

EFFETS DE L'ADMINISTRATION ORALE DE L'EXTRAIT ORGANIQUE DE *Bunium incrassatum* (Boiss.) SUR LES NIVEAUX SÉRIQUES DES HORMONES GONADOTROPHINES (FSH, LH) ET GONADIQUES (PROGESTERONE, ET ŒSTRADIOL) CHEZ DES LAPINES MATURES (*Oryctolagus cuniculus* Linné, 1958) DE LA POPULATION LOCALE

CHENTOUH S.¹, BOULAHBEL S.¹, HAMMOUDI N.¹, DJEBAILI H.¹, BENTAYEB Y.¹, ABABSA L.²

¹Laboratoire des Biomolécules Végétales et Amélioration des Plantes, Université d'Oum El Bouaghi,

²Laboratoire d'écologie fonctionnelle et environnement

Résumé : Le présent travail a pour objectif d'estimer l'effet des extraits organiques des racines de *Buniumincrassatum*, sur le taux plasmatiques de FSH, LH, œstradiol et progestérone. Cette plante, appelée 'Talgouda' et largement distribuée à l'Est de l'Algérie, est une espèce appartenant à la famille des Apiaceae. L'étude a été effectuée sur des lapines pubères de la race locale (*Oryctolagus cuniculus*) pendant deux semaines. Les animaux ont été divisés en cinq groupes qui ont reçu, quotidiennement par voie orale, les doses : 0, 25, 50, 100 et 200 mg/kg/jour, respectivement. Le groupe avec la dose 0 a été pris comme témoin. Après traitement, les lapines ont été sacrifiées et leurs ovaires ont été prélevés et fixés dans le formol 10%, puis colorés avec l'hématoxyline-éosine et le sang a été recueilli dans des tubes héparines. Nous avons trouvé que le traitement par l'extrait organique *Buniumincrassatum* induit une augmentation du poids relatif de l'ovaire des lapines traitées par rapport au témoin. Les résultats de l'étude histologique révèlent une augmentation significative du nombre total des follicules chez les lapines traitées par les doses 50 et 100 mg/kg/jour et une diminution significative du niveau de FSH, une augmentation statistiquement significative du taux sérique d'E2 et de LH. Nous concluons que l'extrait organique de *Buniumincrassatum* a eu des effets œstrogéniques à des doses de 50 et 100 mg/kg/jour.

Mots clés : *BuniumIncrassatum*, *Oryctolagus cuniculus*, FSH, LH, Œstradiol, Progestérone.

EFFECT OF ORAL ADMINISTRATION OF ORGANIC EXTRACT OF *Bunium incrassatum* ON THE SERUM LEVELS OF GONADOTROPHIN (FSH, LH) AND GONADIC (PROGESTERONE, AND ŒSTRADIOL) HORMONES IN MATURE LAPINES (*Oryctolagus cuniculus*) OF THE LOCAL POPULATION.

Abstract: The aim of this work is to estimate the effect of organic extracts from the roots of *Buniumincrassatum* on the plasma level of FSH, LH œstradiol and progesterone. This plant, called 'Talgouda' and widely distributed in eastern Algeria, is a species belonging to the *Apiaceae* family. The study was carried out on pubescent rabbits of the local breed (*Oryctolagus cuniculus*) for two weeks. The animals were divided into five groups which received, daily orally, the doses: 0, 25, 50, 100 and 200 mg/kg/day, respectively. The group with the dose 0 was taken as a control. After treatment, the rabbits were sacrificed and their ovaries were removed and fixed in 10% formalin, then stained with hematoxylin-eosin and, the blood was collected in heparin tubes. We have found that treatment with the organic extract *Buniumincrassatum* induces an increase in the relative weight of the ovary of the treated rabbits, compared to the control. The results of the histological study reveal a significant increase in the total number of follicles in rabbits treated with the doses 50 and 100 mg/kg/day and a significant decrease in the level of FSH, a statistically significant increase in the serum E2 level and LH. We conclude that the organic extract of *Buniumincrassatum* had estrogenic effects at doses of 50 and 100 mg/kg/day.

Keywords: *Bunium incrassatum*, *Oryctolagus cuniculus*, FSH, LH, Œstradiol, Progesterone

Introduction

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. L'Algérie est l'un des pays riches en plantes médicinales. Elle possède 4125 plantes vasculaires inventoriées réparties en 123 Familles botaniques[1]. De nombreuses plantes sont endémiques[2]. Cette richesse fait que toute étude présente un intérêt scientifique fondamental.

