



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

Référence ..... / .....

# MÉMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Biochimie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
**BEN DAHMANE Sabrina**

Le : mercredi 27 juin 2018

## **Etude de l'effet préventif des extraits de *Nigella sativa* sur l'arthrite induite chez les rats *Albinos Wistar* par le collagène type II**

---

### Jury :

M.	DEGHIMA Amirouche	MAA	Université de Biskra	Président
M.	DERRADJI Yacine	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	BENHARZALLAH Naoual	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2017 - 2018

# *Remerciements*

Je tien tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui ma donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, je tien à remercier Mr DERRADJI Yacine, mon encadreur. Son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail. Vous m'avez fait confiance en acceptant de me guider dans la réalisation de ce travail qui est d'ailleurs le vôtre. J'ai bénéficié de vos qualités pédagogiques et humaines.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche, en acceptant d'examiner mon travail et de l'enrichir par leurs propositions.

En fin, il est agréable d'exprimer mes sincères reconnaissances à tous ceux qui mon apporté de près ou de loin, aide et conseils lors de l'élaboration de ce mémoire de master.

## *Dédicace*

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail à mes chers parents; qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et qui m'ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux, Nchallah je serai à la hauteur de vos sacrifices.

A mes très chères sœurs **Dalal** et **Sara** qui m'ont donné de leur volonté et force pour continuer mes études, je vous adore mes précieuses.

A mes adorables frères, les trois HOMMES de ma vie: **Khaled**, **Rabie** et **Louardi**, qui m'ont soutenu durant tout mon cursus éducatif, vous dire merci c'est peu, donc je dis je vous adore mes chers.

A mon mari **Ilyes** je t'aime.

A mes belles sœurs **Widad**, **Sakina**, **Ahlem**, **Amira** et **Aridj**, je vous adore.

A mes beaux frères **Mohamed elghali**, **Belkacem**, **Mohamed** et **youba**.

A ma chère **Souhir** qui sans elle ce travail n'aurait pas fini, on a passé des moments agréables et des autres aussi incroyables mais dieu merci, notre amitié et notre amour était et sera au dessus de tous les obstacles,

Je t'aime **Souhy**.

**K. H**, une personne qui occupe une grande valeur dans ma vie, je lui souhaite toute la réussite ainsi que le bonheur et la santé.

A tous mes cousins et cousines, voisins et voisines, amis et amies.

A toute ma promotion de l'année 2017/2018.

Je vous adore...

*Sabrina*

# Sommaire

Remerciments.....	I
Dédicace .....	II
Liste des Tableaux.....	III
Liste des Figures.....	IV
Liste des abréviations .....	V

Introduction .....	1
--------------------	---

## Synthèse Bibliographique

### Chapitre 1: *Nigella sativa L.*

1. Généralités.....	2
2. Culture.....	2
3. Description botanique .....	3
4. Composition chimique des graines de <i>Nigella sativa L.</i> .....	3
4.1. Huile.....	4
4.1.1. Huile fixe.....	4
4.1.2. Huile essentielle .....	5
5. Propriété pharmacologique des graines de <i>N. sativa L.</i> .....	6
5.1. Effet anti-inflammatoire.....	6
5.2. Effet anti-bactérien.....	6
5.3. Effet anti-diabétique.....	6
5.4. Effet anti-tumorale .....	6

### Chapitre 2: L'arthrite Rhumatoïde

1. Historique.....	7
2. Généralité sur l'arthrite rhumatoïde .....	7
3. Epidémiologie .....	7
4. Etiologie .....	7
4.1. Facteurs génétiques .....	8
4.2. Facteurs immunologiques .....	8
4.3. Facteurs hormonaux .....	8

4.4. Facteurs environnementaux.....	9
4.4.1. Tabagisme .....	9
4.4.2. Agents infectieux.....	9
5. Physiopathologie .....	9
5.1. Phase débutante .....	9
5.2. Phase de recrutement et d'inflammation.....	10
5.3. Phase de réparation articulaire .....	10
6. Stratégie Thérapeutique.....	10
6.1. Traitements médicamenteux .....	10
6.1.1. Traitement symptomatiques .....	11
6.1.2. Traitements de fond hors biothérapies .....	12

## Partie Pratique

### Chapitre 1: Matériel et Méthodes

1. Matériel biologique .....	13
1.1. Animaux .....	13
1.2. Graines de <i>Nigella sativa L</i> .....	13
2. Méthodes .....	14
2.1. Obtention des extraits de <i>N. sativa L</i> .....	14
2.1.1. Extraction de l'huile totale des graines de <i>N. sativa L</i> .....	14
2.1.2. Obtention de l'extrait aqueux de <i>N. sativa L</i> .....	15
2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de <i>N. Sativa L</i> sur un modèle animal d'arthrite humaine.....	16
❖ Protocole expérimental .....	16
2.4. Suivi l'évolution de la maladie .....	18
❖ Evolution du poids corporel.....	18
❖ Evolution de l'épaisseur des pattes .....	18
❖ Score visuel.....	19
❖ Prélèvement sanguin .....	21
2.5. Statistiques.....	21

### Chapitre 4: Résultats et Discussion

1. Rendement de l'extraction .....	22
1.1. Huiles totales .....	22

---

1.2. Extrait aqueux .....	23
2. Effet préventif des extraits de <i>Nigella sativa</i> sur l'arthrite induite chez les rats.....	24
2.1. Effet des traitements sur l'incidence et le jour de déclenchement de la maladie .....	26
2.2. Effet des huiles totales et de l'extrait aqueux sur le score et l'épaisseur des pattes.....	27
2.3. Effet des huiles totales et de l'extrait aqueux sur le poids corporel.....	28
Conclusion.....	30
Bibliographie.....	31

---

## Liste des Tableaux

Tableau 1: Description botanique de <i>Nigella sativa</i> L. ....	3
Tableau 2: Composition chimique des graines de <i>Nigella sativa</i> L. ....	4
Tableau 3: Principaux phospholipides d'huile fixe de <i>Nigella sativa</i> L. ....	4
Tableau 4: Composés de monoterpènes d'huile essentielle de <i>Nigella sativa</i> L. ....	5
Tableau 5. Différentes doses thérapeutiques. ....	17
Tableau 6. Caractéristiques des huiles totales ....	22
Tableau 7. Propriétés de l'extrait aqueux obtenues à partir des graines de <i>N. sativa</i> L. ....	23
Tableau 8. Déclenchement et incidence de la maladie.....	26

## Liste des Figures

Figure 1. Représentation chimique de la thymoquinone et de ses dérivés retrouvés dans les huiles essentielles de <i>N. sativa L.</i> .....	5
Figure 2. Arthrite : inflammation d'une articulation .....	10
Figure 3. Animaux utilisées dand l'expérience.....	13
Figure 4. Graines de <i>Nigella sativa L.</i> .....	13
Figure 5. Filtration du macérat.....	13
Figure 6. Elimination d'hexane par Rotavapeur Heidolph .....	14
Figure 7. Gavage des rats. ....	15
Figure 8. Préparation des rats et du CII.....	17
Figure 9. Induction de l'arthrite.....	18
Figure 10. Mesure de l'épaisseur des pattes. ....	19
Figure 11. Prélèvement sanguin. ....	20
Figure 12. Prélèvement des pattes et organes .....	20
Figure 13. Huile totale récupéré.....	22
Figure 14. Extrait aqueux des graines de <i>Nigella sativa L.</i> .....	24
Figure 15. Formation des ulcères à l'endroit de l'injection .....	24
Figure 16. Comparaison des pattes normales et arthritiques.....	25
Figure 17. Suivie de l'evolution de l'arthrite .....	28
Figure 18. Evolution du poids corporel.....	29



## Liste des abréviations

ACF: Adjuvant Complet de Freund

AIF: Adjuvant Incomplet de Freund

AINS: Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens

AIS: Anti Inflammatoires Stéroïdiens

AR: Arthrite Rhumatoïde

B2: Riboflavine

B3: Niacine Acide Nicotinique

C3a: Composante 3 du complément.

C5a: Composante 5 du complément.

CII: Collagène type II

COX: Cyclo-oxygénase

DCART: Disease Controlling Anti-Rheumatic Therapy

DHEA: Déhydroépiandrostérone

DHEAS: Déhydroépiandrostérone sulfate

DMARD: Disease Modifying Anti-Rheumatic Drug

EA: Extrait aqueux

GC-MS: Gas Chromatography – Mass-Spectroscopy

HLA: Human Leukocyte Antigen

HLA-DR: Human Leukocyte Antigen – antigen D Related

HPLC: Chromatographie Liquide à Haute Performance

HT: Huile Totale

HV: Huile Volatile

IFN: Interferon

IFN-  $\gamma$  : Interferon gamma

IL: Interleukine

IND: Indométhacine

IPA: Institut Pasteur D'el-Kouba-Alger

J: Jour

N. sativa L: Nigella sativa Linn

NO: Monoxyde d'azote

P/P: Poids par Poids

P-cymène: Para-cymène

PL: Phospholipides

PR: Polyarthrite Rhumatoïde

SEM: Erreur Standard de Moyenne

SMARD: Symptom Modifying Anti-Rheumatic Drugs

TM: Témoin Malade

TNF alpha: Tumor Necrosis Factor alpha

TNM: Témoin Non Malade

TPM: Tours par Minute

TQ: Thymoquinone

V/P: Volume par Poids

# Introduction

Depuis des siècles, l'homme s'est servi des plantes pour de multiples usages. Avec celles-ci, il a ainsi pu se nourrir, se chauffer, se loger ou encore se soigner. Ce qu'on appelle aujourd'hui médecine traditionnelle ou médecine populaire correspond aux synthèses des différentes expériences thérapeutiques de ces générations de médecins. Les médecines indiennes, chinoises, égyptiennes, gréco-romaines et arabes comportent de très anciens et encore réputés, remèdes à base de plantes utilisés à des fins thérapeutiques.

