

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة فرحات عباس سطيف

UNIVERSITE FARHAT ABBAS –SETIF-

MEMOIRE

Présenté à la Faculté des Sciences de la nature et de vie

Département de Biochimie

Pour l'obtention du Diplôme de

MAGISTER

EN BIOCHIMIE

Option : Biochimie appliquée

Par : **GUERGOUR HASSINA**

THEME

**Etude de la toxicité d'huile de *Ricinus communis* L sur les animaux de
laboratoire**

Devant le jury :

Président : Pr. Houcher Bakhouche

Prof. Université de Sétif

Encadreur : Dr Bouzidi Abdelouahab

MC. Université de Sétif

Examineur : Dr Belhatab Rachid

MC. Université de Sétif

Dr Bounechada Mustapha

MC. Université de Sétif

2010-2011

REMERCIEMENTS

*Je remercie tout d'abord **Allah** qui m'a donné la santé et le courage pour terminer ce mémoire.*

***A mes chers parents**, de votre affection de votre sacrifice et de tous les efforts que vous avez déployés durant toute ma vie j'espère que ce travail soit l'expression de ma pleine gratitude et de mon profond respect.*

A mes frères Djamel Eddine et Faouzi

A mes sœurs : Souhila, Khaira et Saliha

*Je vous remercie pour votre affection et la confiance que vous me porter.
Ce travail est le votre en témoignage de mon affection fraternelle et de ma reconnaissance.*

A mes oncles et tantes

Je vous témoigne tous mes respects. Merci pour vos encouragements. Cette thèse est le fruit de votre persévérance.

*Le grand merci à Monsieur **Bouzidi abdelouaheb**, Maître de conférences de l'université de Sétif de m'avoir proposé le sujet de ce mémoire et d'avoir porté une attention constante à mon travail et ses aboutissements. Il a assuré la direction de ce travail et je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude pour la confiance qu'il m'a accordée. Sa grande expérience en recherche et en enseignement, sa rigueur scientifique, ses conseils et ses encouragements m'ont été et me seront profitables.*

*Mes sincères remerciements Je tiens à remercier **Pr. Houcher Bakhouche** de m'avoir fait honneur de présider le jury de soutenance.*

*Je remercie vivement **Dr. Belhattab Rachid** et **Dr. Bounechada Moustafa** d'avoir accepté de juger mon travail de magister.*

*Je remercie également mes formidables amies **Zohra, Rima** pour les nombreux services qu'ils m'ont rendus durant la réalisation de ce travail.*

*Je remercie **Dr Youcef, Dr Souria Ouhida** du laboratoire d'anatomie et pathologique Central de l'Hôpital universitaire de Sétif pour leur aide précieuse dans la réalisation des coupes histologiques.*

*A tous mes amies **Asma, Hanane, Afaf, Lamia, Karima, Sghira et Loubna** en leurs souhaitant une bonne continuation dans leurs travaux.*

Nous tenons à remercier tous ceux qui ont de près ou de loin contribué à la réussite de ce travail.

Dédicace

Dieu tout Puissant merci pour le pouvoir et le courage que vous m'a donné pour compléter ce travail.

À mon père :

J'ai toujours trouvé auprès de toi, compréhension et soutien. Tes prières et tes conseils ne m'ont jamais fait défaut tout au long de mes études. Trouve à travers ce modeste travail, récompense de ton affection, de tes sacrifices et de ta patience.

À ma mère:

Maman, je n'oublierai jamais tes sages conseils prodigués à mon endroit. C'est toi qui disais qu'on ne remercie pas ses parents. Seulement, je ne trouve pas aujourd'hui un moyen d'éviter de te remercier pour tout ce que tu as fait pour nous. Ton souci primordial a toujours été la réussite de tes enfants. Que tes sacrifices, des peines et les privations trouvent leur récompense dans l'aboutissement de ce modeste travail qui est aussi le fruit de ta persévérance, de ton courage et surtout de ta patience. Ce travail est également le fruit de ton amour, tes bénédictions et surtout la bonne éducation.

À tous mes collègues d'étude spécialement Zohra et Rima.

Liste d'abréviations

ALAT: Alanine AminoTransférase

ASAT: Aspartate AminoTransférase

CCM: Chromatographie sur Couche Mince

Da: Dalton

DAGAT: Diacyl glycerol acyl transférase

DL₅₀: dose létale 50

EC50 : Concentration Effective à 50%

gr : Gramme.

HCT : Hématocrite.

HGB : Hémoglobine.

KDa: Kilo Dalton

Kg: Kilogramme.

LPCAT: Lyso-Phosphatidyl Choline Acyl Transferase

MCH : Teneur Corpusculaire en Hémoglobine.

MCHC (CCMH): Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

MCV (VGM): Volume Globulaire Moyen.

mg : milligramme

min: Minute

mM: millimolaire

mm³: Millimètre cube.

MPV (VMP) : Volume Plaquettaire Moyen

nm: Nanomètre.

PBS: Phosphate Buffered Saline

PC: Phosphatidyl Choline

PLT : Plaquettes.

RA: Acide Ricinoléique

RBC: Red Blood Cells (Globules Rouges).

RCA : Ricinus Communis Agglutinine

RDW : Measure de l'homogénéité de la taille de globule rouge (indice d'anisocytose).

RIPs: Protéines Inhibiteur de Ribosomes

RTA: Ribosome-Inactivating A-chain

RTB: Ribosome-Inactivating galactose binding B-chain

SD: Standard Deviation

GOT: Glutamate Oxlo-acétate Transaminase

GPT: Glutamate Oxlo-pyruvate Transaminase

UI: Unité Internationale

WBC: Wight Blood Cells (Globules Blancs).

χ^2 : Khi-deux

الملخص:

Ricinus communis هي نبتة تنتمي إلى عائلة Euphorbiaceae، تعرف باسم الخروع، تصنف من بين النباتات السامة، وسميتها ترجع إلى وجود نوعين من الغلوكوبروتينات هي RCA_{60} و RCA_{120} كما يمكن أن نستخلص منها زيت الخروع الذي يستعمل في مختلف المجالات (دوائية، تجميلية...).

الجرعة القاتلة DL_{50} عند الفئران الذكور تساوي 870.96 و عند الفئران الإناث 5623.41 مغ/ و كغ والتي تصنف زيت الخروع ضمن المواد ضعيفة السمية.

دراسة السمية الحادة عند الفئران الإناث المحقونة بالمستخلص الخام لزيت الخروع تحت الصفاق بالجرعة 2433.3 مغ/كغ بعد 24 ساعة و 5 أيام، أظهرت تصرفات عادية في الساعات الأولى متبوعة بإسهال ونقص في الوزن مع وجود فروق معتبرة في الوزن النسبي للقلب، الكبد، والمخ بعد اليوم لأول، والرئتين والقلب والكليتين والمخ بعد اليوم الخامس.

العوامل الدموية عرفت تغيرات معتبرة بعد اليوم الأول خاصة ل MPV و MCH و $MCHC$ بعد اليوم الخامس. التحاليل والبيوكيميائية بينت ارتفاعا معتبرا $Créa$ بعد اليوم الخامس وكذلك ل ALP و GOT بعد اليوم الأول.

في الظروف السمية الحادة عند الجرذان، الجرعة القاتلة DL_{50} تساوي 7247.90 مغ/كغ، مع وجود نقص معتبر في الوزن للرئتين والكليتين والكبد والمخ بعد اليوم الأول وللقلب والكبد والمخ بعد اليوم الخامس من الدراسة التجريبية.

المقاطع النسيجية للكبد أظهرت الإصابة بـ $Pélioise$ مع وجود احتقان للأوعية في الكلى عند الجرذان بعد اليوم الأول و الخامس.

السمية الشبه حادة للفئران الإناث أظهرت تغيرات معتبرة في نمو الفئران وكذلك في بعض العوامل الدموية GR ، $MCHC$ والبيوكيميائية GLU كذلك الإصابة الكلوية والكبدية.

كلمات المفاتيح: الرسينوس كومينوس، زيت الخروع، سمية، الفئران، الكلية.

Résumé

Le ricin (*Ricinus communis* L) est une plante de la famille des Euphorbiacées, communément appelée "Kharouaa". Elle est classée parmi les plantes toxiques. Sa toxicité est due au **ricin** (RCA 60) et au **Ricinus communis agglutinine 120** (RCA120). A partir de la plante, on extrait l'huile utilisé dans divers secteurs (pharmaceutique, cosmétiques).

La DL₅₀ chez les souris males de **8709.6** mg/kg et de DL₅₀ = **5623,41** mg/kg chez les souris femelles classe l'huile de ricin parmi les produits les moins toxiques. L'étude de la toxicité aigue chez des souris femelles traitées par l'extrait brut d'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* L par voie intrapéritonéale avec la dose 2433.3 mg/kg après 24h et 5 jours, a montré un comportement normal dans les premières heures, suivi de diarrhées et d'amaigrissement avec une diminution significative de la masse relative du cœur ,du foie et du cerveau après 1^{er} jour, et des poumons, du cœur, des reins et du cerveau après le 5^{ème} jour. Les paramètres hématologiques ont connus des changements significatifs après le 1^{er} jour pour la MPV et après le 5^{ème} jour pour RBC, MCH, et la MCHC. Les analyses biochimiques ont révélé une augmentation significative de la créatinine après le 5^{ème} jour, et une augmentation de l'ALP et de GOT après le 1^{er} jour. Dans les conditions de la toxicité aigue, la DL₅₀ est de **7247 ,90** mg/kg chez les rats traités et une diminution significative des masses relatives des poumons, des reins , du foie et du cerveau après le 1^{er} jour et du cœur ,du foie et du cerveau après le 5^{ème} jour de l'application. Une augmentation significative de la créatinine est observée après le 1^{er} jour.

L'étude histologique du foie montre l'atteinte par le péliose et des congestions des tubules rénaux au niveau de reins des rats traités avec l'huile de ricin surtout après le 5^{ème} jour de l'application.

La toxicité subaiguë chez des rats femelles a révélée des perturbations dans la croissance normale des animaux et dans quelques paramètres hématologiques (GB, MCHC) et biochimiques (GLUC), ainsi que des altérations hépatiques et rénales.

Mots clés: *Ricinus communis*, huile de ricin, toxicité, souris, rein, foie.

Abstract

Ricin (*Ricinus communis* L) is a plant of Euphorbiaceae family, commonly called "Kharouaa". It classified among the toxic plants. Its toxicity is due to the **ricin** (RCA 60) and **Ricinus communis agglutinin 120** (RCA120). From the plant, one extracts oil used in various sectors (pharmaceutical, cosmetics).

The DL_{50} in the males mice of **8709.6** mg/kg and of $DL_{50} = \mathbf{5623, 41}$ mg/kg in the female mice classifies the castor oil among the least toxic products. The study of acute toxicity in female mice treated by the crude castor oil extract of seeds of *Ricinus communis* L by way intrapéritonéale with the amount 2433.3 mg/kg after 24h and 5 days, showed a normal behavior in the first hours, follow-up of diarrheas and slimming with a significant decrease in the relative mass of the heart, the liver and brain after 1st day, and of the lungs, the heart, the kidneys and the brain after the 5th day. The hematologic parameters knew significant changes after the 1st day for the MPV and after the 5th day for RBC, MCH, and the MCHC. The biochemical analyses revealed a significant decrease in creatinine after the 5th day, and an increase in the ALP and GOT after the 1^{er} day. Under the conditions of acute toxicity, the DL_{50} is of **7247,90** mg/kg in the rats treated and a significant increase in the relative masses of the lungs, kidneys, liver and brain after the 1st day and of the heart, the liver and the brain after the 5th day of the application. A significant increase in creatinine is observed after the 1st day.

The histological study of the liver shows the attack by the péliose and of the congestions of the renal tubules on the level of kidneys of the rats treated with the castor oil especially after the 5th day of the application.

Sub acute toxicity in rats females revealed disturbances in the normal growth of the animals and some hematologic parameters (GB, MCHC) and biochemical (GLUC), as well as hepatic and renal deteriorations.

Key words: *Ricinus communis*, castor oil, toxicity, mouse, kidney, liver.

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. Structure de ricin..... | 08 |
| Figure 2. Le mécanisme de la toxicité par le ricin..... | 09 |
| Figure 3. Structure de l'huile de ricin | 13 |
| Figure 4. Structure de l'acide ricinoléique..... | 14 |
| Figure 5. La biosynthèse d'huile de ricin..... | 15 |
| Figure 6. Structure de la ricinine..... | 18 |
| Figure 7. Structure macroscopique du rein..... | 21 |
| Figure 8. La structure du néphron..... | 22 |
| Figure 9. Schéma d'un glomérule..... | 23 |
| Figure 10 Structure macroscopique du foie de rat..... | 28 |
| Figure 11. Organisation structurale et anatomique du foie..... | 29 |
| Figure 12. La plante de <i>Ricinus communis L</i> , en période de maturation des graines..... | 33 |
| Figure 13. Les fruits et les graines de <i>Ricinus communis L</i> | 34 |
| Figure 14. Appareil de soxhlet..... | 36 |
| Figure 15. Schéma d'extraction d'huile de ricin des graines de <i>Ricinus communis L</i> | 37 |
| Figure 16. Séparation par chromatographie sur couche mince de l'huile de ricin des graines de <i>Ricinus communis L</i> | 45 |
| Figure 17. Toxicité de l'huile de <i>Ricinus communis L</i> chez les souris males traitées par voie intrapéritonéale | 47 |
| Figure 18. Estimation de la DL ₅₀ chez les souris femelles traitées par voie intra péritonéale par l'huile de ricin des graines de <i>Ricinus communis L</i> | 49 |
| Figure 19. Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (glucose et créatinine) des souris traités et témoins dans les conditions de la toxicité aigue par la dose de 2433.3 mg/kg (1 / 3 de la DL ₅₀) d'huile de ricin des graines de <i>Ricinus communis L</i> | 52 |

| | |
|--|----|
| Figure 20. Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (GPT et GOT) des souris traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 2433.3 mg/kg (1 / 3 de la DL ₅₀) d'huile de ricin des graines de <i>Ricinus communis</i> L..... | 52 |
| Figure 21. Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (GOT,GPT ,PAL) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë d'huile de <i>Ricinus communis</i> L..... | 56 |
| Figure 22. Paramètre sérique de l'évaluation de la fonction rénale (créatinine, glucose) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë d'huile de <i>Ricinus communis</i> | 56 |
| Figure 23. Coupe histologique du tissu rénal des rats témoins Coloration éosine hématoxyline/Grandissement X 460 | 57 |
| Figure 24. Coupe histologique du tissu rénal des rats traités par l'huile de <i>Ricinus communis</i> dans les conditions de la toxicité aiguë (1 ^{er} jour, 5 ^{ème} jour). Coloration éosine hématoxyline, X460 | 57 |
| Figure 25. Evolution de poids des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subaiguë..... | 58 |
| Figure 26. Paramètre sérique de l'évaluation de la fonction rénale (créatinine, glucose) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subaiguë d'huile de <i>Ricinus communis</i> L..... | 60 |
| Figure 27. Paramètre sérique de l'évaluation de la fonction rénale (GOT,GPT) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subaiguë mg/kg d'huile de <i>Ricinus communis</i> L..... | 61 |
| Figure 28. Paramètre sérique de l'évaluation de la fonction rénale (PAL) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subaiguë mg/kg d'huile de <i>Ricinus communis</i> L..... | 61 |
| Figure 29. Coupe histologique du tissu hépatique des rats témoins dans les conditions de la toxicité subchronique. Coloration éosine hématoxyline, X 460 | 62 |
| Figure 30. Coupe histologique du tissu hépatique des rats traités par l'huile de <i>Ricinus communis</i> dans les conditions de la toxicité subchronique. Coloration éosine hématoxyline ,X 460. (P) Péliose..... | 62 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 .Propriétés physiques d'huile de ricin brut raffinée..... | 16 |
| Tableau. 2. Propriétés physiques d'huile de ricin brut et raffinée..... | 16 |
| Tableau. 3. Toxicité de l'huile de <i>Ricinus communis</i> chez les souris femelles traitées par voie intrapéritonéale..... | 46 |
| Tableau. 4. Toxicité de l'huile de <i>Ricinus communis</i> chez les souris mâles traitées par voie intrapéritonéale..... | 48 |
| Tableau. 5. Masse relative des organes des souris blanches femelles traitées dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de mg/kg l'huile de <i>Ricinus communis</i> L..... | 50 |
| Tableau. 6. Paramètres hématologiques des souris blanches femelles traitées dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de mg/kg d'huile de <i>Ricinus communis</i> L..... | 51 |
| Tableau. 7. Masse relative des organes des rats blancs femelles traités dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de mg/kg d'huile de <i>Ricinus communis</i> L. | 54 |
| Tableau. 8. Paramètres hématologiques des rats blancs femelles traités dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de mg/kg d'huile de <i>Ricinus communis</i> L..... | 55 |
| Tableau. 9. Masse relative des organes des rats femelles traités dans les conditions de la Toxicité subaigüe par la dose 538,74 mg/kg d'huile de <i>Ricinus communis</i> | 59 |
| Tableau. 10. Paramètres hématologiques des rats femelles traités dans les conditions de la toxicité subaigüe par la dose de 538,74 mg/kg d'extrait d'huile de ricin..... | 59 |

Sommaire

| | |
|-------------------|---|
| INTRODUCTION..... | 1 |
|-------------------|---|

Chapitre I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|--|----------|
| I-1 Caractéristique botanique de la plante <i>Ricinus communis</i> L..... | 3 |
| 1-1-1 Généralités..... | 3 |
| 1-1-2 Nomenclature..... | 3 |
| 1-1-3 Classement taxonomique | 4 |
| 1-1-4 Caractéristique botanique..... | 4 |
| Origine et Habitat..... | 5 |
| 1-1-6 Utilisations traditionnelles..... | 6 |
| I-2 Caractéristiques phytochimiques..... | 6 |
| 1-2-1 Les graines..... | 6 |
| 1-2-1-1 les protéines (glycoprotéines)..... | 6 |
| 1-2-1-1-1 Ricin..... | 7 |
| 1-2-1-1-1-1 Propriétés physico-chimique..... | 7 |
| 1-2-1-1-1-2 Toxicité et mécanisme d'action | 8 |
| 1-2-1-1-1-3 Pharmacocinétique..... | 10 |
| 1-2-1-1-1-3-1 L'intoxication orale (par ingestion) | 10 |
| 1-2-1-1-1-3-2 L'intoxication cutané..... | 10 |
| 1-2-1-1-1-3-3 L'intoxication par inhalation..... | 10 |
| 1-2-1-1-1-4-L'intoxication par injection intramusculaire et sous-cutanée..... | 11 |
| 1-2-1-1-1-5 Dose toxique de <i>Ricinus communis</i> | 11 |

| | |
|--|-----------|
| 1-2-1-1-1-6 Traitement de l'intoxication par le ricin..... | 11 |
| 1-2-1-1-2 <i>Ricinus communis</i> agglutinine 120 (RCA120)..... | 12 |
| 1-2-1-1-2-1 Propriétés..... | 12 |
| 1-2-1-1-2-2 Toxicité..... | 12 |
| 1-2-1-2 les lipides (l'huile de ricin)..... | 12 |
| 1-2-1-2-1 Description et propriétés..... | 12 |
| 1-2-1-2-2 Structure et composition..... | 13 |
| 1-2-1-2-3 Aspects biochimiques de biosynthèse d'huile de ricin | 14 |
| 1-2-1-2-4 Caractérisation d'huile de ricin..... | 16 |
| 1-2-1-2-3 Utilisation..... | 17 |
| 1-2-1-2-4 Toxicité..... | 17 |
| 1-2-1-3 La ricinine..... | 18 |
| 1-2-1-3-1 structures et composition..... | 18 |
| 1-2-1-3-2 Toxicité | 18 |
| 1-2 1-4 Autres composés..... | 19 |
| 1-2-2 les feuilles | 19 |
| I-3 Le rein..... | 20 |
| 1-3-1 Morphologie générale..... | 20 |
| 1-3-2 Anatomie des reins..... | 20 |
| 1-3-2-1 Sur le plan macroscopique..... | 20 |
| 1-3-2-2 Sur le plan microscopique..... | 21 |
| 1-3-2-2-1 Le néphron..... | 21 |
| 1-3-3 Fonction des reins..... | 24 |
| 1-3-3-1 Filtration glomérulaire | 24 |
| 1-3-4 Marqueurs biochimiques de la fonction rénale..... | 25 |
| 1-3-4-1 Marqueurs plasmatiques..... | 25 |
| 1-3-4-2 Marqueurs urinaires..... | 26 |

| | |
|---|-----------|
| 1-3-4-3 Examens macroscopique et microscopique..... | 26 |
| I-4 Le foie | 27 |
| 1-4-1 Anatomie de foie..... | 27 |
| 1-4-1-1 Sur le plan macroscopique..... | 27 |
| 1-4-1-2 Sur le plan microscopique..... | 28 |
| 1-4-2 La fonction du foie | 29 |
| 1-4-3 Marqueurs biochimiques de la fonction hépatique | 30 |
| 1-4-3-1 Les marqueurs hépatiques non enzymatiques | 31 |