Sur la base des usages traditionnels, de nombreux chercheurs ont tenté d'approfondir les connaissances sur les plantes médicinales et leur impact sur la santé humaine et animale.

Bunium est un genre appartenant à la famille des Apiaceae, avec 45 à 50 espèces. Ce genre est proche de *Carum*. Les deux sont deux des plantes aromatiques et médicinales les plus importantes. Le genre *Bunium* comprend sept espèces, dont quatre sont endémiques[3].

Buniumincrassatum est une espèce très importante poussant dans le nord de l'Algérie. Les racines de cette plante sont assez nutritives et sont généralement consommées sous forme de pomme de terre. L'analyse phytochimique des racines de cette plante révèle la présence de coumarines, de bêta-sitostérol, de saccharose et d'acide oléique [4]. Des études phytochimiques antérieures sur cette espèce ont montré que cette plante accumule plus de 45 composés qui entrent dans la composition chimique de l'huile essentielle [5].

1. Matériel et Méthodes

1.1. Matériel biologique

Les racines de Talghouda (*Buniumincrassatum*) sont

récoltées en septembre 2015 et identifiées par un expert. Les plantes ont été soigneusement lavées avec de l'eau ; les racines et les parties de la plante aérienne ont été séparées, les racines ont été séchées à température ambiante pendant quelques jours et broyées en poudre fine.

1.2. Préparation de l'extrait

Cent grammes (100g) de poudre sont macérés dans 100 ml d'éthanol et 100 ml de chloroforme pendant 24 heures à l'ombre. L'homogénat obtenu est filtré sur papier wattman (3 MM). Après évaporation du filtrat obtenu à l'aide d'un évaporateur rotatif de type BUCHI à 60 °C, on obtient 3 ml d'un liquide brun qui sert à préparer l'extrait organique. Ce liquide est dilué dans de l'eau distillée.

1.3. Animaux

Les animaux utilisés dans cette étude sont composés de 30 lapines (*Oryctolagus cuniculus*), de poids corporel moyen à maturité sexuelle compris entre 1,6 et 2,20 k. Ces lapins ont été regroupés dans des cages spécifiques (50x60x53 cm), criblées, fournies par des abreuvoirs d'eau. L'élevage a été effectué dans la salle des animaux de l'institut technique d'élevage, Hamma Bouziane Constantine dans des conditions naturelles (contrôle) (température, photopériode et humidité). Les lapins sont nourris quotidiennement avec un régime alimentaire standard sous forme de granulés

1.4. Méthodes

Un certain nombre de 30 animaux ont été divisés en 5 groupes égaux de lapins. Les animaux témoins et traités ont été pesés tous les deux jours tout au long de la période de traitement afin d'évaluer l'effet

de l'extrait de cette plante chez le lapin mature. L'extrait a été dilué par de l'eau distillée et administré quotidiennement par des gavages. Les traitements ont été réalisés comme suit (Tab. 1).

1.5. Sacrifice et collecte de sang

Le traitement a duré 15 jours, les lapines ont été sacrifiées le lendemain du dernier gavage, le sang est immédiatement prélevé dans des tubes héparines pour le dosage hormonal.

Tableau 1. Distribution des groupes, selon la dose administrée (mg / kg / jour).

Groups	The control	G1	G2	G3	G4
Dose administrée (mg / kg / jour)	0	25	50	100	200

2-Résultats :

2.1. Evolution du poids de l'ovaire

Les résultats obtenus (tableau 2) montrent que l'administration orale de l'extrait

organique pendant 15 jours une augmentation très significative ($p < 0,01$) du poids relatif de l'ovaire en G3 et G4, et augmentation significative ($p < 0,05$) de G1 par rapport au groupe témoin

Les groupes	Moyenne \pm écart type Taux de croissance (%)				
	Témoin	G1	G2	G3	G4
Poids relatifs des ovaires (g)	0,004 \pm 0,001	0,007 \pm 0,003* (+80%)	0,006 \pm 0,003 ^{NS} (+50%)	0,009 \pm 0,001** (+112,5%)	0,008 \pm 0,014** (+92,5%)

2.2. Effet sur les modifications histologiques de l'ovaire

Sur le plan histologique les coupes histologiques des ovaires des animaux traités pendant deux par l'extrait organique de

Bunium incrassatum pendant deux semaines présentent un effet sur la folliculogénèse qui se traduit par une augmentation dans le nombre des follicules ovariens (Figure1) en comparaison au témoin.

