Fig.23).



Figure 23: Coloration des coupes (SHANDON [O]).

➤ **L'étude microscopique**

La visualisation microscopique est réalisée à l'aide d'un microscope optique doté d'un appareil photos <<LEICA EC3>>, qui nous a permis d'obtenir les photos des différents prélèvements, en utilisant les grossissements Gx20, Gx4, avec l'assistance d'un médecin anatomopathologiste du CHU de Sétif.

III.5. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type. L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel STATISTICA (version 5). Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA/MANOVA. Les différences sont considérées significatives à $p < 0,05$.

IV.1. Matériel végétal

IV.1.1. Rendement

Le taux d'extraction d'EM de *Nigella damascena* a été calculé par rapport à la masse de la poudre initiale et représente de 9%. Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie vu le peu de travaux concernant cette plante, d'autant plus que le rendement est relatif et semble être lié à plusieurs paramètres : aux propriétés génétiques des graines ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions et à durée de stockage, de la récolte, aux solvants utilisés ainsi qu'aux méthodes d'extraction appliquées.

VI.2. Evaluation de la toxicité

VI.2.1. Toxicité aiguë

Ce travail a pour but d'évaluer les effets toxiques de l'extrait méthanolique de la graine de *Nigella damascena* sur des souris adultes Swiss Albinos. Les études de toxicité aiguë ont été menées conformément à la Directives de l'OCDE (organisation pour coopération et développement économiques, Guideline-407, adopté le 03 octobre, 2008) avec de légères modifications où la dose limite de 2000mg/kg a été utilisée (avec un essai limite à 5 000 mg/kg).

Les observations faites au cours de notre évaluation révèlent que 5000 mg / kg est une dose bien tolérée par les souris, d'ailleurs aucun cas de mortalité liée à la substance d'essai n'a été observée à cette dose (Tableau VI).

Tableau VI: Mortalité après une dose unique de l'extrait méthanolique de ND.

Dose (mg/Kg)	Mortalité	Latence de mortalité
0	0/6	0
1000	0/6	0
2000	0/6	0
5000	0/6	0

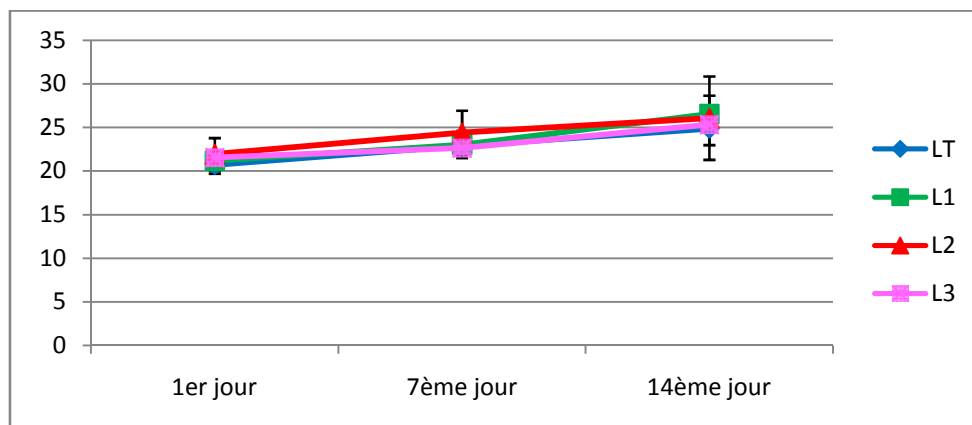


Figure 22: Variation du poids corporel des différents lots au cours de l'évaluation de la toxicité aigue. (LT : 0mg/kg ; L1 : 1000mg/Kg ; L2 : 2000mg/Kg ; L3 : 5000mg/Kg. Les valeurs sont la moyenne \pm écart-type. ($p \leq 0.05$ est considéré comme résultat significatif).

D'autant plus qu'aucun signe de toxicité n'a été observée pendant les 14 jours suivis après un traitement unique par une dose orale (Tableau VII).

Tableau VII: Symptômes toxicité suivie lors de l'étude aigue de l'extrait méthanolique de ND.

Symptômes	Lot témoin		Lots traités	
	4h	Chaque jour	4h	Chaque jour
Peau et fourrure	Normal	Normal	Normal	Normal
Yeux	Normal	Normal	Normal	Normal
Muqueuse	Normal	Normal	Normal	Normal
Comportements anormaux	/	/	/	/
Salivation	Normal	Normal	Normal	Normal
Léthargie	/	/	/	/
Somnolence	/	/	/	/
Diarrhée	/	/	/	/
Coma	/	/	/	/
Tremblements	/	/	/	/

Si on revient à la classification de toxicité selon l'échelle de Hodge et Sterner chez les rats de laboratoire (**Hodge et Sterner, 1949**) et dont laquelle une DL_{50} orale > 5000 mg/kg ($5000 < DL_{50} < 15000$ mg/kg) signifie une substance presque non toxique, on s'aperçoit que notre extrait méthanolique est donc presque non toxique.

Dans la littérature, aucune étude n'a fait l'objet du profil toxicologique ni de la plante, ni de l'un de ses composés. Seules les études de **Bekemeier et al (1967)** sur l'activité analgésique de l'alcaloïde majoritaire la damascenine montre que la DL_{50} de cette dernière est de 1800mg/kg. Compte tenu de la toxicité généralement assimilés aux alcaloïdes présentent dans les plantes, on peut déjà sur cette dimension tirer l'idée que cet alcaloïde majoritaire est légèrement toxique.

De plus l'évaluation de la toxicité sur le poids corporel pendant deux semaines n'a révélé aucune variation significative par rapport aux témoins ($p > 0.05$) (Fig.22). En effet **Jothy et al (2011)**, ont constaté que l'administration d'une dose de 5000mg/Kg/jour d'extrait méthanolique de *Cassia fistula* à des souris Swiss albinos pendant 14 jours, ne révèle aucune variation significative sur l'évolution de leurs poids corporels. Une autre évaluation réalisée par **Ha et al (2010)** sur la toxicité aigue d'extrait d'*Ojeok-san* à une dose de 2000mg/Kg/jour, n'a montrée aucun changement significatif du poids corporel des rats traités.

IV.2.2. Toxicité sub-chronique

Le traitement sub-chronique de l'EM pendant 28 jours des doses de 100 et 400mg/kg ne montre aucun des signes de toxicité. Aucune variation significative du poids corporel et de la masse des organes internes (foie et reins) n'a été observée pour les deux lots traités par rapport au lot témoin ($P > 0.05$) (Fig.23)

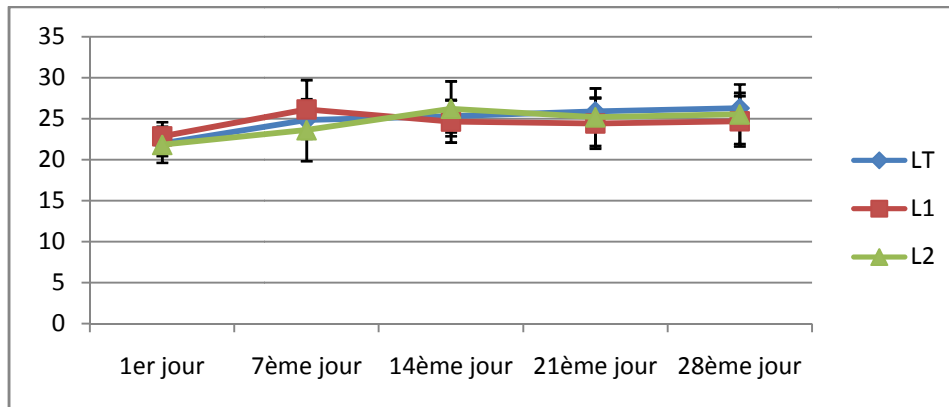


Figure 23: Variation du poids corporel des différents lots au cours de l'évaluation de la toxicité sub-chronique. (LT : 0mg/kg ; L1 : 100mg/Kg ; L2 : 400mg/Kg. Les données sont exprimées par moyenne \pm écart-type ($P \leq 0.05$ est considéré comme résultat significatif).

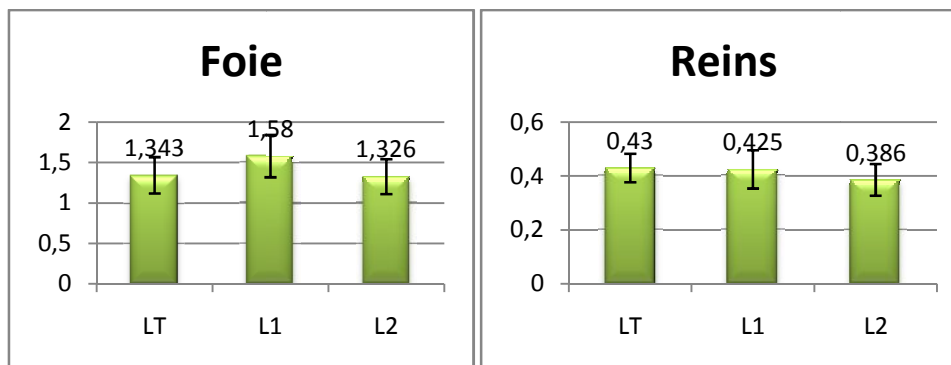


Figure 24: Poids des organes (Foie et reins) des différents lots traités et témoin dans les conditions de la toxicité subchronique par doses Lot T (0 mg/kg), Lot 1 (100 mg/kg), Lot 2 (400 mg/kg). (n = 6). Les données sont exprimées par moyenne \pm écart-type ($p \leq 0.05$ est considéré comme résultat significatif).