CHAPITRE II . MATERIEL ET METHODES

| | |
|---|-----------|
| II-1 Matériels..... | 34 |
| 2-1-1 Matériel biologique..... | 34 |
| 2 -1-1-1 Matériel végétal..... | 34 |
| 2-1-1-2 Matériel animal..... | 35 |
| II-2 Méthodes | 35 |
| 2-2-1 Analyses phytochimiques d'huile de <i>Ricinus communis</i> L..... | 35 |
| 2-2-1-1 Extraction d'huile de ricin | 35 |
| 2-2-1-2 Analyse qualitative..... | 38 |
| 2-2-1-2-1 Chromatographie sur couche mince (C.C.M) | 38 |
| 2-2-2 Détermination de la DL 50 chez les souris..... | 38 |
| 2-2-2 -1 Evaluation de la Toxicité aiguë chez les souris femelles | 39 |
| 2-2-3 Détermination de la DL 50 chez les rats | 40 |
| 2-2-3-1 Evaluation de la Toxicité aiguë chez les rats..... | 40 |
| 2-2-3-2 Evaluation de la toxicité subaiguë chez les rats | 41 |
| 2-2-4 Etude de quelques paramètres hématologiques et biochimiques sériques..... | 41 |
| 2-2-4-1 Prélèvement sanguin..... | 41 |

| | |
|--|----|
| 2-2-4-2 Dosage de quelques paramètres hématologiques et biochimique..... | 42 |
| 2-2-4-3 Technique histologique..... | 42 |
| 2-2-5 Test d'hémolyse (Traitement des érythrocytes par l'huile de ricin) | 43 |
| 2-2-6 Analyses statistiques..... | 43 |

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|---|-----------|
| III-1 RESULTATS..... | 44 |
| 3-1-1 Extraction..... | 44 |
| 3-1-2 Analyse qualitative..... | 44 |
| 3-1-3 Détermination de la DL ₅₀ chez les souris males..... | 45 |
| 3-1-3 -1 Observation du comportement et tableau clinique des animaux | 45 |
| 3-1- 3-2 Calcul de la DL ₅₀ par la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON (1985)..... | 45 |
| 3-1-3-3 Estimation de la DL ₅₀ par la méthode de BAHRENS..... | 47 |
| 3-1-4 Détermination de la DL ₅₀ chez les souris femelles | 47 |
| 3-1-4 -1 Observation du comportement et tableau clinique des animaux..... | 47 |
| 3-1-4-2 Toxicité aigue de l'huile de ricin chez les souris femelles..... | 49 |
| 3- 1-5 Détermination de la DL ₅₀ chez les rats femelles..... | 52 |
| 3-1-5-1 Toxicité aigue du l'huile de ricin chez les rats femelles..... | 52 |
| 3-6 Toxicité subaigüe chez les rats femelles | 60 |
| 3-2 Discussion | 61 |
| Conclusion..... | 69 |
| Références bibliographiques..... | 70 |

Introduction

A l'origine, la nature constituée essentiellement d'êtres végétaux, servait d'alimentation aux animaux et aux hommes peuplant la terre. Mais à côté de cette fonction nutritionnelle, l'homme découvrit bien d'autres fonctions que pouvaient lui procurer les plantes.

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a utilisé des plantes, d'abord pour se nourrir, puis pour se soigner. Il a appris, petit à petit, à reconnaître les plantes comestibles et les plantes toxiques, utilisant certaines d'entre elles à des fins guerrières, criminelles, magiques ou pour faciliter la pêche ou la chasse. Ces connaissances, d'abord transmises oralement, l'ont été ensuite dans des écrits, ce qui nous a permis de retrouver des traces de l'utilisation de plantes dans les plus anciennes civilisations des différentes parties du monde (Prof et Quetin, 2002)

L'Algérie ne fait pas exception et l'utilisation des plantes médicinales en médecine traditionnelle pour le traitement de différentes maladies s'est développée de manière spectaculaire. Les cas des intoxications par l'usage des plantes dites médicinales ne cessent d'augmenter.

Parmi de ces plantes toxiques le *Ricinus communis*, appartient à la famille des Euphorbiacées qui d'aspect très variable, les plantes de cette famille se caractérisent essentiellement par leur latex blanc, irritant la peau, collant et épais; une évolution de la morphologie florale allant de fleurs classiques (Lagnika, 2005). Elle est originaire d'Afrique tropicale, il s'est répandu un peu partout dans le monde, là où le climat le permettait. On le retrouve aussi sous des climats subtropicaux, mais également sous les climats tempérés.

Cette plante est communément appelée en Algérie sous le nom de « Kharouaa », qui est la cause de plusieurs intoxications survenant surtout en période de maturation des graines due à la présence des glycoprotéines hautement toxique (le ricin et le *Ricinus communis* agglutinine 120). D'un autre côté est une plante oléagineuse qui nous a permis d'extraire une huile très importante à divers secteurs. Dans ce contexte s'inscrit le présent travail dont l'objectif essentiel consiste à étudier la toxicité de l'extrait brut d'huile de ricin sur les animaux de laboratoire (souris, rats) et d'évaluer son effet quelques paramètres hématologiques et biochimiques liés à la structure et la fonction rénal et hépatique dans les conditions de la toxicité aiguë et subaiguë chez les deux espèces

CHAPITRE I

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

1-1 Caractéristiques botaniques de la plante *Ricinus communis* L

1-1-1 Généralités

Le nom générique *Ricinus* signifie « **tique** » en **latin** : la graine est ainsi nommée parce qu'elle a des marques et une bosse qui la fait ressembler à certaines tiques (Ramprasad et Bandopadhyay, 2010).

Ricinus Communis L fait partie de la famille des Euphorbiacées comportant 8100 espèces, cette plante est le seul représentant du genre *Ricinus* qui est un arbre à grandes feuilles palmées (Witchard, 1997; Paul et Tanigoshi, 1999 ; Malathi *et al.*, 2006 ; Ledent et Mairesse, 2008).

Euphorbiaceae vient du genre le plus important de la famille, *Euphorbia*, lui même dédié par le roi *Juba II* de Mauritanie à son médecin Euphorbos au 1er siècle avant Jésus Christ, et conservé par Linné. D'aspect très variable, les plantes de cette famille se caractérisent essentiellement par leur latex blanc, irritant la peau, collant et épais avec un fruit à trois loges (Lagnika, 2005)

1-1-2 Nomenclature

Anglais: Castor plant, castor oil plant, Palma Christi (Borch-Jensen, 1997; Lorenzo et Lynne, 1998 ; Despott et Mario, 2004; Grace, 2007; Volkshard et Nogueira, 2007 ; Leo *et al.*, 2009)

Brésil: Carrapateira, mamona ou mamoneira (Kadambi et Dabral, 1955; Anete *et al.*, 1999; Cristiane *et al.*, 2009).

France: Ricin (Maroyi, 2007).

Mexique : Huiguerilla (Adolfo et Heinrich, 2005 ; Volkshard et Nogueira, 2007).

Nigeria: selon les regions au Nigeria la plante plusieurs appellations : "Zurman" (en Hausa), "Laraa" (en Yoruba), "Ogilisi" (en Igbo), " Kpamfini gulu " (en Nupe), "Jongo" (en Tiv), et "Eraogi " (en Bini) (Sule et Sani, 2008).

Pakistan: Arand (Queeshi, 2009 ; Kalpana, 2010).

Inde: Erandah, Amudam, Erandi ou Arand (Poonam *et al.*, 2008)

Niger : Karoua (Hammiche et Maiza, 2006).

1-1-3 Classement taxonomique

Règne : *Plantea*

Embranchement : *Spermaphyte (plante à graine)* (Lagnika, 2005)

Sous-embranchement : *Angiosperme (Magnoliophyta : Plantes à fleurs)*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Rosidae*

Ordre : *Euphorbiales*

Famille : *Euphorbiaceae*

Genre : *Ricinus* (Anjani, 2005 ; Aslania *et al.*, 2007; N'guessan *et al.* , 2009))

Espèce : *Ricinus Communis* L

1-1- 4 Caractéristiques botaniques

Le *Ricinus Communis* L est un arbuste à rameaux ultimes herbacés ou fistuleux ou arbre, pouvant atteindre 7 m et plus, son feuillage est d'une beauté remarquable, parfois cultivé comme plante annuelle très vigoureuse, mais naturellement vivace (Kadambi et Dabral, 1955; Mário et Espírito, 2007), il possède deux parties:

Une partie aérienne: possédant

- ✚ **Une tige :** dressée, robuste, rameuse avec des branches à nœuds visibles et cicatrisés annulaires, généralement glauques, parfois vertes ou rouges, un peu fistuleux, bien unie, ronde, lisse, ramifiée seulement dans le haut (Couplan et Styner, 2000).
- ✚ **Feuilles:** sont alternes, grandes parfois de plus d'un pied, palmées de 7 à 9 lobes, glabres, vertes glauques, avec une veine médiane de couleur rougeâtre, dentées irrégulièrement, rouge à leur développement, portées par de longs et forts pétioles glanduleux vers leur sommet (García *et al.* , 1999) .
- ✚ **Fleurs:** sont monoïques, forment de grosses grappes redressés, rameuses; les fleurs mâles sont situées dans le bas de l'inflorescence, composées d'un calice de cinq pièces sans corolle et de groupes nombreux d'étamines monadelphes verdâtre, comme ramifiées; les fleurs femelles ont seulement trois folioles au calice, et au dessous de petites écailles ; un ovaire globuleux hérissé, surmonté de trois pistils longs, rouges, hispides (Maroyi, 2007)

✚ **Fruits** : sont des capsules tricoques (formé de 3 lobes) hérissées de pointes et plus ou moins déhiscentes à maturité en saisons sèche. Les capsules renferment généralement 3 graines de couleur marron clair, marron rouge ou gris tacheté de blanc (Coopman *et al.*, 2009)

✚ **Graines** : sont contenues dans chacune des loges du péricarpe, ont presque la forme d'un haricot moyen, sont piriformes, ovoïdes, allongées ou plates, luisantes marbrées de gris rougeâtre et de blanc. A l'intérieur de la graine se trouve une amende oléagineuse qui est très toxique (Little et Wadsworth , 1974)

Une partie souterraine : possédant une racine pivotante puissante à racines latérales marquées.

1-1-5 Origine et Habitat

L'origine du *Ricinus communis* L est l'Afrique tropicale, il est développé en tant que plante ornementale dans diverses régions de l'Asie, l'Amérique du Nord, l'Afrique et l'Europe (Aslania *et al.*, 2007)

Il est largement cultivé dans la plupart des régions tropicales et subtropicales sèches de même que dans de nombreuses régions tempérées dotées d'un été chaud (Ziyu *et al.* , 1992; Gerard *et al.* , 2008; Sujatha *et al.*, 2008; Cheema *et al.*, 2010)

Ricinus communis L est présenté dans tout le continent africain, de la côte atlantique à la mer Rouge et de la Tunisie à l'Afrique du Sud ainsi que dans les îles de l'océan Indien (Maroyi, 2007). Plus de 95% de la culture de *Ricinus* dans le monde est concentrée en Inde, la Chine et le Brésil (Sailaja *et al.*, 2008).

1-1-6 Utilisations traditionnelles

Le *Ricinus*, a été employé dans la médecine égyptienne et grecque classique et son utilisation a été décrite par Susruta (iv^e siècle apr. J.-C.) et Ayurveda (deux anciens médecines Hindous). L'usage de différentes parties de cette plante ont été utilisées pour le traitement des diverses maladies ou des remèdes folkloriques dans le monde entier. Les racines de cette plante sont également utiles comme un ingrédient de diverses prescriptions pour les maladies nerveuses et affections rhumatismales telles que le lumbago, la pleurodynie et la sciatique.

Dans la médecine traditionnelle indienne, les feuilles, les racines et l'huile extraite des graines de cette plante ont été employés pour le traitement de l'inflammation et dans des affections du foie (effet hepatoprotecteur), laxatifs et diurétiques. Les racines sont utiles dans le traitement du diabète" effet hypoglycémiant" (Poonam *et al.*, 2008; Rao *et al.* , 2010) et antibactérien. (Ilavarasan *et al.* , 2006).

Les graines de *Ricinus communis* L ont été employées dans différentes parties du monde comme cathartique, un émétique et pour le traitement de la lèpre et de la syphilis. Certaines femmes en Inde et Corée ont pris les graines de ricin, comme moyens contraceptifs.

Il a été rapporté en Algérie, que certaines femmes ont pris des graines de ricin plongées dans du sang chaud d'un lapin pour empêcher tombé enceinte. Aussi, il a été rapporté, qu'il n'y aura aucune grossesse pour au moins 9 mois, si une femme prend une graine après la naissance d'un enfant (Abdulazim et al ., 1998) .

1-2 Caractéristiques phytochimiques

1-2-1 Les graines

Les graines de ricin (*Ricinus communis*), sont des graines oléagineuses importantes, elles contiennent approximativement 50% de l'huile et 18% de protéines (Anoskie et Chibogwuk, 1981).

1-2-1-1 les protéines

Dans les graines de ricin mûres, 90-95% de toutes les protéines trouvées dans les graines sont stockés à l'endosperme où les protéines cristalloïdes représentent 70 à 80% des protéines totales et sont insolubles dans l'eau. Les fractions solubles résiduelles de protéine sont des lectines (Ricin et RCA 120) et des albumines (Harley et Beever, 1986).

1-2-1-1-1 Ricin

1-2-1-1-1-1 Propriétés physico-chimiques

Le nom ricin, était donné à cette albumine par **Stillmark** en **1888**, est une protéine hétérodimérique de **64 KDa**, légèrement plus petit que l'albumine (Garland et Bailey, 2006), constitue de 1% à 5% des protéines totales des graines de *Ricinus communis* L (Franz et Nancy, 1997; O'Connell *et al.*, 2002 ; Korcheva *et al.*, 2007).

Le ricin est une grande glycoprotéine, sous forme de poudre blanche à l'état pure, hydrosoluble. Il est inactivé près à la température de 80°C dans un temps de 10 min (Garland et Bailey, 2006).

-

Structure

Le ricin appartient aux toxines désignées sous le nom des protéines d'inactivation de ribosomes de type II (**type II RIPs**) (Pohl *et al.*, 1998; Alexander *et al.*, 2008; Shaoan *et al.*, 2008 ; Puri *et al.*, 2009), produite dans les graines du *Ricinus communis* où il s'accumule dans des vacuoles de stockage des protéines d'endosperme (Nicholas. *et al.* , 2006).

Le ricin mûr se compose de deux chaînes, une chaîne **A (ribosome-inactivating A-chain ou RTA)** de **32 KD** avec **267 acides aminés**, liée par une liaison disulfure et des interactions non covalentes à une chaîne **B** , une lectine spécifique pour le résidu galactose (**galactose binding B-chain ou RTB**) de **34 KD** avec **262 acides aminés** (Lorenzo et Lynne,1998; Lombard *et al.* , 2001; Kenigsberg *et al.*, 2008 ; Garber, 2008; Cheema *et al.*, 2010). (Fig. 1)

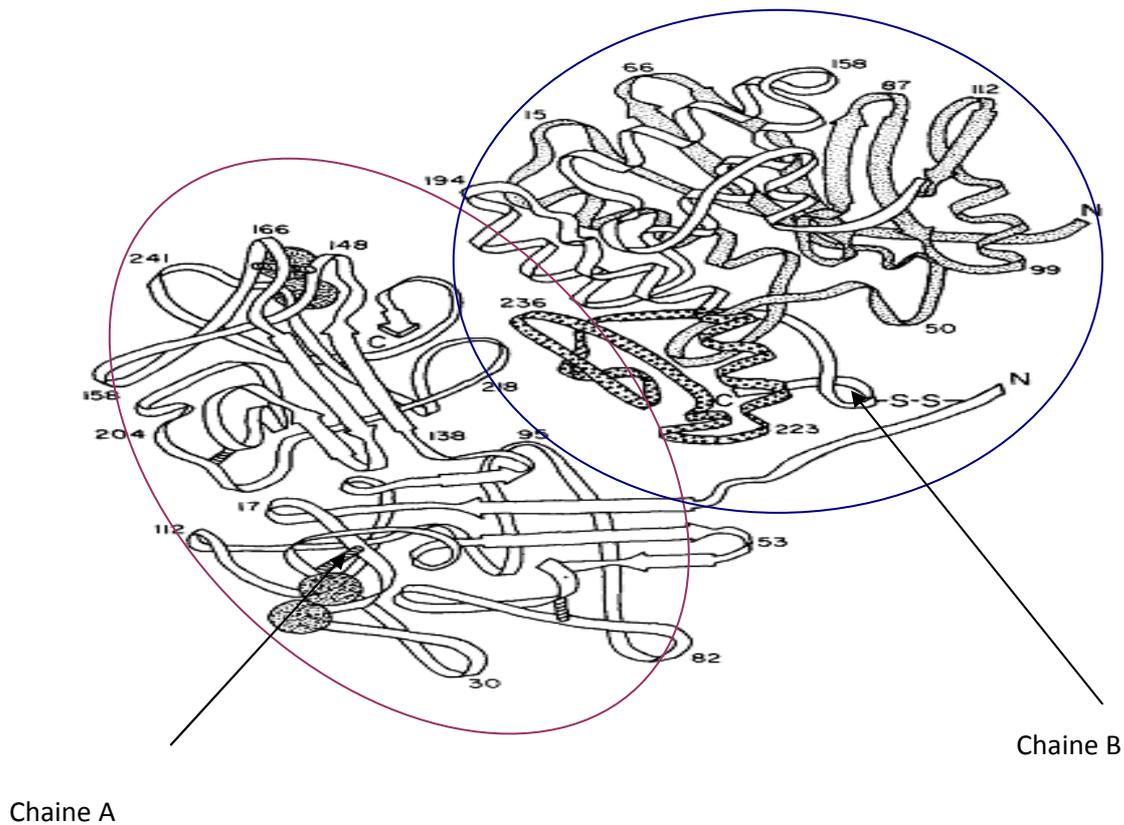


Figure. 1 Structure de ricin (Montfort *et al.*, 1987).

1-2-1-1-2 Toxicité et mécanisme d'action

Le ricin est une toxine fortement efficace. C'est une arme potentielle biologique qui pourrait être dispersée dans le ciel comme poussière ou aérosol (Strocchi *et al.*, 2005). Sa toxicité varie chez les animaux d'une espèce à une autre (Franz et Nancy, 2007). Il a été classifié comme agent le plus toxique de catégorie B, par le centre de control des maladies et des préventions (CDC) (Liu *et al.*, 2009).

Le ricin est une lectine glycoprotéine, composé de 2 chaînes, A et B, liées par des liaisons disulfures. La chaîne B (**RTB**) a des propriétés de lectine qui lui permis de se lier aux glycoprotéines et des glycolipides exprimés à la surface des cellules et facilitant ainsi l'entrée de ricin dans le cytosol. (Jonathan *et al.*, 2009 ; Garland et Bailey)

Dans le cytosol, le ricin est transporté par l'endosome pour atteindre le site de fixation initial à l'appareil de golgi, et peut également internalisé de nouveau à la surface de cellules ou dirigé vers la dégradation dans le lysosome.

Le ricin trouvé dans l'appareil de golgi est transporté à son tour dans le réticulum endoplasmique où il subit le clivage des ponts de disulfure par le PDI (protéine disulfure isomérase) et libérer la sous unité enzymatique A qui sera transférée dans cytosol.