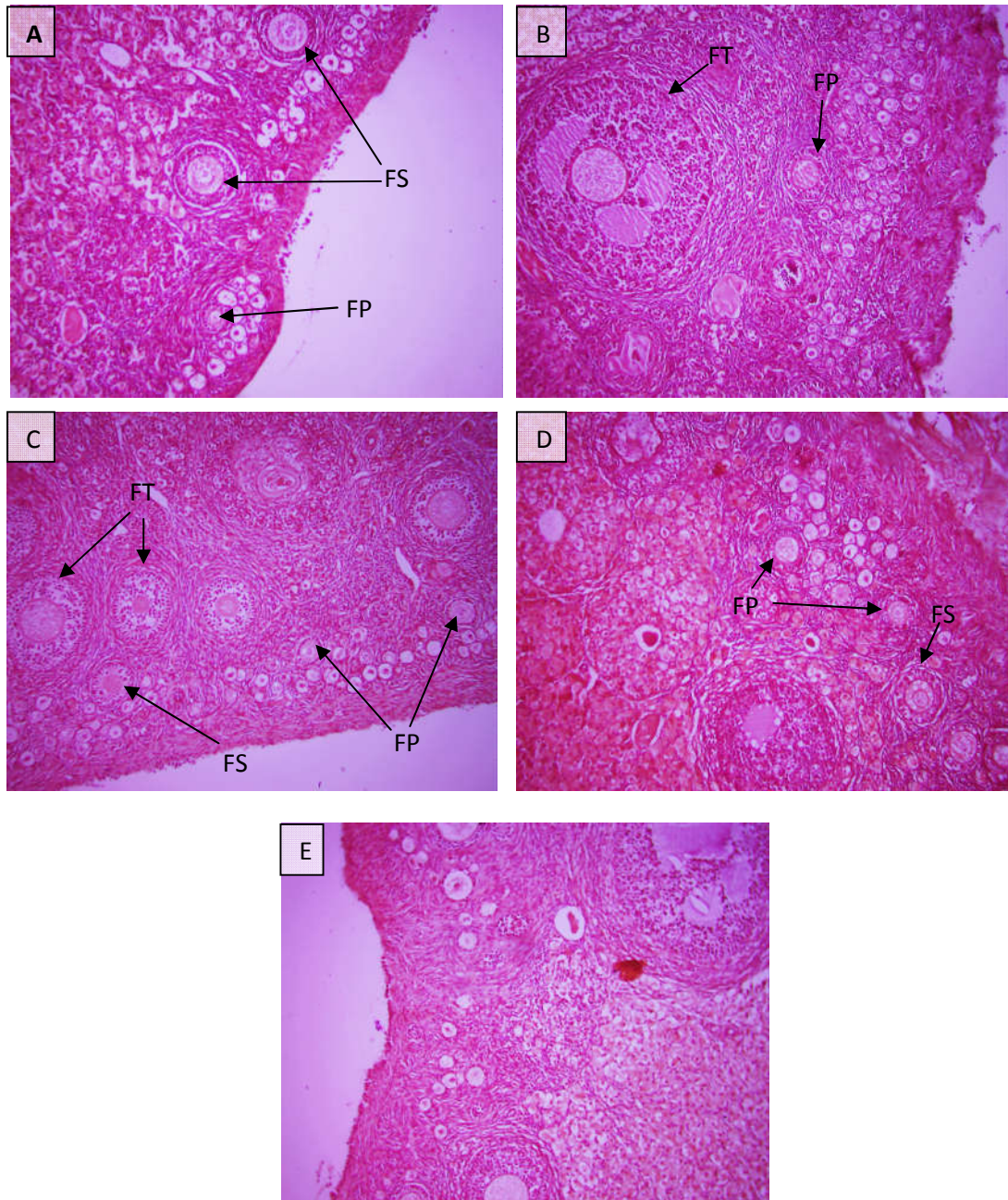


Figure 1. Microphotographie illustre les principaux aspects histologiques d'un fragment de cortex ovarien qui contient de nombreux follicules de taille variable et à différents stades de développement. A (témoin), B (traité avec 25 mg / kg / jour), C (traité avec 50 mg / kg / jour) D (traité 100 mg / kg / jour) E (traité avec 200 mg / kg / jour) A, B, C, D et E : (X180). FT : Follicule Tertiaire. TS : Follicule secondaire. PF : follicule primaire

2.3. Effet sur les paramètres hormonaux

Les hormones qui sont mesurées sont : les hormones

gonadotrophines (FSH ; LH) ; et les hormones stéroïdiennes (Progestérone ; œstradiol). Les données sont exprimées par moyenne ± écart type; en comparant avec témoin, FSH (ng/ml), LH (ng/ml).

