

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Résumé du protocole et évolution du nombre de rat au cours des 28 jours... ..	19
Tableau II : Evolution du nombre de rats par semaine	26
Tableau III : Effet de l'extrait méthanolique des racines de <i>Leptadenia hastata</i> sur les paramètres hématologiques des rats mâles	28
Tableau IV : Effet de l'extrait méthanolique des racines de <i>Leptadenia hastata</i> sur les paramètres hématologiques des rats femelles... ..	29
Tableau V : Effet de l'extrait méthanolique des racines de <i>Leptadenia hastata</i> sur quelques paramètres biochimiques... ..	30

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : <i>Leptadenia hastata</i>	5
Figure 2 : Graine sèche de <i>Leptadenia hastata</i>	5
Figure 3 : Feuilles de <i>Leptadenia hastata</i>	6
Figure 4 : Fleur de <i>Leptadenia hastata</i>	6
Figure 5 : Fruit de <i>Leptadenia hastata</i>	6
Figure 6a : Racines découpées de <i>Leptadenia hastata</i>	13
Figure 6b : Poudre de racines de <i>Leptadenia hastata</i>	14
Figure 7 : Différentes étapes de l'extraction méthanolique des racines de <i>Leptadenia hastata</i>	15
Figure 8 : Rats utilisées	16
Figure 9 : Bandelettes multiparamétriques	19
Figure 10 : Estomac rat femelle traité etrat témoin	23
Figure 11 : Estomac rats traités à 1000mg/kg comparé au témoin	24
Figure 12 : Estomac rats traités à 500mg/kg comparé au témoin	25
Figure 13 : Evolution du poids des rats mâles au cours des 28 jours	27
Figure 14 : Evolution du poids des rats femelles au cours des 28 jours	27

ABREVIATIONS ET SIGLES

ALAT : Alanine-L-Amino Transférase

ASAT : Aspartate Amino Transférase

CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

CHUN : Centre Hospitalier Universitaire National

DL₅₀ : Dose létale 50%

EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique

GB : Globules Blancs

GR : Globules Rouges

Hb : Hémoglobine

HCT : Hématocrite

LDH : Lactate déshydrogénase

LTH : Laboratoire de Toxicologie et d'Hydrologie

MDH : Malate déshydrogénase

NFS : Numération Formule Sanguine

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques

SGH : Système Général Harmonisé

TGMH : Teneur Globulaire Moyenne en Hémoglobine

TGO : Transaminase Glutamo Oxalo acétique

TGP : Transaminase Glutamo Pyruvique

UCAD : Université Cheikh Anta Diop

VGM : Volume Globulaire Moyen

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : Revue bibliographique	
I°) <i>Leptadenia hastata</i>	4
I.1°) Généralités	4
I.1.1) Synonymes et noms vernaculaires	4
I.1.2) Description	4
I.1.3) Habitat	6
I.2°) Chimie	7
I.3°) Pharmacologie	7
I.4°) Utilisations	8
I.5°) Toxicité	9
II°) Tests de toxicité	10
II.1°) Toxicité aiguë	10
II.2°) Toxicité subaiguë	11
DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale	
Chapitre I : MATERIELSET METHODES	13
I.1°) Cadre et objectif de l'étude	13
I.2°) Matériels et méthodes	13
I.2.1 °) Préparation de l'extrait	13
I.2.2 °) Préparation de la solution d'essai	16
I.2.3 °) Animaux de l'essai	16
I.2.4 °) Protocole expérimental	17
I.2.4.1) Toxicité aiguë	17
I.2.4.2) Toxicité subaiguë	18
Chapitre II : RESULTATS	23
II.1°) Rendement	23
II.2°) Toxicité aiguë	23

II.3°) Toxicité subaiguë	23
II.3.1) Evolution du poids corporel	26
II.3.2 °) Biologie.....	27
II.3.2.1 °) Tests urinaires.....	27
II.3.3.2 °) Tests sanguins	28
II.3.3.2.1 °) Tests hématologiques	28
II.3.3.2.2 °) Tests biochimiques	29
Chapitre III : DISCUSSION	31
CONCLUSION.....	34
BIBLIOGRAPHIE.....	36

INTRODUCTION

La médecine par les plantes résulte d'une longue expérience transmise de génération en génération. Elle présente un apport thérapeutique moins coûteux que les soins de santé moderne. Les plantes ont toujours constitué la source majeure de médicaments et l'intérêt que l'Homme leur porte n'a cessé de croître. Que ce soit pour l'avantage qu'il peut en retirer pour les progrès de son industrie, pour leur utilité dans le soulagement des maux qui l'affligent ou soit pour la subsistance qu'elles lui procurent (Gautier, 1822). De plus, avec l'augmentation du coût des soins de santé modernes, plus de 80% de la population africaine vivant dans les régions rurales se tournent vers la nature pour leurs soins de santé (Sofowora, 2010). Les plantes sont ainsi consommées comme médicament, introduites dans l'alimentation à l'état brut ou en complément alimentaire.

Cependant, cet engouement pour la phytothérapie ne tient pas compte du caractère non exhaustif des recherches liés à l'utilisation thérapeutique des plantes. Ainsi, il n'existe pas de réel consensus sur le mode d'administration ainsi que les doses utilisées par les populations. Cette imprécision dans les posologies nous impose donc une surveillance accrue afin de réduire les nombreuses intoxications dues aux plantes médicinales.

Leptadenia hastata figure en bonne place parmi les plantes les plus couramment utilisées en Afrique subsaharienne. De ce fait, une étude de toxicité approfondie sur *Leptadenia hastata* s'avère nécessaire pour donner l'assurance de sa sécurité.

C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif général de notre travail qui est d'étudier l'innocuité de *Leptadenia hastata* en évaluant sa toxicité aiguë par détermination de la DL_{50} et sa toxicité subaiguë chez le rat.

Ce document est subdivisé en deux grandes parties : la première partie consacrée à la synthèse bibliographique où nous parlerons essentiellement de *Leptadenia hastata* et la deuxième partie à notre étude expérimentale.

**PREMIERE PARTIE : SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

I. *Leptadenia hastata*

I.1°) Généralités

I.1.1 °) Synonymes et Noms vernaculaires

- Synonymes (Arbonnier M., 2009)

Leptadenia hastata est encore appelée *Cynanchum hastatum* Pers. ou encore *Cynanchum lancifolium* Wight et Arn.. D'autres auteurs l'appellent *Leptadenia lancifolia* (Schumach et Thonn.) Decne. à cause de la forme lancéolée de ses feuilles.

- Noms vernaculaires (Kerharo et *al.*, 1964)

Balanté: broindé ;

Bambara : Nzongnè ;

Bassari; ñadam;

Bissa: titi-bari ;

Cameroun: Zaradji;

Diola: busumba amata ;

Fon: Sogeti sokwa;

Haousa: yadiya ;

Mooré: lelongo ;

Ndoute: tati;

Peul: tapatoy, sapatoy, kasubi, sabato, safarodje ;

Sérère: hasub, nghasub ;

Wolof : tiakhat, tiahat, mbunsehet, mbum tété ;

Zarma (Niger): hanam.

I.1.2 °) Description de *Leptadenia hastata* (Arbonnier, 2009 ; Berhaut, 1971)

Leptadenia hastata est une plante volubile, sarmenteuse à longues tiges rampantes de couleur vert pâle s'entremêlant et formant des buissons bas (figure 1). C'est une liane de la famille des Apocynaceae atteignant 20 m de haut et 10 cm de diamètre à feuilles persistantes. Quand elle ne rampe pas sur le sol, elle s'enroule autour d'un arbre et dans ce cas son tronc blanchâtre, moelleux, parcouru de fines gerçures acquiert une belle taille.

Son écorce est liégeuse plus ou moins molle, beige claire à ocre, à tranche verte. Le latex est translucide et plus ou moins jaunâtre. Ses rameaux sont gris-vert, finement pubescents.

Les feuilles sont opposées presque glabres à finement pubescentes gris-vert, de forme et de tailles très variables linéaires, orbiculaires ou plus ou moins triangulaires (en forme de fer de lance) de 5 à 10 cm de long et 1 à 7 cm de large, à sommet pointu, en coin aigu ou en coin court à base arrondie, cordée ou auriculée. Le pétiole est long de 7 à 15 mm pouvant atteindre 30mm. La nervation est plus ou moins palmée à la base puis pennée, à quatre à dix paires de nervures secondaires se raccordant et plus ou moins translucides à l'état frais (figure 3).

Ses fleurs sont fasciculées, disposées au bout d'un pédoncule de 6 à 10 mm de long à l'aisselle des feuilles. La corolle, jaune verdâtre à cinq lobes linéaires de 5 à 6 mm de long, pubescents contient 5 sépales couverts de poils de 7 à 10 mm de diamètre (figure 4).

Le fruit est un follicule verdâtre solitaire, lisse, allongé à sommet en pointe plus ou moins émoussée longue de 7 à 10 cm et large de 1,5 à 2 cm (figure 5).

La graine est ovale et plus ou moins aplatie, rousse de 3-4mm de long portant une aigrette de soies blanchâtres au sommet (figure 2).



Figure 1 : *Leptadenia hastata*



Figure 2 : graine sèche de *Leptadenia hastata*



Figure 3 : feuilles de *Leptadenia hastata*



Figure 4 : fleur de *Leptadenia hastata*



Figure 5 : fruit de *Leptadenia hastata*

1.1.3 °) Habitat

Leptadenia hastata est une plante particulièrement vivace et résistante à la sécheresse. Elle a une forte croissance pendant la saison sèche et ralentie pendant la saison des pluies. La floraison est

très étalée dans le temps, généralement en fin de saison sèche et en saison des pluies. L'espèce est très répandue des savanes sahéliennes à soudaniennes sur tous types de sol. Ainsi, elle est retrouvée en Mauritanie, au Sénégal, en Gambie, au Mali, en Côte d'Ivoire, en Centrafrique, au Ghana, au Bénin, au Nigéria, au Cameroun, en Egypte, en Ethiopie et en Afrique centrale (Kerharo et *al.*, 1974 ; Arbonnier, 2009).