IV.2.2.1. Paramètres biochimiques

Le profil des paramètres biochimiques sériques après traitement oral quotidien de l'EM de la graine de *N. damascena* des groupes (Témoin « T » ; Lot 1 « L1 : 100mg/Kg » et Lot 2 « L2 : 400mg/Kg » pendant 28 jours (Tableau VIII) ne montre aucun changements cruciaux

significatifs sur les taux d'urée, glucose, bilirubine, albumine, protéines totales, cholestérol, créatinine et les activités des transaminases ALT et AST par intercomparaison.

Tableau VIII: Analyses biochimiques de traitement sub-chronique des souris males par l'extrait méthanolique de *N. damascena* avec les doses Lot T (0 mg/kg), Lot 1 (100 mg/kg), Lot 2 (400 mg/kg). (n = 6). Les données sont exprimées par moyenne \pm écart-type. ($P \leq 0.05$ est considéré significatif).

Paramètres	BIL g/L	ALT UI/L	AST UI/L	URE g/L	CRE mg/dL	GLU g/L	CHL g/L	ALB g/L	PRT g/L
Lot T	2,79 \pm 0,3	23,7 \pm 1,76	58,18 \pm 4,1	0,25 \pm 0,02	0,5 \pm 0,017	1,38 \pm 0,15	0,72 \pm 0,10	32,09 \pm 0,641	71,91 \pm 3,65
Lot 1	3,11 \pm 0,4	25,17 \pm 1,8	58 \pm 2,874	0,36 \pm 0,12	0,52 \pm 0,02	1,29 \pm 0,32	0,72 \pm 0,15	35,01 \pm 3,058	74,1 \pm 16,25
Lot 2	2,88 \pm 0,6	24,14 \pm 2,4	58,23 \pm 1,7	0,33 \pm 0,11	0,53 \pm 0,05	1,22 \pm 0,19	0,75 \pm 0,10	31,42 \pm 3,256	69,49 \pm 5,44

IV.2.2.1.1. Paramètres hépatiques

Le dosage des paramètres biochimiques hépatiques à savoir les transaminases ALAT et ASAT, l'albumine et la bilirubine a permis d'avoir les résultats suivants représentées :

Dosage de la transaminase ALAT

Les résultats du dosage de la ALAT, nous montre que le Lot1 traité par 100mg/Kg/jour, et le Lot2 traité par 400mg/Kg/jour d'EM, ne présente pas de différence significative par rapport au Lot témoin.

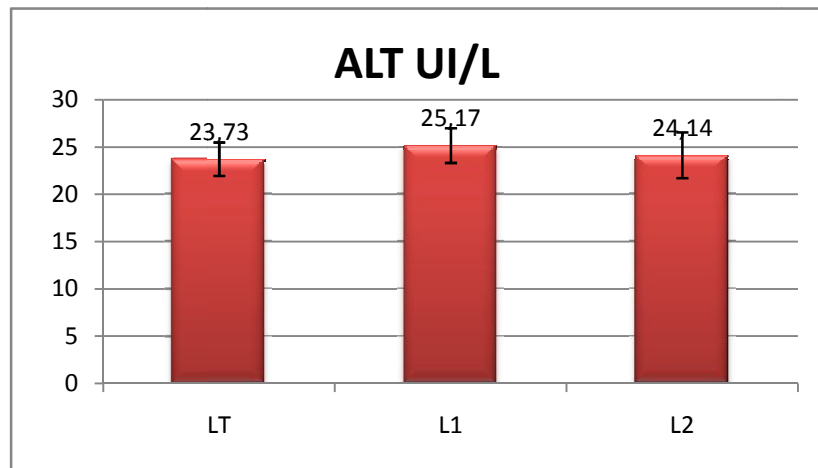


Figure 25: Dosage de l'ALT des différents lots traités et témoin dans les conditions de la toxicité subchronique par doses Lot T (0 mg/kg), Lot 1 (100 mg/kg), Lot 2 (400 mg/kg). (n = 6). Les données sont exprimées par moyenne \pm écart-type ($p \leq 0.05$ est considéré comme résultat significatif).

Dosage de la transaminase ASAT

Les résultats du dosage de l'ASAT, nous montre que le Lot1 traité par 100mg/Kg/jour, et le Lot2 traité par 400mg/Kg/jour d'EM, qui présentent des concentrations de (58 ± 4.115 UI/L et 58.23 ± 2.874 UI/L, respectivement), ne présente pas des différences significatives par rapport au Lot témoin qui est de (58.18 ± 1.78 UI/L).

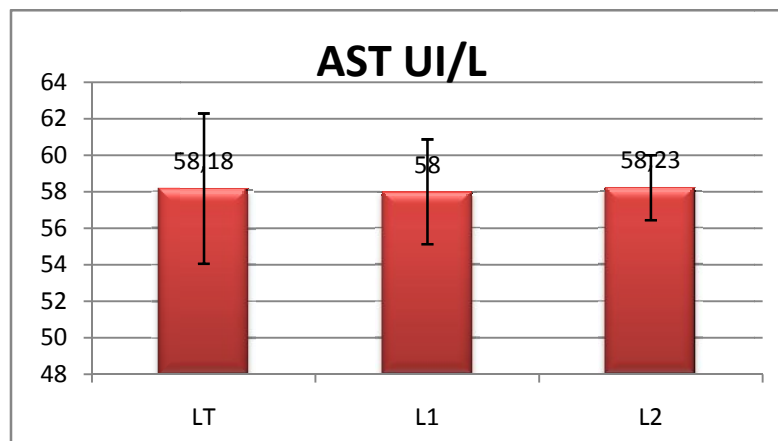


Figure 26: Dosage de l'ASAT des différents lots traités et témoin dans les conditions de la toxicité subchronique par doses Lot T (0 mg/kg), Lot 1 (100 mg/kg), Lot 2 (400 mg/kg). (n = 6). Les données sont exprimées par moyenne \pm écart-type ($p \leq 0.05$ est considéré comme résultat significatif).

Dosage de l'albumine plasmatique

En comparant les résultats du lot1 traité par 100mg/Kg/jour et lot2 traité 400mg/Kg/jour, qui présentent des concentrations (35.01 ± 3.058 g/L, 31.42 ± 3.256 g/L, respectivement) à celle du

lot témoin qui est de $(32.09 \pm 0.641 \text{g/L})$, on remarque une légère variation entre les différents lots (figure)

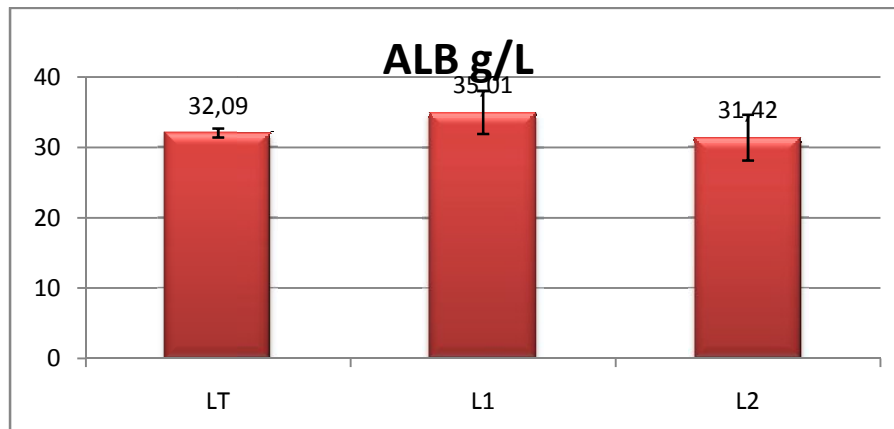


Figure 27: Dosage de l'Albumine des différents lots traités et témoin dans les conditions de la toxicité subchronique par doses Lot T (0 mg/kg), Lot 1 (100 mg/kg), Lot 2 (400 mg/kg). (n = 6). Les données sont exprimées par moyenne \pm écart-type ($p \leq 0.05$ est considéré comme résultat significatif).

Dosage de la bilirubine

D'après les résultats de dosage de la bilirubine, le lot1 traité par 100mg/Kg/jour et le lot2 traité par 400mg/Kg/jour, qui présentent des concentrations de $(3.11 \pm 0.467 \text{g/L})$ et 2.88 ± 0.647 respectivement) ne présente pas de différence significative par rapport au témoin qui est de $(2.79 \pm 0.31 \text{g/L})$.