*Nigella sativa* est l'une des plantes médicinales la plus utilisée à travers le monde. Depuis plus de 2000 ans, cette plante a été employé comme remède naturel au Moyen Orient et en Extrême-Orient, et plus particulièrement chez les musulmans influencés par la parole prophétique « *Soignez-vous en utilisant la graine de nigelle, c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort ...* ».

Les extraits de ses graines sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle pour traiter les troubles broncho-pulmonaires et gastro-intestinaux, et contre plusieurs pathologies notamment comme antidiabétique, antihypertenseur, anti-inflammatoire et antimicrobiennes.

L'arthrite rhumatoïde est la forme la plus fréquente des rhumatismes inflammatoires chroniques. Cette pathologie entraîne l'inflammation de plusieurs articulations. Elle touche le plus souvent les mains, les poignets et les genoux mais peut s'étendre aux épaules, coudes, nuque, hanches, chevilles, etc.

L'arthrite rhumatoïde évolue par poussées et peut être très douloureuse et handicapante. Un diagnostic précoce est nécessaire afin de mettre en route un traitement qui permettra de limiter l'évolution de la maladie et de soulager les symptômes.

L'objectif de notre travail est l'évaluation du l'effet préventif des extraits de *Nigella sativa* sur l'arthrite induite chez les rats par le collagène type II.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre 1:  
**Nigella sativa**

## 1. Généralités

Du latin *nigellus* “noirâtres”, la nigelle nous offre ses petites graines aromatiques menées d'un noir intense communément connues sous le nom de «cumin noir », black seed en Anglais, *Habbat el baraka* ou encore *El habbah sauda* dans les pays arabes, *Sinouj* en Algérie (Ghedira, 2006).

*Nigella sativa L.*, est une plante herbacée appartenant à la famille des Renonculacées (Guignard, 2001). C'est une herbe originaire du moyen orient, de l'Europe centrale et de l'ouest de l'Asie, elle est maintenant cultivée dans plusieurs régions du monde surtout dans le bassin méditerranéen et en Inde (Meziti, 2009).

Elle est utilisée comme une herbe aromatique populaire et épice culinaire. Traditionnellement, elle est utilisée en tant que remède naturel pour un certain nombre de maladies qui incluent l'asthme, la toux, l'hypertension, la bronchite, le diabète, les maux de tête, l'eczéma, la fièvre, les inflammations et d'autres maladies (Ali et Blunden, 2003).




## 2. Culture

La plante pousse sur les terres semis arides au sein de communautés naturelles ou prédominent les thérophytes (Antuono et hamaza., 2002; Badary *et al.*, 2003).

Les graines sont semées en général au printemps, elles commencent leur germination dans les trois à quatre semaines. Après environ six mois de croissance végétative, la floraison apparaît et les graines continuent leur maturation pendant un bon mois encore. Dès le jaunissement des feuilles, le brunissement des follicules, la récolte peut être faite à l'automne pour séchage à l'ombre (Awad, 2005). Dans les régions chaudes, avec un hiver doux, comme en Inde, les graines sont semées en automne-hiver pour une récolte au printemps-été.

### 3. Description botanique

**Tableau 1:** Description botanique de *Nigella sativa* L. (Bonnier, 1990; Ghedira, 2006; Kokoska, 2011).

Partie de la plante	photos
<p><b>Tige:</b> La tige est fortement ramifiée, subcylindrique, nervuré et creuse quand elle est sèche. De couleur vert clair à vert foncé.</p> <p><b>Feuille:</b> La feuille est plumeuse, divisée en lobes étroits, elle est lancéolée à linéaires et présente des onglets nectarifères. Les feuilles inférieures sont petites et pétaloïdes et les supérieures sont longues.</p> <p><b>Fleur:</b> Les fleurs sont solitaires, axillaires et terminales. Elles sont bisexuées, radiales, très riches en nectar. Elles sont petites à pétales blanchâtres et sépales pétaloïdes de couleur bleu clair et présentent de nombreuses étamines insérées sur le réceptacle.</p> <p><b>Fruit:</b> Le fruit est une capsule formée de follicules soudés, s'ouvrant au sommet par une fente interne.</p>	 
<p><b>Graine:</b> La graine est de couleur noirâtre, avec un tégument assez dure ornementé de stries. La graine faisant en moyenne 2-3 mm dans le sens de la longueur, elle a une base large puis se rétrécit en forme triangulaire anguleuse. En l'écrasant entre les doigts, elle dégage une odeur de camphre.</p>	

### 4. Composition chimique des graines de *Nigella sativa*

Les recherches sur la composition chimique de *Nigella sativa* L. ont débuté en 1880 avec Greenish, qui publia le premier rapport mentionnant la présence de 37% d'huiles et 4,5% d'éléments minéraux.

La composition générale de ces graines montre une teneur relativement importante en glucides (33-34%), en lipides (30-37%) et en protéines (16-21%). Les graines de *Nigella sativa L.* étant très utilisées dans l'alimentation, ces données permettent déjà de les qualifier comme ayant une bonne valeur nutritive (Nergiz et Ünal, 1991). Une approximation de la composition chimique est donnée dans le Tableau 2.

**Tableau 2:** Composition chimique des graines de *Nigella sativa L.* d'après (Nergiz et Otles 1993; Tavruri et Dameh, 1998; Atta, 2003).

Constituants	Eau	Protéines	Lipides	Glucides	Fibres	Sels minéraux
<b>Quantité dans 1 Kg</b>	38 -78g	202-216g	320-406g	248-374g	66-84g	37-45g

#### 4.1. Huiles

Les graines de *N. sativa* renferment environ 0,4-2,5% d'huile essentielle, plus de 30% d'huiles fixes et 38% de lipides totaux dont les phospholipides (Moretti et Antuno, 2001).

##### 4.1.1. Huiles fixes

Les huiles fixes représentent 37,9-39,2% du poids de la graine. Elles sont constituée principalement de lipides neutres 96,1% - 97,2%, de lipides polaires 3%, et de phospholipides 0,32-1,05% (Ramadan et Mörsel, 2002).

L'analyse des phospholipides (PL) par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a permis d'identifier principalement sept constituants qui sont regroupés dans le Tableau 3.

**Tableau 3:** Principaux phospholipides d'huile fixe de *Nigella sativa* (Ramadan et Mörsel, 2002).

Constituants phospholipidiques	% des PL
Phosphatidylcholine	46
Phosphatidylethanolamine	25
Phosphatidylserine	12
Phosphatidyl inositol	9.56
Lysophosphatidyl choline	4.23
Phosphatidylglycerol	1.51
Lysophosphatidylethanolamine	1.2



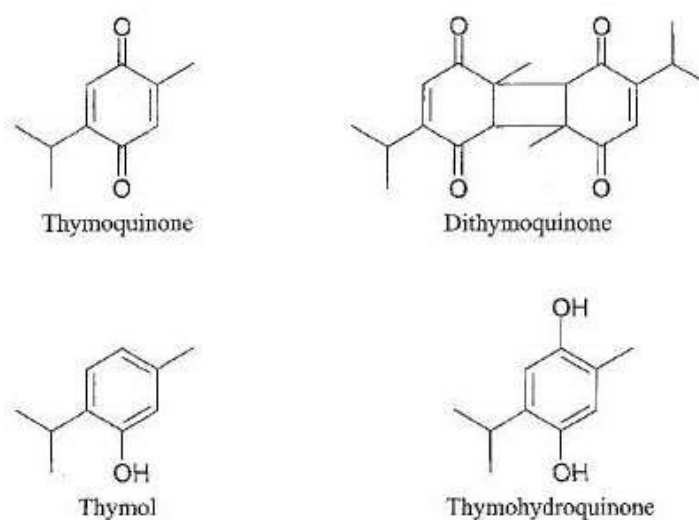
#### 4.1.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles représentent entre 1,4–1,9% du poids de l'huile fixe et 0,4 à 0,5% du poids des graines (Benkaci *et al.*, 2006). L'analyse de cette huile par GC-MS réalisée par Burits et Bucar (2000) a permis d'identifier 32 composants, dont la majorité d'entre eux sont des monoterpènes regroupés dans le Tableau 4.

**Tableau 4:** Composés de monoterpènes d'huile essentielle de *Nigella sativa* (Burits et Bucar, 2000).

Composants	thymoquinone	p-cymène	Carvacrol	Longifolène	4-terpinol	t-anethol
Pourcentages	27,8-57	7,07-15,83	5,8-11,6	1,2-8	1,98-6,59	0,25-4,28

La présence de thymohydroquinone, de thymol, de produits d'oxydation de la thymoquinone, comme la dithymoquinone sont signalés dans la figure 1.



**Figure 1.** Représentation chimique de la thymoquinone et de ses dérivés retrouvés dans l'huile essentielle de *N.sativa L.*, d'après (Toparslan, 2012).

## **5. Propriété pharmacologique des graines de *N. sativa* L.**

### **5.1. Effet anti-inflammatoire**

La propriété anti-inflammatoire des graines de *Nigella sativa* est bien reconnue depuis des siècles, elle est recommandée pour le traitement des maladies inflammatoires.

Plusieurs travaux rapportent que la thymoquinone (TQ) est le principe actif essentiel responsable de l'effet anti-inflammatoire des extraits de *Nigella sativa*; la TQ s'est avérée être un puissant inhibiteur de la thromboxane B2 et des leucotriènes B4 par l'inhibition respective des cyclooxygénase et lipooxygénase (El-Dakhakhny *et al.*, 2002; Hajhashemi *et al.*, 2004).

### **5.2. Effet anti-bactérien**

Les différents extraits des graines de *Nigella sativa* présentent un large spectre d'inhibition vis-à-vis de nombreuses souches bactériennes. L'huile essentielle même diluée à 1%, la dithymoquinone ainsi que l'extrait méthanolique exercent une importante activité antimicrobienne sur des germes Gram positif et Gram négatif (Agrawal *et al.*, 1979; Aljabre *et al.*, 2005).