La chaîne A excise un résidu spécifique d'adénosine (A4565 chez l'homme et A4256 chez les souris) (Mabley *et al.*,2009) près de l'extrémité 3' de l'ARN 28S ribosomal, qui bloque l'attachement de facteur d'élongation 2 et empêche la synthèse des protéines (Wesche *et al.* , 1999; Lakshmana, 2005; Franz et Nancy, 2007 ; Rushing *et al.*,2009). (Fig. 2)

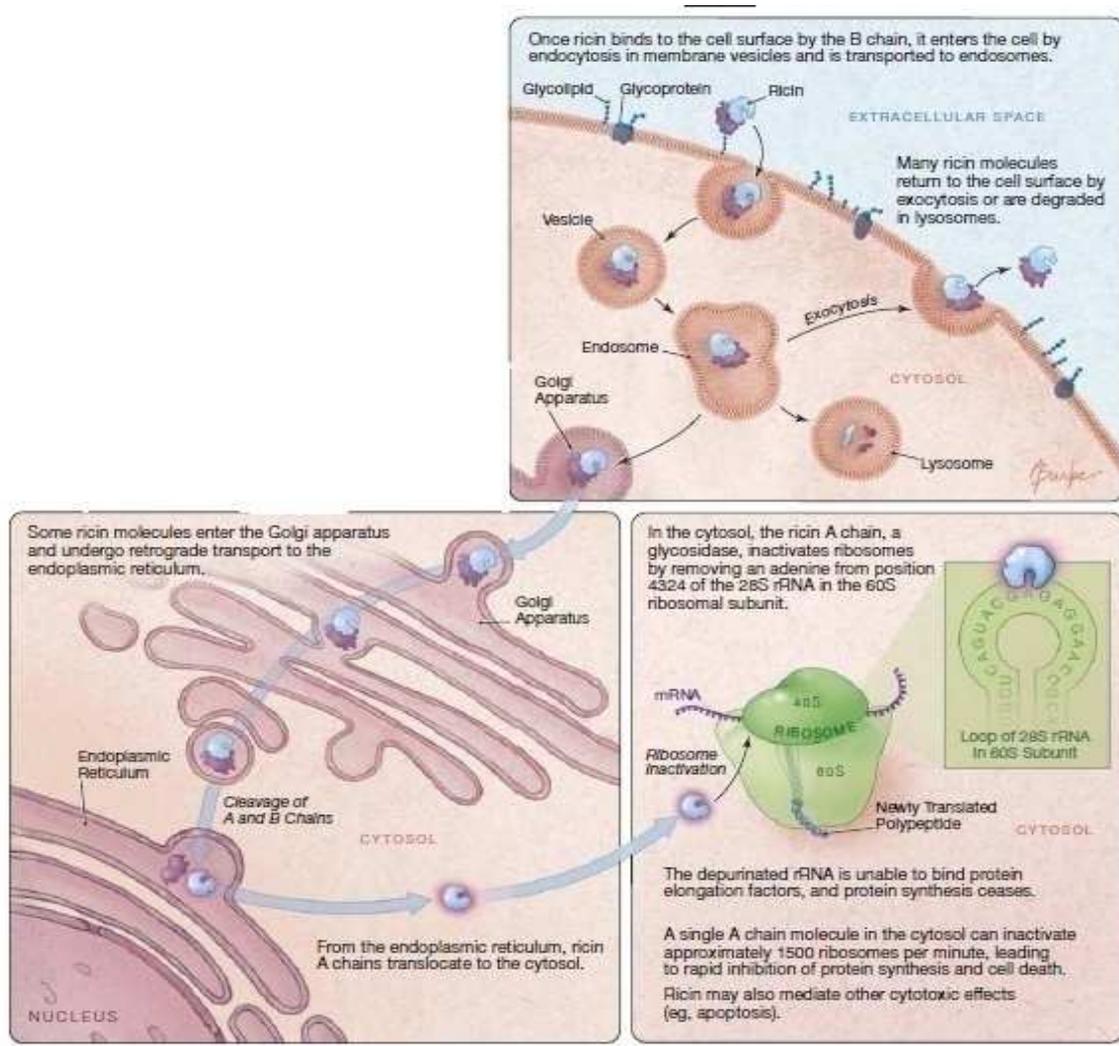


Figure 2. Le mécanisme de la toxicité par le ricin (Audi *et al.* , 2005) .

1-2-1-1-3 Pharmacocinétique

1-2-1-1-3-1 L'intoxication orale (par ingestion)

Les empoisonnements de ricin se produisent le plus souvent par ingestion des graines .Le ricin est moins toxique par l'ingestion orale que par d'autres itinéraires, probablement dus à l'absorption faible de la toxine et à la dégradation enzymatique partielle dans la région digestive (Franz et Nancy, 1997 ; Schep ,2009).

Il y a eu plus de 750 cas documentés d'intoxication par ricin chez l'homme avec la grande majorité de cas cliniques impliquant l'empoisonnement de ricin par ingestion (Balint, 1974; Rauber *et al.*, 1985; Challoner *et al.*, 1990; Bradberry, 2003).

Dans l'intoxication orale (et parentérale), les cellules de système réticulo-endothélial, tel que des cellules de Kupffer et les macrophages, sont particulièrement exposé aux effets du ricin, en raison de la présence des récepteurs de mannose exclusivement dans les macrophages (Franz et Nancy, 1997).

❖ Symptomatologie clinique et diagnostic:

Les premiers signes et symptômes apparaissent le plus souvent dans un délai de 4 à 6 heures, et parfois plus de 10 heures. Les premiers symptômes sont non spécifiques et pouvant inclure des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales suivies par des diarrhées, hémorragie de l'anus , anurie , crampes ,dilatation des pupilles , fièvre, maux de tête, effondrement vasculaire et le coma(Garland et Bailey, 2005; Audi,2005; Shaoan *et al.*, 2008)

1-2-1-1-3-2 L'intoxication cutané

En tant que polypeptide, le ricin est mal absorbé à travers la peau intacte. Mais il peut directement pénétrer dans le courant sanguin à travers les plus petites blessures. Il existe aussi des possibilités d'introduire le ricin à travers la peau intacte par le billet des adjuvants (Schep, 2009).

1-2-1-1-3-3 L'intoxication par inhalation

L'exposition du ricin par inhalation chez l'homme est un syndrome allergique, rapporté chez les ouvriers exposés à la poussière de ricin au cours de l'extraction de l'huile de ricin (Franz et Jaax , 1997).

❖ **Symptomatologie clinique et diagnostic**

La carte clinique est caractérisée par le début soudain de la congestion du nez et de la gorge et des démangeaisons des yeux. Dans des cas plus graves un asthme bronchique, peut également se produire, et peut durer plusieurs heures. L'exposition des rats par inhalation du ricin, provoque une pneumonie fibrinopurulente, une nécrose, l'inflammation des voies aériennes, avec une inflammation interstitielle et alvéolaire et un œdème (Franz et Nancy, 1997; Garland et Bailey, 2006).

1-2-1-1-3-4 L'intoxication par injection intramusculaire et sous-cutanée

L'injection intramusculaire ou sous-cutanée des doses élevées du ricin chez l'homme (dans le cas de l'assassinat) a comme conséquence la nécrose lymphoïde locale grave, l'hémorragie gastro-intestinale, la nécrose de foie, et la splénite diffuse. L'injection du ricin mène à la nécrose à l'emplacement d'injection, qui peut prédisposer à l'infection secondaire (Franz et Nancy, 1997)

1-2-1-1-4 Dose toxique des graines de *Ricinus communis*

La dose létale *per os* chez l'homme, est de 1-20mg /Kg (approximativement 8graines). (Mouser *et al.*, 2007; Payal *et al.*, 2010).

1-2-1-1-5 Traitement de l'intoxication par le ricin

Il n'y a aucune thérapie disponible pour le traitement direct de l'intoxication de ricin, seulement le traitement indiqué est celui du soin médical de support, incluant (comme requis) la respiration artificielle, administration des médicaments contre des saisies et l'hypotension, et le remplacement des électrolytes et des fluides (dans le cas d'une diarrhée grave et/ou vomissant). En outre, bien qu'il y ait eu un certain nombre de tentatives à produire un médicament pour soigner les intoxications par le ricin, aucun médicament n'a été approuvé pour l'usage humain (Bigalke *et al.*, 2005).

Une étude préliminaire récente sur la fiabilité d'un nouveau vaccin de recombinaison et génétiquement modifié de ribotoxin-A (RiVax) sur des volontaires humains sains ont constaté que chacun des 5 candidats qui ont reçu la dose élevée de RiVax (100µg une fois par mois pendant 3 mois) d'anticorps ricin, neutralisants le produit (ricin) avec des effets secondaires faibles (Vitetta *et al.*, 2006).

1-2-1-1-2 Ricinus communis agglutinine 120 (RCA120)

1-2-1-1-2-1 Propriétés

En plus de toxine "ricin", le *Ricinus* produit également une autre glycoprotéine lectine qui est le *Ricinus communis* agglutinine 120 (**RCA 120**) ou **RCA₁**.

Ricinus communis 120 ou RCA₁ a un intérêt spécial en raison de son affinité élevée et spécificité particulièrement pour de glycoconjugaison contenant des résidus B-D galactosyl en position terminale. (Baenziger et Fiete, 1979; Frenoy *et al.*, 1986).

•

S

structure

Le *Ricinus communis* agglutinine (RCA 120) est une glycoprotéine tétramère, avec un poids moléculaire de **120 KDa**. Elle se compose de deux paires non identiques des sous unités α_2 de **30 KDa** et des sous unités β_2 de **37 KDa** (Ladin *et al.*, 1987). Les sous unités α sont liés aux sous unités β par des liaisons disulfures et sur des sucres spécifiques situés sur les sous unités β (Olsnes *et al.*, 1974; Bowles *et al* 1976; Khan et Surolia, 1982 ; Cindy *et al.*, 2007; Cheema *et al.*, 2010).

Les chaînes A et B de RCA 120 ressemblent 93 % et 84% respectivement avec les chaînes correspondantes du ricin. Malgré cette similitude, des différences existent dans les structures et les fonctions du ricin et du RCA (Sharma *et al.*, 1998).

1-2-1-1-2-3 Toxicité

Ricinus communis agglutinine 120, est une lectine très efficace, à la différence du ricin qui un cytotoxique. Il n'a pas d'activité cytotoxique directe, mais a une affinité plus élevée" pour les globules rouges entraînant leurs agglutination (Jackson *et al.*, 2006).

1-2-1-2 les lipides (l'huile de ricin)

1-2-1-2-1 Description et propriétés

L'huile de ricin est dérivée des graine de *Ricinus communis* L, qui est essentiellement une espèce tropicale, se développe naturellement sur un éventail de régions géographiques (Ogunleye *et al.*, 2008). Elle se compose de 35% à 55% du poids des graines. Elle est un liquide visqueux ambre pâle, parfois connues sous le nom de l'*huile de Ricinus*. L'huile de ricin brute a une couleur jaune pâle de paille ou légèrement jaunâtres. Après le raffinage et le

blanchissement, il a une odeur distincte, mais elle peut facilement être éliminée dans le processus de raffinage (Akpan et Mohammed, 2006 ; Sule et Sani, 2008).

1-2-1-2-2 Structure et composition

Comme toutes les autres huiles végétales et animales, l'huile de ricin est un triglycéride, qui est chimiquement une molécule de glycérol estérifié avec un acide gras (Barbosa et al., 2010) Son acide gras principal est le 12-hydroxy-cis-9-octadécénoïque, connu familièrement en tant qu'*acide ricinoléique* (Borch-Jensena *et al.*, 1997 ; Grace et al., 2004; Akpan et Mohammed, 2006; Jumat *et al.*, 2010). L'huile de ricin a trois groupes fonctionnels : des doubles liaisons, des esters et des groupes d'hydroxyles, qu'ils lui donnent de nombreuses possibilités pour des réactions chimiques (Trivedi et Vasishtha, 1988)

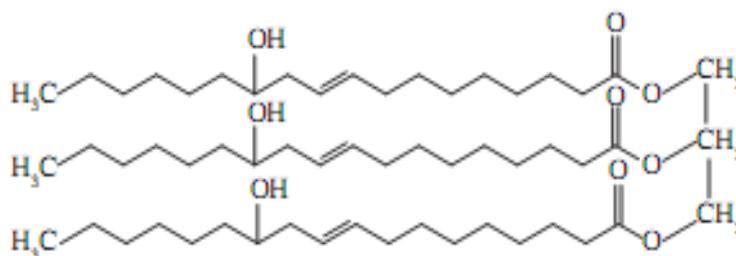


Figure 3. Structure d'huile de ricin (Cangemi *et al.*, 2008).

L'acide ricinoléique (**RA**, C₁₇H₃₂OH.COOH) est un acide gras à **18** atomes de carbone avec une double liaison placée sur le carbone **9** et un groupe d'hydroxyle placé sur le carbone **12**. Il est obtenu à partir de l'huile de ricin, qui est un mélange des triglycérides contenant principalement une partie d'**RA**-acyle (**85-90%**), d'autres acides gras représentent environ **10-15%** des triglycérides qui sont généralement : l'acide oléique (**18:1⁹**), acide linoléique (**18:2^{9,12}**), acide linoléique (**18:3^{9,12,15}**), acide palmitique (**16:0**), acide stéarique (**18:0**), acide éicosanoïque (**20:0**) et acide dihydroxystéarique (Achaya, 1971 ; Borch-Jensen, 1997; Grace *et al.*, 2007).

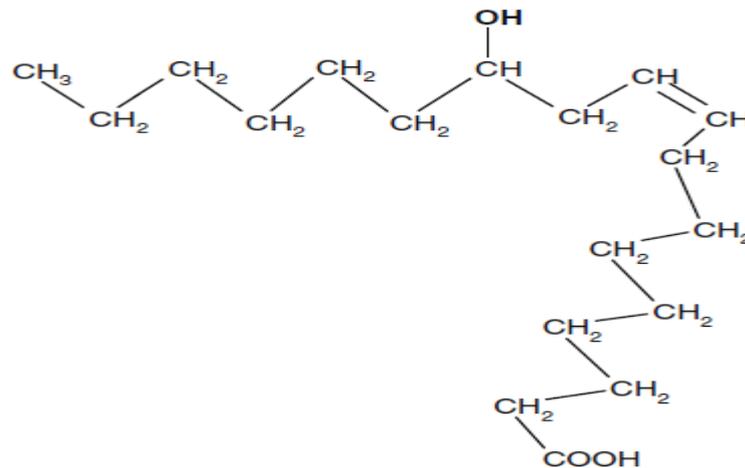


Figure 4. Structure de l'acide ricinoléique (Meneghetti ,2006 ; Silva, 2008; Zieba et al ., 2009).

1-2-1-2-3 Aspects biochimiques de biosynthèse d'huile de ricin

Les étapes menant à la production élevée du ricinoléate (acide ricinoléique) et leur incorporation dans le triacylglycérol inclure différentes enzymes :

- *Lyso-phosphatidylcholine acyltransferase (LPCAT)*, transfère l'oléate d'oleoyl CoA dans la position 2 de la phosphatidylcholine (PC).
- *Oleoyl-12- hydroxylase* fixe un groupement hydroxyle sur l'oléate pour former ricinoleoyl-P.
- *Phospholipase A₂*, qui élimine préférentiellement le ricinoléate et libère lyso-PC en position 2 pour la réincorporation de l'oléate par LPCAT.
- *Diacylglycerol acyltransferase (DAGAT)* préférentiellement incorpore le ricinoléate pour former des diricinoléique et triricinoléique (McKeon *et al.*, 2000)

Il y a quatre triacylglycérols qui constituent l'huile de ricin :

- *Triricinolein (triricinoléique)*
- *1,2-diricinoleoyl-3-oleoyl- sn - glycérol*
- *1,2-diricinoleoyl- 3-linoleoyl- sn - glycérol*
- *1,2-diricinoleoyl-3-linolenoyl – sn- glycérol.*

Mais le triricinoléique représente le composant majeur de l'huile de ricin (Lin *et al.*, 1998).

La principale étape de la biosynthèse de l'huile de ricin est l'étape de l'incorporation de l'acide ricinoléique pour former le tri ricinoléique :

2-oleoyl-PC (1-acyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine) ⇒ 2-ricinoleoyl-PC (1-acyl-2-ricinoleoyl-*sn*-glycero-3- phosphocholine) ⇒ ricinoléate → ricinoleoyl-CoA → ricinoleoyl-

*lyso*PA → diricinoleoyl-PA → 1,2-diricinoleoyl-*sn*glycerol ⇒ triricinoléique (Lin *et al.*, 2002).

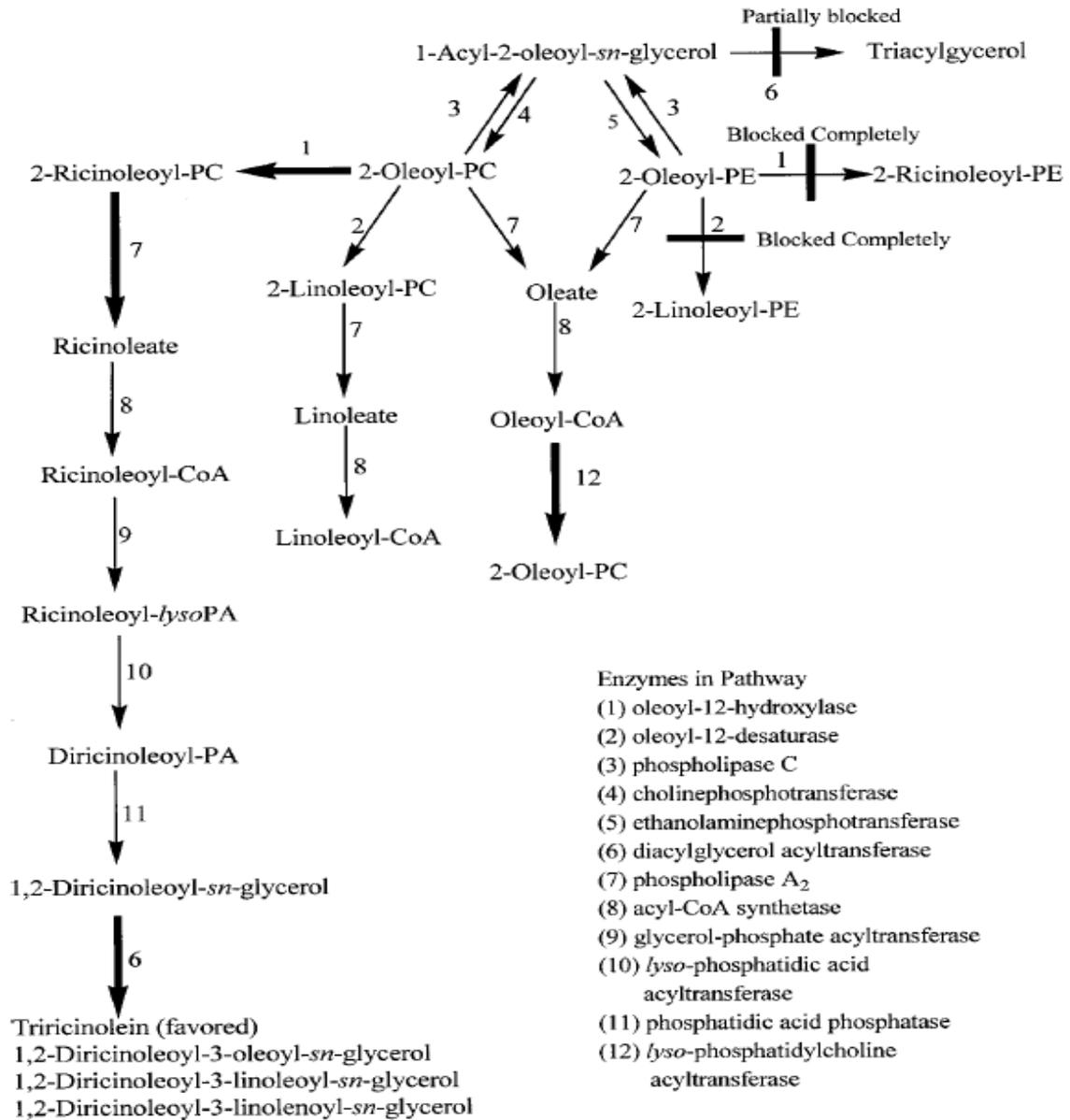


Figure 5. La biosynthèse d'huile de ricin (Lin *et al.*, 1998, McKeon *et al.*, 2000)

1-2-1-2-4 Caractérisation de l'huile de ricin

L'huile de ricin, comme toutes les autres huiles végétales, a différentes propriétés physiques et chimiques qui changent avec la méthode d'extraction. L'huile de ricin pressée au froid a un bas indice d'acidité, la valeur basse d'iode et une valeur légèrement plus élevée de saponification que l'huile extraite par les solvants, et elle est plus légère en couleurs.

Tableau 1. Propriétés physiques d'huile de ricin brut et raffinée (Akpan *et al.*, 2006).

| Propriétés | L'huile de ricin brute | L'huile de ricin raffinée |
|------------------------------|------------------------|---------------------------|
| Densité | 0,9587 | 0,9587 |
| Viscosité à 28 °C | 9,42477 | 6,4842 |
| Indice de réfraction à 28 °C | 1,4686 | 1,4674 |
| PH | 6,11 | 6,34 |
| Couleur | Ambre | Ambre |

Tableau 2. Propriétés chimiques d'huile de ricin brut et raffinée (Akpan *et al.*, 2006).

| Propriétés | L'huile de ricin brute | L'huile de ricin raffinée |
|--------------------------|------------------------|---------------------------|
| Indice d'acidité | 1,148 | 0,869 |
| Valeur de saponification | 185,83 | 181,55 |
| Valeur d'iode | 87,72 | 84,8 |

1-2-1-2-5 Utilisation

L'huile de ricin entre dans la composition de nombreux produits et dans des secteurs très divers :

Pharmacologie: C'est sans doute l'application la plus ancienne. En effet, l'huile de ricin est purgatif très puissant, et elle entre dans la composition de nombreux médicaments.

Cosmétologie: les cosmétiques sont généralement élaborés à partir d'une base lipidique. L'huile de ricin est largement utilisée pour la fabrication des produits cosmétiques comme le rouge à lèvres.

