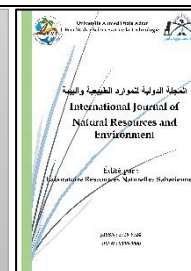




International Journal of Natural Resources and Environment

Journal home page: <https://ijnre.univ-adrar.dz>

ISSN 2710-8724



I
J
N
R
E

Etude histologique de foie et des reins des souris traitées par différentes concentrations d'alcaloïdes de *Matricaria pubescens*

Hassiba Metrouh-Amir¹, Nadir Amir^{2*}, Akila Amir-Tahi³

¹Laboratoire de Biotechnologies Végétales et Ethnobotanique, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université de Bejaia, Route de Targa-Ouzemour, 06000 Bejaia, Algérie.

²Laboratoire de maîtrise des énergies renouvelables, équipe biomasse et environnement, faculté de technologie université de Bejaia, Route de Targa-Ouzemour, 06000 Bejaia, Algérie.

³Laboratoire de Biophysique, Biomathématiques, Biochimie et Scientométrie, Université de Bejaia, Route de Targa-Ouzemour, 06000 Bejaia, Algérie.

* Corresponding author: nadir.amir@univ-bejaia.dz (N. Amir)

Article details: Received: 14 October 2022, Revised: 10 décembre 2022, Accepted: 18 Decembre 2022

Résumé:

Matricaria pubescens est une plante saharienne très utilisée en médecine et préparations traditionnelles. La présente étude a été consacrée à analyser des coupes histologiques de foie et des reins des souris traitées par les alcaloïdes de *Matricaria Pubescens* à différentes concentrations (200, 400 et 800 mg/Kg) pendant 28 jours. L'extraction des alcaloïdes a été réalisée dans un milieu acide. Le protocole d'extraction appliqué a permis de donner un rendement de 1.13%. L'observation microscopique, a montré que les différentes coupes histologiques rénales et hépatiques des souris traitées avec les différentes concentrations de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*, ont présenté une architecture normale. L'analyse microscopique de ces coupes histologiques, n'a mis en évidence aucune anomalie ou différence comparées à celles du témoin. Les résultats obtenus démontrent l'absence de toxicité subaiguë de l'extrait alcaloïdique sur ces organes jusqu'à la dose 800 mg/Kg. Les résultats de ce travail pourraient justifier l'utilisation traditionnelle de *Matricaria pubescens*.

Mots clés : *Matricaria pubescens*, alcaloïdes, coupes histologiques, toxicité subaiguë, *in vivo*.

Abstract:

Matricaria pubescens is a Saharan plant widely used in medicine and traditional preparations. The present study was devoted to analyzing histological sections of the liver and kidneys of mice treated with *Matricaria pubescens* alkaloids at different concentrations (200, 400 and 800 mg/Kg) for 28 days. The extraction of the alkaloids was carried out in an acid medium. The extraction protocol applied gave a yield of 1.13%. Microscopic observation showed that the different renal and hepatic histological sections of the mice treated with the different concentrations of the alkaloid extract of *M. pubescens* presented a normal architecture. Microscopic analysis of these histological sections did not reveal any anomalies or differences compared to those of the control. The results obtained demonstrate the absence of subacute toxicity of the alkaloid extract on these organs up to a dose of 800 mg/Kg. The results of this work could justify the traditional use of *Matricaria pubescens*.

Keywords: *Matricaria pubescens*, alkaloids, histological sections, subacute toxicity, *in vivo*.

1. Introduction

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal, voire l'unique recours de nos aïeux pour leur médication, cependant, malgré le développement de l'industrie pharmaceutique, les plantes médicinales et les remèdes qu'on pouvait en tirer ne furent jamais totalement abandonnés et les gens ne cessèrent de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à perpétuer une tradition thérapeutique ancestrale [1].

M. pubescens est une plante très utilisée en médecine traditionnelle en Algérie et notamment par les populations du Sahara central et septentrional [2] en vue de son usage contre les troubles gastro-intestinaux, les rhumatismes, les douleurs des maladies infectieuses, la dysménorrhée, la toux, les maladies oculaires,...etc [3].

Les recherches phytochimiques sur *M. pubescens* ont permis de mettre en évidence la présence de différents types de composés chimiques ; tanins, flavonoïdes (flavonoïdes aglycones et flavonoïdes glycosylés), alcaloïdes, saponines, terpènes, stéroïdes, cardénolides [4] et huiles essentielles [5,6].