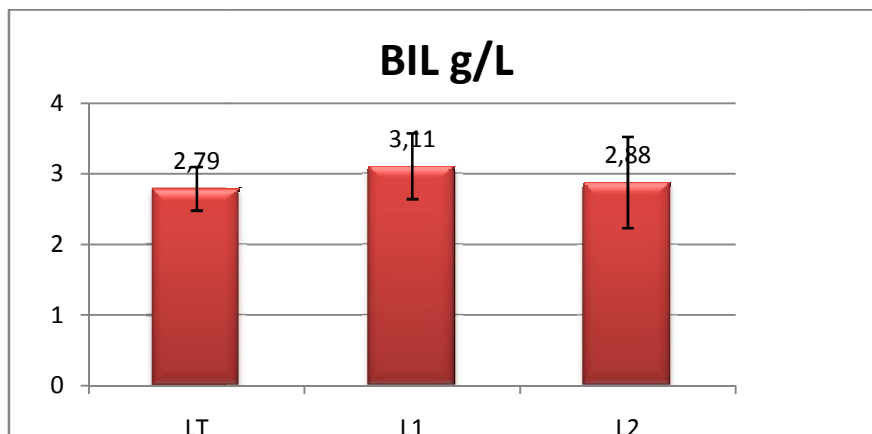


Figure 28: Dosage de l'Albumine des différents lots traités et témoin dans les conditions de la toxicité subchronique par doses Lot T (0 mg/kg), Lot 1 (100 mg/kg), Lot 2 (400 mg/kg). (n = 6). Les données sont exprimées par moyenne \pm écart-type ($p \leq 0.05$ est considéré comme résultat significatif).

IV.2.2.1.2. Paramètres néphrétiques

Les résultats du dosage de l'urée et la créatinine, nous montrent que le lot1 traité par 100mg/Kg/jour, et le lot2 traité par 400mg/Kg/jour, qui présentent des concentrations de ($58\pm 0.124\text{g/L}$ et $58.23\pm 0.115\text{g/L}$ respectivement), ne présentent pas de différence significative par rapport au lot témoin qui est de ($58.18\pm 4.115\text{g/L}$) après intercomparaison ($p > 0.05$).

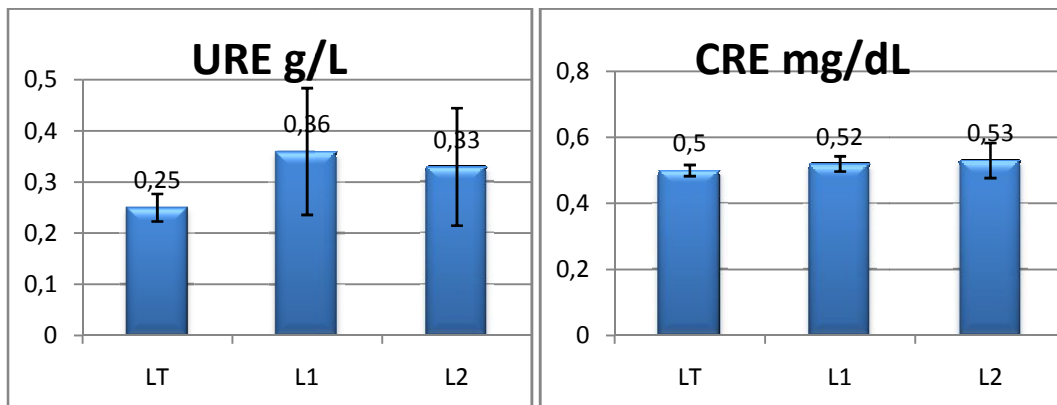
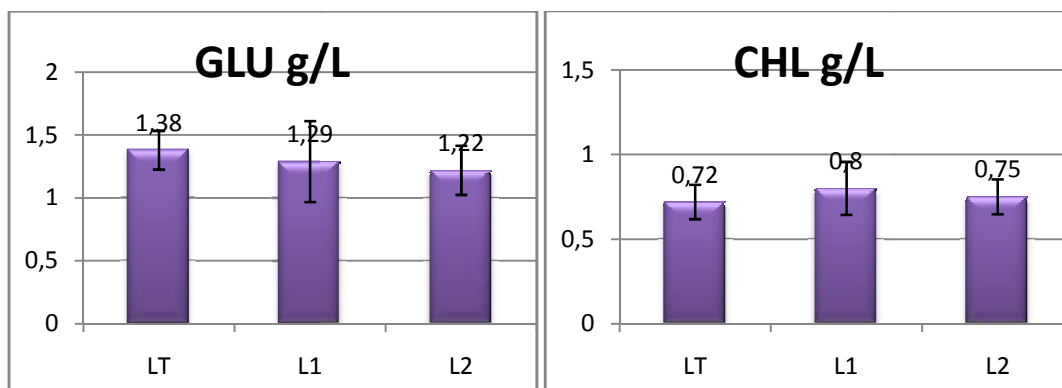


Figure 29: Paramètres sériques d'évaluation de la fonction rénale (urée et créatinine) des différents lots traités et témoin dans les conditions de la toxicité subchronique par doses Lot T (0 mg/kg), Lot 1 (100 mg/kg), Lot 2 (400 mg/kg). (n = 6). Les données sont exprimées par moyenne \pm écart-type ($p \leq 0.05$ est considéré comme résultat significatif).

IV.2.2.1.3. Paramètres d'équilibre homéostatique

Le traitement sub-chronique de l'EM de la graine de *N.damascena* n'entraîne aucune variation significative ($P > 0.05$) des teneurs sériques en cholestérol, en glucose et en protéines totales chez les souris expérimentales après intercomparaison.



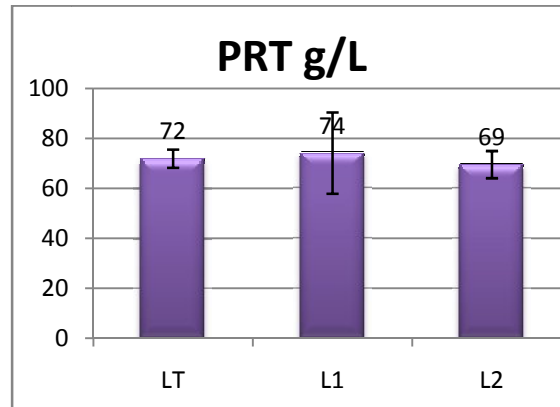


Figure 30: Paramètres sériques d'évaluation de l'équilibre homéostatique (glucose, cholestérol et protéines totales) des différents lots traités et témoin dans les conditions de la toxicité subchronique par doses Lot T (0 mg/kg), Lot 1 (100 mg/kg), Lot 2 (400 mg/kg). (n = 6). Les données sont exprimées par moyenne \pm écart-type ($P \leq 0.05$ est considéré comme résultat significatif).

Toxicité sub-chronique

Le traitement sub-chronique de l'EM pendant 28 jours des doses de 100 et 400mg/kg ne montre aucun des signes de toxicité. Selon les rapports, la réduction du poids du corps et des organes internes sont considérées comme des indices sensibles de la toxicité après une exposition à une substance toxique (**Suriyavadhana et Tpakutharivu., 2011**). Aucune variation significative du poids corporel et de la masse des organes internes (foie et reins) n'a été observée pour les deux lots traités par rapport au lot témoin. Lors de l'étude de la toxicité sub-chronique d'extrait standard du *Fumaria indica*, **Gireesh et Vikas (2011)**, ont montré que l'administration de cet extrait à des doses de 100 et 400mg/Kg/jour pendant 30 jours ne révèle aucun changement significatif du poids corporel des souris.

Paramètres hépatiques

L'administration de l'EM pendant 28 jours n'a provoqué aucun changement significatif ($P > 0.05$) de l'activité sérique d'AST, d'ALT, de bilirubine et d'albumine dans les deux lots ayant reçu les doses de 100 et 400mg/kg d'extrait par intercomparaison. Les travaux de **Das et al (2011)** sur la toxicité sub-chronique de *Clerodendron infortunatum* à une dose de 500mg/Kg/jour pendant 28 jours, montrent que le dosage des paramètres biochimiques AST et ALT ne présentent pas de différence significative par rapport au témoin. Par contre, **Mukinda et al (2010)** ont constaté une augmentation significative d'AST et d'ALT lors de l'étude de la toxicité sub-chronique de l'extrait aqueux de *Polygala fruticosa* à une dose de 1g/Kg/jour pendant 30 jours. Nos résultats ressemblent à ceux de **Gireesh et Vikas (2011)**

lors de l'étude de la toxicité sub-chronique d'extrait standard du *Fumaria indica*, qui ont montré que l'administration de cet extrait à des doses de 100 et 400mg/Kg/jour pendant 30 jours ne révèle aucun changement significatif dans le taux d'albumine et de bilirubine.

Le foie est l'un des organes à diverses activités fonctionnelles. Les hépatocytes participent à une variété d'activités métaboliques d'où leur richesse en enzymes (**Singh et al., 1998**). A l'issue d'une atteinte de la membrane hépatocytaire (destruction ou une augmentation de la perméabilité membranaire), les substances normalement contenues dans l'hépatocyte vont être relarguées dans les sinusoides et leur concentration dans le sang périphérique va augmenter. Leur augmentation sérique reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique. Ces résultats sont donc en faveur d'une physiologie hépatique normale.

Paramètres néphrétiques

La fonction rénale est appréciée par le dosage de la créatinine et de l'urée sériques. Ces métabolites, produits finis issus du métabolisme des protéines, ont une concentration généralement constante dans les conditions normales (**Whitby et al., 1988**). En effet selon **Marshall et al., (2005)**, la variation de la concentration sérique de la créatinine peut être en relation avec la masse musculaire. Ces résultats sont donc en faveur d'une physiologie rénale normale. Leur augmentation ou leur diminution reflète un dysfonctionnement rénal (**Sirwal et al., 2004**). Ces taux ne varient pas chez les souris traités recevant les doses de 100 et 400mg/kg de l'EM par rapport aux témoins ($P < 0,05$), marquant une fonction rénale normale, ce qui concorde avec les résultats d'étude de **Zaoui et ses collaborateurs (2002)**, qui ont constaté, qu'après 12 semaines de traitement par l'huile fixe de *Nigella sativa* à une dose de 1ml/Kg/jour, les concentrations en acide urique et créatinine n'ont pas augmenté considérablement, comparées aux valeurs des rats normaux.