I.2°) Chimie

Le criblage phytochimique réalisé par Bello et *al.* sur les feuilles de *Leptadenia hastata* révèle la présence de glycosides phénoliques, de tanins, de flavonoides, de proanthocyanidines, d'alcaloïdes et de saponines ; tous ces éléments en proportion variable selon que le solvant d'extraction soit l'éthanol, le méthanol ou l'eau (Bello et *al.*, 2011).

Par ailleurs l'extrait chloroformique de l'écorce contient des mélanges de dérivés de l'ester polyoxypregnane, le 12-O-acetylsarcostin, la gagaminine, le kidjolanin, le metaplexigenin, le cynanforidin et six esters nouveaux (Aquino et *al.*, 1996). L'extrait méthanolique des racines quant à elle contient des tanins et des flavonoides (Seck et *al.*, 2015).

Une autre étude, mais cette fois sur le latex, montre la présence des triterpènes comme le lupéol, l'acétate de lupéol et le palmitate de lupéol (Nikiéma et *al.*, 1997).

Leptadenia hastata est également riche en phosphore, en glucose, en cellulose, en vitamine B1, B2, B3, C et en amino-acides (Nacoulma/Ouédraogo, 1996 ; Sena et *al.*, 1998 ; Freiburger et *al.*, 1998).

I.3°) Pharmacologie

Leptadenia hastata a été testée in vitro pour son activité oestrogénique par l'utilisation d'une procédure développée par Håggblad. Le résultat montre un contenu possible d'environ 1 à 10 % d'une substance qui peut rivaliser avec l'estradiol pour les récepteurs humains d'oestrogène (Håggblad et *al.*, 1995).

Les feuilles riches en polyphénols possèdent un potentiel inhibiteur significatif de l'alphaglucosidase et peuvent donc être source de composés principaux dans la gestion du diabète sucré et/ou d'autres maladies pouvant être provoquées par le stress oxydatif (Aliero et *al.*, 2011). Les extraits de feuilles auraient aussi un possible effet hypolipidémiant (Muhammad et Zubaida, 2015). Vanderjagt signale la présence d'inhibiteur de protéase dans les feuilles, inhibiteur pouvant atteindre l'intestin grêle et bloquer l'activité des protéases telles que la trypsine qui catalyse normalement l'hydrolyse des

protéines alimentaires, un facteur obligatoire dans le processus de digestion et d'absorption des protéines (Vanderjagt et al., 2000).

Hwang parle même d'une possible activité antibactérienne qu'auraient les dérivés de la gagaminine issue de l'écorce (Hwang et al., 1999).

Une étude visant à rechercher une activité antifongique des extraits de *Leptadenia hastata* avec *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* montre que l'extrait méthanolique supprime la croissance de *F.oxysporum* et *A.niger* à 80 mg/ml. Par contre l'extrait acétonique de la plante avait un plus faible pourcentage d'inhibition (Aliero et Wara, 2009).

L'étude sur l'activité antiandrogénique des feuilles effectuée par Bayala et al. a montré qu'à faible dose *L.hastata* augmentait l'activité du propionate de testostérone et à dose plus élevée inhibait son action. Ces résultats confirment ceux de leur précédente étude qui concluaient que l'espèce impactait sur le traitement du cancer de la prostate et la santé de la reproduction (Bayala et al., 2011; Bayala et al., 2012).

L'utilisation topique du latex pour la guérison des plaies a pu être justifier. En effet, Nikièma a examiné l'activité anti-inflammatoire des triterpènes isolés du latex et en a conclu qu'ils induisent une réduction significative des oedèmes. Le lupéol s'est avéré plus actif (80%) que l'indométhacine (73%) (Nikièma et al., 2001).

Enfin, Seck dans son étude de l'activité antifalcémiant de d'extraits des racines de *L.hastata* montre que l'extrait méthanolique provoque une réversibilité de 80% de la falciformation à la dose 5mg/ml en 120 minutes (activité à dose dépendante) (Seck et al., 2015).

I.4°) Utilisations

L'abondance de *L. hastata*, sa facilité de cueillette, sa composition et la présence de latex expliquent largement son utilisation courante tant par le profane que par les guérisseurs de métier.

Au Niger, ses feuilles, ses fleurs et ses fruits non mûrs sont utilisés à la fois par la population sédentaire et par les nomades comme un élément normal dans l'alimentation, en particulier dans la saison maigre et pendant les sécheresses.

Au Mali, les feuilles de *L. hastata* sont utilisées pour le traitement du paludisme et des diarrhées communes sous la forme d'une décoction. Trois poignées de feuilles sont bouillies dans 3 litres d'eau pendant environ une heure et le liquide est décanté et laissé refroidir, demi litre de cette décoction est prise tous les jours. La sève fraîche des feuilles est utilisée pour fermer et guérir les cordons ombilicaux des nouveau-nés. La décoction des feuilles de *L. hastata* en association avec l'écorce d'*Erythrina senegalensis* est soit prise par voie orale, soit utilisée comme bain médicinal pour traiter

l'onchocercose. Une décoction de la partie aérienne de la plante est utilisée pour soigner la schistosomiase urinaire (Sekou et *al.*, 2006). Elle régule également les menstruations chez les femmes. Au Tchad, les racines sont utilisées pour traiter la gale. Elle est couramment utilisée dans les communautés de langue haoussa au Nigeria comme épice et utilisée dans les sauces. Toujours au Nigeria, les guérisseurs locaux utilisent la plante pour l'hypertension, et les maladies de la peau.

Au Burkina Faso, *L. hastata* est utilisée en application locale pour la trypanosomose (décoction des feuilles), les maladies de la peau et la cicatrisation des plaies (application du latex). Au Sénégal, les guérisseurs sénégalais l'utilisent pour les troubles de la prostate et les plaintes de rhumatisme. Les racines sont utilisées pour les affections comme l'anurie, la constipation, l'ophtalmie. Une décoction du mélange racines plus feuilles est utilisée comme vermifuge. Les feuilles seules sont utilisées pour soigner l'impuissance sexuelle, la fièvre, la toux, les coliques, la gonorrhée, la syphilis (Diniz et *al.*). Le latex intervient pour le rhume, les céphalées. La plante entière est utilisée pour la diarrhée verte des nourrissons, les varices et hémorroïdes (Arbonnier, 2009).

La plante est également broutée par les animaux, et semble être particulièrement appréciée par les ânes et les chameaux. Elle est utilisée comme contraceptif pour les juments, les chèvres, les brebis et facilite l'expulsion du placenta. Les racines soulagent la colique (chevaux), les flatulences (ânes, chevaux) et les maladies respiratoires (bovins). Comme fourrage, il est considéré par la population pour stimuler la sécrétion de lait (Tamboura et *al.*, 1998 ; Dia, 1991 ; Adjanohoun, 1986 ; Diagne, 1991).

1.5°) Toxicité

Il est généralement accepté et souvent considéré que les plantes médicinales et les formulations à base de plantes sont naturellement plus sûres que les drogues de synthèse (Mahima et *al.*, 2012). Cependant, l'hypothèse de cette sécurité ne doit pas toujours être faite puisque certains constituants des plantes médicinales se sont avérés potentiellement toxique, mutagène, cancérigène et tératogène (Akintonwa et *al.*, 2009 ; Abigal et *al.*, 2014).

Une étude a été menée par Tamboura sur des souris albinos mâles avec l'extrait aqueux (feuilles et tiges) de *Leptadenia hastata*. L'extrait leur a été administré par voie intrapéritonéale et ils sont restés en observation pendant 48 à 72 heures. Des signes de toxicité ont été observés à la dose 1513 mg/kg de poids corporel (Tamboura et *al.*, 2005).

La DL₅₀ de l'extrait aqueux de feuilles de *L. hastata* toujours par voie intrapéritonéale a été estimée à 2320 mg/kg chez le rat albinos blanc. Apparition des signes de toxicité comme l'inappétence, une démarche instable, la polypnée et l'asthénie avec un mort à la dose 1600 mg/kg et à 3200 mg/kg la

mort de tous les animaux de l'essai (Maurice et *al.*, 2011). Par la même voie et avec un même extrait Maina quant à elle a estimé la DL₅₀ à 2160 mg/kg (Maina et *al.*, 2013).

Par ailleurs avec l'extrait éthanolique de la plante, la DL₅₀ par voie orale s'est révélée supérieure à 5000mg/kg et donc classé comme étant relativement sûr (Tata et *al.*, 2019).

II. Test de toxicité

La toxicologie est l'étude des substances toxiques et, plus précisément, l'identification et l'évaluation quantitative des conséquences néfastes liées à l'exposition à des agents physiques, chimiques ou de toute autre nature (Silbergeld, 2000). Elle s'étend de la recherche fondamentale sur le mécanisme d'action des agents toxiques à la mise au point et à l'interprétation de tests normalisés permettant de caractériser les propriétés toxiques de ces agents. Elle fournit à la médecine et à l'épidémiologie des informations indispensables pour comprendre l'étiologie et établir le lien entre les expositions, y compris professionnelles, et les pathologies observées.