Matricaria pubescens est une plante très utilisée en médecine traditionnelle en Algérie notamment par les populations du Sahara central et septentrional. Bien que relativement abondante et très utilisée pour le traitement de plusieurs maladies, très peu d'études ont été menées sur la toxicité de cette plante.

La toxicité d'une substance se reflète généralement sur le foie ou le rein en induisant des dégénérescences cellulaires et des nécroses, qui se traduisent par l'hypotrophie ou l'hypertrophie de ces deux organes. Pour cette raison, le présent travail consiste à déterminer l'effet toxique des alcaloïdes de *M. pubescens* sur des souris, après administration orale des doses de 200, 400 et 800 mg/kg/jours pendant 28 jours et à étudier et analyser les coupes histologiques du foie et des reins.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Préparation du matériel végétal

La plante *M. pubescens* a été récoltée dans la wilaya de Ouargla durant le mois de mars 2017. Après la récolte, l'échantillon a été séché, réduit en poudre puis tamisée.

2.2. Choix des animaux et conditions d'hébergement

Pour évaluer la toxicité subaiguë *in-vivo* de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*, des souris femelles de variété Wistar ont été utilisées.

2.3. Extraction des alcaloïdes de *M. pubescens*

Les alcaloïdes totaux de *M. pubescens* ont été extraits selon le protocole de Makkar et al. (2007)[7] avec quelques modifications. 10g de poudre ont été mélangés avec 100mL d'acide acétique à 15% (dans le méthanol). Après 72h de macération une filtration a été réalisée, le filtrat récupéré est alcalinisé avec de l'ammoniaque jusqu'à PH = 9. Après la filtration, l'extrait est concentré, puis alcalinisé par l'addition de quelques gouttes d'ammoniaque. La solution obtenue a été extraite par le chloroforme jusqu'à épuisement total. La phase organique obtenue a été concentrée. Le résidu sec obtenu représente les alcaloïdes.

2.4. Détermination du taux d'extraction

Le rendement de l'extraction en alcaloïdes est déterminé comme suit :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = \frac{P_1 - P_0}{E} \times 100$$

Avec :

- P_0 est le poids du bécher vide (g),
- P_1 est le poids du bécher après évaporation du solvant (g) et
- E est le poids de l'échantillon initial (g).

2.5. Etude de la toxicité subaigüe des alcaloïdes de *M. pubescens*

La toxicité subaigüe a été déterminée selon les méthodes de l'article de l'OCDE n°407 (2008)[8]. Cette étude a été réalisée dans le but de rechercher les organes et les fonctions touchés par un toxique administré quotidiennement, en une période de 28 jours.

Après une nuit de jeûne, l'administration de l'extrait aux souris qui ont été réparties sur 4 lots de 6 souris chacun, a été réalisée avec un volume constant de 0.5mL/souris. Le lot I (lot témoin), a reçu uniquement de l'eau physiologique (NaCl 0.9 %), alors que les lots II, III et IV ont été traités respectivement, avec 200,400 et 800mg d'alcaloïdes/Kg.

2.6. Prélèvement d'organes et réalisation des coupes histologiques

A la fin de l'expérience, les animaux ont été sacrifiés. Le foie et les reins ont été prélevés, lavés avec de l'eau physiologique puis fixés dans une solution de formol à 10%. Après fixation, les organes ont été découpés en tranches fines (2-3 mm sur 1-2 cm). Ces coupes ont subi une déshydratation en les plongeant dans 7 bacs d'alcool éthylique de concentration croissante (70 à 100°). Les tissus déshydratés ont été baignés dans le xylène.

Les fragments d'organe ont été placés par la suite dans un moule métallique remplis par de la paraffine fondue, puis incubés dans le réfrigérateur jusqu'à durcissement de la paraffine. Après, refroidissement les blocs formés ont été débités à l'aide d'un microtome, afin d'obtenir des coupes plus au moins fine (4 à 6 microns d'épaisseur). Les coupes réalisées ont été déposées sur des lames puis collées à l'aide d'une solution d'eau gélatinée, puis laissées sécher pendant une nuit à 37°C. Pour se débarrasser de la paraffine, les lames ont été baignées dans 2 bains successifs de xylène pendant 15 mn chacun, suivi de 3 bains successifs d'éthanol à (100, 90 et 70%) pendant 3 min chacun, puis rincées avec de l'eau distillée.