Paramètres d'équilibre homéostatique

Ces résultats ressemblent aux travaux de **Nirankush et al (2012)**, qui après l'administration d'une dose de 200mg/Kg/jour d'extrait de *Cocos nucifera* pendant 28 jours, n'ont constatés aucune différence significative des concentrations du cholestérol par rapport au groupe témoin. Par contre dans l'étude de la toxicité sub-chronique faite par **Tahraoui et al (2010)**, l'administration de l'extrait aqueux *Centaurium erythraea* à des doses de 100, 600 et 1200 mg/Kg/jour pendant 90 jours montre une diminution significative de la concentration du

glucose et des triglycérides sériques. Nos résultats reflètent donc des métabolismes glucidique, lipidique et protéique normaux.

IV.3. Étude histopathologique

IV.3.1. Histologie hépatique

Le foie des souris témoins présente un aspect normal sans modification hépatique, avec un parenchyme d'architecture lobée. Chaque lobe est constitué d'hépatocytes agencés en travées de Remak disposé autour d'une veine centrale appelée veine centrolobulaire qui reçoit le sang à partir du parenchyme hépatique au contact des sinusoides. Les travées de Remak sont constituées d'hépatocytes empilés en lames épithéliales d'une seule cellule d'épaisseur alors que les sinusoides occupent les espaces entre les travées (Fig.31).

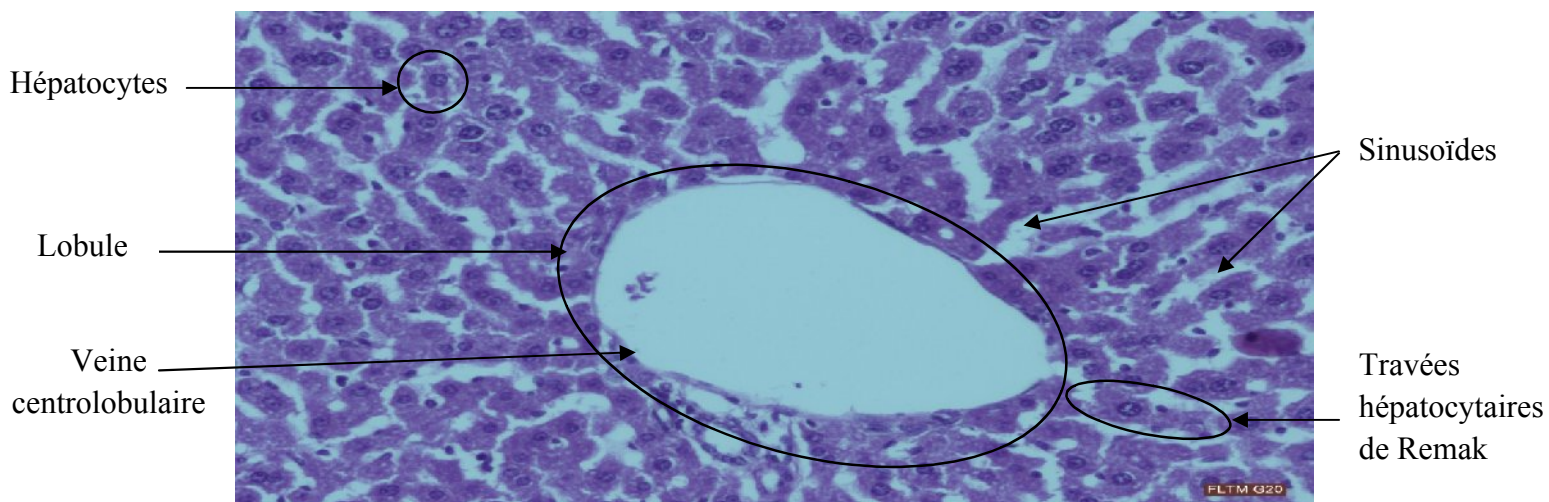


Figure 31: Parenchyme hépatique d'une souris témoin (Gx20).

L'examen microscopique du foie des souris traitées par 100mg /Kg d'EM de *Nigella damascena* ne montre aucun changement significatif, et présente un parenchyme hépatique normal par rapport au souris témoin (Fig.32).

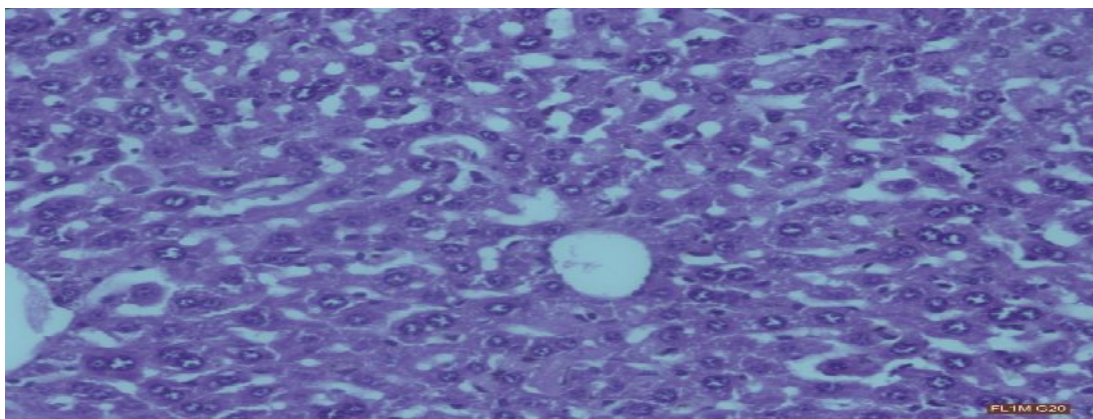


Figure 32: Parenchyme hépatique d'une souris du lot1 (100mg/Kg/jour) (Gx20).

Le foie des souris de lot2 (traitées par 400mg/Kg/jour) présente les mêmes structures hépatiques que le lot témoin, avec de légères dilatations des vaisseaux sanguins.

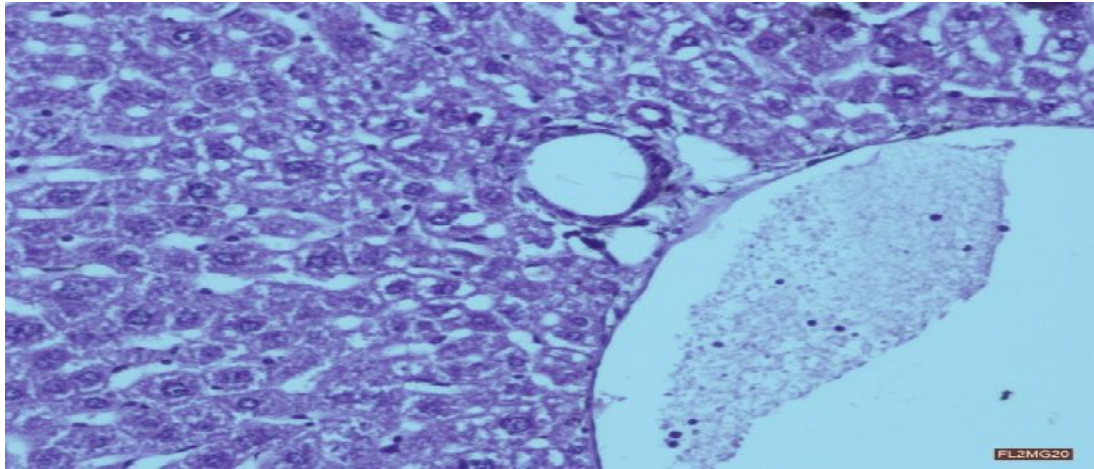


Figure 33: Parenchyme hépatique d'une souris de lot2 (400mg/Kg/jour) (Gx20).

IV.3.2. Histologie rénale

Les reins des souris témoins présentent une architecture normale avec capsule conjonctivo-adipeuse. Dans la zone cortical, nous observons de petites masses sphériques, les glomérules, qui sont entourés d'une capsule (la capsule de Bowman). Ces derniers assurent la filtration glomérulaire du sang, passage de l'eau et des composés de faible poids moléculaire dans le tube urinaire, où une large proportion de ces derniers est réabsorbée, le reste constitue l'urine (fig.34).