La toxicité d'une substance sera déterminée selon la dose, la durée et la voie d'exposition et selon l'organe touché. Ainsi on distingue 3 formes de toxicité : La toxicité aiguë après exposition unique à une substance ou un produit chimique, la toxicité après exposition répétée à petite dose dans un plus ou moyen court terme (subaiguë et sub-chronique) et la toxicité après exposition répétée à petite dose sur le long terme (chronique). L'accent sera mis ici sur la toxicité aiguë et subaiguë ayant fait l'objet de notre étude.

II.1°) Toxicité aiguë

La toxicité aiguë est celle qui résulte de l'exposition unique ou à des doses multiples en moins de 24 heures à un produit chimique entraînant des dommages corporels pouvant conduire à la mort. Une façon pratique de la caractériser, pour une substance, consiste à déterminer sa dose létale 50 (DL₅₀). Cette dose qui provoque la mort de 50% des animaux exposés à une dose unique du produit est exprimée en mg/kg de poids corporel de l'animal retenu pour l'expérience. La DL₅₀ permet de classer les substances chimiques selon leur degré de toxicité et plus elle est basse plus la toxicité du produit est élevée.

II.2°) Toxicité subaiguë

Elle consiste à l'administration du produit à tester à des doses répétées sur une période de temps limité (un niveau de dose quotidiennement pendant 28 jours). Certains effets néfastes peuvent prendre plusieurs semaines ou de nombreuses années avant d'être diagnostiqués et se révéler irréversibles. L'évaluation de la toxicité aiguë ne permet pas de prédire ce type de toxicité. La toxicité subaiguë est l'une des méthodes qui nous permet de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et/ou pathologiques et d'établir les conditions d'apparition de ces altérations en fonction de la posologie. Le choix de la ou des voies d'administration doit tenir compte de celles prévues pour l'emploi thérapeutique et des possibilités de résorption. L'appréciation des effets toxiques est faite sur la base de l'examen du comportement, de la croissance, des examens biochimiques et hématologiques ainsi que des examens histopathologiques des organes vitaux tels que le rein et le foie ou tout autre organe faisant objet d'un intérêt pour l'étude.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : METHODOLOGIE

I.1°) Cadre et objectif de l'étude

❖ Cadre de l'étude

Pour mener à bien notre étude, il a fallu collaborer avec plusieurs laboratoires. Les travaux d'extraction ont été réalisés au Laboratoire de Pharmacognosie et Biologie végétale de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'UCAD. Les tests de toxicité ont été effectués au Laboratoire de Toxicologie et d'Hydrologie (LTH) de ladite faculté. Et les analyses sanguines ont été faites au Laboratoire de Biochimie du CHUN de Fann.

❖ Objectif de l'étude

L'objectif général de notre étude est d'évaluer l'innocuité des racines de *Leptadenia hastata* pour une contribution à l'enrichissement de la pharmacopée sénégalaise.

Comme objectifs spécifiques il s'agit d' :

-Effectuer un test de toxicité aiguë par détermination de la DL50 de l'extrait méthanolique *L.hastata* chez le rat.

-Effectuer un test de toxicité subaiguë de l'extrait méthanolique *L.hastata* chez le rat.

I.2°) Matériels et méthodes

I.2.1 °) Préparation de l'extrait

Le matériel végétal est constitué de racines broyées en poudre (figure 6) de *Leptadenia hastata* récoltées entre mai et juin 2018 dans la commune de Sangalkam, localité située à environ 18 km à l'Est de Dakar.



Figure 6 a : racines découpées de *L. hastata*



Figure 6 b : poudre de racines de *Leptadenia hastata*

Une double extraction par macération avec du méthanol a été effectuée avec la poudre. Pour la première extraction, nous avons macéré 100 g de poudre de racines dans 500 ml de méthanol à température ambiante et à l'ombre pendant 72h puis avons filtré la solution sur du coton hydrophile ensuite sur du papier Whatman.

Pour notre deuxième extraction, nous avons ajouté 250 ml de méthanol au macérat précédent avant de le filtrer 72h plus tard.

Enfin nous avons rassemblé les deux filtrats avant de procéder à l'évaporation du solvant à l'aide d'un rotavapor jusqu'à obtenir un extrait pâteux séché par la suite à l'étuve par simple ventilation pour l'obtention de l'extrait sec qui a servi de substance d'essai. Les différentes étapes sont représentées par la figure 7.

Calcul du rendement

100g de poudre de racines broyées ont donné 1,014 g d'extrait sec. Le rendement R qu'on exprimera en pourcentage sera calculé par la formule :

$$R = \frac{\text{Poids de l'extrait sec}}{\text{Poids de la poudre de racine de plante}} \times 100$$

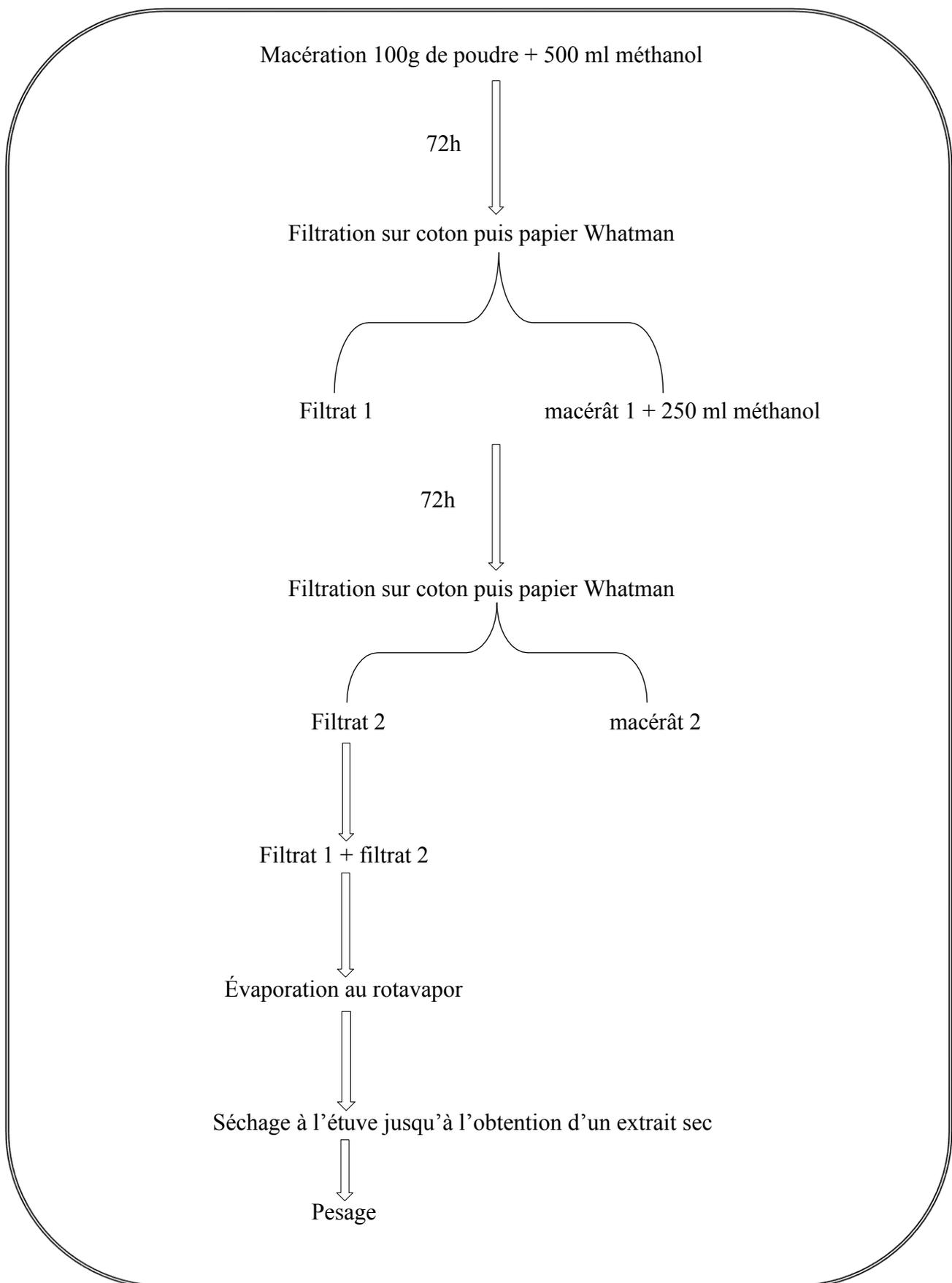


Figure 7 : Différentes étapes de l'extraction méthanolique des racines de *Leptadenia hastata*

1.2.2 °) Préparation de la solution d'essai

L'extrait sec obtenu après extraction et séchage a été dissous dans un volume de méthanol représentant 10% du volume total de solution à préparer et différentes dilutions à différentes concentrations ont été préparées avec de l'eau minérale. Le volume V de solution à administrer à chaque rat est déterminé en fonction du poids du rat par calcul avec la formule :

$$V = \frac{D \times P}{C}$$

Avec : D= dose (mg/kg)

P= poids de l'animal (kg)

C= concentration de solution à administrer (mg/ml)

Une concentration de C= 100mg/ml a été utilisée pour les différentes doses.

1.2.3 °) Animaux de l'essai

Ils sont constitués de rats mâles et femelles de type wistar âgés entre 12 et 16 semaines, élevés au niveau de l'animalerie du Laboratoire de Toxicologie et d'Hydrologie de l'UCAD. Ces rats gardés dans des cages en plastiques tapissées de copeaux de bois ont eu libre accès à l'eau et à la nourriture (figure 8). La température moyenne du lieu varie entre 20°- 25°C. Pour l'étude de la toxicité subaiguë, 18 rats (9 mâles et 9 femelles) ont été utilisés et pour celle de la toxicité aiguë 3 femelles. Les femelles sélectionnées étaient nullipares et non gravides. Ces animaux sélectionnés étaient apparemment sains, et répartis au hasard dans les différents groupes témoins et essais par lot de trois de même sexe.