### **5.3. Effet anti-diabétique**

De nombreux travaux rapportent que l'huile essentielle de la graine administrée par voie intra péritonéale (à raison de 50mg/kg) abaisse de façon significative (de 15 à 23 %) la glycémie à jeun chez les animaux normaux et hyper glycémiques. L'insulinémie n'ayant pas été affectée par les traitements (El-Hader *et al.*, 1993).

### **5.4. Effet anti-tumorale**

L'extrait de *N. sativa* réduit l'incidence de sarcomes et diminue le diamètre des tumeurs induites par les substances chimiques cancérigènes (El-Hader *et al.*, 1993). Ce même groupe a déterminé que *N. sativa* possède un effet anti-tumorale envers plusieurs types de cellules malignes. Cette action est due à une inhibition de l'incorporation de thymidine au niveau de l'ADN (Salomi *et al.*, 1991).

Chapitre 2:  
L'arthrite  
Rhumatoïde

## 1. Historique

C'est probablement Landre-Bauvais qui, en 1800, a décrit pour la première fois des patients souffrant de PR. Le nom de « polyarthrite rhumatoïde » a été introduit en 1857 par Sir Alfred Garrod (Visser, 2005). Certains auteurs localisent ainsi l'origine de la PR dans le «nouveau monde» et pensent qu'il pourrait s'agir d'une maladie rapportée par les compagnons de Christophe Colomb (Rothschild *et al.*, 1992).

## 2. Généralité sur l'arthrite rhumatoïde

La PR est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques invalidants de nature auto-immune caractérisée par une atteinte de la synoviale. Elle induit des douleurs, des destructions et des déformations articulaires. Elle peut débuter à tout âge de la vie, son pic de fréquence se situe entre 40 et 60 ans. Elle se manifeste par une tuméfaction symétrique prédominante sur les articulations périphériques qui évolue vers une destruction articulaire et des déformations (Visser, 2005). Elle s'accompagne d'une augmentation de la mortalité et de la morbidité (Hansson, 2002).

## 3. Epidémiologie

L'AR touche 1-3% de la population mondiale. Elle est quatre fois moins fréquente chez l'homme que chez la femme et débute entre 40 et 55 ans (Eyquem et de Saint Martin, 1981), 1 homme pour 4 femmes (Mortel *et al.*, 2004).

Une étude concernant l'incidence de la pathologie, menée dans l'est de la France entre 1986 et 1989 établit le nombre de nouveau cas à 12,7 pour 100 000 femmes et à 4,7 pour 100000 hommes (Baclé, 2012). L'incidence en Algérie est de 0.015% soit 150 cas / 1 000000. Elle augmente avec l'âge jusqu'à 60 ans avec un pic de fréquence maximum entre 40 et 60 ans; mais elle peut aussi débuter chez le sujet âgé ou chez l'enfant (Hamahmi et Toumi, 2014).

## 4. Etiologie

La polyarthrite rhumatoïde est, à l'image d'autres maladies auto-immunes, une maladie multifactorielle.

En effet, Il semblerait que la PR ne soit pas la conséquence d'une cause unique, mais plus vraisemblablement que plusieurs facteurs présents en même temps chez un même patient en soient responsables. Ces facteurs sont tout aussi bien environnementaux qu'intrinsèques au

patient (facteur génétique, trouble hormonal, infection virale, trouble psychologique, facteur alimentaire...). Ainsi, l'interaction de plusieurs de ces facteurs pourrait être à l'origine du déclenchement de la maladie (Sany, 2003).

#### 4.1. Facteurs génétiques

Entre un tiers et la moitié des cas de PR verrait dans leur origine l'implication des gènes codant pour le complexe HLA. Chaque individu présente sur le chromosome 6, les deux gènes HLA-DR qui sont le principal facteur génétique de susceptibilité. Ces derniers comptent environ 200 allèles et 7 d'entre eux sont des allèles de susceptibilité. Le gène HLA-DRB1 reste le plus connu et représenterait 30 % du risque génétique à développer une PR. Ces 7 variations sont les suivantes (Deighton, Wentzel et Cavanagh 1992):

- HLA-DRB1\*0401, \*0404, \*0405, \*0408 ces derniers sont tous porteurs de la spécificité sérologique HLA-DR4.
- DRB1\*0101, \*0102 associés à la spécificité sérologique HLADR1.
- DRB1\*1001 pour la spécificité sérologique HLA-DR10.

#### 4.2. Facteurs immunologiques

Le système immunitaire joue un rôle primordial dans la physiopathologie de la PR. Le développement de la maladie voit son origine naître sur la base d'une réponse immunitaire démesurée. La survenue de la maladie est supposée être, en partie, la conséquence de la présence de facteurs immunologiques, parmi lesquels nous pouvons citer (Gerhard, 2014) :

- Les antigènes HLA de classe II, surexprimés sur les cellules
- Les irrégularités de clairance et de solubilisation des complexes immuns
- Une anomalie du système idiotypique (Sany, 2003).

#### 4.3. Facteurs hormonaux

Lors d'une étude sur des modèles animaliers atteints de la pathologie, il a été démontré un trouble de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (Morand et Leech, 2001). Cet axe est impliqué dans le contrôle de la sécrétion des glucocorticoïdes endogènes, notamment le cortisol dont le taux se révèle étonnement bas chez les patients atteints et favorise ainsi le phénomène inflammatoire (Masi *et al.*, 2000) (Wilder, 1996).

La stimulation de cet axe par (entre autre) un stress provoque la synthèse d'androgènes surrénaliens (Wilder, 1996). L'un d'entre eux la DHEA est la base des hormones stéroïdiennes (estrogènes, testostérone et progestérone) (Morand et Leech 2001). Il a été prouvé que les taux de DHEA et de DHEAS (dérivé sulfaté de la DHEA) contenus dans les sérums de femmes souffrantes de PR, étaient significativement diminués (Masi *et al.*, 1995).

#### **4.4. Facteurs environnementaux**

Les prévalences variables de la maladie selon la zone géographique laissent suggérer l'intervention de l'environnement. Plusieurs facteurs sont mis en cause, mais seuls le tabac et le contact avec certains agents infectieux particuliers ont été le sujet d'études rigoureuses (Oliver et Silman, 2006).

##### **4.4.1. Tabagisme**

En 2010, une analyse de la littérature scientifique statue sur le fait que le risque d'être atteint d'une PR est clairement supérieur chez les actuels et anciens fumeurs par rapport aux non-fumeurs (Sugiyama *et al.*, 2010).

##### **4.4.2. Agents infectieux**

La similitude des symptômes entre des arthrites d'origine virale et la PR a permis aux chercheurs d'orienter les recherches sur une origine infectieuse à la maladie. Des structures moléculaires similaires entre quelques antigènes infectieux et articulaires pourraient expliquer ce fait. Par l'intermédiaire de ce mimétisme moléculaire, les agents infectieux peuvent ainsi créer un dysfonctionnement immunitaire et ainsi initier la pathologie (Sany, 2003).

### **5. Physiopathologie**

Le processus immunopathologique de la PR reste à éclaircir. Cependant on peut schématiquement le définir en trois phases (Hamahmi et Toumi, 2014).

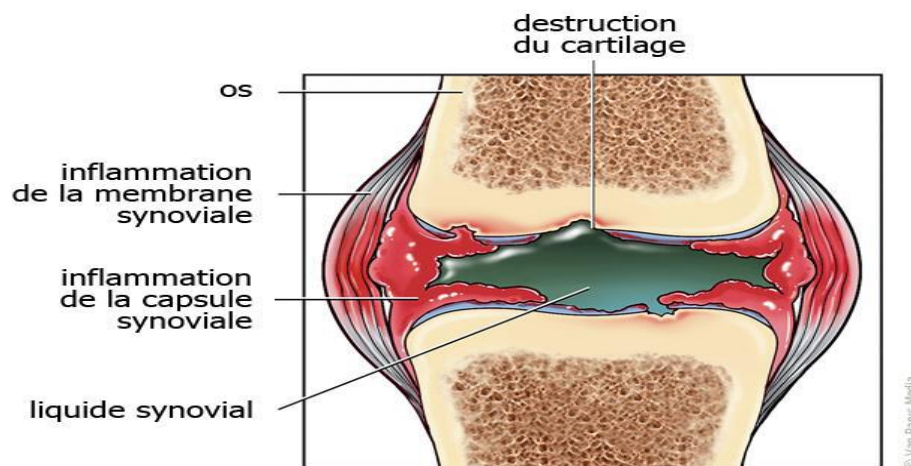
#### **5.1. Phase débutante**

Le mécanisme de déclenchement du processus pathologique demeure inconnu mais il s'agirait d'une réponse inflammatoire non spécifique à un stimulus encore non identifié entraînant une accumulation locale de monocytes et de macrophages et par conséquent une production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1, le TNF alpha et l'IL-6. Les peptides antigéniques qui déclencheraient spécifiquement la PR pourraient être des auto-

antigènes situés dans l'articulation (collagène de type II, protéoglycanes, protéines de la matrice) ainsi que des peptides d'origine exogène, issus de bactéries ou de virus (Champs, 2014).

## 5.2. Phase de recrutement et d'inflammation

La phase de recrutement et d'inflammation débute par une néo-angiogenèse nécessaire au recrutement et à l'activation des lymphocytes T, des macrophages et probablement d'autres cellules présentatrices d'antigènes. Le recrutement et l'activation de ces cellules puis l'amplification de la réaction inflammatoire conduit à un déséquilibre entre les cytokines anti-inflammatoires (IL-10, IL-4, IL-13) et les cytokines pro-inflammatoires (TNF alpha, IL1, IL6, IL8, IL18) (Champs, 2014) (Figure 2).



**Figure 2.** Arthrite : inflammation d'une articulation (Gerhard, 2014).

## 5.3. Phase de réparation articulaire

Elle comporte une angiogenèse importante, des contacts cellulaires, une prolifération synoviale et l'évolution vers la chronicité et la destruction articulaire. Cette phase, où apparaissent les destructions osseuses et cartilagineuses irréversibles, est tout à fait spécifique de la PR mais de révélation tardive (Hamahmi et Toumi, 2014).