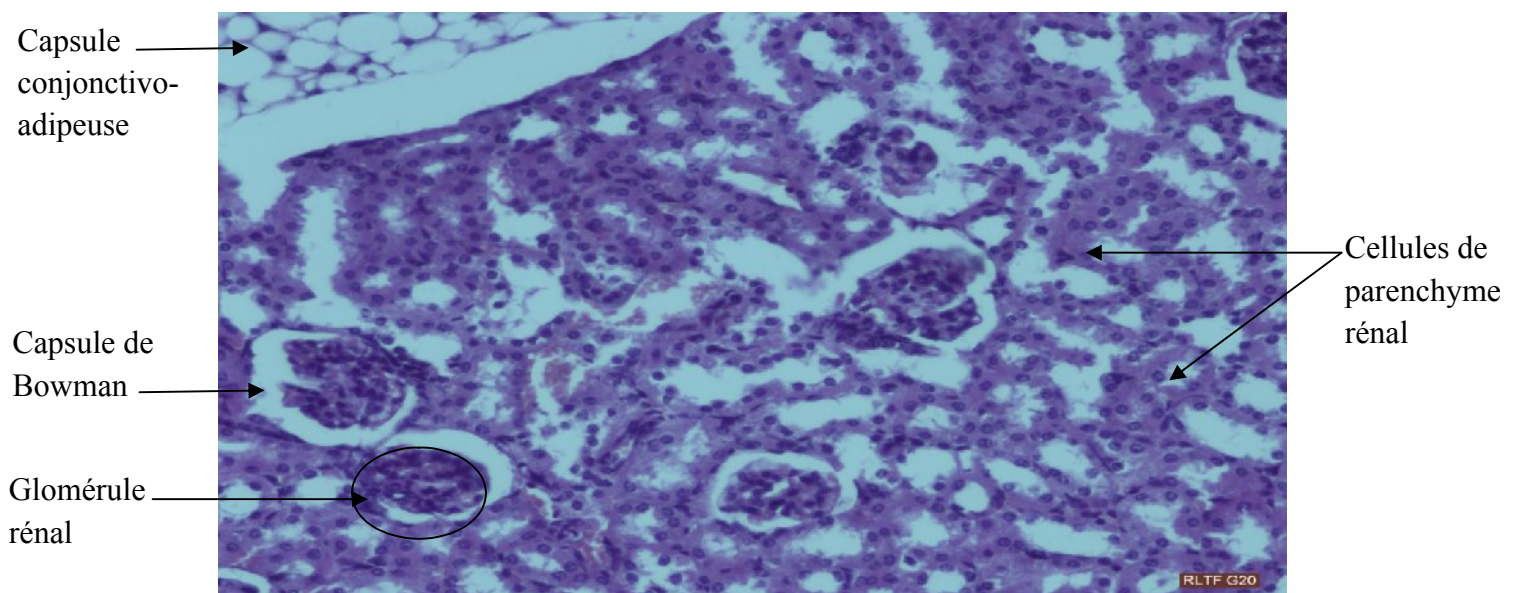


Figure 34: Parenchyme rénal d'une souris témoin (Gx20).

Les reins des souris traitées par 100mg/Kg/jour d'EM de *Nigella damascena* ne présentent pas de modifications au niveau de parenchyme rénal, on remarque des agrégats lymphoïdes sous forme d'infiltrats inflammatoires mononucléés, mais ces altérations restent non significatives (fig.35) et peuvent se présenter chez des souris normales (D'après l'Anatomopathologiste).

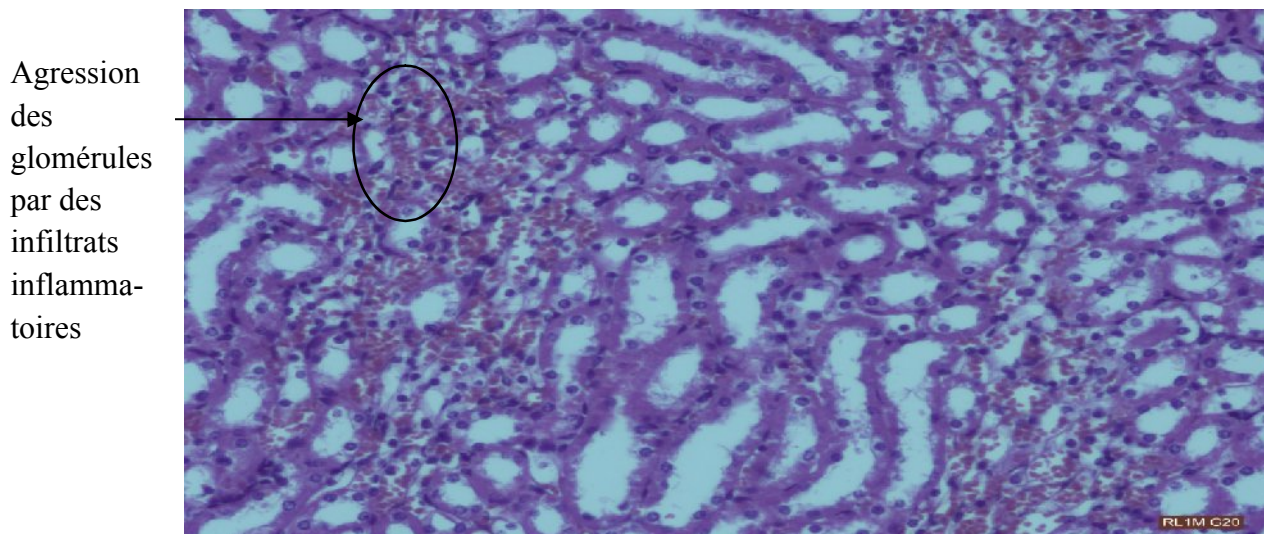


Figure 35: Parenchyme rénal d'une souris de lot 1(100mg/Kg/jour) (Gx20).

Les reins des souris traitées par 400mg/kg/jour d'EM de *Nigella damascena* ne présentent pas de modifications au niveau d parenchyme rénal et des glomérules rénaux (fig.36).

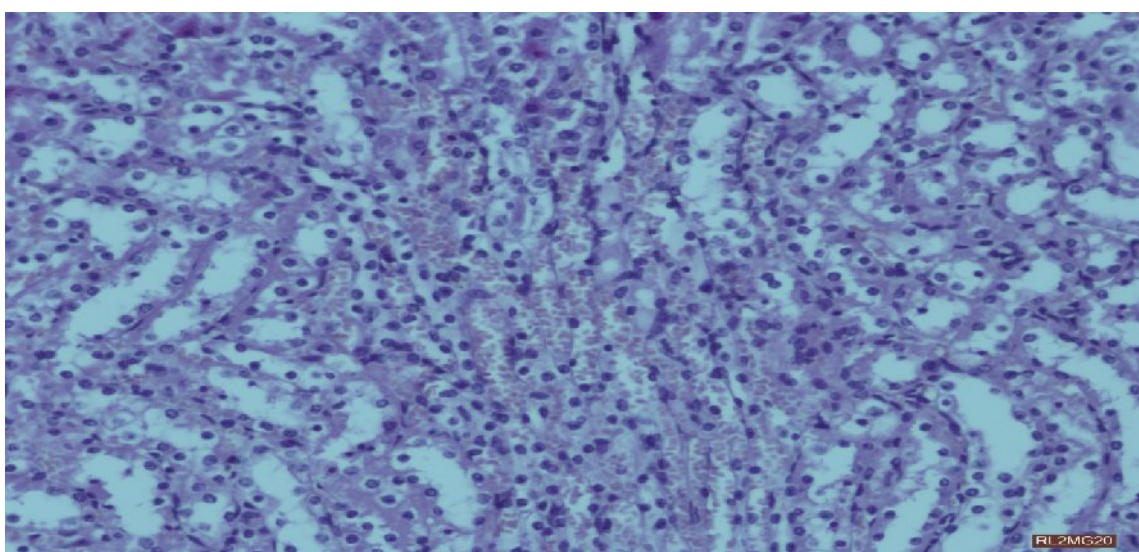


Figure 36: Parenchyme rénal d'une souris de lot 2 (400mg/Kg/jour).

Histopathologie hépatique

D'après l'étude histopathologique du foie des souris témoins, on constate que ce dernier a une architecture normale sans aucune modification hépatique au niveau du parenchyme, des espaces portes et même au niveau des veines centrolobulaire, ce qui confirme que les souris sont saines et ne présentent aucune anomalie hépatique.

En comparant l'aspect du foie des souris de lot1 et lot2 traitées par (100mg/Kg/jour et 400mg/Kg/jour respectivement), avec celui de lot témoin, on note aucune modification significative du parenchyme hépatique. Les études menées par **Atsamo (2011)**, ont montrées que l'administration quotidienne par voie orale d'extrait aqueux *Erythrina senegalensis* à une dose de 1200mg/Kg/jour, ne révèle aucune altération hépatique. En effet, lors de l'étude de la toxicité aigue et sub-chronique de *Diospyros cordifolia*, **Das et ses collaborateurs (2011)** n'ont détectés aucune altération hépatique chez les souris traitée par l'extrait méthanolique de *Diospyros cordifolia* à une dose de 50mg/Kg/jour pendant 28 jours.

Histopathologie rénale

D'après l'étude histopatologique des reins des souris témoin, on constate que ces derniers ont un aspect normal sans aucune modification rénal au niveau de la capsule conjoncto-adipeuse, des cellules de parenchyme rénal, des glomérules et même au niveau des tubes rénaux, ce qui confirme que les souris sont saines et ne présentent aucune anomalie néphrétique.

Aucun changement histopathologique significatif au niveau des reins de lot1 et lot2 traités par (100mg/Kg/jour et 400mg/Kg/jour respectivement) n'a été observé. Néanmoins, un discret infiltrat inflammatoire lymphocytaire a été observé au niveau des reins du lot 1 qui n'est pas considéré comme pathologique et que l'on peut observer chez des souris saines. **Biswas et al (2011)**, n'on observé aucune néphrotoxicité lors de l'étude histopathologique des reins des souris traitées par l'extrait méthanolique de *Terminalia Arjuna* à une dose de 200mg/Kg/jour pendant 28 jours.

En conclusion ces résultats histopathologiques sont en parfaite corrélation avec les analyses biochimiques qui n'ont montré aussi aucune altérations des paramètres hépatiques et rénales confirmant que la graine de *N. damascena* peut se classer parmi les plantes non ou très faiblement toxique.