Tableau 3. Variation de la concentration plasmatique des gonadotrophines chez les lapines témoins et traités par l'extrait organique de *B.incrassatum* après 15 jours de traitement.

Groupes	Moyenne ± écarte type Taux de croissance (%)				
	Témoïn	G1	G2	G3	G4
LH	0,065±0,007	0,065±0,007 ^{NS} (0%)	0,056±0,007 ^{***} (-13,85%)	0,103±0,092 ^{NS} (+58,46%)	0,047±0,007 ^{***} (-27,67%)
FSH	0,055±0,007	0,060±0,014 ^{NS} (+9,09%)	0,05±0,007 ^{**} (-9,09%)	0,049±0,049 ^{**} (-10,91%)	0,046±0,014 ^{NS} (-16,36%)

^{NS} (P > 0,05) Différence non significative par rapport au témoin.

^{**} (P < 0,01) Différence hautement significative par rapport au témoin.

^{***} (P < 0,001) Différence très hautement significative par rapport au témoin.

2.3.1. Hormones (gonadotrophines) :

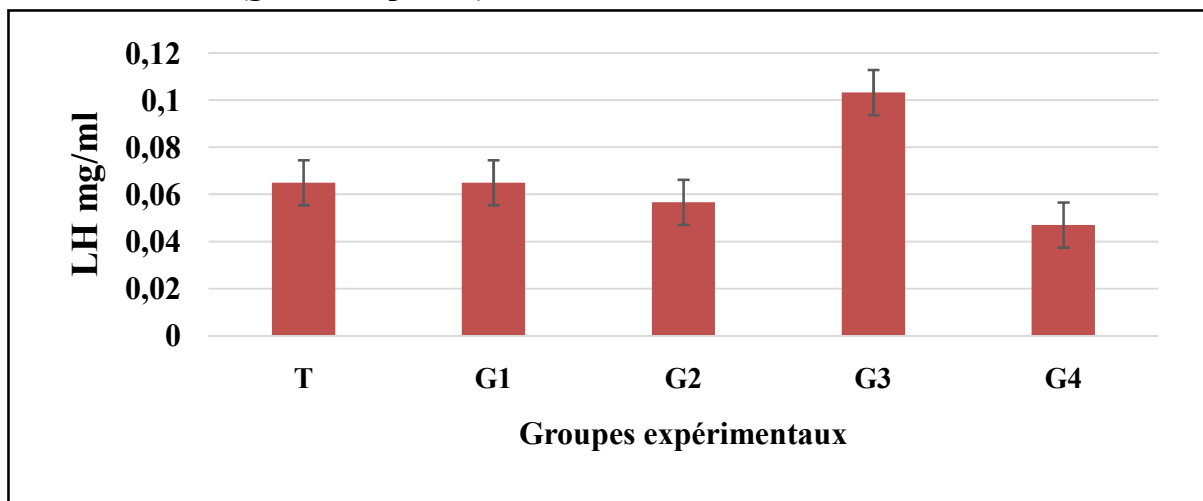


Figure2. Evolution de la concentration plasmatique de LH chez le groupe témoins et les groupes traités par l'extrait organique de *B.incrassatum* après 15 jours de traitement.

Les résultats obtenus présentés dans la figure 2 montrent que la concentration plasmatique de LH est diminuée de façon très hautement significative (P<0,001) chez le groupe G2 et G4 d'ordre 13,85 % et 27,67% comparée à celles des lapines du groupe témoin.

Par contre nous avons remarqué une augmentation progressive de la

concentration plasmatique de LH d'ordre de 58,46% chez le groupe G3 mais cette augmentation n'était pas statistiquement significative.