Afin de mettre en évidence les différentes structures tissulaires et cellulaires, les lames ont été mises dans un bain d'hématoxyline, puis rincées à l'eau courante, suivi d'un bain d'éosine, puis rincées rapidement avec de l'eau. Les lames ont été immergées dans trois bains d'éthanol à des concentrations croissantes (70 à 100°) pendant 2 min chacun, puis dans un bain de xylène de 2 à 3 min, suivi finalement d'un séchage

3. Résultats et Discussions

3.1. Le rendement d'extraction des alcaloïdes

L'extraction des alcaloïdes totaux à partir de *M. pubescens* est obtenue par macération en utilisant comme solvant d'extraction le méthanol acidifié. Cette extraction est basée sur leur différence de solubilité et sur leur basicité en milieu acide, ce qui a permis de donner un taux d'extraction de 1.13%.

Suau et al. (2002) [9] ont rapporté que *Fumaria bastardii* et *Fumaria capreolata* ont des teneurs en alcaloïdes totaux plus faibles que celle trouvée dans *M. pubescens*, avec des valeurs allant de 0,41 à 0,52

%, tandis que Benhammou et al. (2013) [10] ont rapporté que *Anabase articulata* a présenté le rendement le plus élevé, avec un taux de 5,95 %. Chin et al. (2013) [11] ont montré que *Camellia sinensis* a des teneurs en alcaloïdes comprises entre 1,99 et 5,88 %.

3.2. Etude histologique

La toxicité se définit comme étant l'ensemble des effets néfastes provoquant des lésions morphologiques et fonctionnelles dans un organisme vivant, suite à l'administration d'une substance à dose unique relativement élevée ou à des petites doses longtemps répétées [12].

L'analyse des coupes histologiques hépatiques des souris traitées avec les différentes doses de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*, n'a montré aucune désorganisation architecturale ou un quelconque infiltrat lymphocytaire aux niveaux de la veine centro-lobulaire ou de l'espace porte (absence de signe d'inflammation). L'observation microscopique, des coupes histologiques hépatiques des souris témoins, a montré un aspect normal sans modification hépatique. Les cellules parenchymateuses du foie (les hépatocytes) sont agencées en travées de Remak et se regroupent en lobules, grossièrement de forme hexagonale. Les hépatocytes sont empilés en lames épithéliales d'une seule cellule d'épaisseur alors que les sinusoides occupent les espaces entre les travées de Remak. Le sang venant des espaces portes converge, par les sinusoides vers une petite veine hépatique terminale (veine centro-lobulaire), dans chaque lobule.

L'observation microscopique, a montré que les différentes coupes histologiques rénales des souris témoins, ont présenté une architecture normale, avec un parenchyme cortical contenant de nombreux petits amas ronds dispersés ; qui sont les glomérules de Malpighi entourés de capsules de Bowman. Dans le reste du cortex et en dehors des glomérules, le parenchyme est constitué d'un lacs de tubes. La zone médullaire est constituée exclusivement de tubes (canaux tubulaires) entourés de cellules. L'analyse microscopique de toutes les coupes histologiques rénales des souris traitées avec les différentes doses de l'extrait de *M. pubescens*, n'a mis en évidence aucune anomalie ou différence comparées à celles du témoin.

L'analyse des coupes histologiques du foie et des reins après coloration à l'hématoxyline et à l'éosine, a confirmé que les souris n'ont pas présenté d'anomalies hépatique ou rénale.

Les résultats démontrent l'absence de toxicité subaiguë de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* jusqu'à la dose 800 mg/Kg.

Ouahchia et al. (2017) [13] rapportent que les coupes histologiques de foie et des reins des rats traités aux doses 800 mg/Kg, montrent une architecture hépatique et rénale conservée, sans signe de cytolyse inhérente à une éventuelle toxicité des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs, il n'a pas été constaté de lésion organique ni de fibrose au niveau rénal ou hépatique. Ce qui est en accord avec les résultats trouvés.