Lubrification: Le pouvoir lubrifiant de l'huile de ricin est excellent et durable dans le temps. Elle permet d'améliorer les performances mécaniques. Toutefois, elle ne présente pas une bonne résistance aux températures élevées (Polvêhe, 1996 ; Alexander *et al.*, 2008).

L'huile de ricin déshydratée, est employée dans l'industrie de peinture et de vernis, la fabrication d'un éventail des produits sophistiqués comme les fibres en nylon, lubrifiants de moteur de gicleur, fluides hydrauliques, plastiques, le simlicuir, fabrication d'optique des fibres, prothèses à l'épreuve des balles en verre et d'os et comme antigel pour des carburants et des lubrifiants utilisés dans des fusées d'avion (Sujatha *et al.*, 2008).

1-2-1-2-6 Toxicité

On connaît depuis longtemps les propriétés purgatives drastiques de l'huile de ricin. Elles sont dues à l'acide ricinoléique (=acide (R)-(+)-12-hydroxy-9Z-octadécénoïque) qui altère la membrane intestinale et provoque une perte en eau et en électrolytes: son usage est à proscrire formellement, ce qui n'empêche pas qu'elle demeure, çà et là " remède" assez courant. (Bruneton, 2001).

L'huile de ricin est extraite des graines du ricin "*Ricinus communis*". Il s'agit d'un laxatif puissant, qui peut causer des douleurs et des crampes abdominales, des coliques des nausées et des vomissements. Ce produit entraîne une purgation intense accompagnée de pertes liquidiennes importantes et de déséquilibres électrolytiques. Il peut aussi faire obstacle à l'absorption des vitamines liposolubles.

Sous l'action des lipases pancréatiques, l'huile de ricin est hydrolysée en deux principes actifs: le glycérol et l'acide ricinoléique. Les mécanismes d'action précis ne sont pas connus. Le ricinoléate augmenterait le péristaltisme intestinal, en stimulant l'activité des cellules musculaires lisses du petit intestin et réduirait l'absorption d'eau et d'électrolytes (Arseneault, 2000).

L'huile de ricin est contre indiquée durant la grossesse et l'allaitement. Elle peut causer des contractions utérines et elle est excrétée dans le lait maternel. Une réponse réflexe à l'irritation du tractus gastro-intestinal ou à un engorgement pelvien pourrait être à l'origine de la stimulation utérine.

1- 2-1-3 La ricinine (alcaloïde)

1-2-1-3-1 Propriétés physico-chimiques

La ricinine est un alcaloïde dérivé de pyridine monocyclique avec de cyano et méthoxy groupes, est un 1,2-dihydro-4-méthoxy-1-méthyl-2-oxo-3-pyridine-carbonitrile (Coopman, 2009), avec la formule $C_8H_8O_2N_2$. Son point de fusion est $201.5^{\circ}C$ et sa masse moléculaire 164.2 (Coopman, 2009).

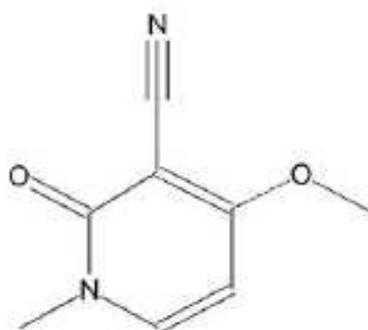


Figure 6. La structure chimique de ricinine (Markus *et al.* , 1998; Anete *et al.* , 1999).

La ricinine a été isolée de la farine dégraissée des graines de *Ricinus communis* avec de l'éthanol. L'extrait a été concentré et a été rendu alcalin avec la solution d'ammoniaque, et a été réextrait à plusieurs reprises avec du chloroforme. La perfection de l'extraction est vérifiée par la méthode de chromatographie sur couche mince. (Artyukhova, 1991).

Les taux de la ricinine dans les graines, les feuilles et les fleurs de *Ricinus communis* sont respectivement 0.77, 0.38 et 1.07% de leurs poids secs.

2-1-3-2 Toxicité

La ricinine a un effet insecticide pour les fourmis qui se nourrissent des feuilles (*Atta sexdens rubropilosa*).

Une faible toxicité de la ricinine a été démontrée chez les souris (DL_{50} , intra péritonéal, sous-cutané, intraveineux et oralement **19 -20** mg /kg⁻¹) en comparaison avec le ricin.

La ricinine peut être considérée comme une drogue prometteuse, pouvant être utilisée pour le traitement des amnésies humaines (Cazal *et al.* , 2009).

Les manifestations cliniques rapportées après l'ingestion de ricinine sont des nausées, des vomissements, des hémorragies gastriques, des endommagements hépatiques et rénaux, des convulsions, l'hypotension, une dépression respiratoire, le coma et la mort (Coopman., 2009).

2-1-4 Autres composés

L'analyse chimique de pulpe brute de la roulette (*Ricinus*) montre également la présence de nombreux éléments : phosphore 1.96% ; calcium 0.1% ; magnésium 0.23% et potasse 1.25% (Anoskie et Chibogwuk, 1981).

2-2 les feuilles

Les feuilles sèches de *Ricinus communis* contient deux alcaloïdes, ricinine et N-demethylricinine, et six flavonol glucosides: kaempferol-3-O-B-D-xylopyranoside, kaempferol-3-O-B-D glucopyranoside, quercetin-3-O-B-D xylopyranoside, quercetin- 3-O-B-D glucopyranoside, kaempferol-3-O-B-rutinoside et quercetin- 3-O-B-D rutinoside (Kang *et al.*, 1985 ; Ilavarasan *et al.* , 2006).

1-3. Le rein

La plupart des animaux possèdent des reins de forme similaire, mais ils diffèrent par leur taille, leur profondeur, leur épaisseur, ainsi que par le nombre de leurs néphrons.

1-3-1. Morphologie générale

Le rein des mammifères est un bon exemple d'un organe d'hétérogénéité cellulaire. Les reins sont deux organes de couleur rougeâtre, quelque peu aplatis ayant une forme d'haricot, situés en arrière du péritoine de chaque côté de la colonne vertébrale, contre la paroi abdominale postérieure (Pitts, 1976). Depuis le niveau de la 11^{ème} vertèbre dorsale jusqu'à celui de la 2^{ème} vertèbre lombaire. Ils sont vascularisés par l'artère rénale qui naît de l'aorte, et par la veine rénale qui se jette dans la veine cave. Morphologiquement, topographiquement, les reins ne sont pas exactement symétriques. Le rein droit est situé plus bas, le rein gauche souvent un peu plus volumineux et un peu moins large et plus allongé. La face latérale du rein est convexe, tandis que sa face médiale est concave et porte une échancrure appelée : le hile rénal. Le hile est une structure située au niveau du bord interne de chaque rein, correspond à la zone d'entrée et de sortie des artères et des veines rénales, des uretères et des nerfs. Une couche transparente et fibreuse appelée capsule fibreuse du rein entoure chaque rein et lui donne un aspect brillant (Pellet, 1977).

1-3-2 Anatomie des reins

1-3-2-1 Sur le plan macroscopique

Il y a quatre zones définies dans le rein de rat, à savoir **la zone corticale**, **zone subcortical**, **zones médullaires interne et externe**. Ces zones sont facilement distinguées par l'arrangement des navires (Moffat et Fourman, 1963) (Fig. 7).

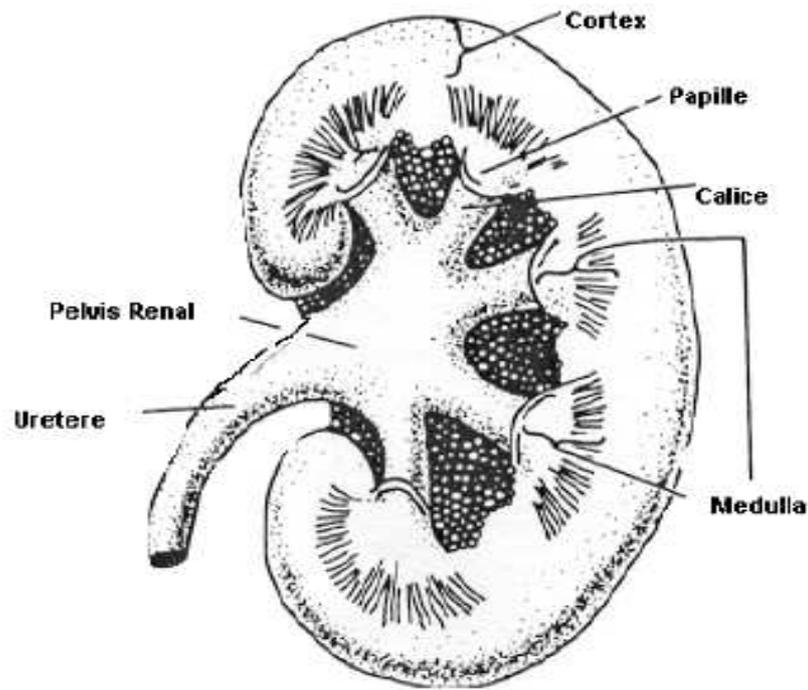


Figure 7. Structure macroscopique du rein. (Wood et Greenwell ,2008)

1-3-2-2 Sur le plan microscopique

Le parenchyme rénal est essentiellement constitué par un très grand nombre d'unités anatomiques, environ un million par rein qui porte le nom d'un néphron ou tube urinifère Michael fortement vascularisés (Benouadah, 2009)

1-3-2-2-1 Le néphron

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein, il se compose **d'un glomérule, un tubule proximal, une boucle de Henle, un tubule distal, un tubule collecteur**. Il y a deux types de néphrons : des néphrons corticaux et juxta médullaire (Volker, 2003) (Fig.8)

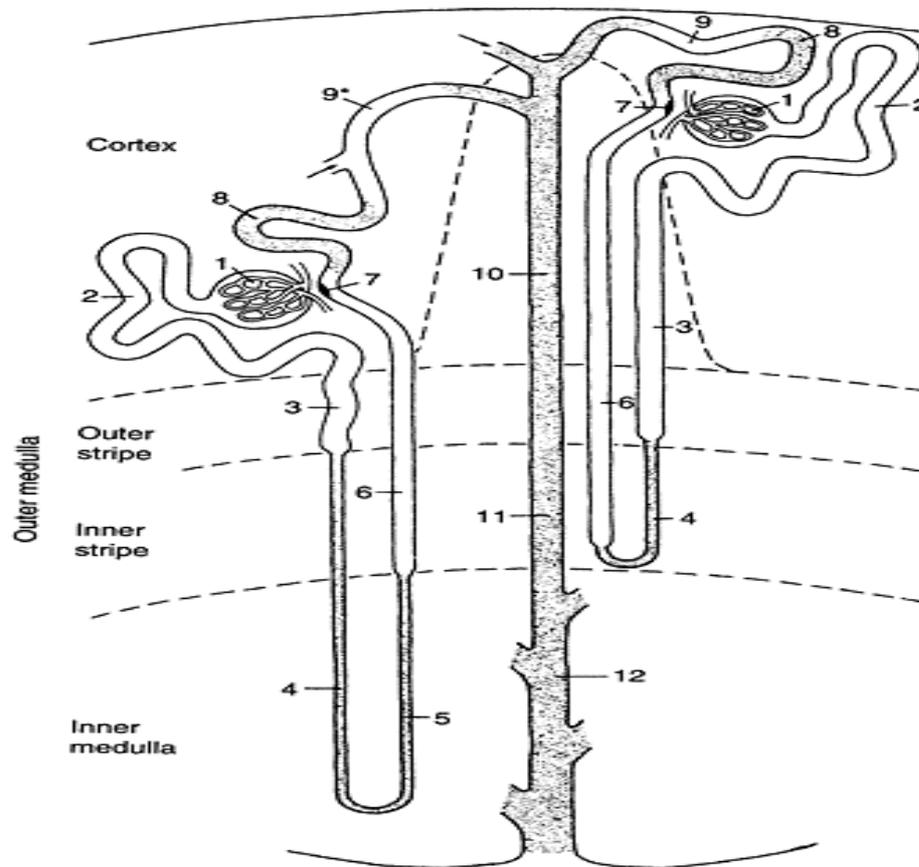


Figure 8. La structure du néphron. (Tarloff et Lawrence, 2005).

- ✓ **Le glomérule** : a une structure fortement spécialisée qui fonctionne en tant que de base de la filtration dans le rein. C'est une barrière de filtration entre le sang et l'espace urinaire, il se compose des cellules endothéliales fenêtrées, sous-sol glomérulaire membrane (GBM), et diaphragmes de fente entre les processus de pied des podocytes (Zhang *et al.* , 2007).
- ✓ **Le tubule distal** : défini comme un segment de néphron interposé entre la région de macula densa et le premier confluent des autres néphrons pour former le tubule collecteur cortical, il comporte plusieurs morphologies et fonctions hétérogènes (Robert et al ., 2000).
- ✓ **Le tubule proximal** : est relié à la capsule de Bowman par un court segment jointif. En ce qui concerne sa partie contournée, le tubule forme des boucles au voisinage de son corpuscule rénal d'origine et entre ensuite dans un rayon cortico-médullaire, pour

pénétrer dans la couche plus profonde du cortex et la médullaire externe. Le tubule proximal représente le site de réabsorption des fluides filtrés au niveau de glomérule (Arthur et al., 1997).

- ✓ **L'anse de Henle** : comprend la partie descendante large , déjà décrite comme la partie rectiligne du tubule proximal, la partie grêle descendante et ascendante , et la partie large ascendante qui sera décrite plus bas comme la partie droite du tubule distal.
- ✓ **Tubule collecteur** : se forme dans le cortex externe par la jonction de deux segments transitoires ou plus au cours de son trajet dans le cortex externe et interne. (Fig. 9)

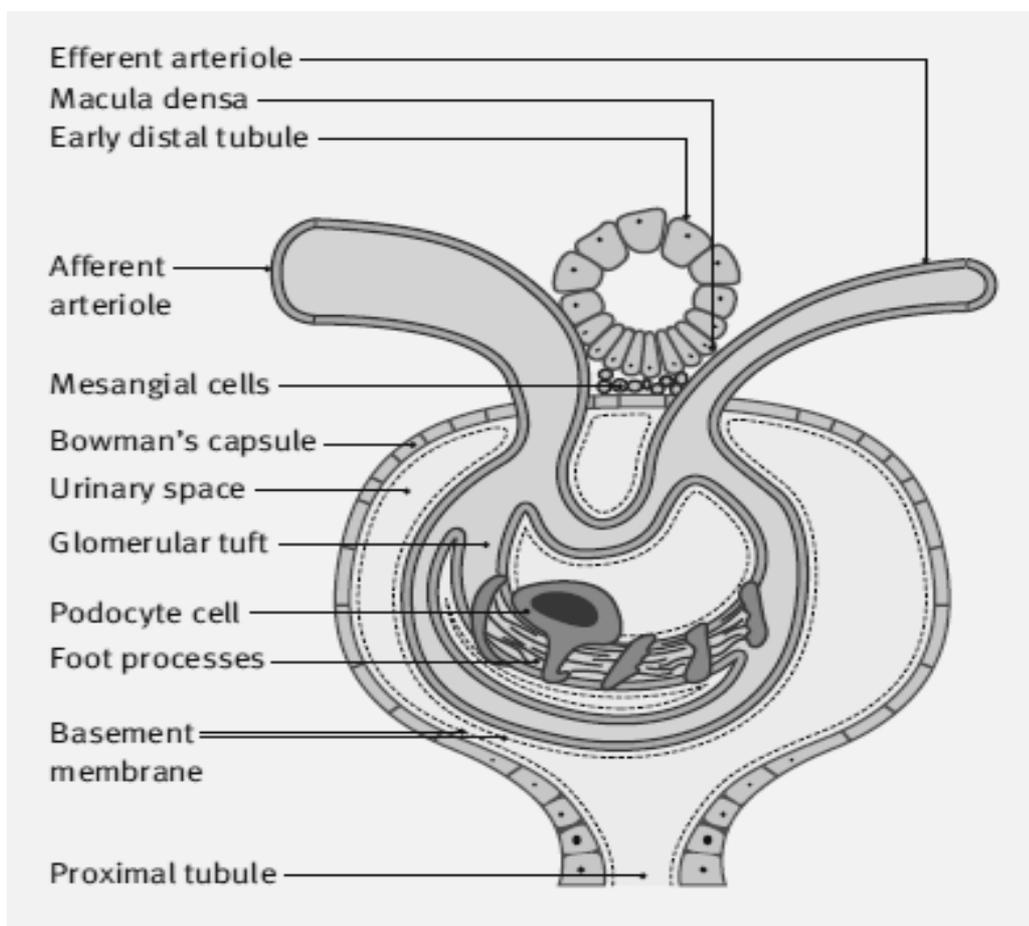


Figure 9. Schéma d'un glomérule (Stephen, 2009)

1-3-3. Fonction des reins

Les reins jouent un rôle dominant dans la régulation de composition et le volume des fluides extracellulaire (ECF). Ils maintiennent normalement un environnement interne stable par des quantités appropriées d'excrétion de beaucoup de substances dans l'urine. Ces substances incluent non seulement les déchets et les composés étrangers.

Les reins exécutent une variété de fonctions importantes :

- ils règlent la pression osmotique (osmolalité) des fluides en excréant osmotiquement l'urine diluée ou concentrée (Nazan, 2006)
- Ils règlent les concentrations de nombreux ions dans le plasma sanguin, y compris le Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Cl^- , bicarbonate, phosphate, et sulfate (Pane et al., 2005)
- Ils jouent un rôle essentiel dans l'équilibre d'acide-base en excréant H_3O^+ , quand il y a un acide en excès, ou HCO_3^- quand il y a une base en excès (Stephen, 2009).
- Ils aident à régler la tension artérielle par l'ajustement d'excrétion de Na^+ et production de diverses substances (par exemple, rénine) qui peut affecter la tension artérielle.
- Ils éliminent les déchets du métabolisme, y compris l'urée (le produit final contenant de l'azote principal du métabolisme de protéine chez l'homme), l'acide urique (un produit final du métabolisme de purine), et de la créatinine (un produit final du métabolisme de la créatine dans les muscles). Ils enlèvent beaucoup des drogues étrangères ou des composés toxiques (par exemple, pénicilline).
- Ils sont des emplacements principaux de production de certaines hormones, y compris l'érythropoïétine et vitamine D3.
- Ils dégradent plusieurs hormones polypeptidiques, incluant l'insuline, glucagon (Ramiro, 2007).

1-3-3-1 Filtration glomérulaire

La filtration glomérulaire est l'ultrafiltration à travers la paroi des capillaires glomérulaires, c'est un processus qui sépare l'eau plasmatique et ses constituants non protéiques qui entrent dans l'espace de Bowman, des cellules sanguines et des protéines qui restent dans la lumière capillaire.

Environ 20 % du débit plasmatique capillaire glomérulaire sont ainsi ultra-filtrés pour constituer l'urine primitive. Ce pourcentage de filtration sur le débit sanguin glomérulaire constitue la fraction filtrée (Duvaldestin et Magostini, 1999).

1-3-4 Marqueurs biochimiques de la fonction rénale

Plusieurs paramètres peuvent habituellement être utilisés pour apprécier la fonction rénale.

1-3-4-1 Marqueurs plasmatiques:

- ***Créatinine***

L'évaluation de la créatinine est importante en physiologie du rein, parce que chez les chiens et quelques autres espèces son dégagement représente la filtration glomérulaire. En outre, chez l'homme, l'altitude de la concentration en créatinine dans le sérum ou le plasma est employée médicalement pour détecter des endommagements rénaux (Phillips, 1949)

La créatinine est un dérivé du métabolisme de la créatine du muscle squelettique. Elle est librement filtrée par le glomérule, et n'est en théorie ni réabsorbée, ni synthétisée, ni métabolisée dans le rein. Cependant, une quantité variable est sécrétée au niveau du tubule proximal (Hassan et Deray., 2004 ; Meier *et al.* , 2009 ; Dirk *et al.*, 2010).

- ***Cystatine C***

Une protéine de bas poids moléculaire produite dans toutes les cellules nucléées, dont la production est relativement constante et pratiquement indépendante de l'alimentation et de la masse musculaire. Elle est librement filtrée par le rein et n'est pas excrétée, mais fait l'objet d'une réabsorption tubulaire. De plus, elle est catabolisée. Ses premières caractéristiques en font un marqueur endogène adéquat de la fonction rénale, mais du fait de sa réabsorption tubulaire, il est impossible de calculer son excrétion effective, ni donc d'utiliser sa clairance comme mesure de la filtration glomérulaire. Mais il semble qu'elle est en corrélation plus étroite avec la filtration glomérulaire que la créatinine (Bricon *et al.* , 2000; Dimitrios *et Binet*, 2006).