V. Conclusion

Nigella damascena L est connue pour plusieurs vertus thérapeutiques. Ses activités pharmacologiques sont attribuées à ses différents composants chimiques (huiles essentielles, polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes...) mais peu travaux ont fait l'objet sur cette plante.

L'analyse phytochimique de l'extrait méthanolique des graines de ND, a montré que ce dernier est beaucoup plus riche en polyphénols qu'en flavonoïdes.

L'étude de la toxicité aiguë d'extrait méthanolique des graines de *Nigella damascena*, après l'administration orale d'une dose unique de 1000, 2000 et 5000mg/Kg, n'a montré aucun signe de toxicité, ni sur le comportement, ni sur l'évolution du poids total des souris traitées.

L'étude de la toxicité sub-chronique d'extrait méthanolique des graines de *Nigella damascena* après son administration orale à des doses de 100 et 400mg/Kg/jour pendant 28 jours, n'a montré aucun effet sur les paramètres sanguins, hépatiques et néphrétiques, à savoir les transaminases AST/ALT, albumine, bilirubine, protéines totales, urée, créatinine, cholestérol et le glucose.

Lors de l'étude histopathologique du foie et des reins, aucun changement histopathologique significatif n'a été observé au niveau de ces deux organes..

La comparaison des différents résultats du bilan hépatique, néphrétique et ceux de l'étude histopathologique, indique que l'administration orale de l'extrait méthanolique des graines de *Nigella damascena* pendant 28 jours à des doses de 100 et 400mg/Kg/jour, ne présente pas d'effet toxique sur les deux organes étudiés.

L'extrait méthanolique de la graine de *N. damascena* semble non toxique et les études biochimiques et histopathologiques confirme cette conclusion.

En perspectives, il serait important de réaliser des études de toxicité chronique soient pour voir s'il y'aura des effets toxiques à long terme. Par ailleurs, une étude approfondie de la toxicité serait nécessaire pour parvenir à déterminer la DL₅₀. On a travaillé sur l'état brut, c'est pourquoi nous avons utilisé des doses élevées pour les présents tests. Pour palier à cela, il est préférable de fractionner l'extrait brut et tester chaque composé a part (polyphénols, flavonoïdes et alcaloïdes). Une étude de la pharmacocinétique peut fournir des informations sur la voie empruntée par notre extrait.

- **Agradi E., Fico G., Gillo F., Francisci C., Tom F (2001).** Estrogenic Activity of phenolic compounds from *Nigella damascena* Evaluated Using a Recombinant Yeast screen. *Planta Med*, 67:553-555.
- **Agradi E., Fico G., Gillo F., Francisci C., Tome F (2002).** Estrogenic Activity of *Nigella damascena* Extracts, Evaluated Using a Recombinant Yeast screen. *Phytotherapy research*, 16:414-416.
- **Andreas G.H., Oeggel K (2005).** The old evidence of *Nigella damascena* L. (Ranunculaceae) and its possible introduction to central Europe. *Veget hist Archaeobot*, 14:562-570.
- **Atsamo A.D., Nguenefack T.B., Datté J.Y., Kamanyi A. (2011).** Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 134 : 697–702
- **Bach-Ngohou K, Bettembourg A, Le Carrer D, Masson D, Denis M (2004).** Évaluation clinico-biologique de la dénutrition, *Ann Biol Clin*; 62 (4) : 395-403.
- **Bach-Ngohou K, Schmitt S, Le Carrer D, Masson D, Denis M. (2005).** Les dysalbuminémies, *Ann Biol Clin*; 63 (2) : 127-34.
- **Bekemeier H., Leuschner G., Schmollack W (1967).** Antipyretic, antiedematous and analgetic effects of damascenin in comparison with acetylsalicylic acid and phenylbutazone. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 168(1):199-211.
- **Biswas M, Karan T.K, Bhattacharya S, Kumar R.B.S, Ghosh A.K, Haldar P.K.(2011).** Acute and sub-chronic toxicity study of *Terminalia arjuna* leaf in swiss albino mice. *Pharmacologyonline* 1: 366-371.
- **Boizot N et Charpentier J.P (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'INRA, pp : 79-82.
- **Borel J., Chanard J., Gougeon J., Leutenegger M., Potron G., Randoux A., Zeitoun P (1981).** Comment prescrire et interpréter un examen de biochimie. *Edition Maloine*, pp : 93-94.
- **Boulanger P., Polonovski J., Bisert G., Dautrevaux M (1981).** Biochimie médicale, métabolisme et régulation. 2^{ème} Edition Masson, pp 213.

- **Boulanger P., Polonovski J., Bisert G., Dautrevaux M (1985).** Biochimie médicale, métabolisme et régulation. 2^{ème} Edition Masson, pp: 149.
- **Brückner C (1993).** A survey on herbal galactagogue used in Europe. *Actes du 2^{ème} Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11eme Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg*, pp : 140-145.
- **Burtis C.A, Ashwood E.R, Bruns DE. WB Saunders Co (2005).** Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th Edition; pp: 50-61
- **Claverie I et Hedde H (2008).** Pharmacologie générale, mécanismes fondamentaux, 2^{ème} Editions Porphyre, pp : 48-61.
- **D'antuono L.F., Moretti A., Lovato A.F.S (2002).** Seed yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella Sativa L.* and *Nigella damascena L.* *Industrial Crops and Products*, 15:59-69.
- **Dadandi M.Y., Kökdil G., Ilcim A., Özbilgin B (2009).** Seed macro and micro morphology of the selected *Nigella* (Ranunculaceae) taxa from Turkey and their systematic significance. *Biologia*, 64 (2): 261—270.
- **Dalmas V., Brémond-Gignac D., Douard R., Dupont S., Latrémouille C., Le Minor J.M., Pirro N., Sèbe P., Vacher C., Yiou R (2009).** In: Anatomie générale. Edition Elsevier Masson, pp : 173.
- **Das S. Bhattacharya S., Biswas M., Kar B., Kumar R.B.S., Pramanik G., Haldar P.K.(2011).** Acute and sub-chronic toxicity study of *diospyros Cordifolia* stem bark in swiss albino mice. *Pharmacologyonline*, 3: 109-114.
- **Diane, Nicole et Yves (2007).** Les jardins de grand portage. *Catalogue de semences biologiques et activités*, pp :12.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna A., Stocker C., Vidal N (2005).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*, 97: 654–660.
- **Durand et Beaudeau. (2008).** Biochimie médicale, marqueurs actuels et perspectives. *Edition Médicales Internationales*, pp271.
- **Ewins A.J (1912).** The constitution and synthesis of damascenine, the alkaloid of *Nigella damascena*. *VINSA, J. J. Chern. Soc.* 101: 544.
- **Fico G and Tomè F (1998).** Alkaloids in *Nigella damascena seeds*: An hypothesis of their biological role. *Europ J Pharmaceutical Sci* 6, (suppl 1): S79.

- **Fico G, Braca A, Tomè F et Morelli I (2001).** A new phenolic compound from *Nigella damascena* seeds. *Fitoterapia*, 72: 462-463.
- **Fico G., Panizzi L., Flamini G., Braca A., Morelli I., Tomè F et Cioni P.L (2004).** Biological Screening of *Nigella damascena* for Antimicrobial and Molluscicidal Activities. *Phytotherapy. Research*, 18: 468–470.
- **Fouraste I (2000).** Rappel de la toxicité de quelques plantes. *Revue Française des Laboratoires*, N ° 323 : 51-55.
- **Frank C.LU. (1992).** Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. *Edition Masson, Paris*, pp: 175- 202.
- **Friedman and R.B Young D.S. (2000):** Effects of disease on clinical laboratory tests. 5th ed. *AACC*, pp: 60-75.
- **Friedman R.B and Young D.S . (2001):** Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. *AACC Press*, pp: 22-30.
- **Gaw A, Murphy M.J, Cowan R.A, O'Reilly D.St.J, Stewart M.J, Shepherd J (2004).** Biochimie clinique, *Edition Elsevier*, pp : 52-57.
- **Gireesh K Singh, Vikas K (2011).** Acute and sub-chronic toxicity study of standardized extract of *Fumaria indica* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 134 : 992–995.
- **Gueguen Y, Rouas C, Leblond F.A (2012).** Les biomarqueurs d'atteinte rénale, *Néphrologie & Thérapeutique*, 8 :146–155.
- **Guignard J.L. (2001).** In « Botanique systématique moléculaire ». 12^{ème} *Edition Masson, Paris*, pp: 304.
- **Ha H., Lee J.K., Lee H.Y., Seo C.S., Kim J.H, Lee M.G, Koh W.S, Shin H.K (2010).** Evaluation of safety of the herbal formula Ojeok-san: Acute and sub-chronic toxicity studies in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 131 : 410–416.
- **Hanelt P. (2001).** Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops. *Edition Springer German*, pp: 160.
- **Hodge H.C and Sterner J.H (1949).** Tabulation of Toxicity Classes. *American Industrial Hygiene Association Quarterly*, 10 (4): 93-96.
- **Hosseinzadeh.H., Parvardeh.S., Nassiri.M., Aslb., Sadeghniab.A.R, Ziaeeec.T (2007).** Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus. *Phytomedicine*, 14:621-627.