Figure 8 : Rats utilisés (source personnelle)

I.2.4 °) Protocole expérimental

I.2.4.1. Toxicité aiguë

La toxicité orale aiguë de l'extrait méthanolique de la poudre de racines de *Leptadenia hastata* a été évaluée chez le rat par la méthode de détermination de la classe de toxicité de la DL₅₀ conformément à la ligne directrice 423 de l'OCDE pour les essais de produits chimiques adoptée le 17 décembre 2001 (OCDE, 2001).

✓ Principe de l'essai

Le principe de cet essai est qu'avec un processus séquentiel, utilisant un nombre minimum d'animaux par étape, des informations suffisantes sur la toxicité aiguë de la substance soit obtenues pour permettre sa classification. Une dose déterminée de la substance est administrée par voie orale à un groupe d'animaux. La substance est testée dans un processus séquentiel dans lequel trois animaux d'un seul sexe (normalement des femelles) sont utilisés à chaque étape. L'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée détermine l'étape suivante, c'est à dire:

- arrêt de l'essai,
- administration de la même dose à trois animaux supplémentaires,
- administration de la dose immédiatement supérieure ou inférieure à trois animaux supplémentaires.

Pour ce test, uniquement des femelles de poids compris entre 139 et 148 g ont été utilisées. En effet d'après la littérature, les essais de détermination de la DL₅₀ montrent que, bien que la différence de sensibilité entre les deux sexes soit généralement faible, dans le cas où l'on constate une différence, les femelles sont généralement plus sensibles (OCDE, 2001).

✓ Administration de la substance d'essai

Les rats étaient privés de nourriture mais pas d'eau durant 12 heures avant le début de l'essai. Après le jeûne, ils ont été pesés et identifiés individuellement par des marques sur la queue. La substance d'essai leur a été administrée oralement par gavage à l'aide d'une sonde. Après l'administration de la substance, les animaux étaient à nouveau privés de nourriture pendant 3 à 4 heures.

✓ Observation

Après traitement, les animaux étaient observés individuellement durant les 30 premières minutes et régulièrement pendant 24 heures. Ils étaient ensuite observés quotidiennement pendant 14 jours en vue

de déterminer d'éventuels décès, signes cliniques, changements affectant la peau, la fourrure, la démarche, la respiration et des comportements bizarres tels que l'automutilation, la marche à reculons.

✓ Poids corporels

Les animaux ont été pesés au premier jour avant l'administration de la substance puis au 7^{ème} jour et au 14^{ème} jour à la fin du test. Les variations de poids ont été calculées et enregistrées.

Autopsie générale : tous les animaux en vie à la fin de l'essai ont été euthanasiés et soumis à une autopsie à l'échelle macroscopique. L'attention était portée sur les reins et le foie.

I.2.4.2. Toxicité subaiguë

La toxicité orale subaiguë de l'extrait méthanolique de la poudre de racines de *Leptadenia hastata* a été évaluée chez le rat conformément à la ligne directrice n°407 de l'OCDE pour les essais de produits chimiques adoptée le 03 octobre 2008 (OCDE, 2008).

Pour ce test, 18 rats (09 mâles et 09 femelles) ont été utilisés pour les différentes doses à tester (500 et 1000mg/kg) et le groupe témoin. A la veille du test, les animaux sont pesés, identifiés individuellement par des marques sur la queue puis répartis au hasard en trois lots de six animaux (3 mâles et 3 femelles), le troisième lot étant le lot témoin qui va recevoir juste de l'eau minérale additionnée à du méthanol représentant 10% du volume total d'eau à administrer. Les animaux ont reçu par gavage à l'aide d'une sonde une dose quotidienne de la substance d'essai pendant 28 jours. Les séances de gavage étaient menées au même moment de la journée.

✓ Observation

La période d'observation a duré 28 jours. L'observation était faite deux fois par jour et des examens cliniques aux mêmes heures de la journée une fois par jour pour relever les changements affectant la peau, la fourrure, la démarche, la respiration, des comportements stéréotypés et des comportements anormaux (automutilation, marche à reculons, sauts).

✓ Poids corporels

Les animaux ont été pesés au premier jour juste avant l'administration de la substance puis chaque semaine jusqu'au jour du sacrifice. Les variations de la masse corporelle étaient calculées et enregistrées.

Tableau I : Résumé du protocole

LOTS	Doses mg/kg	Rats	Nombre de rats à J (0)
Lot 1 Témoins		Mâles	3
		Femelles	3
Lot 2	500	Mâles	3
		Femelles	3
Lot 3	1000	Mâles	3
		Femelles	3

J = Jour

✓ Les tests biologiques

- Tests urinaires

Chaque semaine, les urines de 24 heures étaient recueillies à l'aide des cages métaboliques pour la détermination de la protéinurie et de la glycosurie; tests réalisés sur place à l'aide de bandelettes réactives multiparamétriques de marque URS-3 (Reagent Strips for Urinalysis) (figure 9).

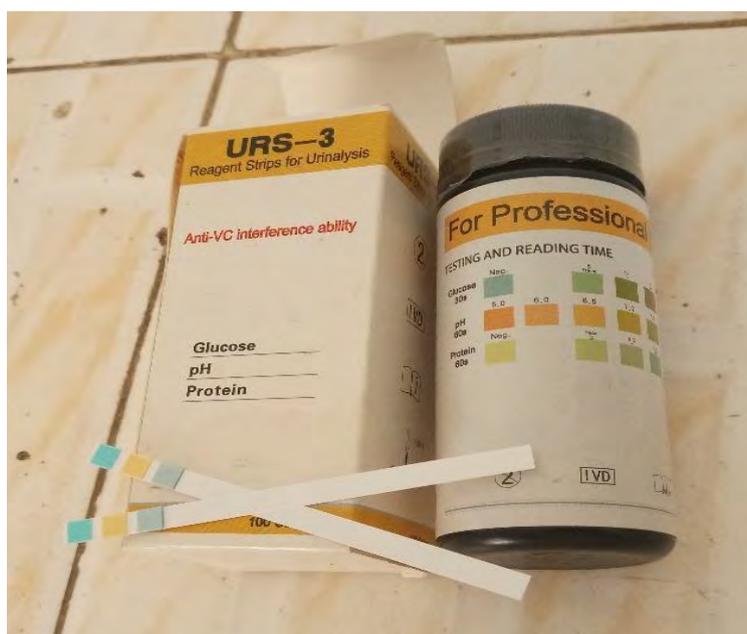


Figure 9 : Bandelettes multiparamétriques (source personnelle)

- Tests sanguins

A la fin de l'essai, les rats ont été mis à jeun le soir jusqu'au lendemain matin puis sacrifiés. Ils ont été anesthésiés avec un mélange de kétamine (10%) et xylazine (2%). Du sang a été recueilli dans des tubes avec des anticoagulants EDTA pour les tests hématologiques, des tubes avec fluorure de sodium pour le dosage de la glycémie et des tubes secs pour le dosage de la créatinine et la détermination de l'activité des transaminases. Les tubes secs et à fluorures ont été centrifugés à 3000 tours/minutes pendant 15 minutes, puis les sérums et plasma recueillis dans des tubes nunc et conservés au frigo à 4°C jusqu'à la réalisation des tests biochimiques.

Ensuite, l'examen hématologique de Numération de la Formule Sanguine (NFS) a été effectué avec le sang contenu dans les tubes à EDTA.

Le foie et les reins prélevés, lavés dans de l'eau physiologique et pesés sont mis dans des flacons contenant du formol 10% pour une étude histologique.

-Les tests hématologiques

Les tests hématologiques effectués au niveau du laboratoire hématologique du CHUN de Fann, ont été réalisés à l'aide de l'automate MIN-BC-3000Plus auto hematology analyser de la marque Mindray. Cet automate effectue le comptage des cellules par résistance thermique et détermine le taux d'hémoglobine par mesure photométrique sans cyanite. Ainsi il nous a donné le nombre de globules rouges (GR), le nombre de globules blancs (GB), le nombre de plaquettes (PLQ), le taux d'hémoglobine (Hb), le taux d'hématocrite (HCT), le volume globulaire (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) contenu dans nos échantillons.

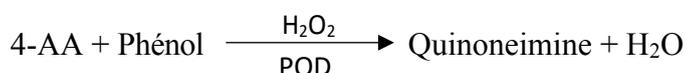
-Les tests biochimiques

Les paramètres urinaires étudiés (glucose, uréase sanguine) ont été déterminés à l'aide de bandelettes réactives multiparamétriques constituées par un support plastique sur lequel sont fixées des plages réactives distinctes. Elles ont été plongées pendant une seconde dans l'urine puis la lecture a été faite après une minute en comparant chaque coloration avec la gamme colorimétrique indiquée sur l'emballage.

Les tests sanguins ont été réalisés au niveau du Laboratoire de Biochimie du CHUN de Fann. Différents paramètres ont été déterminés à savoir la glycémie, l'urée, la créatinine, l'activité des transaminases (ASAT et ALAT).

-Glycémie

Le dosage de la glycémie repose sur la méthode enzymatique colorimétrique mettant en jeu la réaction de Trinder (Trinder, 1960). Le glucose contenu dans le sang à analyser est oxydé sous l'influence de la glucose oxydase (GOD) en acide gluconique avec formation d'eau oxygénée; cette dernière en présence de peroxydase réagit avec un mélange de phénol et de 4-aminoantipyrine (4-AA) pour former un composé coloré dont le degré de coloration est proportionnel à la concentration de glucose contenu dans l'échantillon de sang.