- ***Urée***

Une petite molécule de **60 Da**, elle constitue la forme principale d'azote qui est excrétée chez les mammifères. Il a une hydrosolubilité élevée dans l'eau (Fenton et Knepper, 2007). Le dosage de l'urée, en dit encore moins sur la fonction rénale: la quantité d'urée produite chaque jour varie avec l'état de nutrition, elle augmente avec une situation de catabolisme ou un apport protéique important et baisse par conséquent sous régime pauvre en protéines. Cette molécule est soumise à une réabsorption tubulaire importante, dépendant pour l'essentiel de la quantité d'eau libre présente dans le néphron, son excrétion est de plus irrégulière. Il est donc impossible d'en tirer des conclusions précises sur la fonction rénale (Dimitrios *et Binet*, 2006).

1-3-4-2 Marqueurs urinaires

- *Protéinurie*

Seulement les protéines de poids inférieur à 50 KDa sont librement filtrées puis réabsorbées, catabolisées par les cellules tubulaires proximales. Par contre, l'excrétion de protéines de poids moléculaire élevée indique une perte de l'intégrité des glomérules (Dubourg, 2001).

- *glycosurie*

Le glucose présent dans le filtrat glomérulaire est totalement réabsorbé dans les tubules. La glycosurie en l'absence d'hyperglycémie indique une déficience tubulaire.

1-3-4-3 Examens macroscopique et microscopique

Les modifications pondérales de l'organe, suggèrent souvent des lésions rénales. De nombreuses autres lésions pathologiques peuvent être détectées à l'examen macroscopique (Frank, 1992). Les examens histopathologiques peuvent révéler le site, l'étendu et l'apparence morphologique des lésions rénales.

1-4. Le foie

1-4-1 Anatomie de foie

Le foie est la glande la plus volumineuse de l'organisme des vertébrés. Il remplit de nombreuses fonctions métaboliques et a été désigné avec raison comme le laboratoire central de l'organisme.

1-4-1-1 Sur le plan macroscopique

Le foie du rat a deux caractéristiques particulières : il est composé de 4 lobes et ne contient pas de vésicule biliaire. Lorsque la cavité abdominale est ouverte, les deux lobes les plus superficiels sont le **lobe médian** et le **lobe latéral gauche**. Ils recouvrent les deux lobes postérieurs, nommés **lobe caudé** et **lobe latéral droit**.

Le lobe latéral gauche: représente environ **30%** du poids total du foie, il est situé dans la position latérale gauche dorso-caudale par rapport au lobe médian et cranio-ventral par rapport au lobe caudé et l'estomac.

Le lobe médian : représente environ **40%** de tout le foie et se compose de 2 parties, la partie gauche et la partie droite qui sont séparées par une fissure profonde. Le lobe médian est situé sous le diaphragme et est fixé avec le falciforme ligament, qui s'étend de l'appendice xiphoïde et le diaphragme au foie, formant la fissure interlobulaire. La partie gauche est plus petite et représente environ un tiers du lobe médian. Le lobe médian présente une base large, entourant presque la moitié de la circonférence de la veine cave.

Le lobe latéral droit du foie est placé du bon côté de la veine cave et est formé également de 2 parties distinctes, le lobe droit supérieur et inférieur. Le lobe supérieur droit est formé comme un œuf se reposant sur le cave intra hépatique.

Le lobe caudal également appelé le lobe de **Spiegel**, est situé sur le côté gauche de la veine- dessous du lobe latéral gauche et représente **7%** de la masse du foie. Le lobe est divisé en 2 portions : supérieur ou supérieure du lobe caudé et inférieur ou lobe inférieur du noyau caudé (Madrahimov *et al* , 2006) (Fig.10)

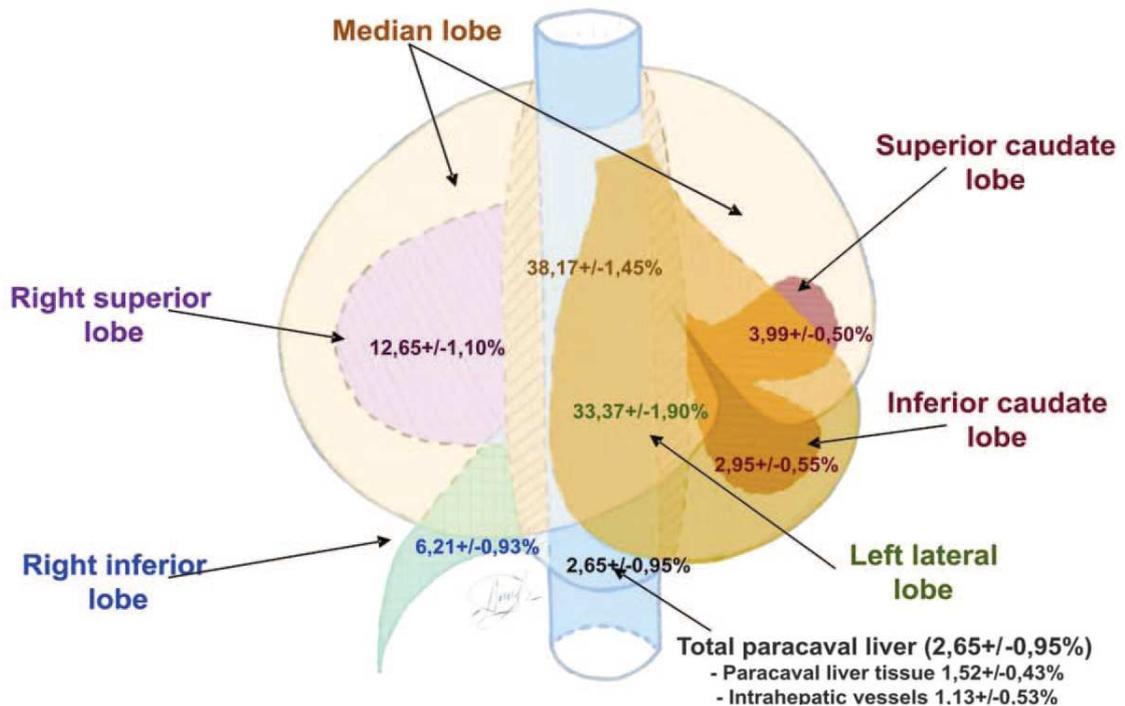


Figure 10. Structure macroscopique du foie de rat (Madrahimov *et al.* , 2006).

1-4-1-2. Sur le plan microscopique

Le **lobule hépatique** est l'unité fonctionnelle du foie. Il se présente comme un livre dont les "pages" seraient formées par des *lames d'hépatocytes* orientées de façon radiaire et dont le « dos » correspondrait à la *veine hépatique centrolobulaire* qui forme l'axe central du lobule. A la périphérie des lobules se trouvent des formations étoilées nommées **espaces portes**.

Ils sont occupés par des vaisseaux issus de la veine porte et de l'artère hépatique ainsi que par les canaux biliaires. Le sang circule entre les lames épithéliales dans des *capillaires sinusoides*.

Les capillaires sinusoides sont formés par des cellules fenêtrées. Cela permet aux grosses molécules (250 000 daltons) d'entrer au contact direct avec des hépatocytes dans *l'espace de Disse* qui est situé entre les capillaires et les lames d'hépatocytes. La composition des liquides remplissant l'espace de Disse est identique à celle du plasma sanguin (Lüllmann *et al.*, 1998).

Les hépatocytes forment une monocouche autour de chaque capillaire et ils occupent 85% du volume hépatique. Ils sont responsables de la formation de la bile et des différentes transformations métaboliques.

Les cellules de Kupffer Localisées dans la lumière des sinusoides, ces cellules sont au contact, grâce à leurs prolongements, des cellules endothéliales et des hépatocytes. Ce sont des cellules littorales de type macrophage hépatique qui vont intervenir lors des réactions immunitaires et au cours des processus de sécrétion de cytokines et de facteurs de croissance (Malik et ai., 2002).

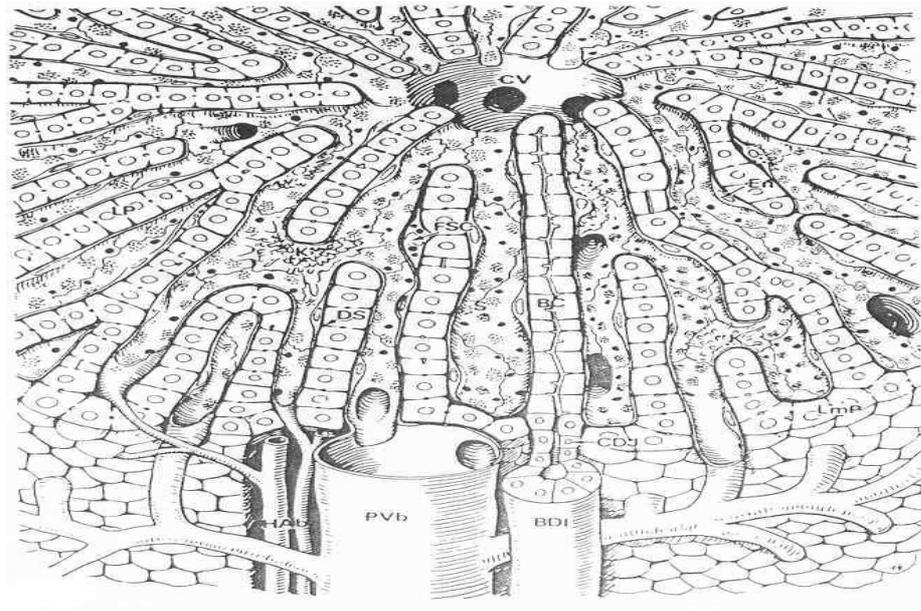


Figure 11. Organisation structurale et anatomique du foie (Sigal et al., 1992 ;Campbell ,2006).

1-4-2. La fonction du foie

Les principales fonctions du foie sont :

- *La sécrétion biliaire*

L'excrétion de la bile dans les capillaires biliaires par les cellules hépatique représente un processus actif. La bile est élaborée de façon continue par les cellules hépatiques

- *La régulation du métabolisme glucidique*

Le foie joue un grand rôle dans la régulation du métabolisme des glucides, il transforme l'apport discontinu de substances absorbées dans le tube digestif (monosaccharides, AA,

vitamines...) en un flux continu qui assure aux cellules une fourniture suffisante de principes nutritifs même en dehors des repas.

- *La régulation du métabolisme lipidique:*

Le foie constitue une plaque tournante dans le métabolisme des graisses neutres et des lipides complexes, car il prend une part active aux réactions de synthèse et dégradation des acides gras et de cholestérol, la synthèse des lipides par des glucides, la formation des acides gras insaturés.

- *La synthèse et la dégradation des protides et la synthèse de l'urée, de l'acide urique ou de l'allantoïde:*

Les acides aminés absorbés dans le tube digestif sont en grande partie utilisés par le foie, pour la synthèse de protides. Le foie est en outre le principal lieu de production des protéines plasmatiques.

- *La mise en réserve de diverses vitamines et d'oligo-éléments:*

Le foie a un rôle important dans le métabolisme des vitamines et des oligo-éléments; il est capable de mettre en réserve la plupart de ces éléments et de constituer des dépôts suffisants pour plusieurs semaines.

- *La régulation du métabolisme hormonal:*

Les hormones introduites par voie parentérale sont en général rapidement inactivées et sont soumises à des processus de dégradation qui se déroulent presque en totalité dans le foie.

- *La détoxification de divers produits du métabolisme :*

Dans le foie de nombreuses substances toxiques sont soumises à diverses réactions qui les transforment en composés moins toxiques ou atoxiques (Gürtler et al ., 1975).

1-4-3. Marqueurs biochimiques de la fonction hépatique

Pour évaluer la fonction hépatique, on mesure les divers enzymes que le foie libère dans le sang, ainsi que d'autres fonctions hépatiques. Une élévation des enzymes hépatiques peut survenir lorsque le foie subit des endommagements.

1-4-3-1. les marqueurs hépatique enzymatique:

- **Les transaminases:**

- ✓ **L'alanine aminotransférase (ALAT):** anciennement appelée SGPT, est une enzyme produite par les cellules du foie (hépatocytes). Le taux d'ALAT contenu dans le sang augmente lorsque les hépatocytes sont endommagés ou détruits à un rythme plus élevé qu'à la normale

- ✓ **L'aspartate aminotransférase (ASAT):** anciennement **SGOT**, est une enzyme similaire à l'**ALAT**, mais qui n'est pas aussi spécifique aux maladies du foie. Dans bien des cas d'inflammation du foie, les niveaux d'**ALAT** et d'**ASAT** sont élevés.
- **La phosphatase alcaline PAL :** est une enzyme produite dans les voies biliaires et les os, et elle se retrouve dans le foie. Son niveau augmente en présence d'une hépatite, d'une cirrhose et d'autres maladies (Collier et Bassendine, 2002)

1-4-3-1. Les marqueurs hépatiques non enzymatiques

- **Bilirubine:** La bilirubine est un anion organique. Elle est principalement dérivée de la dégradation des vieux globules rouges (dégradation d'hémoglobine) dans la rate, foie (hépatocytes, cellules de Kupffer), reins et moelle. Les globules rouges libèrent de l'hémoglobine, la portion « hème » est par la suite décomposée en bilirubine. Lorsque la fonction hépatique est endommagée, comme dans le cas d'une hépatite aiguë ou de la phase finale d'une maladie du foie, la bilirubine s'accumule dans le sang et entraîne le jaunissement de la peau et des yeux, cette condition s'appelle la jaunisse. La bilirubine est souvent indiquée comme totale, indirecte (la quantité de bilirubine non conjuguée) et directe (la quantité de bilirubine conjuguée qui est ensuite excrétée des cellules du foie) (Thapa et Anuj, 2007).
- **L'albumine:** est une protéine, synthétisée par le foie, qui circule dans le sang. Un faible taux d'albumine indique une mauvaise fonction hépatique et contribue à la formation d'œdème en périphérie (accumulation de fluide aux pieds et aux chevilles) que l'on voit parfois en phase terminale d'une maladie du foie (Collier et Bassendine, 2002).

CHAPITRE II

MATERIAL ET METHODES

2 Matériels et méthodes

2-1 Matériels

2-1-1 Matériel biologique

2-1-1-1 Matériel végétal

Les graines de *Ricinus communis* L sont récoltées au mois de Juillet- Août, période de maturation des graines, dans de la région de Beni Aziz située Nord Est à 70 Km de Wilaya de Sétif (Fig. 12 et 13).



Figure 12. La plante de *Ricinus communis* L, en période de maturation des graines.



Figure 13. Les fruits et les graines de *Ricinus communis L.*

2-1-1-2 Matériel animal

Nous avons travaillé sur des souris blanches (*Mus musculus*) des deux sexes, pesant entre 20 et 30 g et des rats femelles albinos *Wistar* de poids corporel variant entre 70 et 140g provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Ils sont hébergés dans des cages en plastique transparent d'une longueur de 55 cm, d'une largeur de 33 cm et d'une hauteur de 19 cm. Les animaux ont disposé d'eau du robinet et de nourriture *ad libitum*, la litière est renouvelée trois fois par semaine. Les animaux sont acclimatés aux conditions de l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie – Sétif, pendant une quinzaine de jours avant l'expérimentation.

2-2 Méthodes

2-2-1 Analyses phytochimiques de l'huile de *Ricinus communis L*

2-2- 1 -1 Extraction d'huile de ricin

L'huile de ricin peut être extraite par différents processus (Akpan et Jimoh, 2006).

- ***Traitement des graines :***

Les graines subissent plusieurs étapes de traitement avant l'extraction de l'huile. Les opérations essentielles impliquées sont :

- *Dégagement* : Les fruits de la plante sont débarrassés des impuretés par les mains.
- *Séchage* : Les fruits nettoyés sont disposés au soleil, jusqu'à l'ouverture des péricarpes. Les graines sont séchées au soleil puis dans une étuve à 60° C pendant 7 heures pour réduire au maximum leur humidité.

Après chaque séchage dans l'étuve, on pèse les graines.

- *Vannage* : Pour un meilleur rendement, les graines sont décortiquées.
- *Meulage: (réduction de la taille)* Les graines de la plante, sont finement broyées par mortier afin d'obtenir une pâte (éviter le broyeur électrique).

- ***Extraction par soxhlet:***

Principe: l'extraction au soxhlet consiste en un épuisement continu de la drogue par un solvant donné (Fig.14).



Figure 14. Appareil de soxhlet

Mode opératoire

La pâte des graines obtenue (**50g**) a été placée dans une cartouche de cellulose, celle-ci est placée à son tour dans l'appareil de Soxhlet, et chauffé à 60° C. Ce dernier est monté sur un ballon contenant **150ml** d'hexane. L'huile de ricin en première étape est extraite à chaud sous reflux par 150ml d'hexane pendant 3 heures (au moins **8** cycles sont nécessaires pour un épuisement total des graines). A l'issue de cette opération, l'extrait brut est évaporé en utilisant le rotavapeur pour calculer le rendement (Fig.15) (Akpan et Jimoh, 2006 ; Garba, 2006).

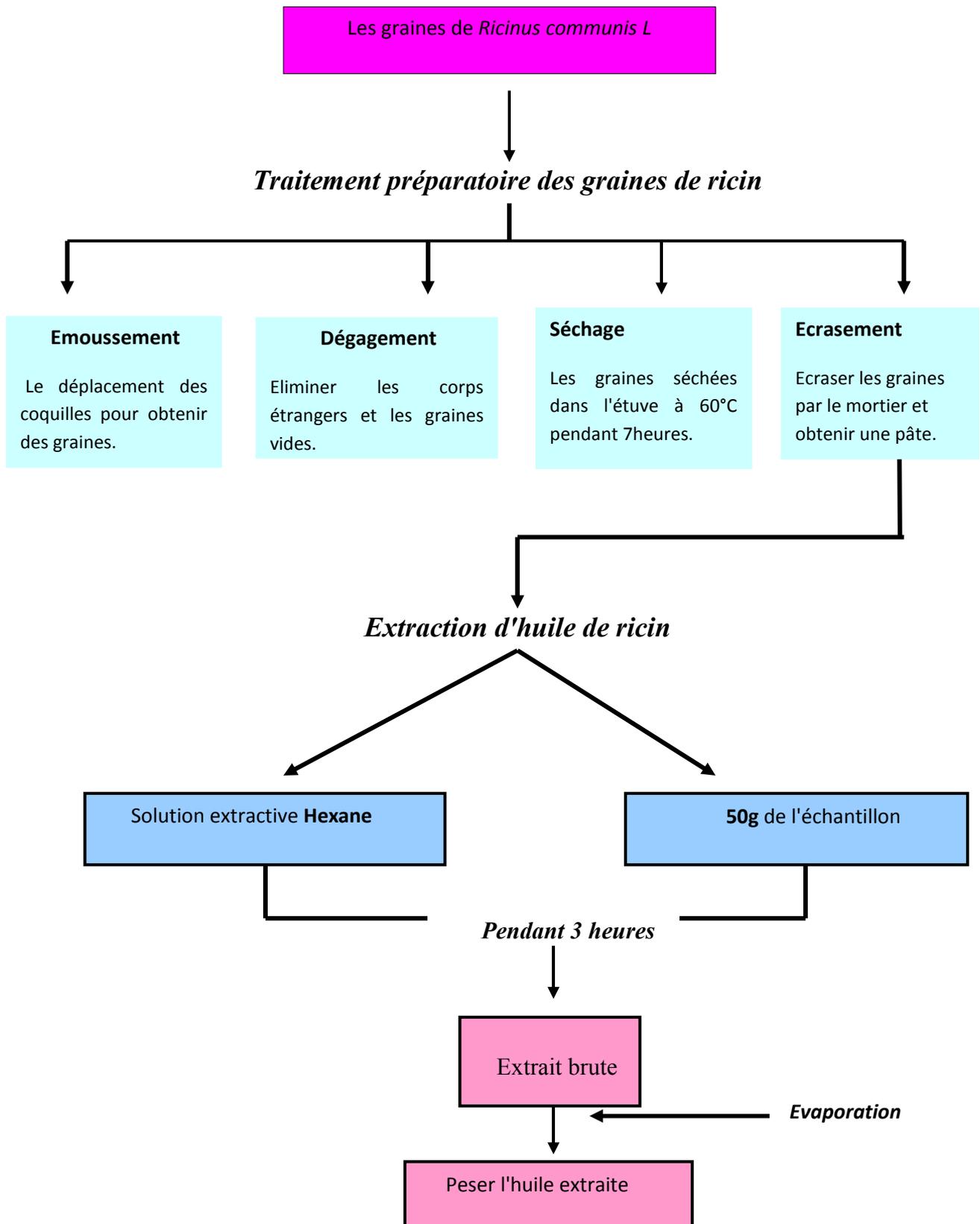


Figure 15. Schéma d'extraction d'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* L (Akpan *et al.*, 2006)

2-2-1-2 Analyse qualitative

2-2-1-2-1 Chromatographie sur couche mince (C.C.M)

Avant l'expérimentation sur les animaux, la chromatographie analytique a été utilisée. Des plaques de CCM prêtes à l'emploi, de gel silice 60F – Merck sur support d'aluminium de marque Macherey-Nagel avec des dimensions 20 x 20 cm ont été utilisées. La méthode de (Mboui-ondo, 2003) pour l'extraction de l'huile de palmiste a été utilisée avec quelques modifications.