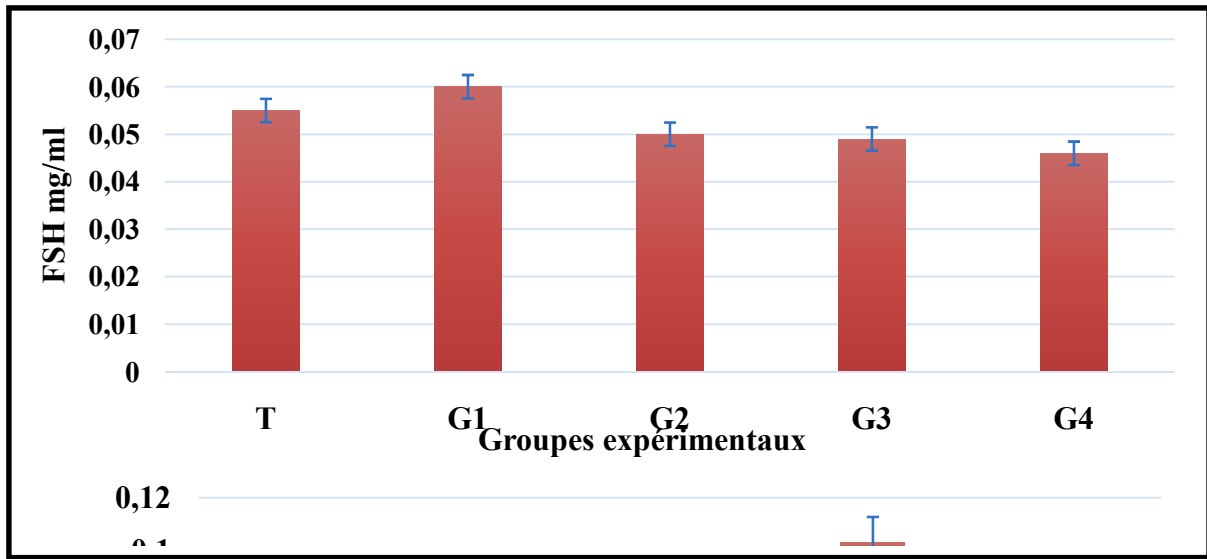


Figure 3. Evolution de la concentration plasmatique de FSH chez le groupe témoin et les groupes traités par l'extrait organique de *B.incrassatum* après 15 jours de traitement.

Les résultats obtenus présentés dans la figure 3 montrent une diminution de façon non significative de FSH, Cette diminution est très remarquable d'ordre de 16,36% chez les lapines de groupes G4 qui reçoivent 200mg/kg d'extrait organique des racines.

Tandis que, nous avons noté une diminution hautement significative de FSH

d'ordre de 09,09% et 10,36% Chez les groupes G2 et G3 par rapport à celui enregistré chez les témoins (P< 0,01).

Par contre chez les lapines traitées par 25 mg/kg/j, nous avons observé une augmentation d'ordre 09,09% non significative des par rapport à celui enregistré chez les lapines de groupe témoin.

2.3.2. Hormones stéroïdiennes (progestérone ; œstradiol)

Tableau 4. Variation de la concentration plasmatique des stéroïdes (progestérone ; œstradiol) chez les lapines témoins et traités par l'extrait organique de *B.Incrassatum* après 15 jours de traitement.

Les groupes	Moyenne ± écarte type Taux de croissance (%)				
	Témoin	G1	G2	G3	G4
Progestérone	0,83±,17	0,22±0,14 ^{NS} (-66,26%)	0,25±0,10 ^{NS} (-69,87%)	0,47 ± 0,35* (-43,37%)	0,48±0,20* (-42,16%)
Œstradiol	18,30±1,27	18,3±1,06 ^{NS} (0%)	17 ±0,36 ^{NS} (-07,10%)	21,43±0,21* (+17,10%)	29,98±1,38** (+63,82%)