## 6. Stratégie Thérapeutique

### 6.1. Traitements médicamenteux

Constituent la composante la plus importante de la prise en charge de la PR. L'arsenal thérapeutique est constitué de traitements de fond et symptomatiques (Gerhard, 2014).

### **6.1.1. Traitement symptomatiques**

Le traitement symptomatique de la pathologie est basé sur la prescription d'antalgiques, d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et de corticoïdes. Ces derniers possèdent tous une action rapide contrairement aux traitements de fond (Gerhard, 2014).

#### **6.1.1.1. Antalgiques**

Les antalgiques sont un acteur important dans la prise en charge du patient polyarthritique, de par leur capacité à soulager la douleur. Les antalgiques sont généralement bien tolérés et sont relativement dépourvus d'effets indésirables dans les conditions normales d'utilisation. La classification des antidouleurs s'effectue selon trois paliers définis selon leur puissance.

#### **6.1.1.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Cette classe thérapeutique propose des médicaments à activités variées. Les AINS sont, en effet, des antipyrétiques, des analgésiques de classe I et essentiellement des anti-inflammatoires. Cette capacité principale consiste à inhiber la production des prostaglandines en bloquant l'activité de l'enzyme cyclo-oxygénase ou COX.

#### **6.1.1.3. Glucocorticoïdes (AIS)**

La corticothérapie est assimilée généralement à un traitement symptomatique de l'inflammation. Or, il s'avère qu'à faible dose par voie orale, cette classe thérapeutique serait en mesure de limiter l'apparition de l'évolution radiographique. Ces anti inflammatoires stéroïdiens pourraient alors être considérés comme traitement de fond en fonction des cas de PR (Van Everdingen *et al.* 2004).

L'intervention pharmacologique des glucocorticoïdes résulte de deux principaux procédés d'action (Gerhard, 2014) :

- L'action anti-inflammatoire est due à l'inhibition de phospholipase A2, empêchant ainsi la libération d'acide arachidonique, le précurseur des prostaglandines.
- L'action immuno-modulatrice repose sur l'inhibition de la production de certains acteurs de l'inflammation: IL1, IL2, IFN...



### 6.1.2. Traitements de fond hors biothérapies

Anciennement appelés « *Disease Modifying Anti-Rheumatic Drug* » (DMARD), les traitements de fond offrent une amélioration clinique seulement après 3 mois de traitement. Cette thérapie agit donc en complémentarité des traitements symptomatiques. Ces traitements de fond peuvent être séparés en deux catégories (Gerhard, 2014):

→ d'une part les SMARD ou « *Symptom Modifying Anti-Rheumatic Drugs* » dont l'action permet une amélioration des signes cliniques et biologiques excepté sur la progression radiographique.

→ d'autre part les DCART ou « *Disease Controlling Anti-Rheumatic Therapy* » qui, contrairement aux précédents, permettront une amélioration de la fonction de l'articulation et limiteront l'évolution radiographique.

# Partie Pratique

Chapitre 3:  
Matériel  
et Méthodes

## 1. Matériel biologique

### 1.1. Animaux

L'étude in vivo sur l'inflammation chronique a été réalisée sur 100 rats *Albinos Wistar* (50 males et 50 femelles) dont le poids varie entre 180 et 210 g.

Les animaux ont été obtenus à partir du service animalier de l'institut Pasteur d'El-Kouba-Alger (IPA). Ils ont été hébergés dans des cages en groupes de 10 avec accès libre à l'eau et l'aliment standard (Vache laitière deli lait , Zone industrielle B.P.75 A. Khemis El Khechna-Boumerdes) (Figure 3).



**Figure 3.** Animaux utilisées dans l'expérience.

(A) Rat *Albino Wistar* (B) Aliment standard.

### 1.2. Graines de *Nigella sativa*

La récolte des graines de *N. Sativa* a été effectuée en 2014 dans la région de Zeribet Hamed (Biskra) (Figure 4). Les graines ont été conservées dans leurs capsules à l'ombre jusqu'à l'extraction.



**Figure 4.** Graines de *Nigella sativa*.

## 2. Méthodes

### 2.1. Obtention des extraits de *N. sativa* L.

#### 2.1.1. Extraction des huiles totales des graines de *N. sativa* L.

Les huiles totales sont extraites par macération de la poudre des graines de *N. sativa* dans l'hexane selon les étapes suivantes :

- Les graines de la *Nigella sativa* sont séparées des capsules, nettoyées, lavées avec l'eau distillée, séchées à 40°C pendant 24h et broyées à l'aide d'un moulin électrique.
- La poudre obtenue est mise en macération dans l'hexane avec un rapport de 1/5 (P/V) à température ambiante avec agitation pendant 24 heures.
- Le mélange est laissé décanter pendant au minimum 4h et le surnageant est récupéré et filtré à travers un verre fritté (N = 03) sous vide (Figure 5).



**Figure 5.** Filtration du macérat.

- Les huiles restantes dans le culot sont extraites par une deuxième macération pour un rendement maximal.
- L'hexane est éliminé par évaporation sous pression réduite (300 mbar à 40°C) sur un rotavapeur (Heidolph) (Figure 6).



**Figure 6.** Elimination d'hexane par Rotavapeur Heidolph.

- Une centrifugation (3000 tpm, 12 min) a été réalisée pour éliminer les résidus indésirables.
- Les huiles totales récupérées ont été conservées à  $-30^{\circ}\text{C}$  jusqu'à utilisation.

### 2.1.2. Obtention de l'extrait aqueux de *N. sativa*

- La poudre obtenue après l'extraction des huiles est séchée à  $40^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures et mise à macérer avec l'eau distillée dans un rapport 1/10 (P/V) à température ambiante avec agitation pendant 48h. L'eau utilisée contient 10% d'éthanol comme inhibiteur de la croissance bactérienne.
- A la fin de l'agitation le macérât est laissé décanter pendant 12 heures et le surnageant est récupéré.
- Une centrifugation (3000 tpm, 12 min) a été réalisée pour éliminer les résidus insolubles dans l'extrait. Ce dernier est ensuite filtré sur verre fritté (N = 03) sous vide.
- Le solvant (eau distillée + 10% éthanol) est ensuite éliminé par évaporation rotative à pression réduite (0 mbar,  $50^{\circ}\text{C}$ ) suivie par une dessiccation sous vide pendant 12 heures.

- L'extrait récupéré et conservé sous vide dans des flacons hermétique en verre à -20°C jusqu'à utilisation.

Le rendement de l'extraction des huiles totales et de l'extrait aqueux est exprimé en pourcentage par rapport au poids des graines et calculé selon la formule suivante:

$$\text{Rendement} = (\text{volume (poids) de l'huile (l'extrait)} / \text{poids des graines}) \times 100$$

### 2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de *N. sativa L.* sur un modèle animal de l'arthrite humaine

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux et des huiles totales a été évaluée sur le modèle de l'arthrite induite par le collagène type II chez le rat. Ce modèle est celui qui se rapproche le plus de l'arthrite rhumatoïde humaine et se caractérise par le développement d'autoanticorps et fait intervenir les lymphocytes B et T et d'autre cellules inflammatoires tout comme l'arthrite rhumatoïdes humaine (Beaulieu, 2008).

#### ❖ Protocole experimental

Les rats ont été divisés en 5 groupes de 20 rats (10 males et 10 femelles), marqués par incision de l'oreille. L'administration des traitements par voie orale (gavage) (Figure 7) a commencé à partir du jour de l'induction de l'arthrite (J0) jusqu'au jour 35. Le dosage thérapeutique est mentionné dans le Tableau 5.



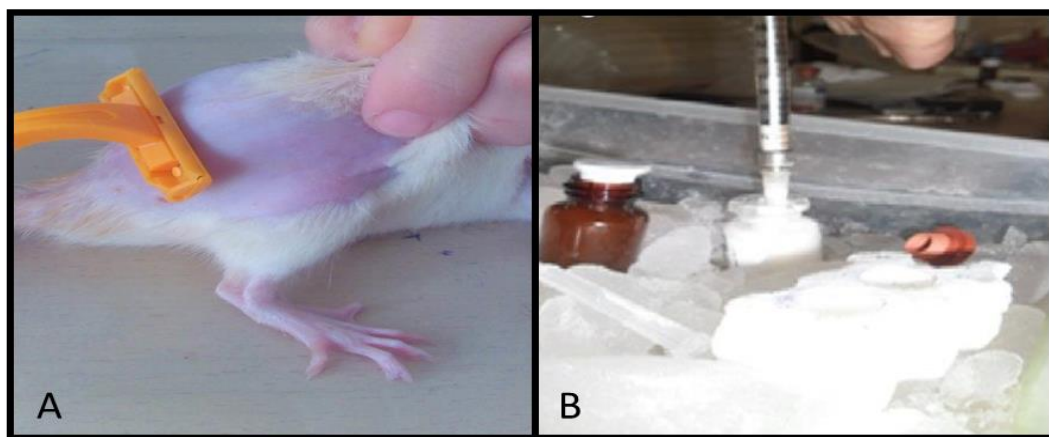
**Figure 7.** Gavage des rats.

**Tableau 5.** Différentes doses thérapeutiques.

Groupe	Le traitement	La dose de traitement
<b>G01</b>	Témoin non malade traité par l'eau distillée	3ml/kg/j
<b>G02</b>	Témoin malade traité par l'eau distillée	3ml/kg/j
<b>G03</b>	Témoin malade traité par l'indométhacine	3mg/kg/j dans 3ml eau distillée
<b>G04</b>	Malade traité par l'extrait aqueux	3g/kg/j dans 3.75ml eau distillée
<b>G05</b>	Malade traité par l'huile totale	3g (3.5ml)/kg/j

L'arthrite rhumatoïde a été induite en suivant le protocole décrit par Williams (2004). Au jour de l'induction, les rats ont été épilés à la base de la queue (Figure 8.A).

Le collagène type II (6 mg/ml dans 0.1 M d'acide acétique) est émulsifié avec le même volume d'adjuvant complet de Freund (ACF) à 4°C (Figure 8.B).