-Détermination de l'urée

Principe de la réaction enzymatique couplée

L'uréase contenue dans le réactif de travail hydrolyse l'urée contenu dans l'échantillon de sang en ammoniac et en dioxyde de carbone. Lors de la combinaison d'ammoniac et de 2-oxoglutarate ainsi que de nicotinamide-adénine dinucléotide réduite (NADH), l'enzyme glutamate déshydrogénase (GLDH) oxyde la NADH en NAD⁺.



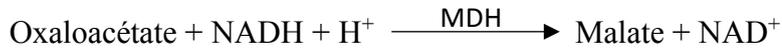
-Détermination de la teneur en créatinine

La créatinine dans l'échantillon de sang est dosée en routine par la réaction de Jaffé (Kaplan et al, 1984), une méthode cinétique calorimétrique. La créatinine réagit avec le picrate de sodium en milieu alcalin pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie à 500 nm.

-Activité des transaminases : ASAT et ALAT

La détermination de l'activité des transaminases est basée sur la mesure cinétique dans un système réactionnel dont la finalité est l'oxydation du coenzyme NADH, H⁺.

L'ASAT catalyse la réaction suivante :



L'ALAT catalyse le transfert d'un groupe amine de L-alanine en α -cétoglutarate afin de former du L-glutamate et du pyruvate. La lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la conversion du pyruvate en lactate. En même temps, la NADH est oxydée en NAD^+ , tel qu'illustré dans les équations suivantes :



Analyse statistique

Les analyses ont été réalisées par le test ANOVA avec le logiciel XLSTAT version 2019.3.2. Les valeurs ont été présentées sous forme de moyenne \pm écart type. Une différence entre les valeurs est jugée significative pour un $p < 0,05$.

CHAPITRE II : RESULTATS

II.1°) Rendement

L'extraction par le méthanol a permis d'obtenir un rendement de 1,014%.

II.2°) Toxicité aiguë

Au cours des 14 jours qu'a duré l'essai, nous observons une diminution du poids des rats traités (entre 8 et 10 g par semaine) par rapport aux rats témoins. Aucun décès n'a été observé jusqu'à la dose maximale testée de 2000 mg/kg. A l'autopsie, le poids de l'estomac (vidé) des femelles traitées était supérieur à celui des témoins (figure 10).

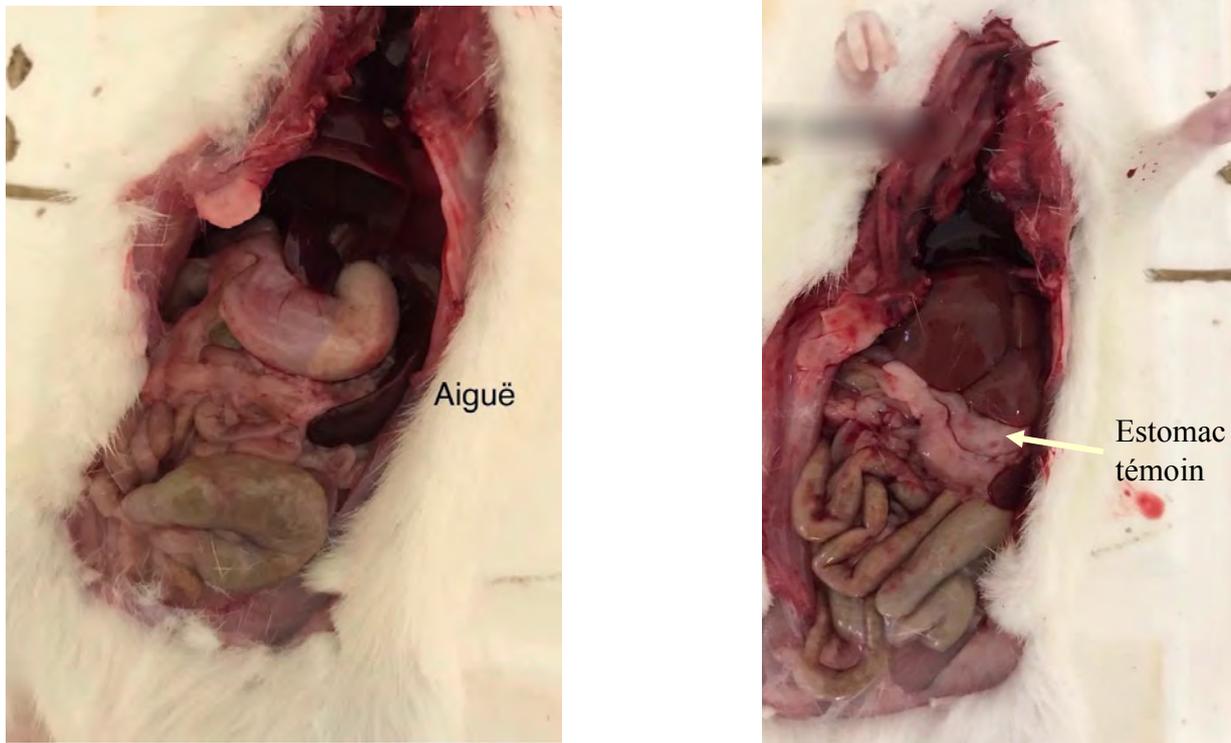


Figure 10 : Estomac rat femelle traité et rat témoin

II.3°) Toxicité subaiguë

Sur les 18 rats initialement sélectionnés à savoir 9 mâles et 9 femelles, nous avons enregistré 8 décès tous appartenant aux groupes traités. En effet nous observons le décès de tous les rats (6) traités à la dose 1000 mg/kg (lot 3) et 2 décès dont 1 mâle et une femelle à la dose 500 mg/kg (lot 2). Les organes (foie, reins et estomac) ont été prélevés et conservés dans du formol pour une analyse histologique.

Les décès ont été notés dans le lot 2 au 13^{ème} jour pour le rat mâle et au 17^{ème} jour pour le rat femelle. Par contre pour le lot 3, les décès ont été notés au 11^{ème}, 19^{ème}, 22^{ème} jour chez les rats mâles et au 7^{ème}, 8^{ème}, 17^{ème} jour chez les rats femelles. Pendant la durée de l'essai nous constatons que les selles des animaux traités étaient plus foncées que celles des animaux témoins ; aussi nous relevons quelques signes chez les rats du lot 3 : léthargie 5 mn après gavage, automutilation entraînant l'inflammation des pattes avant, convulsions avec le décès de l'animal, étourdissement, animal courbé. L'inflammation des pattes avant est apparue au 9^{ème} jour des tests. A l'autopsie, nous constatons une augmentation de la taille de l'estomac de tous les rats traités par rapport aux témoins (lot 1). Augmentation plus significative chez le lot 3 que chez le lot 2. Au 22^{ème} jour à l'autopsie du rat 1 mâle (lot 3), nous constatons une inflammation de l'intestin.

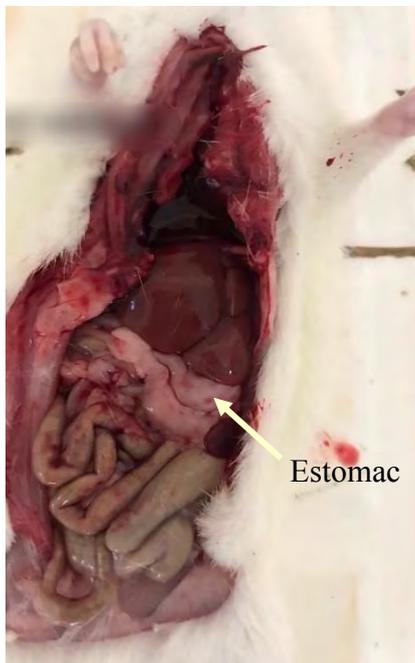


Figure 11a : Estomac rat témoin



Figure 11b : Estomac rat femelle dose 1000mg/kg



Figure 11c : Estomac rat mâle dose 1000mg/kg

Figure 11 : Estomac rats traités à 1000mg/kg comparé au témoin



Figure 12a : Estomac rat témoin



Figure 12b : Estomac rat mâle dose 500mg/kg



Figure 12c : Estomac rat femelle dose 500mg/kg

Figure 12 : Estomac rats traités à 500mg/kg comparé au témoin

L'évolution du nombre de rats durant les 28 jours d'essai a été récapitulée dans le tableau ci-dessous.

Tableau II : Evolution du nombre de rats par semaine

LOTS	SEXE	Nombre T de rats à J (0)	Nombre de rats à J (7)	Nombre de rats à J (14)	Nombre de rats à J (21)	Nombre de rats à J (28)
		Mort / Restant	Mort / Restant	Mort / Restant	Mort / Restant	Mort / Restant
LOT N°1	Mâles	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3
	Femelles	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3
LOT N°2	Mâles	0 / 3	0 / 3	1 / 2	1 / 2	1 / 2
	Femelles	0 / 3	0 / 3	0 / 3	1 / 2	1 / 2
LOT N°3	Mâles	0 / 3	0 / 3	1 / 2	2 / 1	3 / 0
	Femelles	0 / 3	0 / 3	2 / 1	2 / 1	3 / 0

II.3.1. Evolution du poids corporel

L'évolution de la masse corporelle des rats est représentée par la figure 13 pour les rats mâles et la figure 14 pour les rats femelles.

Nous notons une différence significative se traduisant par une perte de poids chez les rats femelles traités à différentes doses (lot 2 et lot 3) par rapport aux rats témoins. Par contre chez les rats mâles la différence significative a été notée par rapport à leurs témoins aux jours 7, 21 et 28 pour les rats du lot 2 (dose 500mg/kg) et aux jours 7 et 14 pour ceux du lot 3 (1000mg/kg).