La phase mobile utilisée est l'hexane, éther diéthylique, acide acétique : 80/20/1 (V/V/V). Nous avons fait dissoudre 10 µl d'huile de ricin dans 80 ml de chloroforme.

Après solubilisation de l'huile de ricin dans chloroforme, Un aliquote de 10 µl est déposé à l'aide d'une micropipette sur la plaque à 1 cm du bord inférieur de la plaque préalablement activée dans une étuve à 110°C pendant 3 à 5 min. Chaque dépôt est séché à l'aide d'un sèche cheveux. La plaque est ensuite mise dans la chambre de migration contenant la phase mobile. Quand le front du solvant arrive à 4 cm du bord supérieur de la plaque, les chromatogrammes sont retirés séchés et pulvérisés avec **le réactif de Godin** jusqu'à l'apparition des spots colorés (Mboui, 2003).

2-2-2 Détermination de la DL 50 chez les souris:

L'huile des graines de *Ricinus communis L* à tester est solubilisée dans le chloroforme et est administrée à différentes doses, par voie intrapéritonéale.

- **Chez les souris males :**

Les animaux utilisés dans cet essai sont des souris males *Mus musculus*. Après une période d'habituation, les souris sont pesés, identifiés par un marquage sur une partie du corps de l'animal, avec une solution aqueuse d'acide picrique et répartis en 7 groupes de dix animaux chacun, dont un, est un groupe témoins. Les animaux sont mis à un jeun pendant 24 heures avant l'essai. Ils sont pesés au moment de l'essai.

L'huile des graines de *Ricinus communis L* est administrée par simple application par voie intra péritonéale.

Les 6 lots ont reçu successivement les doses suivantes : 2433.3, 4866.6, 7300, 12166.6, 14600, 17033.3 mg/ kg du poids des souris. Le groupe témoins a reçu de l'eau physiologique avec quelques gouttes de chloroforme.

• **Chez les souris femelles:**

Après une période d'habituation, les souris femelles sont pesées, identifiées par un marquage avec une solution aqueuse d'acide picrique et réparties en 6 groupes de dix animaux chacun, dont un, est un groupe témoin. Elles sont mises à jeun pendant 24 heures avant l'essai. Elles sont pesées au moment de l'essai. Les 5 lots avec 10 souris dans chacun et ont reçu successivement les doses 2190, 3650, 7300, 10950, 14600 mg/kg du poids des souris. Le groupe témoin a reçu de l'eau physiologique avec de chloroforme.

Après administration de l'huile de ricin des graines, les animaux (souris males, femelles) sont observés individuellement chaque heure pendant le premier jour et chaque jour pendant 14 jours. Le comportement et les symptômes cliniques des animaux sont notés pendant toute la durée de l'expérience. La DL50 et son intervalle de confiance sont calculés par la méthode graphique de **LITCHFIELD** et **WILCOXON** (1949) et la méthode arithmétique de **BAHRENS**.

2-2-2-1 Evaluation de la Toxicité aiguë chez les souris femelles :

Les essais de la toxicité aiguë permettent d'évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court (de 1 à 14 jours) après l'administration d'une substance (ici l'huile de ricin brute des graines de *Ricinus communis* L), soit à dose unique, soit à doses répétées sur une période maximale de 24 heures.

Nous avons utilisés dans cette expérience des souris blanches femelles pesant entre 20 et 30 g. Elles sont identifiées par marquage par un numéro sur la queue (pour le groupe témoins) et par une marque avec une solution aqueuse d'acide picrique (pour les deux groupes traités), et sont réparties en 3 groupes expérimentaux renfermant chacun 10 animaux :

- Un groupe d'animaux témoins.
- Deux groupes d'animaux traités.
- Toxicité aiguë de premier jour : Le groupe témoin et un groupe traité (lot 1).
- Toxicité aiguë de cinquième jour : Le groupe témoin (qui est le même) et un groupe traité (lot 2).

Les animaux sont privés de nourriture 24 heures avant l'essai. Ils sont pesés au moment de l'application de l'extrait d'huile de ricin.

Les souris des deux groupes traités ont reçu par voie intra péritonéale et par simple application la dose de 2433.3 mg/kg d'huile des graines de *Ricinus communis* L qui est solubilisée dans le chloroforme.

Le groupe témoin a reçu par voie intra péritonéale de l'eau physiologie avec quelques gouttes de chloroforme.

Après le traitement, les animaux sont observés pour noter le comportement et la carte clinique.

2-2-3 Détermination de la DL 50 chez les rats :

Faute d'animaux (rats) à l'institut de Pasteur, nous avons opté pour la méthode de **BAHRENS** qui demande moins d'animaux. Après une période d'acclimatation, des rats femelles albinos Wistar de poids moyen, sont identifiés par un marquage avec une solution aqueuse d'acide picrique et réparties en 3 groupes de dix animaux chacun, dont un, est un groupe témoin. Les animaux sont mis à jeun pendant 24 heures avant l'essai. Ils sont pesés au moment du traitement.

Les rats des deux groupes traités ont reçu par voie intra péritonéale respectivement les doses de 3967.3mg/kg et de 6198.1mg/kg d'huile des graines de *Ricinus communis* L qui est solubilisée dans le chloroforme.

Le groupe témoin a reçu par voie intra péritonéale de l'eau physiologie avec quelques gouttes de chloroforme.

2-2-3-1 Evaluation de la Toxicité aiguë chez les rats :

Pour évaluer la toxicité aiguë, on a utilisé des rats femelles *albinos Wistar* adultes, pesant entre 70 et 130 g, sont identifiés par marquage avec une solution aqueuse d'acide picrique et sont répartis en 3 groupes expérimentaux renfermant chacun 10 animaux :

- Un groupe d'animaux témoins.
- Deux groupes d'animaux traités

Les rats des deux groupes traités ont reçu par voie intra péritonéale la dose de 1377.3 mg/kg d'huile des graines de *Ricinus communis* et le groupe témoin a reçu de l'eau distillée avec quelques gouttes de chloroforme. Après le traitement, les animaux sont observés pour noter le comportement et la carte clinique.

- ✓ Le groupe (traité 1) et le groupe témoins sont pesés et sacrifiés, après 24 heures de l'application.
- ✓ Le groupe (traité 2) est pesé et sacrifiés, après 5 jours de l'application.

Après dissection, les organes (reins, rate, foie, poumon, cœur, cerveau) sont observés macroscopiquement *in situ*, prélevés, débarrassés de l'excès de graisse, séchés avec du papier filtre et pesés.

Des pièces des reins et du foie sont conservés dans une solution de formol à 10% pour des études anatomopathologiques.

Des prélèvements de sang ont été faits et ont servis pour différentes analyses (hématologiques et biochimiques).

2-2-3-2 Evaluation de la toxicité subchronique chez les rats :

Les rats femelles sont répartis en deux groupes, un groupe témoin de 10 rats et un groupe traité contenant 15 rats.

Les rats sont traités par voie intrapéritonéale, avec l'huile de ricin chaque jour et six jours sur sept pendant un mois avec la dose de 538,74 mg/kg.

Les rats sont pesés chaque semaine. Après 35 jours les rats sont sacrifiés et les organes sont observés macroscopiquement (rein, rate, foie, poumon, cœur, cerveau) prélevés, débarrassés de l'excès de graisse, séchés avec du papier filtre et pesés. Les pièces des reins et du sont conservés dans le formol à 10% pour des études anatomopathologiques

2-2-4 Etude de quelques paramètres hématologiques et biochimiques sériques

2-2-4-1 Prélèvement sanguin

- Chez les rats anesthésiés au départ par l'éther diéthylique, le prélèvement du sang est effectué à l'aide d'un tube capillaire d'hématocrite à travers le sinus rétro-orbital au niveau de la veine orbitale. Le sang a été recueilli sur tube héparine (pour le bilan hépatique et analyses biochimiques) et sur tube EDTA (pour la FNS), pour chaque prélèvement.
- Chez les souris anesthésiées par l'éther diéthylique, le prélèvement du sang est effectué par ponction cardiaque à l'aide d'une seringue contenant de l'héparine.

Les tubes héparines sont centrifugés à 1500 trs/min pendant 5min, et dans le sérum obtenu, sont dosées les paramètres biochimiques suivants : Glucose et Créatinine pour évaluer l'état

du rein et les Transaminases (TGO, TGP) et la PAL (phosphatase alcaline) pour évaluer l'état du foie.

2-2-4-2 Dosage de quelques paramètres hématologiques et biochimique

Les dosages (hématologique, biochimique) sont effectués au laboratoire central du CHU de Sétif.

L'analyse des paramètres hématologiques (RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV, MPV, RDW, MCH, MCHC) a été effectuée à l'aide d'un Beckman coulter Médonic.

Le dosage des paramètres sériques (Glucose, Créatinine, les transaminases, phosphatase alcalin) a été fait l'aide d'un Beckman coulter Synchro CX-9 clinical system

2-2-4-3 Technique histologique

La réalisation des coupes histologiques a été effectuée au niveau du laboratoire central d'anatomie pathologique à l'Hôpital universitaire de Sétif. Après avoir fixés les reins et le foie dans du formol 10 %, sont déposés dans des cassettes en plastique, puis sont déshydratés (par immersion dans des bains successifs d'alcools, l'alcool est éliminé par des solvants (xylène) avant d'être coulé dans des moules contenant de la paraffine fondue par chauffage (paraffine liquide).

Après refroidissement le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé à l'aide d'un microtome permettant de réaliser des coupes de 5 µm d'épaisseur. Les coupes obtenues sont étalées et collées sur des lames, puis séchées dans une étuve pendant une nuit. Elles sont ensuite colorées par une solution d'hématoxyline-éosine.

Après la coloration, le montage se fait à l'aide de l'eukitt placé entre lame et lamelle. La préparation est séchée à l'air.

2-2-5 Test d'hémolyse (Traitement des érythrocytes par l'huile de ricin)

Le sang est récupéré par la veine orbitale dans des tubes héparines. Après centrifugation à 1500 tr /min pendant 5 min, le surnageant est éliminé et le culot est lavé trois fois par une solution tampon phosphate salin PBS (125mM Na Cl ,10mM de phosphate de Na⁺, pH 7.4). (Górnicki, 2008). Le culot cellulaire obtenu est dilué avec la solution PBS pour obtenir un hémocrite de 2%.

Matériels et méthodes

L'extrait brut d'huile de *Ricinus communis* L est solubilisé dans quelque goutte de chloroforme, dilué dans du tampon phosphate salin pour obtenir une concentration de 94,78 mg/ml en ajoutant twine à la solution mère pour la rendre homogène, à partir d'elle (solution mère) une série de tubes à essai à différentes concentrations est préparée par dilutions avec du tampon phosphate salin (La gamme de concentration en extrait est comprise entre 3,78 et 94,78 mg/ml)

L'analyse est réalisée dans des microplaques de 96 puits. Dans chaque puits 180µl de la suspension érythrocytaire préparée précédemment sont ajoutés, dans 6 puits on ajoute 100µl de tampon phosphate salin (témoin), les autres puits reçoivent 100 µl de l'huile de ricin (avec une gamme de concentration. On laisse la plaque pendant 5 minutes à une température ambiante. Le nombre des cellules restantes est déterminé en mesurant l'absorbance à 630 nm, en utilisant le lecteur de laque à 96 puits (ELx 800, Universal Microsoft Reader, Bio. Tek instrument, INC.) .

2-2-6 Analyses statistiques

Les différences statistiques significatives entre les moyennes sont calculées en utilisant one-Way ANOVA suivi par Tukey's test pour la comparaison multiple avec le groupe control pour la toxicité aigue et le test de Student pour la toxicité subchronique, les données sont exprimés en moyenne \pm SD.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

3-1 RESULTATS

3-1-1 Extraction

L'extraction de l'huile de ricin à partir des graines de *Ricinus communis* L par le solvant hexane a permis d'obtenir un extrait de couleur jaune pale plus ou moins épais avec un rendement d'extraction de 30% ($14,02 \pm 0.6702 / 50g$) des graines.

3-1-2 Analyse qualitative

La chromatographie sur couche mince de l'extrait brut d'huile de ricin nous a permis de séparer plusieurs substances qui sont apparues sous formes des spots colorés de taille différentes après révélation par le réactif de Godin et en absence de témoins, les spots apparus n'ont pu être identifiés (Fig.16).

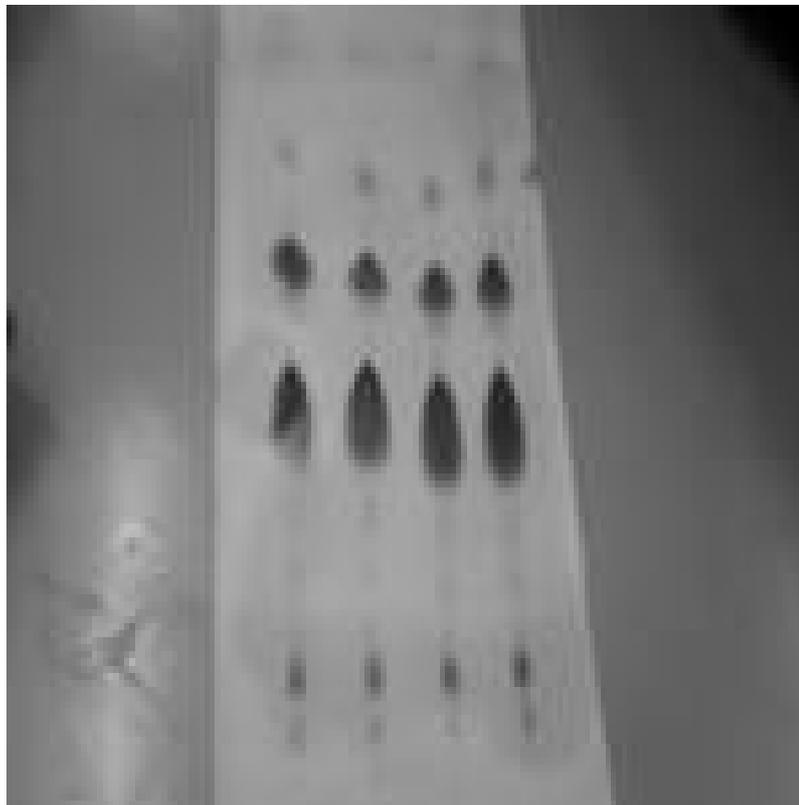


Figure 16. Séparation par chromatographie sur couche mince de l'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* L. **Phase mobile :** hexane/éther diéthylique /acide acétique : 80/ 20/1 (V/V/V) ; **Révélateur :** réactif de Godin.

3-1-3 Détermination de la DL₅₀ chez les souris males

3-1-3-1 Observation du comportement et tableau clinique des animaux

Dés le début du traitement, les animaux ont montré une carte clinique caractérisée par des symptômes suivants :

Un comportement normal dans les premières heures avec une accélération de rythme cardiaque, suivi de diarrhées et d'amaigrissement dans les jours suivants.

Secondairement, l'activité des animaux se réduit, leur démarche devient lente, puis peu à peu ils se couchent avec pattes postérieures écartées. Vers le 5^{ème} jour la mort de quatre souris a été notée pour la dose de 7300mg/kg et 8 souris pour la dose de 14600mg/ kg. Les souris ayant survécues restent dans un état critique après le 15^{ème} jour.

3-1-3-2 Calcul de la DL₅₀ par la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON (1985)

Après administration d'huile de *Ricinus communis*, par voie intrapéritonéale, aux différents lots de dix souris, et avec des doses différentes comprises entre 2433.3 mg/kg et 17033.3 mg/kg, la mortalité des souris en pourcentage et en unités des probits en fonction de la dose sont présentés dans le tableau N°3.

Tableau 3. Toxicité de l'huile de *Ricinus communis* chez les souris mâles traitées par voie intrapéritonéale.

| Dose mg/kg | Mortalité | effet observé | | Effet attendu | | Différence de % | χ^2 |
|---------------|-----------|---------------|------|---------------|------|--------------------|----------|
| | | Probit | % | Probit | % | | |
| 2433.3 | 0/10 | 2.25 | 0.23 | 2.4 | 0.45 | 0.15 | 0.0015 |
| 4866.6 | 1/10 | 3.72 | 10 | 3.72 | 10 | 0 | 0.0015 |
| 7300 | 4/10 | 4.75 | 40 | 4.5 | 31 | 9 | 0.1 |
| 12166.6 | 6/10 | 5.25 | 60 | 5.4 | 65.4 | 5.4 | 0.02 |
| 14600 | 8/10 | 5.84 | 80 | 5.84 | 80 | 0 | 0.0015 |
| 17033.3 | 10/10 | 6.87 | 96.6 | 6.2 | 89.4 | 7.2 | 0.05 |

La somme des diverses contributions au χ^2 : $\Sigma \chi^2$ expérimental = **0.1745**

χ^2 de la droite: $\chi^2 = \Sigma \text{con}\chi^2 \cdot N/K = 0.1745 \cdot 60/6$ (N: nombre total d'animaux, K : le nombre total de doses).

La valeur de χ^2 théorique pour le seuil de probabilité $p = 0.05$ pour un degré de liberté $n = 6-2$ (les nombres de doses-2) est: χ^2 tabulé = 9.49 donc $\chi^2_{\text{expérimental}} < \chi^2_{\text{théorique}}$. Donc le travail est acceptable.

A partir des données présentées au tableau, on trace la courbe probit = f(log dose) (Fig.17)

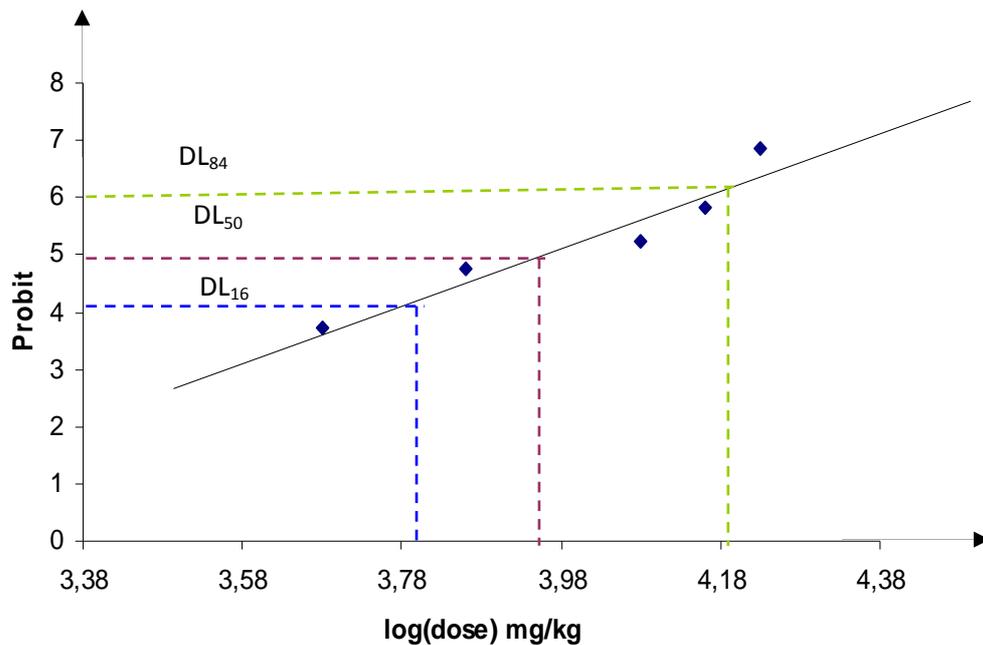


Figure 17. Estimation de la DL_{50} de l'huile de ricin des graines du *Ricinus communis* chez les souris mâles traitées par voie intrapéritonéale.

La DL_{50} calculée à partir de la droite tracée est égale à **8709.6 mg/kg**.

La $DL_{16} = 6309.5$ mg/kg

La $DL_{84} = 12589.2$ mg/kg

✓ **La pente (S)**

$$S = (DL_{84}/DL_{50} + DL_{50}/DL_{16})/2 = 1.412$$

✓ **L'intervalle de confiance**

Pour le seuil de probabilité $P = 0.05$ l'intervalle de confiance de La DL_{50} est le suivant :

7035.2 mg/kg < $DL_{50} < 10712.8$ mg/kg. (La limite supérieure : $DL_{50} \cdot f$, la limite inférieure: DL_{50} / f avec $f = S^{2.77/\sqrt{N}}$, N': le nombre d'animaux situés entre DL_{16} et DL_{84} .

3-1-3-3 Estimation de la DL₅₀ de l'huile de ricin chez les souris mâles par la méthode de BAHRENS.

$$DL_{50} = A + (50 - a) D / b - a$$

A: dose provoquant a% de mortalité ou a<50

B: dose provoquant b % de mortalité ou b>50

D: intervalle entre les doses testées.

$$DL_{50} = 9733.3 \text{ mg/kg}$$

3-1-4 Détermination de la DL₅₀ chez les souris femelles :

3-1-4-1 Observation du comportement et tableau clinique des animaux

Le tableau clinique des souris femelles traitées est différent par rapport aux souris mâles.