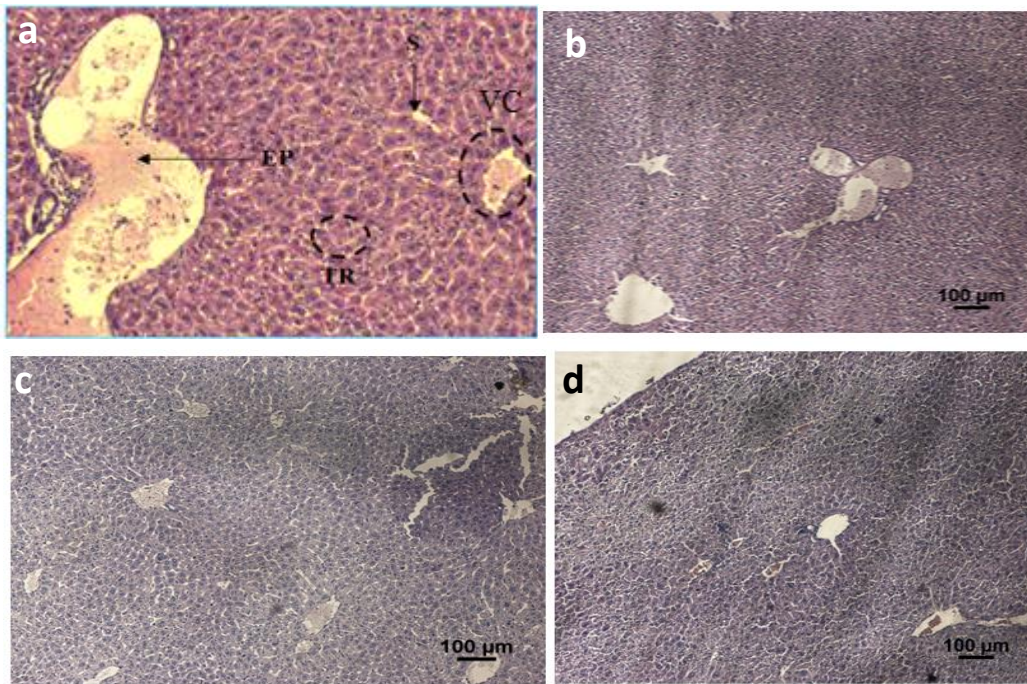


Figure 1. Coupes histologiques hépatiques des souris témoins. a : traitées par 200, b : 400, c : à 800 mg d'alcaloïde de *M. pubescens* /Kg et d : (X 10).

VC : Veine centro-lobulaire, EP : Espace porte ; TR : Travées de Remak, S : Sinusoïdes.

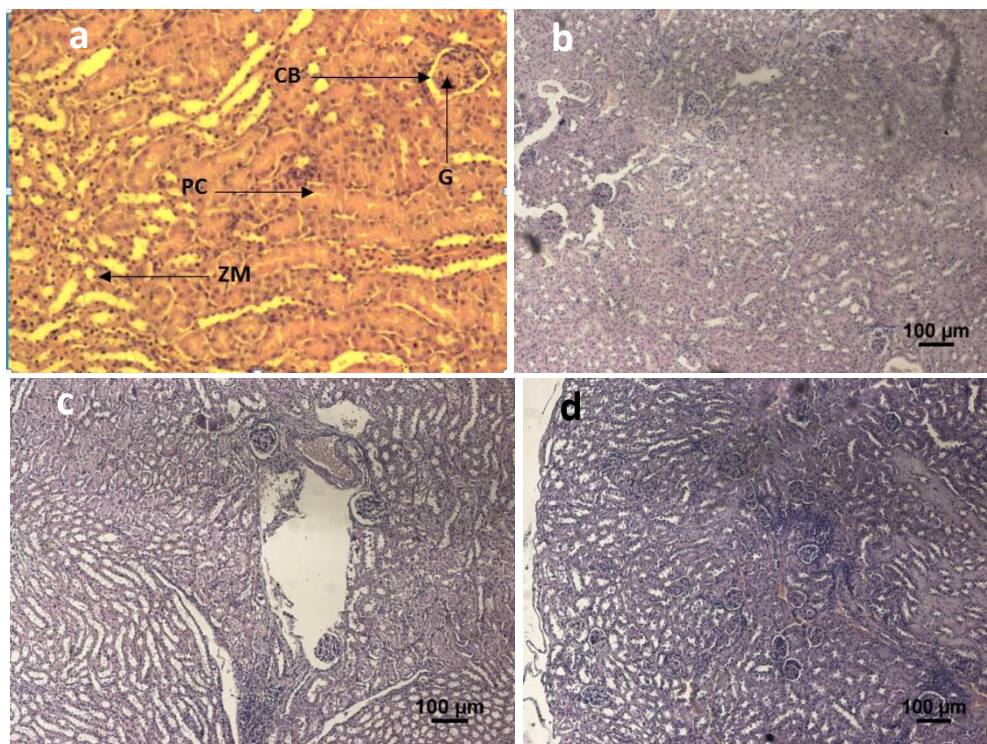


Figure 2. Coupes histologiques rénales des souris témoins. a : traitées par 200, b : 400, c : 800 mg d'alcaloïde de *M. pubescens*/Kg et d : (X 10).