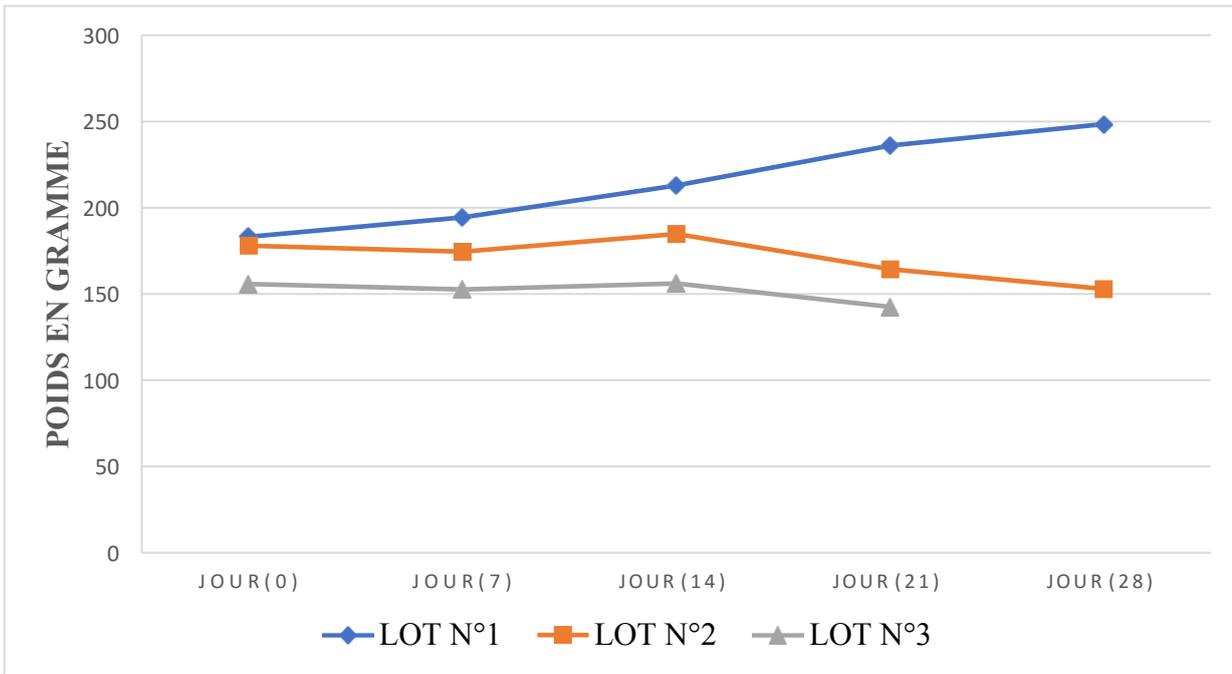


Figure 13 : Evolution du poids des rats mâles

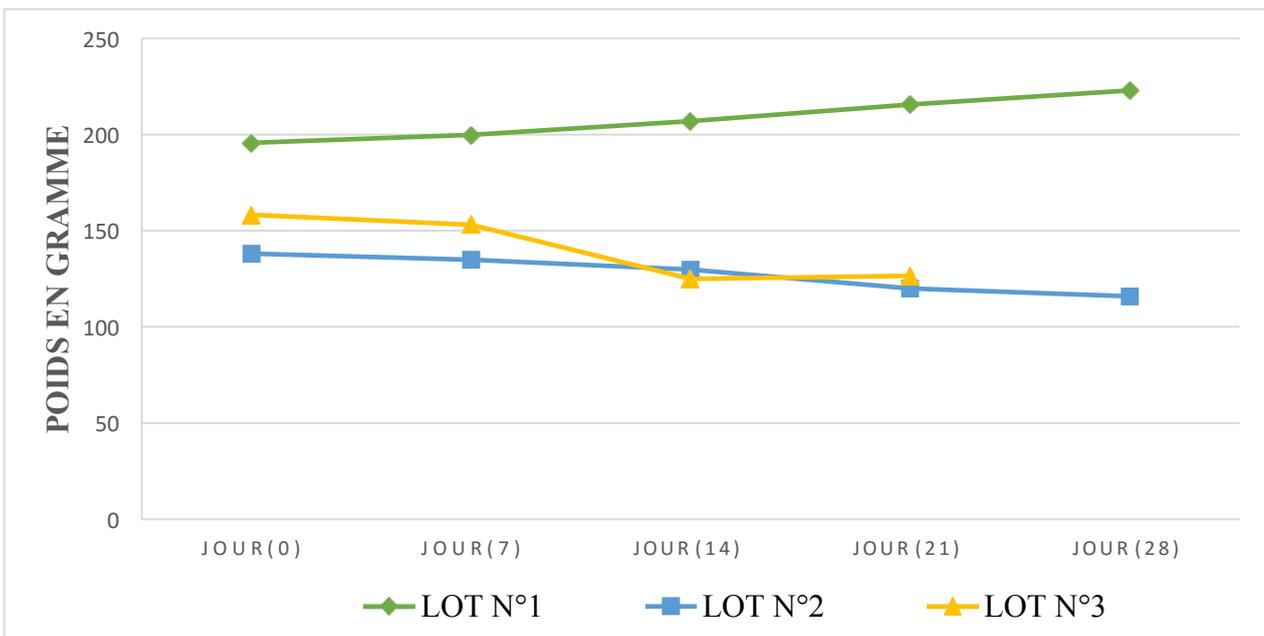


Figure 14 : Evolution du poids des rats femelles

II.3.2 °) Biologie

II.3.2.1 °) Tests urinaires

L'analyse des urines des rats effectuées chaque semaine pour la recherche de glucose a toujours été négative montrant ainsi son absence dans le milieu biologique, tout le contraire pour la recherche de protéine qui était positive.

II.3.2.2 °) Tests sanguins

Les paramètres ci-dessous n'ont pu être déterminés pour le lot 3 (dose 1000 mg/kg) pour cause de décès de tous les rats du groupe au cours de l'essai.

II.3.2.2.1. Tests hématologiques

Les tableaux III et IV montrent l'effet de l'extrait méthanolique de racines de *Leptadenia hastata* sur les paramètres hématologiques des rats traités comparés aux rats témoins.

Aucune différence significative n'a été notée entre les taux moyens des différents paramètres hématologiques évalués chez les rats mâles survivants du lot 2 et celui du groupe témoin.

Ce qui n'est pas le cas chez les rats femelles où nous relevons une différence significative par rapport aux témoins pour les paramètres hématologiques suivants : la concentration d'hémoglobine dans le sang, le taux d'hématocrite et le volume globulaire moyen.

Tableau III : Effet de l'extrait méthanolique des racines de *Leptadenia hastata* sur les paramètres hématologiques des rats mâles (résultats exprimés sous forme de moyenne \pm écart type).

MÂLES		
Paramètres	Lots	
		Lot N°1 TEMOIN (n=3) Lot N°2 (n=2) 500 mg/kg
Globules blancs ($10^3/uL$)		5,28 \pm 1,14 3,05 \pm 1,62
Globules rouges ($10^6/uL$)		7,36 \pm 1,49 7,50 \pm 0,48
Concentration d'hémoglobine (g/dL)		14,13 \pm 1,85 13,4 \pm 0,70
Hématocrite (%)		43,46 \pm 7,77 39,45 \pm 2,33
Volume globulaire moyen (fL)		59,26 \pm 2,87 52,6 \pm 0,28
CCMH (g/dL)		32,73 \pm 1,80 33,95 \pm 0,21
TGMH (pg)		19,4 \pm 1,6 17,85 \pm 0,21
Plaquettes ($10^3/uL$)		718,33 \pm 144,28 741,5 \pm 13,43

n = nombre de rats

Tableau IV : Effet de l'extrait méthanolique des racines de *Leptadenia hastata* sur les paramètres hématologiques des rats femelles (résultats exprimés sous forme de moyenne \pm écart type).

FEMELLES		
Paramètres	Lot N°1 TEMOIN (n=3)	Lot N°2 (n=2)
Globules blancs ($10^3/uL$)	4,58 \pm 1,07	5,4 \pm 1,13
Globules rouges ($10^6/uL$)	7,09 \pm 0,55	6,07 \pm 0,33
Concentration d'hémoglobine (g/dL)	14,83 \pm 0,41	10,9 \pm 0,42 *
Hématocrite (%)	44,16 \pm 3,07	31,35 \pm 1,06 *
Volume globulaire moyen (fL)	62,3 \pm 1,73	51,8 \pm 1,13 *
CCMH (g/dL)	33,7 \pm 3,01	34,55 \pm 0,35
TGMH (pg)	21 \pm 1,90	17,85 \pm 0,21
Plaquettes ($10^3/uL$)	728,33 \pm 111,43	673,5 \pm 215,66

*Différence statistiquement significative par rapport au groupe témoin ($p < 0,05$)

n = nombre de rats

II.3.2.2.2. Tests biochimiques

Le tableau V montre l'effet de l'extrait méthanolique de racines de *Leptadenia hastata* sur les paramètres biochimiques des rats traités comparés au rats témoins. Une différence significative a été notée entre les taux moyens de créatinine et d'ALAT évalués chez les animaux survivants du lot 2 et leurs valeurs dans les lots témoins respectifs. Taux plus élevé chez les rats traités que chez les rats témoins.