- **Javorcova V, Vaklavic J, Kubiimova R, Muselik J (2011).** Comparaison of Antioxydant activity and phenolic content in different extract of *Nigella sativa*, *Nigella orientalis* and *Nigella damascena*. *Acta fytotechnica et zootechnica Special Number Nitra*, pp: 1-4.
- **Jothy S.L., Zakaria Z., Chen Y., Lau Y.L., Latha L., Sasidharan S. (2011).** Acute Oral Toxicity of Methanolic Seed Extract of *Cassia fistula* in Mice. *Molecules*, 16 : 5268-5282.
- **Kamoun P., Lavoigne A., Verneurl H (2003).** Biochimie et biologie moléculaire. Edition Flammarion, pp : 350.
- **Kökdil G et Yilmaz H. (2005):** Analysis of the fixed oils of the genus *Nigella* L. (Ranunculaceae) in turkey. *Biochemical systematic and Ecology*, 33:1203-1209.
- **Koolman J et Roehm K.H (2005).** Color Atlas of Biochemistry. 2nd Edition Thieme, pp: 336-337.
- **Landa P., Marsik P., Vanek T., Rada V., KoKosKa L. (2006).** In vitro antimicrobial activity of extracts from the callus cultures of some *Nigella* species, *Biologia Bratislava*, 61(3):285-288.
- **Lullmann H et Klaus Mohr (2006) :** Rôle du foie dans la dégradation des médicaments, dans : « Atlas de poche de pharmacologie », 3^{ème} édition Flammarion, pp : 32.
- **Marchall.W et Bangert.S.K (2005).** Biochimie médicale, physiopathologie et diagnostic. Edition Elsevier, pp : 59-99.
- **Marieb E.N, Lachaine R (2008).** Biologie humaine, Edition Pearson, pp: 547-549.
- **Matthaus B et Özcan M.M (2011).** Fatty Acids, Tocopherol, and Sterol Contents of Some *Nigella* Species Seed Oil. *Czech J. Food Sci*, 29: 145–150.
- **Mohan L.V.; Mothes K.; Engelbrecht L. & Schroter H.B. (1965).** Biosynthesis of damascenine in *Nigella damascena* L. *Nature*, 12: 1421-1428.
- **Moretti A., D'Antuono L. F. et Elementi S. (2004).** Essential oils of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. Seed. *Journal of Essential Oil Research*, 16: 182-183.
- **Mukinda J.T, Eagles P.F.K. (2010).** Acute and sub-chronic oral toxicity profiles of the aqueous extract of *Polygala fruticosa* in female mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 128 : 236–240.
- **Nirankush P., Rajarshi R., Sanjib B., Biswas M. (2012).** Acute and sub-chronic toxicity study of *Cocos nucifera* leaf extracts in mice. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research* .2 (2) 74-81.

- **Palese R. et Aexmoun D. (1990).** Renonculacées: Isopyrum, *Garidella*, *Nigella*. Dans « la grande flore en couleurs de gaston Bonier ». *Edition Belin, Paris*, 4 : 23-24.
- **Raman K., Greyson R.I (1975).** Changes during development in the compartmentalization patterns of extractable gibberelline-like substance in single and double genotypes of *Nigella damascena*. *Can J.Bot*, 55 (15):2115-2121.
- **Ramé A et Théron S (2007).** Anatomie et physiologie. *Edition Elsevier Masson*, pp 201-254.
- **Reichl F.X (2004).** Toxicologie générale. Dans « Guide pratique de toxicologie » 2^{ème} édition *De Boeck*, pp : 6.
- **Ribéreau-Gayon P. (1968).** Propriétés chimiques des phénols. Dans « les composés phénoliques des végétaux ». *Edition Dunod, Paris*, pp : 28-57.
- **Ribéreau-Gayon P. (1982).** Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod, Paris*, pp : 174-214.
- **Rochu D. (1986).** L'albumine humaine : Structure, synthèse et fonctions, *Revue Française de Transfusion et Immuno-hématologie*, Tome XXIX -- N° 1, pp : 13-33.
- **Russmann S, Lauterburg B.H (2002).** Lésions hépatiques toxiques médicamenteuses, *Forum Med Suisse N° 44*, pp : 1044-1050.
- **Serge B (1985).** Biochimie clinique, instrument et technique de laboratoire , diagnostics médico-chirurgicaux .2^{ème} Edition *Maloine*, pp175.
- **Silbernagl S et Despopoulos A (2008).** Nutrition et digestion. Dans « Atlas de poche de physiologie ». *Médecine Sciences Publications*, 4^{ème} édition, pp : 212-216.
- **Singh B., Saxena A.K., chandan B.K., anand K.K., Suri O.P., Suri K.A., Satti N.K. (1998).** Hepatoprotective activity of verbena on experimental liver damage in rodents. *Fitotherapia*, 2 (69) : 135-140.
- **Sirwal IA., Banday KA., Reshi AR., Bhat MA., Wani M.M (2004).** Estimation of Glomerular Filtration Rate (GFR). *JK Science*. 6: 121-123.
- **Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L (2003).** Biochimie. 5^{ème} Edition *Flammarion, Paris*, pp: 356.
- **Suriyavadhana M et Tpakutharivu P (2011).** Evaluation of Acute and Sub Acute Toxicity of Ethanol Extracts of *Entada pursaetha*, *Toddalia aculeata*, and *Ziziphus mauritiana*. *World J Life Sci. and Medical Research*, 1(2): 43-47.

- **Tacherfiout M. (2008).** Caractérisation physico-chimique et profils des protéines de réserves des graines de *Nigella sativa* et *Nigella damascena*. *Thèse de magister. Université de Béjaia*.
- **Tahraoui A, Israili Z.H, Lyoussi B (2010).** Acute and sub-chronic toxicity of a lyophilised aqueous extract of *Centaureum erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 132 : 48–55.
- **Tanis H., Aygan A et Digrak M (2009).** Antimicrobial Activity of Four *Nigella* Species Grown in Southern Turkey. *International Journal of Agriculture & Biology*, pp: 1560–8530.
- **Teuscher E., Anton R et Lobestesein A (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielle. *Edition; TEC & DOC, Paris*, pp : 343.
- **Toma C.C., Mogosanu C., Hanganu D (2007).** A pharmacological study of the anti inflammatory action of vegetal products obtained from the aerial parts and seeds of *Nigella Sativa* and *damascena*. *TMJ*, 57:78-80.
- **Tulukcu E (2011).** A comparative study on fatty acid composition of black cumin obtained from different regions of Turkey, Iran and Syria. *African Journal of Agricultural Research*, 6(4), pp: 892-895.
- **Uccian E. (1995).** Nouveau dictionnaire des huiles végétales: composition en acide gras. *édition ; TEC & DOC, Paris*, pp : 395.
- **Valdigué P (2000).** Biochimie Clinique. 2^{ème} Editions Médicales internationales, Cedex, pp : 247-279.
- **Viala.A et Botta.A (2007).** Toxicologie. 2^{ème} Editions TEC & DOC. Cedex, pp: 19-22.
- **Voet D et Voet J.B (2005).** Biochimie. 2^{ème} Edition, pp : 942.
- **Whitby I.G., Smith A.F., beckett, G.J (1988).** Lecture note of clinical chemistry. 4th Edition, blackwell scientific publications, oxford, pp: 153-154.
- **Zaitoun S., Al-Ghzawi A.M., Samarah N., Alqudah A (2008).** Comparative Study in Seed Yield and Flowers Attractivity to Bee Visitors Between *Nigella Sativa L.* and *Nigella Damascena L.* (Ranunculaceae). Grown Under Semiarid Conditions. *Ital. J. Agron. / Riv. Agron*, 2:125-130.
- **Zaoui A., Cherrah Y., Alaoui A., Mahassini N., Amarouch H., Hassar M. (2002).** Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine* 9: 69–74.

- ❖ **Allélopathie** est l'ensemble de plusieurs interactions biochimiques directes ou indirectes, positives ou négatives, d'une plante sur une autre (micro-organismes inclus) au moyen de métabolites secondaires tels les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes
- ❖ **Aménorrhée** : L'aménorrhée est l'absence ou la cessation des règles chez la femme en âge de procréer.
- ❖ **Analgésique** : remède destiné à réduire la sensibilité à la douleur
- ❖ **Antidote** : contrepoison
- ❖ **Biopsie** : Une biopsie, c'est le prélèvement chirurgical d'un fragment de tissu ou d'organe.
- ❖ **Carminatif** : un aliment carminatif est aliment qui favorise l'expulsion des gaz résultants de la fermentation intestinale, tout en réduisant leur production.
- ❖ **Catarrhales** : Se dit d'un type spécial d'inflammation séreuse ou œdémateuse combinant l'exsudation albumineuse à une hypersécrétion muqueuse des glandes de certaines régions de l'organisme (par exemple bronchite catarrhale).
- ❖ **Cholestase** : diminution ou arrêt de la sécrétion biliaire (défaut de transport des acides biliaires du foie vers l'intestin).
- ❖ **Cholestérolémie** : Présence ou quantité de cholestérol dans le sang.
- ❖ **Coprostanol** : lipide de la famille des stérols, présent dans les matières fécales. Il résulte de la dégradation du cholestérol (une réduction, au sens chimique du terme), effectuée par les bactéries de la flore intestinale .
- ❖ **Diabète insipide** : maladie se caractérisant par une impossibilité des reins à concentrer les urines, entraînant une polyurie (émission d'une trop grande quantité de liquide dans les urines) accompagnée d'une soif intense.
- ❖ **Diurétique** : se dit d'une substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire et qui peut être utilisé notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, certains œdèmes, l'hypertension portale ou l'hypokaliémie.
- ❖ **Dyslipidémie** : C'est une anomalie du taux des lipides dans le sang, les lipides représentant un ensemble de molécules diverses comme les acides gras libres , le cholestérol, les triglycérides , les phospholipides.