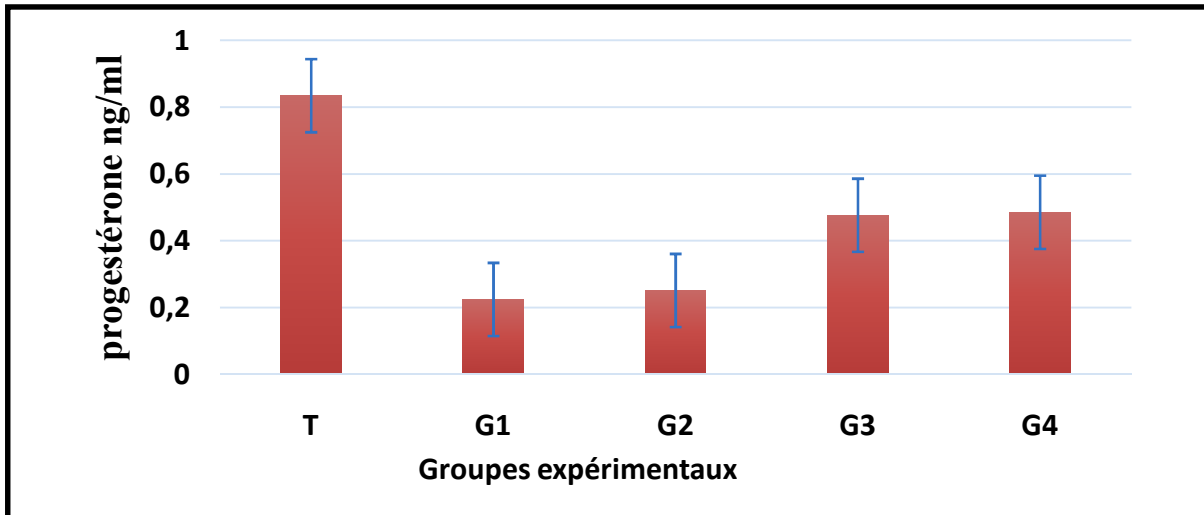


Figure 4. Evolution de la concentration plasmatique de progestérone chez les lapines témoins et traités par l'extrait organique de *B.incrassatum* après 15 jours de traitement. En comparaison avec témoin.

Les résultats obtenus présentés dans la figure 04montrent qu'il n'y a aucune différence significative ($P>0,05$) de la concentration plasmatique de progestérone chez les lapines traitées par les doses 25 et 50 mg/kg/j respectivement par rapport au groupe témoin.

Tandis que, nous avons noté une diminution significative d'ordre de 42,37 et 42,16 % chez les lapines de groupe G2 et G4 par rapport à celui enregistré chez les témoins ($P< 0,05$).

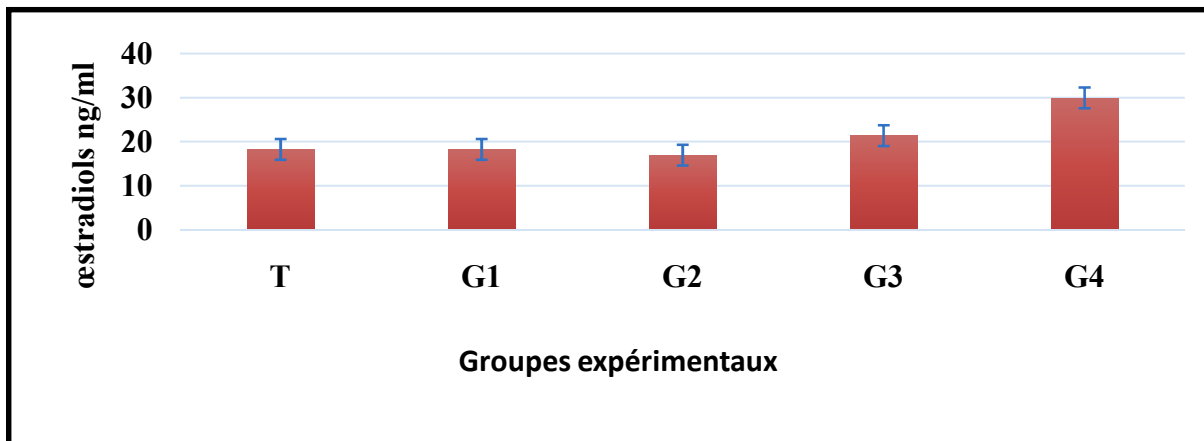


Figure5. Evolution de la concentration plasmatique d'œstradiols chez les lapines témoins et traités par l'extrait organique de *B.incrassatum* après 15 jours de traitement. En comparaison avec témoin

Les résultats accordés à la figure 5montrent que l'administration par voie orale de l'extrait organique entraînait une augmentation hautement significative de la concentration plasmatiques en œstradiol ;

d'ordre de 63,83% chez le groupe G4 respectivement comparée à celles des lapines du groupe témoin.