Tableau V : Effet de l'extrait méthanolique des racines de *Leptadenia hastata* sur quelques paramètres biochimiques

MÂLES		
Paramètres	Témoin (n=3)	Lot 2 (n=2)
Glycémie (g/L)	2,83	1,55 ± 0,24
Créatinine (mg/L)	7,38 ± 0,46	10,35 ± 2,47 *
ASAT (U/L)	141,33 ± 20,03	125,29 ± 9
ALAT (U/L)	41,33 ± 0,58	69,64 ± 5,61 *
Urée (mg/dL)	46	51,53 ± 28,66

FEMELLES		
Paramètres	Témoin (n=3)	Lot 2 (n=2)
Glycémie (g/L)	2,83	1,95 ± 0,91
Créatinine (mg/L)	7,38 ± 0,46	10,1 *
ASAT (U/L)	141,33 ± 20,03	161,94
ALAT (U/L)	41,33 ± 0,58	96,43 *
Urée (mg/dL)	46	44,37

n = nombre de rats

CHAPITRE III : DISCUSSION

L'objectif de ce travail était d'évaluer *in vivo* la toxicité des racines de *Leptadenia hastata*. Pour cela, nous avons utilisé l'extrait méthanolique des racines de *Leptadenia hastata* que nous avons administré à des rats durant une période de 14 jours pour la toxicité orale aiguë et 28 jours pour la toxicité subaiguë.

L'utilisation du méthanol comme solvant se justifie par le fait qu'en dehors des activités pharmacologiques connues des racines de la plante, une activité pharmacologique intéressante a été montrée *in vitro* avec l'extrait méthanolique. En effet, au niveau du Laboratoire de Chimie de l'UCAD il a été montré que l'extrait méthanolique des racines de *L.hastata* entraînait une réversibilité de la falciformation d'hématies drépanocytaires (Seck et al., 2015).

Le rendement de l'extrait méthanolique était de 1,014%. Résultat en adéquation avec ceux d'études antérieures à savoir celle de Diouf (2,64%) avec leur extrait butanolique des racines, de Seck et al (5%) avec leur extrait méthanolique des racines et celle de Bello et al (11,4%) avec leur extrait méthanolique des feuilles (Bello et al., 2011 ; Seck et al., 2015 ; Diouf, 2016). Ces résultats pourraient être dû aux méthodes d'extraction et à la partie de la plante utilisée.

La dose de 2000mg/kg de poids corporel utilisée pour le test de la toxicité aiguë n'a entraîné aucune mortalité ni engendré aucun signe clinique de toxicité aiguë chez le rat après administration de l'extrait et pendant les 14 jours d'observation. Par contre, après autopsie, nous avons remarqué que l'un des rats du groupe d'essai présentait un estomac d'aspect anormal. Par conséquent nous pouvons dire que la valeur de la DL_{50} de l'extrait méthanolique des racines de *Leptadenia hastata* doit être inférieure à 2000 mg/kg. Selon le système général harmonisé de l'OCDE (OCDE, 2001), l'extrait total peut être classé dans la catégorie 4 non toxique par voie orale mais à consommer avec prudence. Ces résultats sont semblables à ceux de Tamboura et al. (2005) qui après avoir estimé la DL_{50} chez la souris avec l'extrait aqueux des feuilles et tiges de la plante, a classé son extrait comme étant non toxique par voie intrapéritonéale. Toutefois en tenant compte de l'échelle de classification de Hodge et Sterner, l'extrait méthanolique des racines de *Leptadenia hastata* est considéré comme légèrement toxique (Hodge et Sterner, 1949).

L'évaluation de la toxicité subaiguë permet de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et ou anatomopathologiques dues à l'administration répétée d'une substance active. Les résultats obtenus à la fin de cette étude de toxicité subaiguë qui a duré 28 jours montrent que l'extrait des racines de *Leptadenia hastata* aurait des effets sur l'évolution de la masse corporelle et l'estomac des rats. En effet le poids corporel est un indice important de l'état physiologique et pathologique chez les animaux car sa variation indique les effets indésirables des produits chimiques (Dybing et al., 2002). Au cours

de l'essai nous avons noté une diminution de la masse corporelle de tous les animaux traités par rapport aux rats témoins. Or il est reconnu que les plantes de même composition chimique que nos racines (tanins et flavonoïdes) influent sur la physiologie digestive en entraînant une diminution de la digestibilité des nutriments (Hervas et *al.*, 2003). Nous observons aussi une augmentation de la taille de l'estomac de tous les animaux traités aux différentes doses ; augmentation plus significative chez les rats traités à la dose 1000 mg/kg que chez les rats traités à 500 mg/kg. Cela pourrait être attribué à la présence de tanins dans l'extrait ; qui sont connus pour posséder des propriétés astringentes pouvant contribuer à l'augmentation du poids des organes (Maina et *al.*, 2013). Cependant les estomacs étaient remplis de nourriture non digérée alors que les rats avaient été mis à jeun les 12 heures précédant l'autopsie. Cela suggère une indigestion pouvant être due à une administration répétée de notre extrait qui est connu pour avoir des tanins ; car bien que possédant plusieurs propriétés bénéfiques les traitements à base de tanins ne doivent pas dépasser 3 à 4 jours (Biaye, 2002).

Les variations des paramètres hématologiques pourraient être le signe d'atteinte toxique du système hématopoïétique comme l'est la diminution du poids corporel (Adeneye et *al.*, 2006). L'administration orale de l'extrait méthanolique des racines de *L. hastata* a montré des variations significatives de l'hématocrite, de la concentration d'hémoglobine et du volume globulaire entre les témoins femelles et les rats femelles traités à la dose de 500 mg/kg. Ces différences observées dans le bilan hématologique vont dans le sens d'une baisse de ces différents paramètres traduisant donc une anémie microcytaire chez ces femelles traitées à la dose 500 mg/kg. Aucune différence significative n'a été notée pour les divers paramètres hématologiques mesurés chez les rats mâles traités par rapport aux rats témoins.

Le foie et le rein ont une place importante dans le processus métabolique de l'organisme. Les transaminases sont des enzymes retrouvées dans les cellules de l'organisme et sont indicateurs des dommages hépatocellulaires. En effet leur augmentation sérique reflèterait une lésion cellulaire en particulier au niveau hépatique (Kew, 2000). L'ALAT est celle qui l'indique le mieux (Boyd, 1983). Les résultats après administration de notre substance ont montré une augmentation de l'activité de l'ALAT chez les animaux traités. Cette augmentation pourrait être due à une nécrose hépatocellulaire (Hall, 2001). Cependant il peut y avoir augmentation de l'activité de l'ALAT sans qu'il y ait lésion hépatique et dans ce cas l'examen histologique fournira plus de renseignement. La recherche de glucose dans les urines s'est révélée négative et il n'y avait pas de différences significatives entre les valeurs de la glycémie des rats traités et des témoins.

Les protéines urinaires, l'urémie et la créatininémie sont des marqueurs qui nous renseignent sur l'état de la fonction rénale. Leurs variations dans le sens d'une élévation, sont des signes de

dysfonctionnement rénal. Dans notre étude, la créatininémie était légèrement élevée dans le groupe traité par rapport au groupe témoin, ce qui indiquerait un dysfonctionnement de la fonction d'épuration des reins (Borges et al., 2005). Pour ce qui est des autres paramètres aucunes variations significatives n'ont été notées. Ces résultats indiquent que l'extrait serait probablement toxique pour les reins, ce que nous vérifierons par une étude histologique ultérieure.

CONCLUSION

IL était question dans la présente étude d'évaluer la toxicité des racines de *Leptadenia hastata*, en vue de rassurer sur son utilisation thérapeutique.

Pour cela nous avons effectué un test de toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait méthanolique des racines sur les rats Wistar. Le test de toxicité orale aiguë a permis de déterminer une DL₅₀ inférieure à 2000mg/kg de poids corporel, caractéristique des substances non toxiques mais à consommer avec modération. Le test de toxicité orale subaiguë aux doses 500 et 1000 mg/kg a entraîné le décès de tous les animaux au cours des 28 jours d'observations pour la dose 1000 mg/kg et de deux animaux pour la dose 500mg/kg. Nous avons observé une augmentation de la créatininémie et de l'activité de l'ALAT chez les rats traités par rapport aux témoins, signes d'affections au niveau du foie et des reins. Aussi une différence significative chez les femelles pour les taux moyens de concentrations d'hémoglobine, d'hématocrite et de volume globulaire a été observée.

Au regard donc de ces résultats, nous pouvons déduire que la consommation de l'extrait méthanolique des racines de *Leptadenia hastata* présente un certain risque de toxicité. Toutefois son utilisation à faible dose et pendant une courte durée devrait être possible mais avec prudence.

Cependant, vu son utilisation dans le traitement de nombreuses affections, d'autres travaux pour déterminer la dose thérapeutique adéquate serait nécessaire mais également pour apprécier la réversibilité ou non des effets toxiques après arrêt du traitement.

Une étude histologique pour confirmer ou infirmer d'éventuelles lésions cellulaires au niveau rénal et hépatique est envisagée pour l'avenir.