Dès le début du traitement et ceci même pour les doses faibles de l'huile de ricin, on a constaté chez les animaux une carte clinique caractérisée par des symptômes suivants :

- des convulsions et agitation,

- Accélération de rythme cardiaque Redressement des poils, perte d'appétit. La mort survient à partir de la 3^{ème} heure à 24^{ème} heures.

Tableau. 4 : Toxicité de l'huile de *Ricinus communis* chez les souris femelles traitées par voie intrapéritonéale

| Dose mg/kg | Mortalité | Effet | Observé | Effet | Différence Des % | Σ χ ² | |
|---------------|-----------|--------|---------|--------|---------------------|------------------|--------|
| | | Probit | % | Probit | | | % |
| 2190 | 0/10 | 2,25 | 0,3 | 2,6 | 0,81 | 1,44 | 0,02 |
| 3650 | 3/10 | 4,48 | 30 | 3,8 | 11,6 | 18,4 | 0,3 |
| 7300 | 4/10 | 4,75 | 40 | 5,2 | 40,0 | 00 | 0,0015 |
| 10950 | 9/10 | 6,28 | 90 | 6,0 | 96,4 | 6,4 | 0,1 |
| 14600 | 10/10 | 6,83 | 96,6 | 6,4 | 89,4 | 7,2 | 0,05 |

La somme des diverses contributions au χ² : Σ χ² expérimental = **0.4715**

χ² de la droite: χ² = Σ conχ² .N/K=0.4715 .50/5 (N: nombre total d'animaux, K : le nombre total de doses).

On lit la valeur de χ² pour le seuil de probabilité p= 0.05 pour un degré de liberté n = 5-2 (les nombres de doses-2) : χ² tabulé = 7,82 donc χ² expérimental < χ² théorique

A partir des données présentées au tableau, on trace la courbe probit = f (log dose) (Fig18).

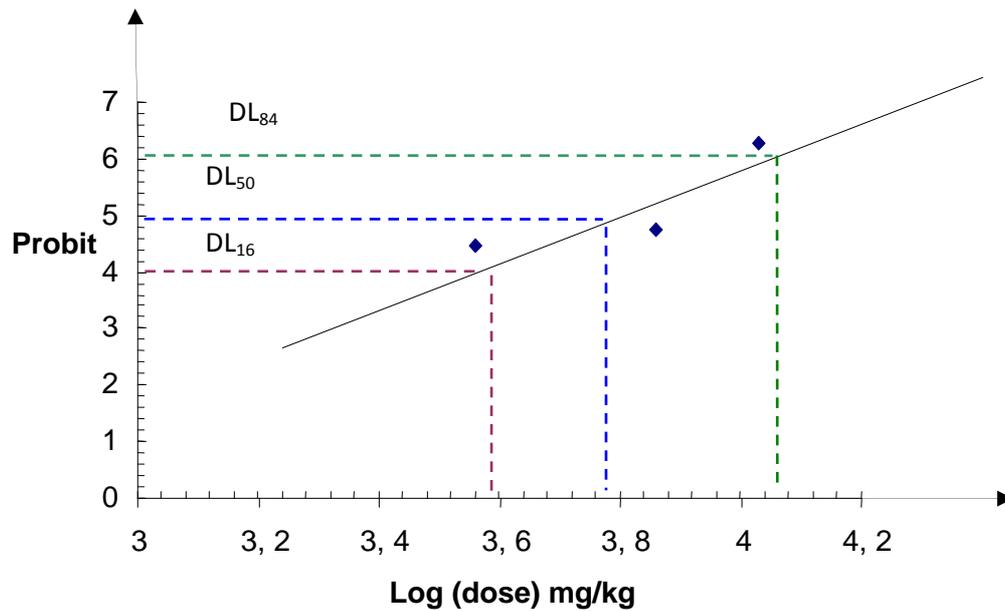


Figure 18. Estimation de la DL₅₀ chez les souris femelles traitées par voie intra péritonéale par l'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* L.

La DL₅₀ calculée à partir de la droite tracée est égale à **5623,41** mg/kg.

La DL₁₆ = **3467,4** mg/kg

La DL₈₄ = **10471,3** mg/kg

✓ **La pente (S)**

$$S = (DL_{84}/ DL_{50} + DL_{50}/ DL_{16})/2 = \mathbf{1,741}$$

✓ **L'intervalle de confiance**

Pour le seuil de probabilité P= 0.05 l'intervalle de confiance de La DL₅₀ est le suivant :

4261, 8 mg/kg <DL₅₀ < 7419,9 mg/kg. (La limite supérieure : DL₅₀ . f DL₅₀, la limite inférieure: DL₅₀ / f DL₅₀ avec $f DL_{50} = S^{2.77/\sqrt{N}}$, N: le nombre d'animaux situés entre DL₁₆ et DL₈₄.

3-1-4-2 Toxicité aiguë d'huile de ricin chez les souris femelles

✓ **Masse relative des différents organes des souris femelles dans les conditions de la toxicité aiguë**

L'examen macroscopique des organes (rein et foie) des souris, n'a révélé aucun changement morphologique dans les organes à l'exception de la présence des kystes au niveau de quelque foie des souris traitées par l'extrait de l'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* en comparaison avec celles des souris témoins.

La variation de la masse relative des différents organes chez les souris témoins et traitées par l'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* s, a montré une diminution significative après le 1^{er} jour de 18,75% ,18,51% , 25% et de 22,22% respectivement des poumons, du cœur, du foie et de cerveau (Tab. 5).

On a enregistré aussi une diminution significative des masses relatives de 17.5%, 23.72 %, 13.70% et de 13.75 % respectivement des poumons, du cœur, des reins et de cerveau respectivement pendant le 5^{ème} jour après l'application (Tab. 5).

La masse relative de la rate n'a pas enregistrée de changement dans le 1^{er} jour et le 5^{ème} jour

Tableau 5. Masse relative des organes des souris blanches femelles traitées dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 2433.3 mg/kg (1 / 3 de la DL₅₀) l'huile de *Ricinus communis* L. Les traitées et témoins ; présentée sous forme de moyenne ± SD.

| Masse Relative (gr). | Poumons | Cœur | Reins | Rate | Foie | Cerveau |
|--------------------------------------|--|--|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|
| Souris Témoins | 0,0080 ± 0,00024 | 0,00548 ± 0,00025 | 0,0124 ± 0,00046 | 0,00574 ± 0,00046 | 0,0761 ± 0,00590 | 0,0189 ± 0,00060 |
| Souris traités 1 ^{er} Jour | 0,0065* ± 0,00028 | 0,00448* ± 0,00019 | 0,0110 ± 0,00041 | 0,0044 ± 0,00034 | 0,0578* ± 0,00253 | *** 0,0147 ± 0,00077 |
| Souris traités 5 ^{ème} Jour | 0,0066** ± 0,00027 | 0,0041** ± 0,00024 | 0,0107* ± 0,00047 | 0,00636 ± 0,00076 | 0,0755 ± 0,00481 | 0,0163* ± 0,000422 |

* Significativement différent pour p< 0.05 ; ** p< 0.01 ; *** p< 0.001.

✓ **Etude hématologique:**

Les résultats hématologiques obtenus sont illustrés dans le tableau 6

Pour la toxicité aigue du premier jour, on n'a pas de changements notables à l'exception du MPV qui a montré une augmentation significative de 25,49 %.

Au cours du 5^{ème} jour, on a enregistré une augmentation significative des RBC de 16,76 % et une diminution significative de MCH et MCHC respectivement de 18,42 % et 16,62 %.

Tableau 6. Paramètres hématologiques des souris blanches femelles traitées dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 2433.3 mg/kg (1 / 3 de la DL₅₀) d'huile de *Ricinus communis* L. Les traitées et témoins ; présentée sous forme de moyenne ± SD.

| Paramètres Hématologiques | RBC 10 ⁶ /mm ³ | MCV µm ³ | HCT % | MPV µm ³ | WBC 10 ³ /mm ³ | HGB gr/dl | MCH pg | CMCH g/dl |
|---|---|----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|---|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Souris Témoins | 6,80 ± 0,245 | 43,8 ± 0,720 | 29,7 ± 0,874 | 6,833 ± 0,8155 | 8,433 ± 1,296 | 11,69 ± 0,2807 | 17,31 ± 0,5582 | 39,51 ± 1,030 |
| Souris traités 1 ^{er} Jour | 6,53 ± 0,238 | 42,0 ± 1,09 | 26,2 ± 1,49 | 8,575* ± 0,3437 | 5,533 ± 0,9415 | 12,21 ± 0,3512 | 19,95 ± 1,080 | 47,55 ± 2,457 |
| Souris traités 5 ^{ème} Jour | 7,94* ± 0,480 | 41,6 ± 0,761 | 34,12 ± 2,213 | 6,800 ± 0,2214 | 5,440 ± 1,158 | 11,20 ± 0,7314 | 14,12* ± 0,1319 | 32,94** ± 0,2943 |

* Significativement différent pour p< 0.05 ; ** p< 0.01.

✓ **Etude biochimique**

L'étude des paramètres biochimiques sériques pour l'évaluation de l'état du foie et des reins des souris traitées avec l'huile de ricin a montré des changements significatifs surtout pendant le 5^{ème} jour. Une augmentation de 41,35 % de la créatinine pendant le 5^{ème} jour est enregistrée (Fig. 19). Des augmentations significatives des transaminases sont aussi observées pendant le 5^{ème} jour (Fig. 20).

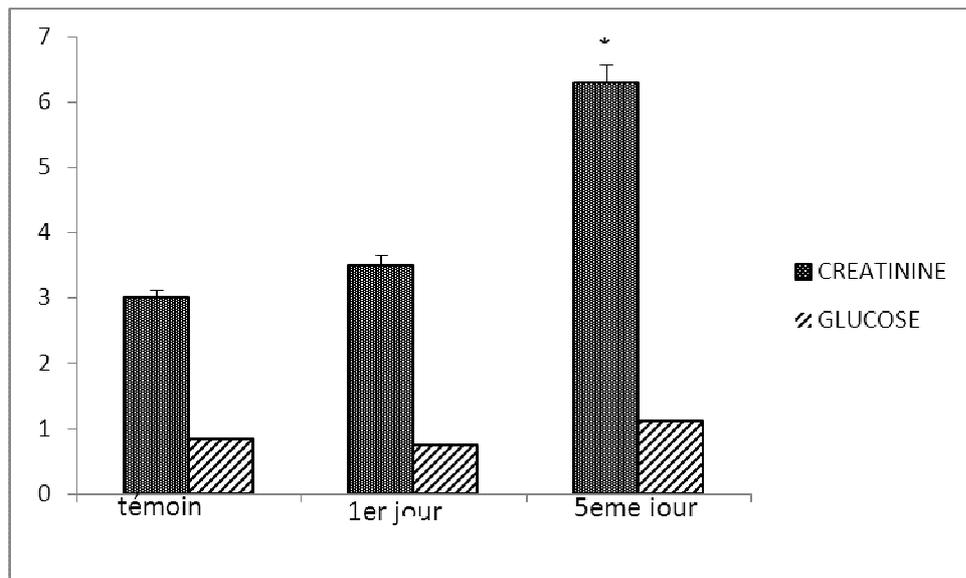


Figure 19. Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (**glucose et créatinine**) des souris traitées et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 2433.3 mg/kg (1 / 3 de la DL₅₀) d'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* L.

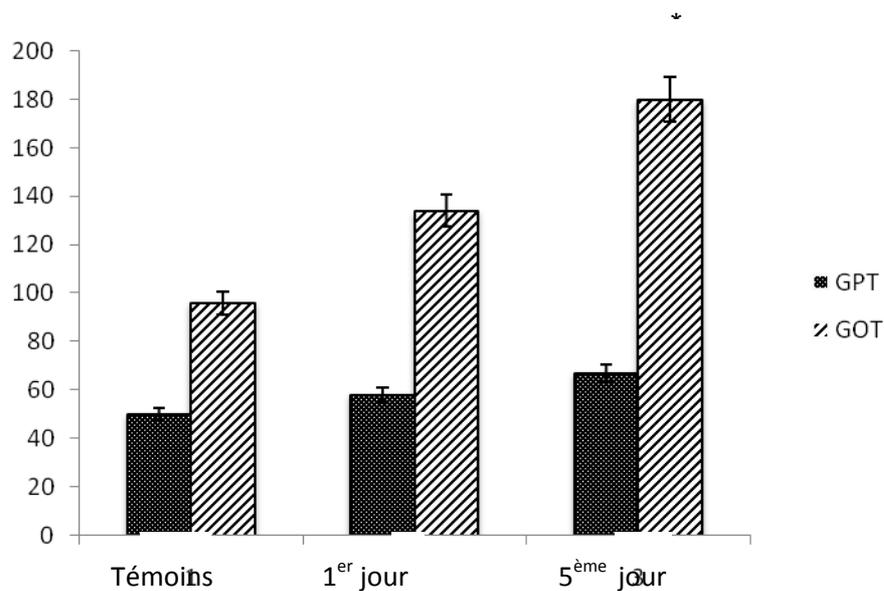


Figure 20. Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (**GPT et GOT**) des souris traitées et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 2433.3 mg/kg (1 / 3 de la DL₅₀) d'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* L.

✓ **Etude histologique**

L'étude histologique du foie a montré une conservation du lobule hépatique, néanmoins des foyers de nécroses et des congestions sanguines avec des dilatations des veines centrolobulaires et des œdèmes sont observés. Des distensions des tubules rénaux, des congestions sanguines et des foyers de nécrose sont aussi observés dans les reins des souris traitées avec l'huile de ricin surtout pendant le 5^{ème} jour.

3-1-5 Détermination de la DL₅₀ chez les rats femelles:

Faute d'animaux, nous avons opté pour la méthode de **BAHRENS** (demandant moins d'animaux) pour déterminer la DL₅₀ chez les rats femelles. Les animaux traités ont présenté une carte clinique, caractérisée par l'apparition d'un comportement normal dans les premières heures et une accélération de rythme cardiaque suivi de diarrhées dans les heures suivantes. Après 4 heures, on a noté une réduction de l'activité des animaux et leurs déplacements deviennent de plus en plus lents, puis peu à peu chaque rat se couche sur lui-même. La mort survient à partir dans la 6^{ème} heure.

Estimation de la DL₅₀ par la méthode de BAHRENS.

$$DL_{50} = A + (50 - a) / b - a \cdot D$$

A: dose provoquant a% de mortalité ou a<50

B: dose provoquant b % de mortalité ou b>50

D: intervalle entre les doses testées.

DL₅₀ = 7247,90 mg/kg

3-1-5-1 Toxicité aiguë de l'huile de ricin chez les rats femelles

- ✓ **Masse relative des différents organes des rats femelles dans les conditions de la toxicité aiguë:**

Résultats et discussions

L'examen macroscopique à l'œil nu des organes *in situ* des rats, n'a montré aucun changement morphologique dans les organes des rats traités en comparaison avec ceux des rats témoins.

La variation des masses relatives des différents organes chez les rats témoins et traités, a montré une diminution significative des masses relatives des poumons, des reins, du foie et de cerveau après le 1^{er} jour de l'application de 22.22%, 22.5%, 23.52%, 28,71% , et une diminution significative des masses relatives du cœur, du foie et de cerveau après le 5^{ème} jour respectivement de 23.63%, 23.52%, 35.64%. (Tableau 7).

Tableau 7. Masse relative des organes des rats blancs femelles traités dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 1377.3 mg/kg (1/5 de DL 50) d'huile de *Ricinus communis* L. Les traités et témoins ; présentée sous forme de moyenne \pm SD.

| Masse Relative (gr). | Poumons | Cœur | Reins | Rate | Foie | Cerveau |
|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|------------------|
| Rats | 0,00997 | 0,00554 | 0,0120 | 0,00522 | 0,0680 | 0,0202 |
| Témoins | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm |
| | 0,0009 | 0,00051 | 0,00106 | 0,00062 | 0,00678 | 0,00147 |
| Rats traités 1 ^{er} Jour | 0,00777* | 0,00508 | 0,00933* | 0,00415 | 0,0524* | 0,0144** |
| | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm |
| | 0,0002 | 0,00020 | 0,00033 | 0,00027 | 0,00111 | 0,00056 |
| Rats traités 5 ^{ème} Jour | 0,00839 | 0,00428* | 0,0111 | 0,005011 | 0,0522* | 0,0130*** |
| | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm |
| | 0,00029 | 0,00011 | 0,00057 | 0,00033 | 0,00203 | 0,00079 |

* Significativement différent par rapport au témoin ($p < 0.05$) ; ** ($p < 0.01$) ; *** ($p < 0.001$)

✓ Etude hématologique:

Les résultats hématologiques obtenus sont illustrés dans le tableau et révèlent une augmentation significative du pourcentage de MPV chez les rats traités après le 1^{er} respectivement avec 44,95 %.(Tab. 8)

Tableau 8. Paramètres hématologiques des rats blancs femelles traités dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 1377.3 mg/kg (1/5 de DL 50) d'huile de *Ricinus communis* L. Les traitées et témoins ; présentée sous forme de moyenne \pm SD.

| Paramètres Hématologiques | RBC 10 ⁶ /mm ³ | MCV μm ³ | HCT % | MPV μm ³ | WBC 10 ³ /mm ³ | HGB gr/dl | MCH pg | MCHC g/dl |
|--|---|--------------------------------------|-------------------------------------|--|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Rats | 6.02 | 47.6 | 31.7 | 7.233 | 5.450 | 11.12 | 18.13 | 37.97 |
| Témoins | \pm 0.470 | \pm 0.541 | \pm 1.03 | \pm 0.168 | \pm 0.490 | \pm 0.600 | \pm 0.634 | \pm 1.547 |
| Rats traités 1^{er} Jour | 5.62 \pm 0.195 | 47.3 \pm 0.679 | 27.7 \pm 0.70 | 7.900* \pm 0.068 | 5.200 \pm 0.634 | 10.48 \pm 0.440 | 18.72 \pm 0.383 | 39.62 \pm 0.872 |
| Rats traités 5^{eme} Jour | 7.14 \pm 0.292 | 46.6 \pm 0.373 | 31.7 \pm 3.00 | 6.980 \pm 0.096 | 7.980 \pm 1.156 | 12.40 \pm 0.407 | 17.40 \pm 0.260 | 36.62 \pm 0.600 |

* Significativement différent pour $p < 0.05$.

✓ **Etude biochimique**

Les résultats des paramètres biochimiques pour évaluer la fonction hépatique ont montré une augmentation significative de la concentration PAL après le 1^{er} jour de la toxicité aiguë, avec non changement dans la concentration de GOT et GPT en comparaison avec les témoins (Fig. 21).

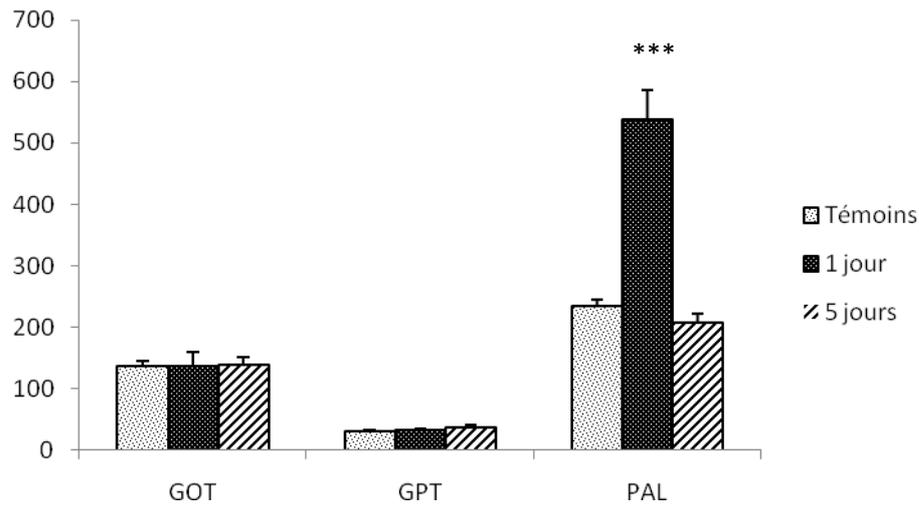


Figure 21. Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (**GOT, GPT, PAL**) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose 1377.3 mg/kg (1/5 de DL 50) de d'huile de *Ricinus communis* L.