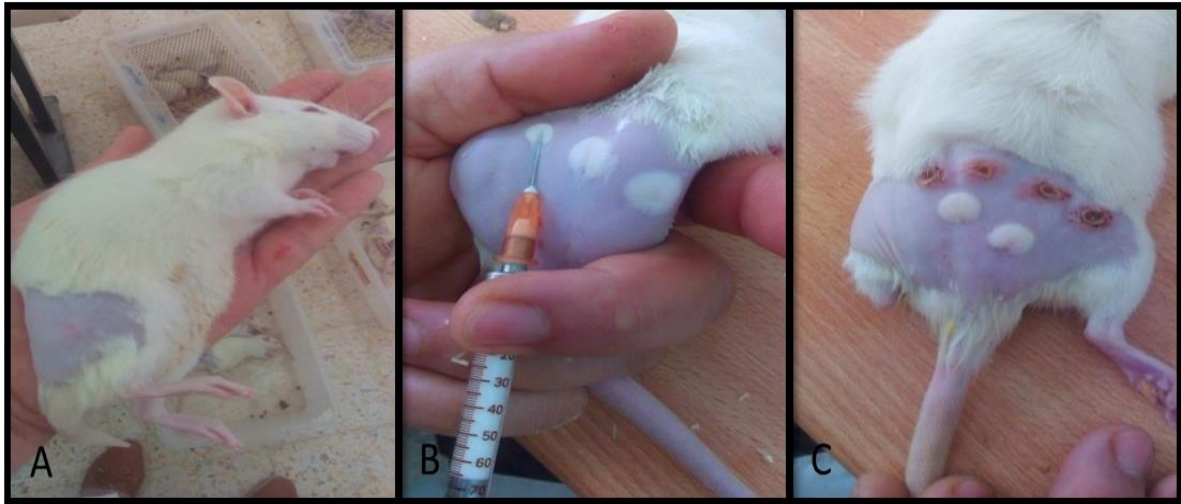
**Figure 8.** Préparation des rats et du CII.

(A) Epilation des rats (B) Emulsification du CII avec ACF.

3 mg/Kg de Collagène type II (1 ml/Kg de l'émulsion) ont été injecté par voie intradermique dans quatre points à la base de la queue sur le dos des rats préalablement anesthésiés par injection intrapéritoniale d'un mélange Zolytile-Xylazine (20 mg/kg-5mg/kg) dissous dans l'eau saline (0.9% Na Cl) (Figure 9.a.b). Le groupe témoin non malade n'a pas été injecté.



Un rappel de l'immunisation est fait après 7 jours par l'injection dans deux points sur le dos de l'animal de 0.5ml/Kg d'une émulsion contenant la même concentration de collagène II avec la substitution de l'adjuvant complet de Freund par l'incomplet (AIF) (Figure 9.c). Groupe témoin non malade n'a pas été injecté.



**Figure 9.** Induction de l'arthrite.

(A) Anesthésie des rats (B) Injection de l'émulsion (C) Rappel de l'immunisation.

#### 2.4. Suivi l'évolution de la maladie

L'évolution de la maladie chez les cinq groupes des rats est évaluée par différentes paramètres cliniques :

##### ❖ Evolution du poids corporel

Le poids corporel des rats est mesuré avant le début de l'expérimentation et quotidiennement après à l'aide d'une balance de précision pour répartir les rats en groupes de poids homogène et évaluer le changement du poids des rats à intervalles réguliers de l'expérimentation.

##### ❖ Evolution de l'épaisseur des pattes

L'épaisseur des poigné /cheville et le milieu des quatre pattes des rats a été mesurée les jours 0, 7, 14, 21, 28 et 35 par un pied à coulisse avec pression constante (Figure 10). L'épaisseur pour chaque rat est la somme des huit mesures des quatre pattes.



**Figure 10.** Mesure de l'épaisseur des pattes.

#### ❖ **Le score visuel**

Le gonflement des pattes antérieures et postérieures a été évalué par un score visuel selon un système de notation macroscopique.

La sévérité de l'arthrite dans le poignet, le milieu des pattes antérieures, la cheville et le milieu des pattes postérieures est évaluée de (0 à 4):

0 = pas de l'arthrite.

1 = extrême rougeur et / ou gonflement minime.

2 = gonflement moyen.

3 = gonflement sévère.

4 = gonflement sévère et la patte ne supporte plus le poids de l'animal.

La présence ou l'absence de l'arthrite dans les articulations interphalangiennes, métacarpophalangienne et métatarsophalangienne des 4 premiers doigts de chaque patte sont notés:

0 = pas de gonflement.

0.5 = gonflement minimal

1 = gonflement maximal.

Le cinquième doigt est inclus dans l'évaluation du milieu de la patte. Le score total est la somme des scores de toutes les articulations concernées. Le score de sévérité maximale de l'arthrite est 20/patte et 80/rat. Le score est une modification de celui de kawahito et ces collaborateurs (1998).

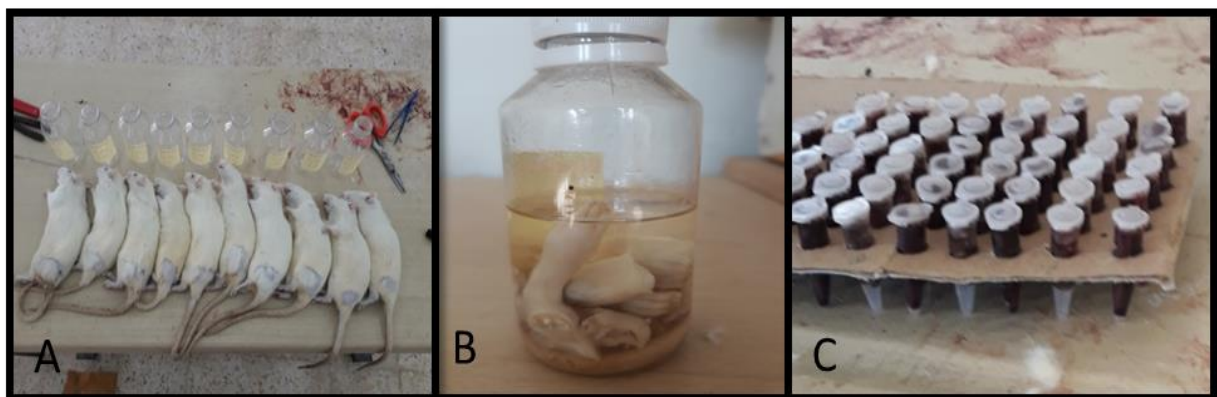
### ❖ Prélèvement sanguin

1 ml de sang a été prélevée de chaque rat (jours: 0, 7, 14, 21, 28 et 35) par voie rétro-orbitale dans des tubes Eppendorf (Figure 11). Le sang est laissé coaguler une nuit à 4°C, puis centrifugé (4000 tpm pendant 10 minutes). Le sérum est récupéré et conservé à -20°C jusqu'à utilisation.



**Figure 11.** Prélèvement sanguin.

Après le dernier prélèvement du sang les rats sont euthanasié par le chloroforme. Les quatre pattes et la queue de chaque rat sont récupérés, fixée par l'ajoute du formol 4% pendant 36h et conservé dans l'éthanol 70% à température ambiante jusqu'à utilisation. Les reins et des petits morceaux du foie sont récupérés dans des tubes Eppendorf et conservés à -20°C jusqu'à l'utilisation (Figure 12).



**Figure 12.** Prélèvement des pattes et organes.

(A) Euthanasie des rats (B) Récupération des pattes (C) Récupération des organes.

### **2.5. Statistiques**

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. Les tests statistiques sont ont été réalisés en utilisant le logiciel Graph Pad Prisme. L'analyse de la variance ANOVA un facteur et deux facteurs a été utilisé pour tous les tests. Une différence avec un  $P \leq 0.05$  est considérée comme significative.

Chapitre 4:  
Résultats  
et Discussion

## Résultats et Discussion

*Nigella sativa* figure parmi les plantes candidates à la recherche médicamenteuse grâce à ces actions thérapeutiques. Parmi les plus importants, on retrouve des activités anti-oxydant (Turtdogan., 2001), immuno-modulateur (El-kadi *et al.*, 1987), anti-tumoral (Salomi *et al.*, 1992) et anti-inflammatoires (Marsik *et al.*, 2005). Pour mieux comprendre les propriétés anti-inflammatoires de cette plante nous avons extrait à partir des graines les composés liposolubles et hydrosolubles en utilisant l'hexane et l'eau distillée comme des solvants. Les propriétés anti-inflammatoires de ces extraits ont été testés ensuite sur l'inflammation chronique représentée par l'arthrite induite chez le rat par immunisation avec le collagène type II (Trentham *et al.*, 1977). Ce modèle est parmi les plus sévère et les plus représentatif de l'arthrite humaine (Joe *et al.*, 1999).

### 1. Rendement de l'extraction

#### 1.1. Huiles totales

Après l'extraction de 4 kg du broyat de graines de *Nigella sativa* deux fois avec l'hexane pour récupérer le maximum de la matière grasse. Nous avons obtenu un rendement en huiles totales colorés en jaune brunâtre de 36.74% (p/p) (Tableau 6, Figure 13).

**Tableau 6.** Caractéristiques des huiles totales

Extrait	Couleur	Odeur	Saveur	Aspect	Rendement (p/p)
<b>HT</b>	Jaune brunâtre	Musquée	Piquant	Huileux	36.74%



**Figure 13.** Huiles totales récupérés.

Dans la littérature, les graines de *Nigella sativa* renferment des taux élevés en huile totale, compris entre 39.7 et 52.% (Ashraf *et al.*, 2006; Ramadan et Mörsel, 2002). Cette variation dans la teneur en huile des graines est due à plusieurs facteurs tels que le climat de la région de récolte (Cheikh-Rouhou *et al.*, 2007), la méthode d'extraction (Atta, 2003, Ramadan et Mörsel, 2002).