- ❖ **Emménagogue** : c'est une plante médicinale qui stimule le flux nerveux dans les régions pelviennes de l'utérus.
- ❖ **Étanchéité** : L'étanchéité physique concerne l'interdiction de passage d'un solide, d'un fluide ou d'un gaz.
- ❖ **Hypoxie** : Diminution de la quantité d'oxygène distribuée par le sang aux tissus. L'hypoxie est la conséquence de l'hypoxémie (diminution de la quantité d'oxygène contenue dans le sang).
- ❖ **Iatrogène** : Se dit d'un trouble, d'une maladie provoqués par un acte médical ou par les médicaments, même en l'absence d'erreur du médecin.
- ❖ **Ictère** : Familièrement appelé "jaunisse", l'ictère est la coloration jaune de la peau, des muqueuses, et du blanc de l'œil (sclérotique).il est dû à l'excès de bilirubine dans le sang.
- ❖ **Maladie de Tangier** : maladie rare, transmise sur le mode récessif. Elle résulte de mutations du gène ABCA1, qui entraînent une diminution sévère du taux de HDL-cholestérol sanguin (en général < 0,1 g/l).
- ❖ **Médecine folklorique** : médecine traditionnelle.
- ❖ **Osmolarité** : est la concentration d'un milieu, ceci fait appel à la notion d'osmose, qui est la diffusion d'un solvant à travers une membrane semi-perméable qui sépare 2 solutions de concentrations différentes.
- ❖ **Pléthoniques** : personnes ayant un excès du taux des lipides dans le sang .
- ❖ **Pression oncotique** : force qui attire l'eau en direction des protéines. Lorsque le sang manque de protéines, de l'eau va fuir des vaisseaux en direction des tissus environnants.
- ❖ **Sternutatoire** : qui provoque des éternuements, des réflexes d'expulsion de l'air par le nez ou la bouche.
- ❖ **Veine jugulaire** : veine au niveau du cou.
- ❖ **Veine splénique** : Grosse veine (on parle plus précisément de tronc veineux) constituée par le rassemblement de la veine splénique (de la rate) et de la veine mésentérique supérieure et inférieure. La veine porte permet de drainer en direction du foie : le sang de la rate et des organes digestifs (viscères de l'abdomen).
- ❖ **Vermifuge** : qui permet l'élimination des vers parasite de l'intestin.
- ❖ **Xénophobe** : est la peur irraisonnée, malade de ce qui est étranger. Pour l'organisme c'est la stimulation des systèmes de défense contre un corps étranger.

Matériel

Agitateur

Balance

Balance de précision

Barrou magnétique

Bécher

Broyeur électrique MOULINEX

Boite de pétri

Centrifugeuse

Entonnoir

Etuve

Fioles

Gants chirurgicaux

Micropipette 5-50 μ l

Microscope

Microtome

Pipette 5ml

Spectrophotomètre

Seringues

Sonde de gavage

Tubes héparinés

Trousse à dissection contenant, des aiguilles, des pinces hémostatiques, la sonde cannelée, la paire de ciseaux fins, de gros ciseaux, aiguilles de fixation etc.

Produits

Acide gallique

Carbonate de sodium

Chloroforme

Chlorure d'Aluminium AlCl_3

Eau physiologique

Formol 10%

Méthanol

Quercétine

Réactif de Folin-Ciocalteu

Les réactifs utilisés

- Annexe 1 : Alanine aminotransferase (ALT)

R1	Tris PH 7,3	150 mmol/L
	L-alanine	750 mmol/L
	lactate-déshydrogénase	> 1350 U/L
R2	NADH	1,3 mmol/L
	2-oxoglutarate	75 mmol/L
	hydroxyde de sodium	148 mmol/L
	sodium azide	9,5 g/L

- Annexe 2 : Aspartate aminotransferase (AST)

R1	Tris PH 7,8	121 mmol/L
	L-aspartate	362 mmol/L
	Malate-déshydrogénase	> 460 U/L
	lactate-déshydrogénase	> 660 U/L
R2	NADH	1,3 mmol/L
	2-oxoglutarate	75 mmol/L
	hydroxyde de sodium	148 mmol/L
	sodium azide	9,5 g/L

- Annexe 3 : Albumine

R	Bromcresol vert pH 4.2	0.12 mmol/L
ALBUMIN CAL	Albumine standard primaire aqueux (Etalon)	50mg/dL

- Annexe 4 : Bilirubine

R1	Acide sulfanilique	30mmol/L
	Acide hydrochlorique	150mmol/L
R2(T)	Acide sulfanilique	30mmol/L
	Acide hydrochlorique	50mmol/L
	Diméthylsulfoxyde DMSO	7mol/L
R3	Nitrite de sodium	29mmol/L
Standard	ALBUMIN CAL	Ref : 1002250

- Annexe 5: Urée

R 1 Buffer	Phosphate pH 6.7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Sodium salicylate	400 mmol/L
	Sodium nitroprusside	10 mmol/L
R 2 NaClO	Sodium hypochlorite (NaClO)	140 mmol/L
	Sodium hydroxide	150 mmol/L

R 3 Enzymes	Uréase	30000 U/L
UREA CAL	Urée standard primaire aqueux	50 mg/dL

- **Annexe 6 : Créatinine**

R1 Tampon	Acide picrique	17.5 mmol/L
R2 Réactif picrique	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/L
CREATININE CAL	Créatinine standard primaire aqueuse	2mg/dL

- **Annexe 7 : Protéines totales**

R Biuret	sodium potassium tartrate sodium iodide Potassium iodide Copper (II) sulfate	15 mmol/L 100mmol/L 5mmol/L 19mmol/L
T PROTEIN CAL	Albumine Bovine standard primaire aqueux	7g/dL

- **Annexe 8 : Cholestérol**

R Precipitating Reagent	Acide phosphotungstique Chloride magnesium	14 mmol/L 2 mmol/L
Optional	Cholesterol	Ref.1001092 Ref.1001903

- **Annexe 9 : Glucose**

R1	TRIS pH 7.4 Phénol	92 mmol/L 0.3 mmol/L
R2	Glucose Oxidase (GOD) Peroxidase (POD) 4-Aminophoenazone (4-AP)	15000U/L 1000U/L 2.6 mmol/L
GLUCOSE CAL	Glucose standard primaire aqueux (Etalon)	100mg/dL

Résumé:

Nigella damascena (Renonculacée) est une plante annuelle herbacée utilisée dans la médecine orientale pour le traitement des affections catarrhales, aménorrhées et comme diurétique ; la poudre des graines est utilisée comme sternutatoire. Aucune étude systématique de la toxicité n'a été faite. Cette étude est portée pour déterminer le profil de la toxicité de l'extrait méthanolique (EM) de ND sur des souris. Dans l'étude de la toxicité aigue, des souris Swiss albinos des deux sexes ont reçues oralement des doses l'EM de 1, 2 et 5g/Kg et observées pour les changements comportementaux et la mortalité. Dans l'étude de la toxicité sub-chronique, des souris Swiss albinos males ont reçues deux dose d'EM ; 100 et 400 mg/Kg/poids corporel. pendant 28 jours consécutifs. Pendant 28 jours de traitement, les souris sont observées pour tous changements dans le poids corporel. Après 28 jours consécutifs, les souris sont sacrifiées pour les études biochimiques et histopathologiques. Aucune mortalité ou comportement anormal, n'a été observé dans l'étude de la toxicité aigue sur les souris pour toutes les trois doses. Dans l'étude de la toxicité sub-chronique, il n'ya aucune différence statistiquement significative pour le glucose, cholestérol, bilirubine, aspartate transaminase (AST), alanine aminotransférase (ALT), urée, créatinine, protéines totales et albumine paramètres observés entre les groupes. L'étude histopathologique révèle une architecture normale du foie et des reins des souris traitées par l'EM.

Mots clés : Toxicité aigue et subchronique, Extrait méthanolique, Nigella damascena, souris.

Abstract:

Nigella damascena (Ranunculaceae) is an herbaceous annual plant used in Oriental herbal medicine for the treatment of catarrhal affections, amenorrhoea and as a diuretic; powdered seeds are used as sternutatory. No systematic study of the potential toxicity of the plant has been described. This study thus aimed to determine the toxicity profile of a 100% methanolic extract (ME) of ND in mice. In acute toxicity study, Swiss albino mice of either sex were administered orally ME doses of 1, 2 and 5g/kg and observed for behavioral changes and mortality. In sub-chronic toxicity study, Swiss male's albino mice were administered two doses of ME i.e., 100 and 400mg/kg, p.o. for 28 consecutive days. During 28 days of treatment, mice were observed for any change in body weight. After 28 days, mice were sacrificed for biochemical and histopathology study. There was no mortality or abnormal behavior, observed in acute toxicity study in mice at all the three dose levels. In sub-chronic toxicity study, there were no statistical differences in glucose, cholesterol, bilirubine, aspartate transaminase (AST), alanine aminotransferase (ALT), urea, creatinine, total protein and albumin parameters observed between groups. Histopathological study revealed normal architecture of kidney and liver of ME treated mice.

Key words : Acute and subchronique toxicity, Methanolic extract, Nigella damascena, mice.