G : Glomérule ; CB : Capsule de Bawman ; PC : Parenchyme cortical ; ZM : Zone médullaire.

4. Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des maladies vient habituellement de la croyance qu'elles présentent une très faible toxicité du fait de leur origine naturelle. Le présent travail a été consacré à évaluer la toxicité subaiguë des alcaloïdes de *M. pubescens* sur le foie et les reins des souris. L'observation et l'analyse des coupes histologiques du foie et des reins des souris traitées par l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* à différentes doses (200, 400 et 800 mg/kg/jours) pendant 28 jours, n'a pas montré aucune anomalies hépatique ou rénale. Les résultats démontrent l'absence de toxicité subaiguë de l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens* jusqu'à la dose 800 mg/Kg, ce qui justifie son utilisation traditionnelle.

Références

- [1] H. Metrouh-Amir, N.Amir, "Evaluation in vivo of anti-inflammatory and analgesic properties of *Matricaria pubescens* alkaloids". *South African Journal of Botany*, vol. 116, pp. 168-174, 2018.
- [2] K.Maiza, , V. Hammiche, F. Maiza-Benabdesselam, "Traditional medicine in North Sahara: the « deffi », *Life sciences leaflets*, vol. 16, pp. 551-560, 2011.
- [3] K. Maiza, R.A. Brac De LaPerriere, V. Hammiche, « Pharmacopée traditionnelle saharienne: Sahara septentrional. Médicaments et aliments: l'approche ethnopharmacologique ». Actes du 2ème Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11ème Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg, 24-27, 169-171, 1993.
- [4] M. Djellouli, A. Moussaoui, H. Benmehdi, L. Ziane, A. Belabbes, M. Badraoui, N. Slimani, N. Hamidi, "Ethnopharmacological study and phytochemical screening of three plants (*Asteraceae* family) from the region of south west Algeria". *Asian Journal of Applied Sciences*. Vol. 2, n° 2, pp.159–165. 2013.
- [5] N. Boutaghane, A. Kabouche, R. Touzani, Y. Ahmad-Maklad, A.El-Azzouny, C. Bruneau, Z. Kabouche, "GC/MS Analysis and Analgesic Effect of the Essential Oil of *Matricaria pubescens* from Algeria". *Natural Production Communications*. Vol. 6, n°2, pp. 251–252. 2011.
- [6] A. Makhoulfi, A. Moussaoui, H.A. Lazouni, "Antibacterial activities of essential oil and crude extracts from *Matricaria pubescens* (Desf.) growing wild in Bechar, South west of Algeria". *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol.6, n°16, pp.3124–3128. 2012.
- [7] H. Makkar, P. Siddhuraju, K. Becker, Plant secondary metabolites. New Jersey: Humana Press.O.C.D.E. Organisation De Coopération Et Développement Economique n °407. (2008). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques - Etude de toxicité orale a dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. 2007.
- [8] O.C.D.E.: Organisation de coopération et de développement économiques. Essai n° 407: Toxicité orale à doses répétées - pendant 28 jours sur les rongeurs. 2008.
- [9] R. Suau, B. Cabezudo, R. Rico, J.M. Lopez-Romeo, F. Najera, "Alkaloids from *Fumaria sepium* and *Fumaria agraria*. *Biochemical Systematics and Ecology*. Vol.30, pp.263–265. 2002.
- [10] N. Benhammou, N. Ghambaza, S. Benabdelkader, F.Atik-Bekkara, T. Kadifkova Panovska, "Phytochemicals and antioxidant properties of extracts from the root and stems of *Anabasis articulata*". *International Food Research Journal*. Vol. 20, pp. 2057–2063. 2013.

- [11] F.S. Chin, K.P. Chong, A. Markus, N.K. Wong, "Tea polyphenols and alkaloids content using soxhlet and direct extraction methods". *World Journal of Agricultural Sciences*. Vol. 9, pp. 266–270, 2013.
- [12] E. A Hodgson, "textbook of modern toxicology". 3th edition. USA : Wiley Interscience. Pp. 525-541. 2004.
- [13] C. Ouahchia, H.S.F. CherifHamaidi-Chergui, L. Marzen, S. Deradji, R. Hemma, , F.Saidi, "Acute and subacute toxicity of *Inula viscosa* L.(*Dittrichia viscosa* L.) methanolic extracts". *AgroBiologia*, vol. 7, n°2, pp. 562-573. 2017.