Dans la présente étude, la méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

## 1.2. Extrait aqueux

Après l'extraction de la partie lipidique par macération du broyat avec l'hexane. L'extraction des composés hydrophiles est ensuite réalisée par macération avec l'eau distillée. Cette dernière a donnée un EA sous forme d'une poudre de couleurs marron avec un rendement de 8.78% (p/p) (Tableau 7, Figure 14).

Les rendements obtenu dans la bibliographie sont compris entre 5 à 18%: 5% (P/P) (Ibraheem *et al.*, 2010), 11,6% (P/P) (El-hadiyah *et al.*, 2003), 14,8% (p/p) (Meziti *et al.*, 2012), et 18% (P/P) (Boskabady et Sheiravi, 2000).

Le rendement de l'extrait aqueux n'est que relative et semble être lié à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées.

**Tableau 7.** Propriétés d'extrait aqueux obtenues à partir des graines de *N. sativa*.

Extrait	Couleur	Odeur	Saveur	Aspect	Rendement(p/p)
EA	marron	Arome caractéristique	piquante	Poudre	8.78%



**Figure 14.** Extrait aqueux des graines de *Nigella sativa*.

## **2. Effet préventif des extraits de *Nigella sativa* sur l'arthrite induite chez les rats par CII**

Ce modèle est induit chez le rat Albino Wistar par l'injection d'une dose immunisante de CII avec un rappel après 7 jours. Suite à l'immunisation, des ulcères se forment à l'endroit de l'injection puis se cicatrisent totalement à la fin de l'expérience sans séquelles permanentes (Figure 15). Ces ulcérations sont probablement dues à l'adjuvant complet de Freund.



**Figure 15.** Formation des ulcères à l'endroit de l'injection.



Les premiers signes significatifs du développement de l'arthrite ne commencent à apparaître au moyenne qu'au bout de 13<sup>ème</sup> jours de la première injection. Cette observation montre la rapidité avec laquelle les anticorps l'anti-collagène II issus de l'immunisation commence à détruire le cartilage en créant un site inflammatoire dû à la formation de complexe immunitaire collagène anti-collagène qui active le complément générant des anaphylatoxine (C3a et C5a).

Le gonflement touche en premier lieu la cheville et les tissus qui l'entourent, puis se propage pour atteindre toute la patte qui devient rouge et ankylosée. Les pattes antérieures sont aussi impliquées tardivement pour donner un score maximal qui peut atteindre 80/80 chez certain rats (Figure 16). Le gonflement atteint son maximum au 21<sup>ème</sup> jour puis rechute progressivement après cette date.



**Figure 16.** Comparaison des pattes normales et arthritiques.

(A) et (B): pattes postérieures non arthritiques. (C) et (D): pattes antérieures non arthritique. (E) et (F): pattes postérieures arthritiques. (G) et (H): pattes antérieures arthritiques.

### 2.1. Effet des traitements sur l'incidence et le jour de déclenchement de la maladie

L'indométhacine, un anti-inflammatoire de référence utilisé dans la thérapie humaine contre l'arthrite rhumatoïde, arrive à diminuer significativement l'incidence de la maladie de 29% et de retardé le jour de déclenchement jusqu'à le 19<sup>ème</sup> jour (Tableau 8).

Le traitement par les huiles totales et l'extrait aqueux n'a pas permis de prévenir le développement de la maladie ni de retardé le jour de son déclenchement. L'EA a donné des valeurs identiques au groupe témoin alors que les huiles totales ont faiblement réduit l'incidence de la maladie (6%).

**Tableau 8.** Déclenchement et incidence de la maladie.

Groupe	Jour de déclenchement (moyenne ± SEM)	Incidence (%)
TNM	-	0
TMNT	13.15±2.65	100
INDO	19.7±4.6 (***)	71.42
EA	13.57±2.85	100
HT	13.52±2.07	94.44

Variation du jour de déclenchement et de l'incidence. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± (SEM). \*\*\* significatif par rapport au témoin malade ( $P \leq 0.001$ ).

## 2.2. Effet des huiles totales et de l'extrait aqueux sur le score arthritique et l'épaisseur des pattes

L'arthrite se développe rapidement chez le groupe malade non traité pour donner un maximum d'épaisseur et de score au jour 21, respectivement 41.69 mm et 37.15, puis elle rechute progressivement jusqu'à la fin de l'expérience.

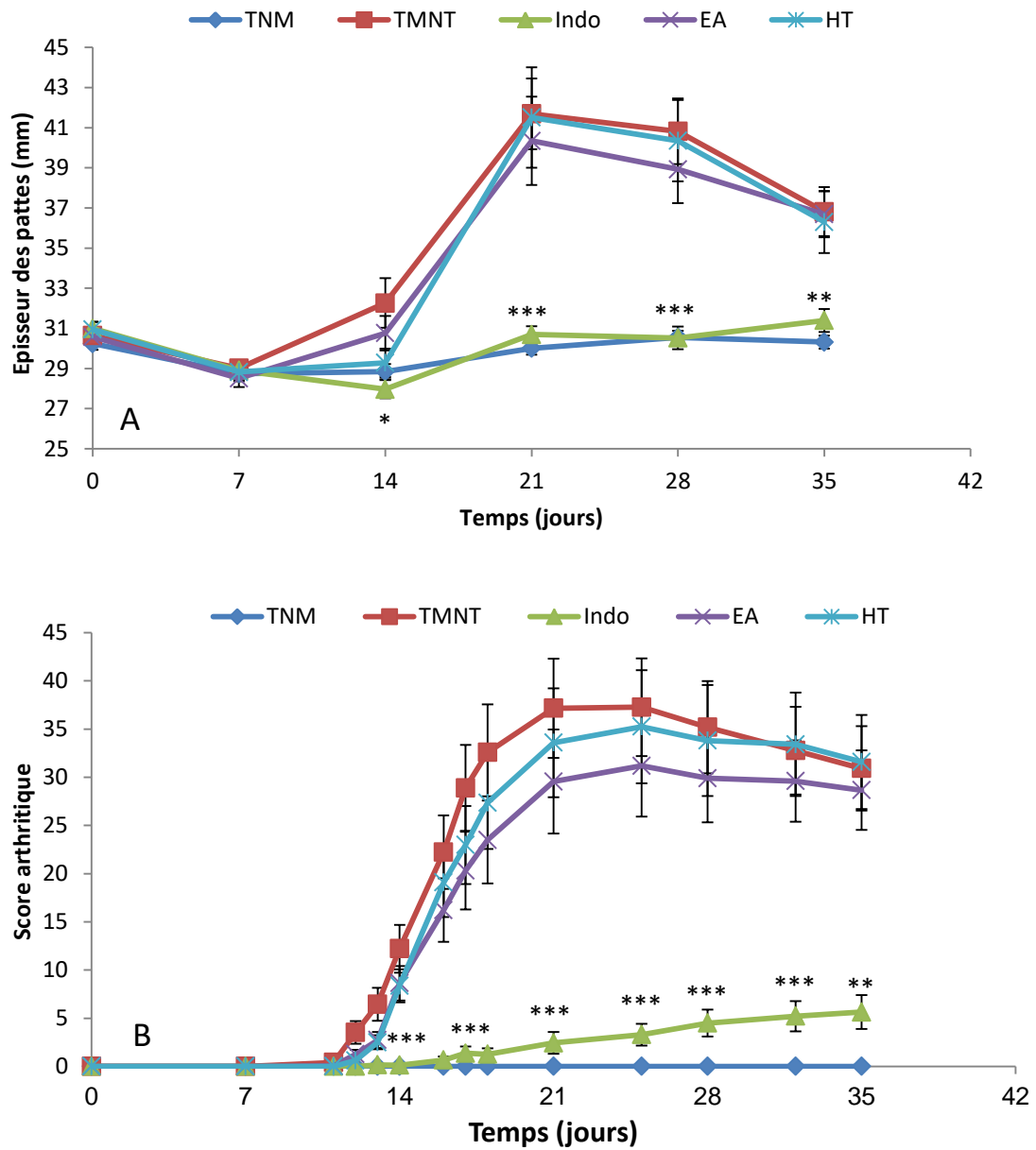
L'indométhacine arrive à diminuer significativement l'épaisseur et le score à partir du J14. L'épaisseur des pattes des rats qui ont développé la maladie dans ce groupe n'est pas différenciable de celle des rats du groupe témoin non malade.

Le traitement par les huiles totales et l'extrait aqueux n'a pas permis de réduire significativement la sévérité de la maladie. Le gonflement a suivi la courbe du groupe témoin malade. L'épaisseur des pattes des groupes HT et EA a atteint 41.50 mm et 40.34 mm respectivement au jour 21. Après cette date, l'épaisseur commence à diminuer progressivement pour atteindre 36.30 mm et 36.68 mm au J35 (Figure 17a). Le score visuel a évolué dans les groupes HT et EA sans différence significative avec le groupe témoin pour donner respectivement 33,58 et 29,55 (Figure 17b).

Il est à noter que le score visuel et l'épaisseur ne représente que l'œdème issu de l'inflammation, l'étude de la dégradation du cartilage et de l'os nécessite d'autres approches analytiques (titre des anticorps anti-CII, radiologie, histologie) que nous n'avons pas réalisées par manque de temps.

L'efficacité de l'huile de *N. sativa* et de certains de leurs composants sur l'arthrite a été confirmée par différentes études. Selon Salem (2005), les HT de *N. sativa* possèdent un effet inhibiteur sur la production des éicosanoïdes comme médiateurs de l'inflammation. Cet effet est supérieur à celui de la TQ, ce qui suggère que d'autres composants, tels que les acides gras insaturés, peuvent contribuer également à la lutte contre les éicosanoïdes.

Dans l'étude de Mahmood et ses collaborateurs (2003), l'incubation des macrophages avec l'extrait aqueux de *N. sativa* a diminué de façon dose-dépendante la synthèse de NO, médiateur pro-inflammatoire notamment retrouvé dans le rhumatisme.