BIBLIOGRAPHIE

- Abigal, R., Cuyacot, J., Joules, M., Mahilum, M., Reina, S. and Madamba, B. (2014). Cytotoxicity potentials of some medicinal plants in Mindanao, Philippines. *Asian J. Plant Sci. Res.* 4 (1): 81-89.
- Adeneye A.A., Ajagbonna O.P., Adeleke T.L., Bello S.O. (2006). Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of *Musangacecropioides* in rats. *J. Ethnopharmacol.*, 105:374-379.
- Adjanohoun E.J., Ahyi M.R.A, Ake A.L, Akpagana K. (1986). *Medecine traditionnelle et pharmacopée : contribution aux études ethnobotaniques et floristiques du Togo.* Rapport ACCT, Paris, p671.
- Akintonwa, A., Awodele, O., Afolayan, G. and Coker, H.A.B. (2009). Assessment of the mutagenicity of some pharmaceutical effluents. *J. Ethnopharmacol.* 125 : 461–470.
- Aliero AA, Wara SH (2009). Validating the medicinal potential of *Leptadenia hastata*. *Afr J Pharm Pharmacol* 3: 335-338.
- Aquino R, Peluso G, De Tommasi N, De Simone F, Pizza C (1996). New polyoxypregnane ester derivatives from *Leptadenia hastata*. *J Nat Prod* 29: 555-564.
- Arbonnier M. (2009). *Arbres, arbustes et lianes d’Afrique de l’Ouest.* Ed. QUAE, MNHN, troisième édition p182.
- Bayala B, Telefo PB, Bassole IHN, Tamboura HH, Belemtougri RG, et al. (2011). Anti-spermatogenic activity of *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne leaf stems aqueous extracts in male Wistar rats. *J Pharmacol Toxicol* 6: 1–9.
- Bayala B, Téléfo PB, Savadogo A, Sawadogo L, Malpoux B (2012). Combined effects of testosterone propionate and *Leptadenia hastata* Pers. (Decne) aqueous extracts on immature castrated male rats. *J Med Plants Res* 6: 29252931.
- Bello A, Aliero AA, Saidu Y, Muhammad S (2011). Hypoglycaemic and Hypolipidaemic Effects of *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science* 19: 187-192.
- Bello A, Aliero AA, Saidu Y, Muhammad S (2011). Phytochemical Screening, Polyphenolic Content and Alpha-Glucosidase Inhibitory Potential of *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science* 19: 181186.
- Berhaut J. (1971). *Flore illustrée du Sénégal.* Ministère du développement rural Dakar. Tome 1. 626p.

- Biaye M. (2002). Actions pharmacologiques des tanins. Thèse Doctorat Dakar N°101
- Boyd, J.W. (1983). The mechanisms relating to increases in plasma enzymes and isoenzymes in disease of animals. *Vet. Clin. Pathol.* 12:9–24.
- Dia A. (1991). Contribution à l'étude des plantes alimentaires et médicinales de Kissane, village serrer de la région de Thiès. Thèse :Pharm : Dakar, N°29.
- Diagne S.A. (1991). Plante médicinale : enquêtes menées dans la région de Thiès auprès des guérisseurs. Thèses : Pharm : Dakar, N°47.
- Diniz M.A., Silva O., Paulo M.A., Gomes E.T. Medicinal uses of plants from Guinea-Bissau.
- Diouf M.K. (2016). Propriétés antifalcémiantes de fraction butanoliques des racines de *Leptadenia hastata Asclepiadaceae*. Pp 19.
- Dybing, E., Doe, J., Groten, J., Kleiner, J., O'Brien, J., Renwick, A.G., Schlatter, J., Steinberg, P., Tritscher, A., Walker, R. and Younes, M. (2002). Hazard characterisation of chemicals in food and diet: dose response, mechanisms and extrapolation issues. *Food Chem.Toxicol.* 40: 237–282.
- Freiberger CE, Vanderjagt DJ, Pastuszyn A, Glew RS, Mounkaila G, et al. (1998). Nutrient content of the edible leaves of seven wild plants from Niger. *Plant Foods Hum Nutr* 53: 57-69.
- Gautier A. (1822). Manuel des plantes médicinales ou Description, usage et culture des végétaux indigènes employés en médecine. p01.
- Hägglblad J., Carlsson B., Kivelä P. et P. Siltari, (1995). Scintillating Microtitration Plates as Platform Determination of (3H) Estradiol Binding Constants for hER- HBD, *Biotechniques* 18: 146-151.
- Hall, R.L. (2001). Principles of clinical pathology for toxicology studies. In: Hayes WA, ed. Principles and Methods of Toxicology. 4th ed. Philadelphia, PA: Taylor and Francis: 1001–1038.
- Hervas G., Frutos P., Giraldez F.J. et al. (2003). Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes *An. Feed Sci. Techn.*109:65-78.
- Hodge A.C. et Sterner J.H. (1949). Tabulation, toxicity classe. *Am. Ind. Hygiene Asso c. Quart.* Vol. 10, n°93, 194.
- Hwang BY, Kim SE, Kim YH, Kim HS, Hong YS, et al. (1999). Pregnane glycoside multidrug-resistance modulators from *Cynanchum wilfordii*. *J Nat Prod* 62: 640-643.
- Kerharo J. et Adams J.G. (1974). La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle, plantes médicinales et toxiques. Ed. Vigot et frères, Paris.

- Kerharo J., Adam J.G. (1964). Plantes médicinales et toxiques des Peul et des Toucouleur du Sénégal. Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée. 11(12) : 543-599.
- Kew M.C. (2000). Serum aminotransferase concentration as evidence of hepatocellular damage. Lancet, 355: 591-592.
- Lipnick R.L., Cotruvo J.A., Hill R.N., Bruce R.D., Stitzel K.A., Walker A.P., Chu I., Goddard M., Segal L., Springer J.A., and Myers R.C. (1995). Comparison of the Up-and-Down, Conventional LD50 and Fixed Dose Acute Toxicity Procedures. Fd. Chem. Toxicol., 33, 223-231.
- Mahima, R. A., Deb, R., Latheef, S. K., Samad, H. A., Tiwari, R., Verma, A. K., Kumar, A., Dhama, K. (2012). Immunomodulatory and therapeutic potentials of herbal, traditional / indigenous and ethnoveterinary medicines. Pakistan J. Biological Sci. 15: 754-774.
- Maina V.A., Garba A., Maurice N.A., Baraya Y.S., Owada A.H., Hambolu S.E. et al. (2013). Effect of Dose Rates on Organs Weight in *Leptadenia hastata* Extract Treated White Albino Rats, Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences. 1(1):26-31.
- Maurice N.A., Garba A., Maina V.A., Baraya Y.S., Owada A.H., Agang I., Hambolu S.E., Sada A. (2011). Effet de toxicité aiguë de l'extrait de feuille de *leptadenia hastata* (pers) chez le rat albinos blanc. Journal nigérian de parasitologie 32 (2).
- Muhammad Y. G. et Zubaida S.A. (2015). Evaluation de l'effet hypolipidémiant des feuilles de *Leptadenia hastata* chez le rat albinos. Journal avancé de sciences et technologies de l'alimentation. Vol 7 n° 1. p 1-6.
- Nacoulma/Ouedraogo, O. G. (1996). Plantes médicinales et pratiques médicinales traditionnelles au Burkina Faso. Cas du plateau central. Thèse Doctorat d'Etat es Sciences. Univ. Ouagadougou. Tome II. 261 p.
- Nikiéma JB, Vanhaelen-Fastré R, Vanhaelen M (1997). Triterpenoids from *Leptadenia hastata* latex. Planta Med 63: 486.
- Nikiéma JB, Vanhaelen-Fastré R, Vanhaelen M, Fontaine J, De Graef C, et al. (2001). Effects of antiinflammatory triterpenes isolated from *Leptadenia hastata* latex on keratinocyte proliferation. Phytother Res 15: 131-134.
- OCDE. (2001). Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë. In *ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques*, pp 1-14. OCDE, Paris.

OCDE. (2008). Etude de toxicité orale à la dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. In *ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques* vol 1, number 4, pp 1-14. OCDE, Paris.

Seck M., Cheick Sall, Gueye P.M., Insa Seck, Dioum M.D., Zhour L., Sylla G.R., Djibril F., Mamadou F., Dieye T.N. (2015). Etude de l'activité antifalcémiant d'extraits de racines de *Leptadenia hastata* Decne. (Asclepiadaceae). *International Journal of Biological and chemical sciences*. 9(3) : 1375-1383.

Sekou B., Diallo D., Dembelé S., Berit S.P. (2006). Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of schistosomiasis in Nono District, Mali. In *Journal of Ethnopharmacology* N° 105: 387-399.

Sena LP, Vanderjagt DJ, Rivera C, Tsin AT, Muhamadu I, et al. (1998). Analysis of nutritional components of eight famine foods of the Republic of Niger. *Plant Foods Hum Nutr* 52: 17-30.

Silbergeld E. K. (2000). La toxicologie : Introduction. In *Encyclopédie de Sécurité et de Santé au Travail*. VOL 1. Organisation Internationale du Travail, Genève. P 33. 2-33.3.

Sofowora A. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. Ed. Kharthala, Paris, p13.

Tamboura, H., Kabore, H., and Yameogo, S. M. (1998). Ethnomédecine et pharmacopée vétérinaire traditionnelle dans le plateau central du Burkina Faso : cas de la province du Passoré. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2(3):181-191.

Tamboura, H.H., Bayala, B., Lompo, M., Guissou, I. P. and Sawadogo, L. (2005). Ecological distribution, morphological characteristics and acute toxicity of aqueous extracts of *Holarrhena floribunda* (G. Don) Durand & Schinz, *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne and *Cassia sieberiana* (DC) used by veterinary healers in Burkina Faso. *Afr. J. Trad. Complement Alternative Med.* 2: 13-24.

Tata F. Y., Wazis C. H., Timothy S. Y., Sani I. Y., Zarami A. B., Genesis R. Y. (2019). Acute and subacute toxicity study of the ethanol crude extract of *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne. In *Wistar rats*. *Nigerian journal of Pharmaceutical Research*, v. 15,n°1,p 93-105.

Trinder P. (1960). Use of glucose oxidase, Peroxidase and O.Dianisidine in Determination of Blood and Urinary Glucose. *Ann. Clin. Biochem.* 6:24.

Vanderjagt, DJ, C. Freiberger, HT Vu, G. Mounkaila, RS Glew et RH Glew. (2000). La teneur en inhibiteur de trypsine de 61 aliments végétaux comestibles sauvages du Niger. *Aliments végétaux Hum. Nutr.*, 55: 335-346