De l'autre côté, nous avons observé une augmentation ponctuelle d'ordre (17,10%) de façon significative dans G3 par rapport au groupe des lapins témoins (0,97 %). et qu'il n'y a pas une différence significative ($P > 0,05$) chez le groupe G2 traitées par 50 mg/kg/j.

Discussion

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet du traitement des lapines matures par l'extrait organique de *B. incrassatum* sur le taux sérique des gonadotrophines et stéroïdiennes. Les résultats obtenus montrent que l'administration orale de l'extrait organique pendant 15 jours une augmentation très significative ($p < 0,01$) du poids relatif de l'ovaire en G3 et G4, et l'augmentation significative ($p < 0,05$) de G1 par rapport au groupe témoin. Ceci est en accord avec les résultats de Mohaissen, H Adaay et al. (2013) [6] qui ont montré que le traitement avec l'extrait de *Medicago sativa* et *Salvia officinalis* augmente le poids des organes reproducteurs. L'augmentation du nombre de différents types de follicules en croissance, en particulier chez les animaux traités avec 50 et 100 mg / kg / jour, peuvent être attribués aux effets des substances de type œstrogène présent dans *B. incrassatum*. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Khaldoum et al. (2009) [7], qui ont démontré que l'administration de *Trigonella foenum-graecum* induit une augmentation significative du nombre de follicules ovariens.

Les résultats du profil hormonal dans cette étude montrent une augmentation statistiquement significative du taux sérique d'E2 après deux semaines de

traitement. Cette observation pourrait être liée à l'augmentation de la synthèse des œstrogènes en raison des effets de l'extrait de plantes sur l'augmentation du nombre de follicules en croissance. De plus, les résultats indiquent une augmentation du niveau de LH qui pourrait être les résultats de l'augmentation de la synthèse d'E2. L'œstrogène est produit principalement dans le follicule ovarien par l'aromatisation par GC des androgènes thécal [8]. La LH stimule la biosynthèse des androgènes du cholestérol par les cellules de la thèque; les androgènes diffusent ensuite à travers la membrane basale de la paroi folliculaire et une partie de ces androgènes atteint l'antre. L'augmentation de E2 peut être attribuée au fait que *Bunium incrassatum* contient du B sitosterol, ce phytoestrogène qui peut être actif à basse ou haute concentration affecte différents tissus cibles et agit comme agoniste ou antagoniste de E2 [9]. Les phytoestrogènes peuvent influencer sur les enzymes cellulaires, y compris les enzymes du cytochrome P-450. L'enzyme cytochrome P-450 connue sous le nom d'enzyme «clivage par chaîne latérale» catalyse la conversion du cholestérol en pregnenolone. Cette réaction est l'étape limitante de la production d'œstrogènes. Les cellules ovariennes transforment alors la prégnénolone en progestatifs et en œstrogènes [10].

L'augmentation du taux de LH sérique après l'administration orale de l'extrait végétal peut être attribuée à des concentrations plasmatiques élevées d'œstrogènes pendant 1 à 2 jours, comme cela se produit pendant le pic oestrogénique de la phase folliculaire tardive, qui agit sur l'hypophyse. LH libérant le mécanisme de GnRH.

L'œstrogène élevé peut également stimuler une augmentation supplémentaire de la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus, bien que cela reste controversé [11]. De plus, la sécrétion pré ovulatoire de progestérone, bien que limitée, peut exercer une réaction positive sur l'hypophyse amorcée par les œstrogènes pour augmenter la libération de LH [12]. Bien que l'étude ait montré une diminution du taux sérique de FSH dans la phase œstrale du cycle œstral, ce niveau n'a pas affecté le processus ovulatoire. Cela peut s'expliquer par la diminution de la concentration de FSH par rapport à la hausse des niveaux d'E2, ce qui signifie qu'il n'est pas nécessaire d'augmenter le taux de FSH dans la phase folliculaire ou ovulatoire tardive qui n'affecte pas le nombre de CL. Dans le même temps, il a été observé que la survie du follicule dominant ($\geq 10\text{mm}$) dépend principalement de la LH [13]. La rétroaction négative d'E2 est principalement exercée sur la sécrétion de FSH au niveau hypophysaire [14]. Juste avant l'ovulation, après que les GC aient acquis les récepteurs LH, la LH stimule également la production d'inhibine par ces cellules. Les inhibines inhibent la production de FSH par les gonadotropes [15]. Après l'ovulation, la CL sécrète E2, la progestérone et l'inhibine A sous le contrôle de la LH [16]. Les œstrogènes exercent une rétroaction négative à des concentrations faibles et élevées, tandis que les progestatifs ne sont efficaces qu'à forte concentration [17]. Ces événements dramatiques conduisent à une diminution de FSH I

Conclusion

Nous concluons que les composants de cette plante médicinale, *B. incrassatum*, peuvent provoquer, à des doses une augmentation significative du nombre total des follicules.