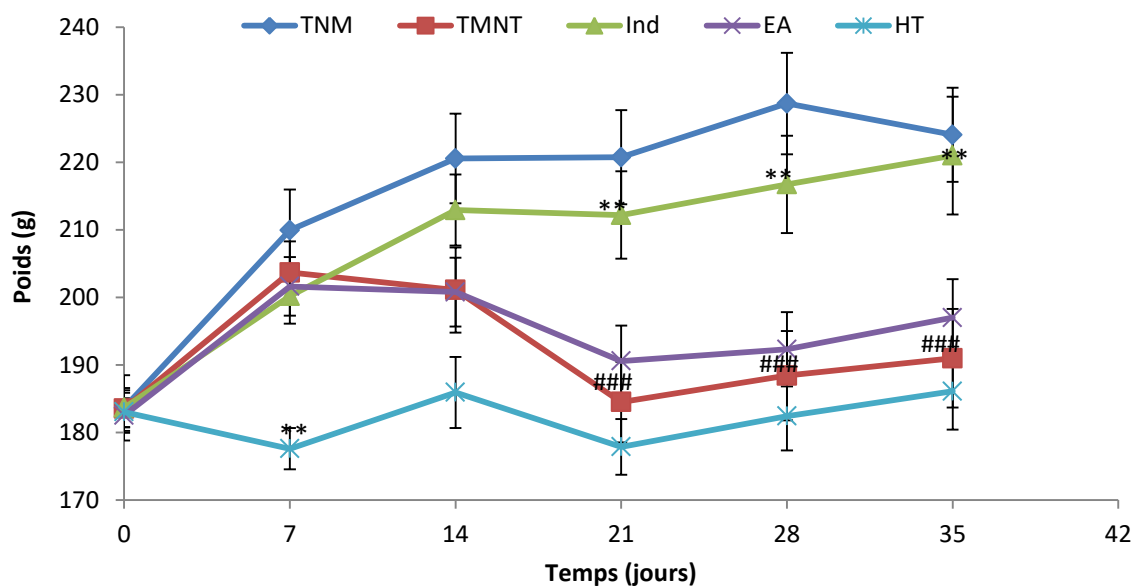
**Figure 17.** Suivi de l'évolution de l'arthrite.

Après l'induction de l'arthrite par CII chez les rats, le gonflement des pattes est évalué à différents intervalles de temps. (a) Variation de l'épaisseur des pattes (b) Variation du score visuel. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  (SEM). \* significatif par rapport au témoin malade.  $P \leq 0.05$  (\*),  $P \leq 0.01$  (\*\*),  $P \leq 0.001$  (\*\*\*)

### 2.3. Effet des huiles totales et de l'extrait aqueux sur le poids corporel

Suite à la croissance naturelle le poids des rats de tous les groupes sauf le groupe traité par les huiles totales augmente d'une manière normale durant les 7 premiers jours donnant des valeurs comprises entre 8 et 14% (figure 18). Les huiles totales ont réduits le poids par 3% durant cette période. Ce constat est confirmé par le travail de Zaoui et ces collaborateurs (2002) qui en étudiant la toxicité de l'HT de *N. sativa*, a remarqué une perte de poids qui est attribué aux effets de l'HT sur le métabolisme lipidique par la diminution du taux plasmatiques en triglycérides et cholestérol.

Le poids du groupe non arthritique et celui traité par l'indométhacine continue à augmenter d'une manière normale pour atteindre des valeurs respectives de 21.96% et 20.30% le J35. Le poids des autres groupes se stabilise entre J7 et J14 puis chute après cette date pour retourner au poids originale le jour 35. Le maximum de perte de poids est constaté le J21 ce qui correspond au pic de la maladie.



**Figure 18.** Evolution du poids corporel.

Le poids corporel des rats est mesuré par une balance de précision à différents intervalles de temps. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  (SEM). \* significatif par rapport au témoin malade. # significatif par rapport au témoin non malade.  $P \leq 0.01$  (## ou \*\*),  $P \leq 0.001$  (### ou \*\*\*)

## Conclusion

*N. sativa* est parmi les plantes largement exploitées dans la civilisation islamique et fortement utilisées de nos jours en médecine traditionnelle à travers le monde pour le traitement de plusieurs maladies. Ces actions thérapeutiques ont été plus ou moins examinées nouvellement. Parmi ces actions les plus importantes, on retrouve les activités anti-inflammatoires et analgésiques, antibactériennes et antifongiques, antitumorales et hypoglycémiantes.

Dans notre travail nous avons extraites les huiles totales et l'extrait aqueux des graines de *Nigella sativa*, le rendement est respectivement 36.74% (p/p) et 8.78 (p/p). Ces extraits, administrés en traitement préventif, n'ont pas manifesté d'effets significatifs sur différents paramètres de l'arthrite induite chez le rat par le collagène II (score visuel, épaisseur des pattes et poids).

L'analyse radiologique et histologique ainsi que le titre des anticorps anti-CII permettront de s'assurer la présence ou l'absence d'effets bénéfiques sur cette maladie.

# Références Bibliographique

## Références Bibliographiques

### A

Aboutabl E.A., El-Azzouny A.A. et Hammerschmidt F.J. 1986. Aroma volatiles of *Nigella sativa* L. seeds. In: Brunke EJ editor. Progress in essential oil research. Proceedings of the 16<sup>th</sup> International Symposium on essential oils 49–55.

Agrawal R., Kharya M.D. et Shrivastava R. 1979. Antimicrobial anthelmintic activities of the essential oil of *Nigella sativa* Linn. Indian journal of experimental biology 17: 1264-1265.

Ali B.H. et Blunden G. 2003. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*, *Phytother. Res* 17 299–305.

Aljabre S.H.M., Randhawa M.A., Akhtar N., Alakloby O.M., Alqurashi A.M. et Aldossary A. 2005. Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *Journal of Ethnopharmacology* 101: 116-119.

Antuono F. et Hamaza K. 2002. Composition of *Nigella sativa* and *Nigella damascene* from Egypt. *Planta medica* 27: 142-149.

Ashraf M., Ali Q. et Iqbal Z. 2006. Effect of nitrogen application rate on the content and composition of oil, essential oil and minerals in black cumin (*sativa*) seeds. *Nigella Journal of the Science of food and agriculture* 86: 871-876.

Atta M.B. 2003. Some characteristics of *nigella* (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypte and its lipid profile. *Food chemistry* 83: 63-68.

Awad E.M. 2005. In vitro decrease of the fibrinolytic potential of cultured human fibrosarcoma cell line, HT1080, by *Nigella sativa* oil. *Phytomedicine* 12: 100-107.

### B

Baclé M. 2012. La polyarthrite rhumatoïde de l'adulte : place et rôle du pharmacien d'officine dans sa prise en charge et la délivrance des biothérapies d'officine. *Pharmaceutical sciences*, HAL 247 p.



Badary O.A., Taha R.A., Gamal El-Din A.M. et Abdel-Wahab M.H. 2003. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug and chemical toxicology* 26: 87-98.

Beaulieu J. 2008. Effet immunomodulateur et anti-inflammatoire d'une Matrice Protéique Malléable (MPM) issue de la fermentation du lactosérum par *Lactobacillus kefirifaciens* subsp R2C2. thèse pour le diplôme d'état de docteur en virologie et Immunologie. INRS-Institut Amand Frappier (Canada) 206 p.

Benkaci-Ali F., Baaliouamer A., Meklati B.Y. et Chemat F. 2007. Chemical composition of seed essential oils from Algerian *Nigella sativa* extracted by microwave and hydrodistillation. *Flavour & Fragrance Journal* 22: 148-153.

Bonnier G. 1990. La grande flore en couleur. Ed Belin, Paris. Tome 1: 17.

Boskabady M.H. et Shiravi N. 2000. Inhibitory effect of *Nigella sativa* on histamine (H1) receptors of isolated guinea pig tracheal chains. *The European respiratory journal* 16: 461.

Burits M. et Bucar F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research* 14: 323-328.

## C

Champs F.O. 2014. L'impact socio-économique des biothérapies dans la polyarthrite rhumatoïde. Thèse de doctorat d'état, Département Pharmacie, université angers, 192p.

Cheikh-Rouhou., Besbes S., Hentati B., Blecker C., Deroanne C. et Attia H. 2007. *Nigella sativa* L. Chemical composition and phytochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chem* 101: 673-681.

## D

Deighton C.M., J. Wentzel et Cavanagh G. 1992. Contribution of inherited factors to rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*: 51:182-5.

## E

El-Dakhkhny M., Mady N.I. et Lember N. 2002. The hypoglycemic effect of *Nigella sativa* oil is mediated by extrapancreatic actions. *Planta medica* 65: 465-466.

El-Hader A., Aqel M. et Hasan Z. 1993. Hypoglycemic effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds. *International Journal of Pharmacognosy* 31: 96-100.

El-Hadiyah T.M., M.Rasa O.Y., Mohammed et A.A. Abdauah. 2003. Evaluation of *Nigella sativa* Seed Constituents for their in vivo Toxicity in Mice. *Natural product sciences* 9 (1): 22-27.

EL-Kadi A. et Kandil O. 1987. The black seed (*Nigella sativa*) and immunity : its effect on human T celle subset. *Federation Proceedings* 46, 1222.

Eyquem A. et de Saint Martin J. 1981. Immuno-rhumatologie. *Rhumatismes lupus érythémateux disséminé connectivites*. 2ème Ed. Maloine S. A. 121-186.

## G

Gerhard W. 2014. La polyarthrite rhumatoïde de l'adulte: stratégies thérapeutiques et concept du patient-expert: pharmacologie. Thèse de doctorat d'état, 204p.

Ghannadi A., Hajhashemi V. et Jafarabadi. 2005. An investigation of the analgesic and anti-inflammatory effects of *Nigella sativa* seed polyphenols . *Journal of medicinal food* 8: 488-493.

Ghedira K. 2006. La Nigelle Cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie* 5: 220-226.

Greenish H. 1880. Contribution to the Chemistry of *Nigella sativa*. *Pharmac J Trans.* (Vol. 10)

Griffiths M.M., Grant W.C., Cors T., Van R. et Kunzler K. 2007. Collagen-Induced Arthritis in Rats. 208.

Guignard J.L. 2001. In: *Botanique systématique moléculaire*. 12ème Edition Masson (Paris): 304p.

## H

Hajhashemi V., A. Ghannadi et H. Jafarabadi. 2004. Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug. *Phytother Res* 18(3): 195-9.

Hamahmi N. et Toumi F.Z. 2014. La prise en charge thérapeutique de la polyarthrite rhumatoïde et la place de la biothérapie. Mémoire de fin des études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, Université Abou Bekr Belkaïd Faculté de Médecine Dr.b. benzerdjeb, tlemcen. 135p.

Hansson A.S., Lu S. et Holmdahl R. 2002. Extra-articular cartilage affected in collageninduced, but not pristane-induced, arthritis models. *Clin. Exp. Immunol* 127: 37-42.

## I

Ibraheem N.K., Ahmed J.H. et Hassan M.K. 2010. The effect of fixed oil and water extracts of *Nigella sativa* on sickle cells: an in vitro study, *Singapore Med* 51(3): 230-234.

## J

Joe B., Griffiths M.M., Elaine F.R. et Wilder R.L. 1999. Animal models of rheumatoid arthritis and related inflammation 1:139-148.

## K

Kökdil G. et Yılmaz H. 2005. Analysis of the fixed oils of the genus *Nigella* L.(Ranunculaceae) in Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology* 33(12):1203-1209.

Kokoska L. 2011. Chemistry and Biological Activity of *Nigella* Genus : The antimicrobial and anti-inflammatory effects of seed extracts, essential oils and compounds of six *Nigella* species. Edition : LAP LAMBERT Academic publishing GmbH & Co.KG. U.S.A. pp1.

## M

Mahmood M., Gilani A., Khwaja A., Rashid A. et Ashfaq M. 2003. The in vitro effect of aqueous extract of *Nigella sativa* seeds on nitric oxide production. *Phytother Res* 17: 921-924.

Marsik P., Kokoska L., Landa P., Nepovim A., Soudek P. et Vanek T. 2005. In vitro inhibitory effects of thymol and quinones of *Nigella sativa* seeds on cyclooxygenase-1-and -2-catalyzed prostaglandin E2 biosyntheses. *Planta Med* 71: 739–742.

Masi A.T., Aldag J.C., Chatterton R.T., Adams R.F. et Kitabchi A.E. 2000. Adrenal androgen and glucocorticoid dissociation in premenopausal rheumatoid arthritis: a significant correlate or precursor to onset?. *Rheumatol*: 59 Suppl 2:II/54-61.

Masi A.T., Feigenbaum S.L. et Chatterton R.T. 1995. Hormonal and pregnancy relationships to rheumatoid arthritis: convergent effects with immunologic and microvascular systems. *Semin Arthritis Rheum* 25(1):1-27.

Meziti A. 2009. Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Étude in vitro et in vivo. Thèse de magistère, université El-Haj Lakhdar, Batna, 71.

Meziti A., Meziti H., Boudiaf K., Mustapha B. et Bouriche H. 2012. Polyphenolic Profile and, Antioxidant Activities of *Nigella Sativa* Seed Extracts In Vitro and In Vivo. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation* 6(4): 109-117.

Morand E.F. et Leech M.. 2001. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation of inflammation in rheumatoid arthritis. *Immunol Cell Biol*: 79(4):395-9.

Moretti A., D'Antuno F.L. et Elementi S. 2004. Essential oil of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L., seed. *Journal of Essential Oil Research* 16: 182–183.

Mortel J., Miossec P. et Combe B. 2004. Immunopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. *EMC-Rhumathologie Orthopédie* (Elsevier SAS, Paris) 333: 218-230.

## N

Nergiz C. et Otles S. 1993. Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. *Food Chemistry* 48: 259-61.

Nergiz C. et Ünal K. 1991. Effect of the method of extraction on the total polyphenol and 1,2 diphenol content and stability of virgin olive oil. *J. Sci. Food Agric* 56:79-84.

## O

Oliver J.E. et A.J. Silman. 2006. «Risk factors for the development of rheumatoid arthritis.» *Scand J Rheumatol* 35(3): 169-74.

## R

Ramadan M.F. et Mörsel J.T. 2002b. Direct isocratic normal-phase HPLC assay for fat soluble vitamins and  $\beta$ -carotene in oil seeds. *European food research and technology* 214: 521-527.

Rothschild B.M., Woods R.J., Rothschild C. et Sebes J.I. 1992. Geographic distribution of rheumatoid arthritis in ancient North America: implications for pathogenesis. *Semin Arthritis Rheum* 22:181-7.

## S

Salem M.L. 2005. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology* 5: 1749–1770.

Salomi M.J., Nair, S.C. et Panikar, K.R. 1991. Inhibitory effects of *Nigella sativa*. 16(1): 67-72.

Salomi N.J., Nair S.C., Jayawardhanan K.K., Varghese C.D. et Panikkar K.R. 1992. Antitumour principles from *Nigella sativa* seeds. *Cancer Lett* 63(1): 41-6.

Sany J. 2003. Polyarthrite rhumatoïde de l'adulte , vol 127, John Libbey Eurotext, Paris.

Sany J. 2003. Polyarthrite rhumatoïde de l'adulte : conception actuelle. John Libbey Eurotext, Montrouge.

Sugiyama D., K. Nishimura K. Tamaki G. Tsuji T. Nakazawa et A. Morinobu. 2010. «Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies.» *Ann Rheum Dis* 69(1): 70-81.

## T

Takruri H.R.H. et Dameh M.A.F. 1998. Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa* L.) *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76: 404-401.

Toparslan C. 2012. *Nigella sativa* L. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine, France 120p.

Trentham D., Alexander S. Townes. et KANG A. 1977. Autoimmunity to type II collagen: An Experimental Model Of Arthritis. *The journal of experimental medicine* 146: 857-867.

Turkdogan M., Agaoglu Z., Yener Z., Sekeroglu R., Akkan, H. et Avci M. 2001. The role of antioxidant vitamins (C and E), selenium and *Nigella sativa* in the prevention of liver fibrosis and cirrhosis in rabbits: newhopes. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift* 108: 71-73.

## V

Vaillancourt F., Silva P., Fahmi H., Julio C. et Benderdour M. 2011. Elucidation of Molecular Mechanisms Underlying the Protective Effects of Thymoquinone Against Rheumatoid Arthritis. *Journal of Cellular Biochemistry* 112:107–117.

Van Everdingen A.A., D.R. Siewertsz van Reesema J.W. Jacobs et J.W. Bijlsma. 2004. The clinical effect of glucocorticoids in patients with rheumatoid arthritis may be masked by decreased use of additional therapies. *Arthritis Rheum* 51(2):233-8.

Visser H. 2005. Early diagnosis of rheumatoid arthritis. *Best Prac Res Clin Rheumatol* 19(1): 55-72.

## W

Wilder R.L. 1996. Adrenal and gonadal steroid hormone deficiency in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 44:10-2.

Williams R.O. 2004. Collagen-Induced Arthritis as a Model for Rheumatoid Arthritis *Methods in Molecular Medicine* 98: 207-216.

## Z

Zaoui I.A., Cherrah Y., Mahassini N., Alaoui K., Amarouch H. et Hassar M. 2002. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine* 9: 69-74.

## ملخص

التهاب المفاصل الروماتزمي هو أحد أمراض المناعة الذاتية التي تؤثر بشكل رئيسي على المفاصل. تجريبيا عدة نماذج حيوانية تساهم في فهمه فيزيولوجيا و اسبابه المرضية وهذه النماذج لها دور ايضا في البحث عن علاجات جديدة. حبة البركة استخدمت تقليديا لعلاج التهاب المفاصل وأمراض المناعة الذاتية الأخرى. في عملنا هذا قمنا بإستخلاص الزيت الإجمالي و المستخلص المائي من بذور هذا النبات مع تحقيق مردودية تقارب 36.74 % (ث / ث) و 8.78 % (ث/ ث) بالترتيب. إستخدام هذه المستخلصات كعلاج وقائي ضد إتهاب المفاصل الناجم عن حقن الكولاجين (النوع الثاني) عند الجرذان لم يظهر تأثيرا فيما يخص التخفيف من الالتهابات.

**الكلمات المفتاحية :** التهاب المفاصل الروماتزمي ،حبة البركة ، الزيت الإجمالي ، المستخلص المائي، الكولاجين(النوع الثاني)، نماذج حيوانية.

## Résumé

La polyarthrite rhumatoïde (AR) est une maladie auto-immune touchant principalement les articulations. Expérimentalement, plusieurs modèles animaux de cette maladie ont participé à la compréhension de son étiologie et physiopathologie ainsi qu'à la recherche de nouveaux traitements. *Nigella sativa* a été utilisée traditionnellement pour le traitement des rhumatismes inflammatoires et des autres maladies auto-immunes. Dans notre travail nous avons extrait les huiles totales (HT) et l'extrait aqueux (EA) des graines de cette plante avec un rendement de 36.74% (p/p) et 8.78 % (p/p) respectivement. L'utilisation de ces extraits en traitement préventif de l'arthrite induite par collagène type II chez les rats n'a pas montré un effet anti-inflammatoire significatif.

**Mots clés :** Polyarthrite rhumatoïde, *Nigella sativa* L, Huile totale, extrait aqueux, Collagène II, Modèles animaux

## Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease affecting mainly the joints. Experimentally; several animal models of this disease participated in the understanding of the etiology and pathophysiology and helped the search for new treatments. *Nigella sativa* has been used traditionally for the treatment of inflammatory arthritis and other autoimmune diseases. In our work we extracted total oil (TH) and the aqueous extract (AE) from the seeds of this plant with a yield of 36.74% (w/w) and 8.78% (w/w) respectively. These extracts were used in the preventive treatment of arthritis induced by type II collagen and did not show a significant anti-inflammatory effect.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis, *Nigella sativa* L, Total oil, Aqueous extract, Collagen II, Animal Models.