Références bibliographiques

- [1] Nouioua Wafa 2012. Biodiversité et ressources phytogénétiques d'un écosystème forestier « *Paeoniamascula* (L.) Mill. » Thèse de magister, Université de Ferhat Abbas – Setif –
- [2] Yadava R. N., Shirin Khan., 2012.: Chemical examination of a new allelic compound from stem of *Glossocardia bosvallia* DC., *IJPSR*, 3(10):3932-3935.
- [3] Quezel, P., Santa, S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales II, eds du centre national de la recherche scientifique, Paris.
- [4] - Boussetla A., Zellagui A., Derouiche K., Rhouati S.: 2011. Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arabian Journal of Chemistry* doi:10.1016/j.arabjc.2011.01.022
- [5] A. Boussetla, M. Kurkcuoglu, B. Konuklugil, K. H. C. Baser and S. Rhouati 2014. Composition of essential oil from *Bunium incrassatum* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 50, No. 4, 753–755
- [6] Mohaisen H. Adaay, Saad S. Al-Dujaily, Ferial K. Khazzal. 2013. Effect of aqueous extract of *Medicago sativa* and *Salvia officinalis* mixture on hormonal, ovarian and uterine parameters in mature female mice. *J. Mater. Environ. Sci.* 4 (4) : 424-433.
- [7] Kadhom J. Kata, Hazim I. Al-Ahmed, Rasha A. Mahood. 2009. Effect of *trigonella foenum graecum* extract on some

histological and physiological (fertility) traits white albino mice. *Iraqi J. Biotech.* 8 (3): 704-712

[8] Chen Z. J., Li M., Li Y., Zhao L.X., Tang R., Sheng Y., Gao X., Chang C.H., Feng H.L. 2004. Effects of sucrose concentration on the developmental potential of human frozen-thawed oocytes at different stages of maturity, *Human Reproduction*. Vol.19, No.10:2345-2349.

[9] Poretsky L. 1999. The Insulin-Related Ovarian Regulatory System in Health and Disease.

Endocrine Reviews, 20 (4): 535-582

[10] Parra A, Godoy H, Ayala J, Ramirez A and Coria I, 1995. Opposite effects of breakfast vs. oral glucose on circulating androgen levels in healthy Women. *Arch Med Res*, 26:379-383

[11] Wurth E, 2010. Etude comparative de l'ovulation chez les mammifères. Thèse, doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Creteil, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort.

[12] Pegel KH., 1997. The importance of sitosterol and sitosterolin in human and animal nutrition, *South Africa Journal of Science*;93:263-268.

[13] Changizi A.S., Zarei A., Taheri S., Rasekh F., Ramazani M. 2013. The Effects of *Portulaca oleracea* Alcoholic Extract on Induced Hypercholesterolemia in Rats. *J. Res. Med Sci.* Vol. 15(6): 34-39.

[14] Wong NC. 2001. The beneficial effects of plant sterols on serum cholesterol, *The Canadian Journal of Cardiology*, 17(6):715-721.

[15] Liti B. 2004. *Effects of Sucrose Supplementation on Sexual Maturation and Reproductive Functions of Growth Hormone Receptor Knockout Mice*. Honors

Theses Southern Illinois University Carbondale.

[16] Ikeda I. and Tanaka. Sugano M. 1988. Inhibition of cholesterol absorption in rats by plants sterols. *J Lipid Res.*, 29. 1573-1582,

[17] Mahmoodi M.R., Kimiagar M., Mehrabi Y. 2009: The effects of omega-3 plus vitamin E and vitamin C plus zinc supplementations on plasma lipids and lipoprotein profile in postmenopausal women with type 2 diabetes *Persian Nutr Sci Food Technol.*, Vol. 4(3):1-14