* Significativement différent par rapport aux témoins $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

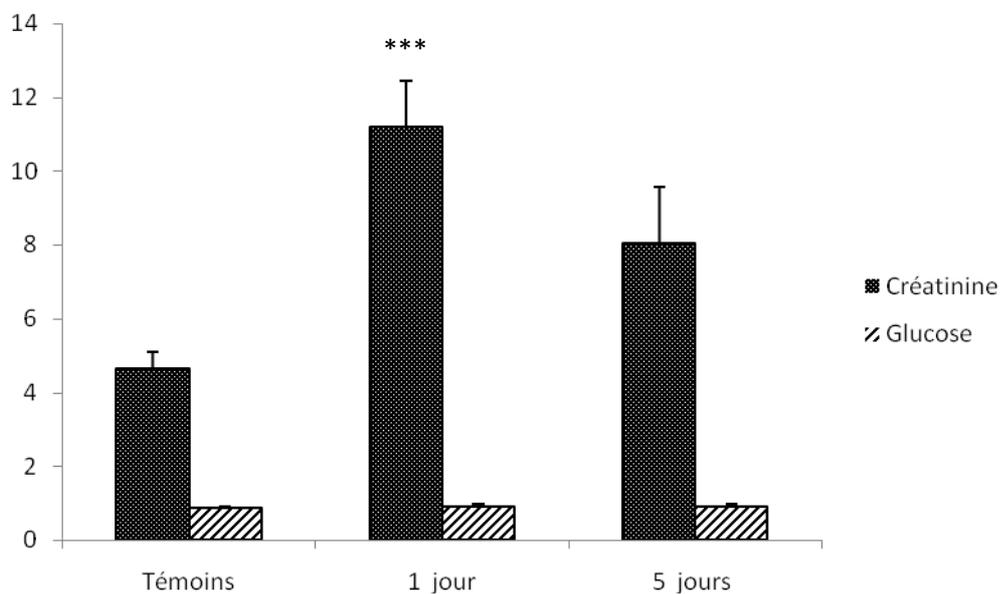


Figure 22. Paramètre sérique de l'évaluation de la fonction rénale (**créatinine, glucose**) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 1377.3 mg/kg (1/5 de DL 50) d'huile de *Ricinus communis* L.

* Significativement différent par rapport aux témoins $p < 0.05$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.05$.

✓ **Etude histologique**

L'observation des coupes histologiques des reins des rats traités par rapport aux témoins a permis d'observer des congestions du parenchyme rénal dans les conditions de la toxicité aigue (1^{er} et 5^{ème} jour) (Fig. 23, 24)

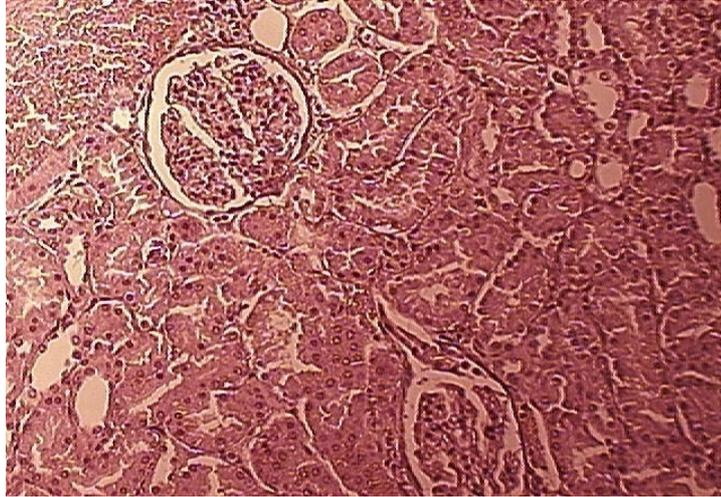


Figure 23. Coupe histologique du tissu rénal des rats témoins. Coloration éosine hématoxyline. **X 460.**

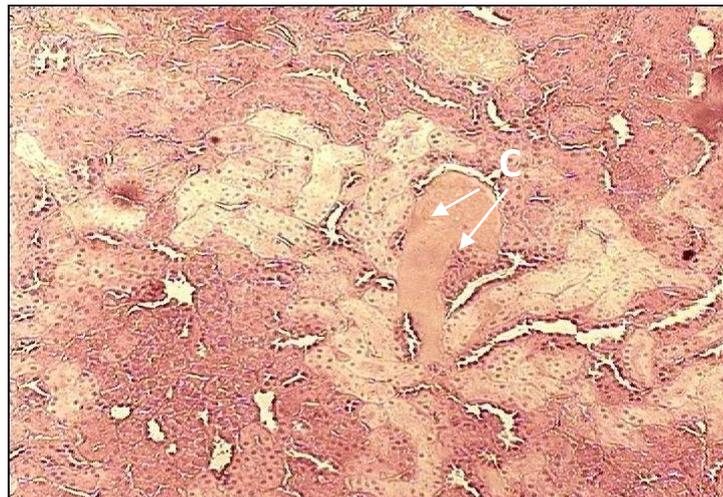


Figure 24. Coupe histologique du tissu rénal des rats traités par l'huile de *Ricinus communis* dans les conditions de la toxicité aigue (1^{er} jour). Coloration éosine hématoxyline. **X460.** (C) Congestion.

3-1-6 Toxicité subchronique chez les rats femelles :

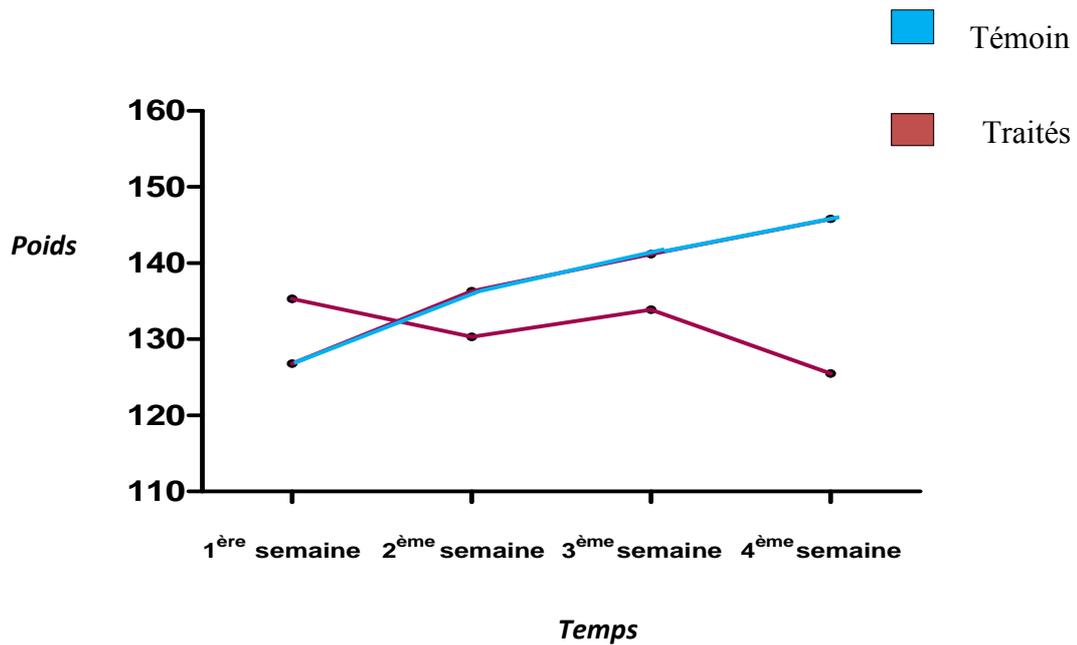


Figure 25. Evolution de poids des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subchronique.

✓ **Les signes généraux :**

Dans la présente étude de la toxicité subchronique d'huile de ricin chez les rats femelle traités avec la dose de 538,74 mg/kg, on n'a enregistré aucun cas de létalité, néo moins des diarrhées sont observées surtout lors des premières applications et des chutes de poils au début à la 3^{ème} semaine. Le poids corporel du groupe traité a connu une diminution significative entre la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine et entre la 3^{ème} semaine et la 4^{ème} semaine.

Les témoins ont présenté une évolution normale de leurs poids, évaluée à 12,04 % par rapport à la première semaine, les rats traités ont présenté une légère récupération de poids entre la 2^{ème} et la 3^{ème} semaine (Fig. 25).

✓ **Masse relative des différents organes des rats femelles dans les conditions de la toxicité subchronique :**

Tableau 9. Masse relative des organes des rats femelles traités dans les conditions de la Toxicité subchronique par la dose 538,74 mg/kg d'huile de *Ricinus communis*.

Les traitées et témoins ; présentée sous forme de moyenne ± SD.

| Masse Relative (gr). | Poumons | Cœur | Reins | Rate | Foie | Cerveau |
|----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Rats témoins | 0,00821 ±0,00034 | 0,00363 ±0,00011 | 0.00729 ±0.00023 | 0.00689 ±0.0029 | 0.0493 ±0.00220 | 0.0111 ±0.00049 |
| Rats traités | 0,0082 ±0,00033 | 0,00335 ±0,00008 | 0.00790 ±0.00028 | 0.00381 ± 0.00013 | 0.0529 ±0.00260 | 0.0115 ±0.00032 |

* Significativement différent pour $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Après examen macroscopique à l'œil nu *in situ*, les différents organes présentent des formes normales. La masse relative des organes, n'a présenté aucun changement significatif (Tab. 9).

✓ **Etude hématologique**

Tableau 10. Paramètres hématologiques des rats femelles traités dans les conditions de la toxicité subchronique par la dose de 538,74 mg/kg d'extrait d'huile de ricin.

Les traitées et témoins ; présentée sous forme de moyenne ± SD.

| Paramètres hématologiques | RBC 10 ⁶ /mm ³ | MCV μm ³ | HCT % | MPV μm ³ | PLT 10 ³ /mm | WBC 10 ³ /mm ³ | HGB gr/dl | MCH pg | MCHC g/dl |
|---------------------------|---|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|---|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Rats témoins | 8.568 ± 0.155 | 47.47 ± 1.23 | 42.77 ± 0.962 | 6.780 ± 0.107 | 736.1 ± 34.91 | 8.520 ± 0.696 | 14.73 ± 0.311 | 16.97 ± 0.151 | 34.50 ± 0.146 |
| Rats traités | 8.957 ± 0.204 | 48.34 ± 0.473 | 43.30 ± 1.068 | 6.836 ± 0.0935 | 788.5 ± 43.78 | 11.71 ± 0.594 | 14.46 ± 1.031 | 17.20 ± 0.154 | 35.60 ± 0.2073 |

* Significativement différent pour $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Les résultats obtenus illustrés dans le tableau ci-dessous, révèlent une augmentation significative du nombre des leucocytes (37.44 %) et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (3,18 %), avec non changement dans les autres paramètres hématologiques (RBC, MCV, HCT, MPV, PLT, HGB, MCH).

✓ **Etude biochimique :**

Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures ci-dessous et révèlent une augmentation significative des concentrations du glucose de % 15,69. Cependant la concentration de la créatinine ne montre pas une différence significative par rapport à celle des témoins (Fig.26).

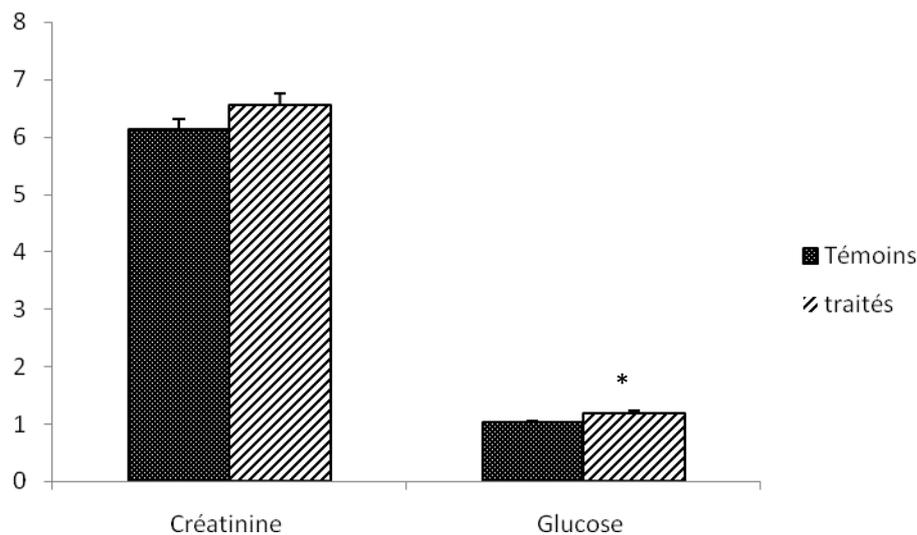


Figure 26. Paramètre sérique de l'évaluation de la fonction rénale des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subchronique par la dose de 538,74 mg/kg d'huile de *Ricinus communis* L.

* Significativement différent pour $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

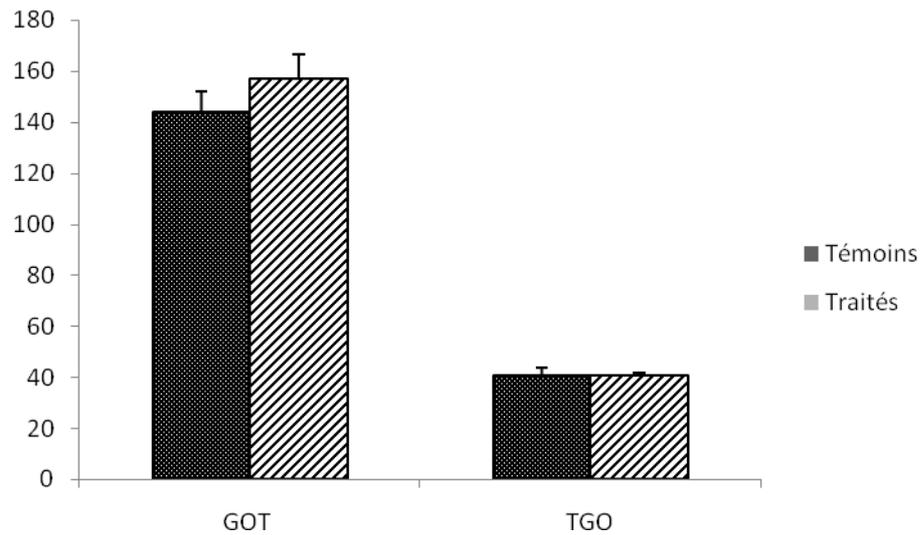


Figure 27. Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (**GOT, GPT**) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subaiguë par la dose de 538,7 mg/kg d'huile de *Ricinus communis* L.

* Significativement différent pour $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

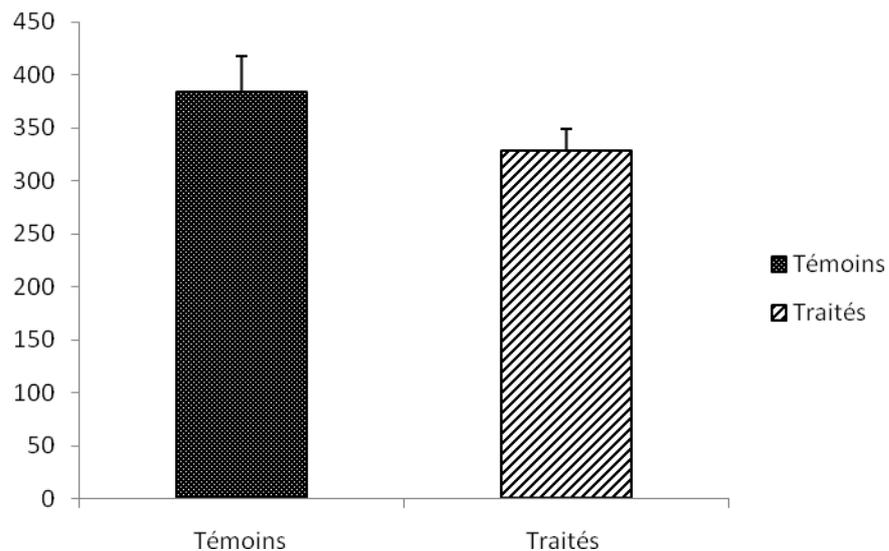


Figure 28. Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (**PAL**) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subaiguë par la dose de 538,7 mg/kg d'huile de *Ricinus communis* L.

* Significativement différent pour $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

✓ Etude histologique

L'examen histologique des foies des rats traités révèle la présence des pélioses en comparaison avec les témoins dans les conditions de la toxicité subchronique (Fig.29,30).

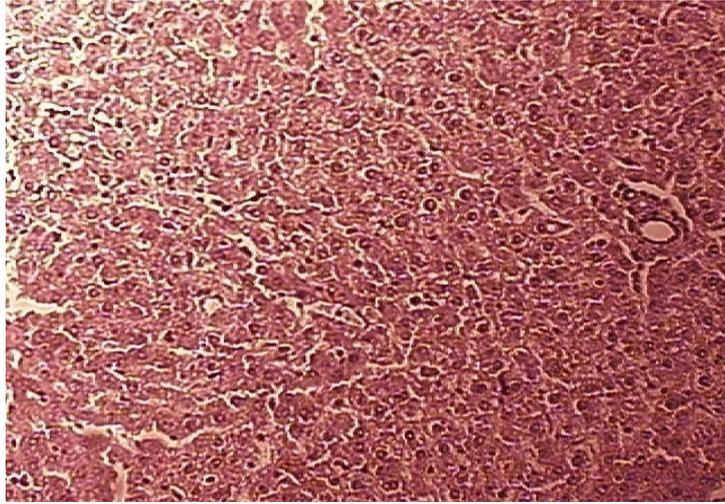


Figure 29. Coupe histologique du tissu hépatique des rats témoins dans les conditions de la toxicité subchronique. Coloration éosine hématoxyline. X 460.



Figure 30. Coupe histologique du tissu hépatique des rats traités par l'huile de *Ricinus communis* dans les conditions de la toxicité subchronique. Coloration éosine hématoxyline. X 460. (P) Péliose.

3-1-7 Effet d l'huile des graines de *Ricinus communis* L sur les érythrocytes des rats mâles (*in vitro*)

L'incubation *in vitro* des globules rouges à des concentrations variables de l'extrait brut de l'huile des graines de *Ricinus communis* L n'a montré aucun effet hémolytique en fonction de la concentration de l'extrait.

3-2 Discussion

La plante (*Ricinus communis L*) utilisée dans notre étude est identifiée sur la base de la description des caractéristiques morphologiques de la plante (Bruneton, 1999 ; Couplan et Styner, 2000).

Les résultats de l'extraction de l'huile de ricin à partir de **50 g** de pâte des graines de *Ricinus communis L* par **150 ml** d'hexane en utilisant l'appareil de soxhlet, a permis d'obtenir l'extrait brut d'huile de ricin de couleur jaune pale plus ou moins épaisse pouvant contenir des triglycérides, des acides gras libres, la gomme et d'autres composés, avec un rendement de **30 % (14,02 ± 0.6702 /50g)**. Ces résultats sont en concordance avec ceux trouvés par (Akpan et Jimoh, 2006) et (Garba, 2006).

L'analyse qualitative de l'extrait brut d'huile de ricin des graines de *Ricinus communis L*, par CCM sur gel de silice, nous a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs spots, correspondants à l'huile de ricin ; mais en absence des témoins ces derniers ne peut être identifiés, malgré qu'il ya plusieurs méthodes qui ont été utilisées pour identifiés l'huile de ricin comme l'HPLC mais surtout la (MS/MS) (Hogge *et al.*, 1991 ; Jiann-Tsyh *et al.*, 2009) et qu'ils montrent qu'elle (l'huile de ricin) est constituée majoritairement d'un triricinoléique qui un triglycéride avec 3 molécules d'acide ricinoléique et qui pourrait correspondre dans notre chromatogramme au plus grand spot.

La carte clinique des souris femelles traitées par l'extrait brut d'huile de ricin s'est caractérisée par une accélération de rythme cardiaque, due probablement à une perte de potassium susceptible provoquant des troubles graves du rythme cardiaque. La diarrhée pourrait être expliqué par une action irritante qui est due à l'acide ricinoléique, généré sous l'action des lipases pancréatiques (l'huile de ricin est hydrolysée en deux principes actifs: le glycérol et l'acide ricinoléique au niveau de l'intestin).

L'acide ricinoléique augmenterait le péristaltisme intestinal en stimulant l'activité des cellules musculaires lisses du petit intestin et réduirait l'absorption d'eau et d'électrolytes (altération de la muqueuse intestinale) (Arseneault, 2000).

L'amaigrissement dans les jours suivants est dû à l'effet laxatif puissant de l'acide ricinoléique, qui cause des douleurs et des crampes abdominales, entraînant une purgation intense, accompagnée de pertes liquidiennes importantes et de déséquilibres électrolytiques et

jouant un rôle d'obstacle à l'absorption des nutriments et surtout des vitamines liposolubles (Bruneton, 2001).

L'étude de la toxicité aiguë (détermination de la DL_{50}) d'huile des graines de *Ricinus communis L* a permis de calculer les valeurs de la DL_{50} chez les souris mâles de **8709.6** mg/kg et de **9733.3** mg/kg respectivement par la méthode graphique de LITCHFIELD et WILCOXON et la méthode de BAHRENS. Ces deux valeurs sont presque proches, ce qui démontre la fiabilité des méthodes de détermination.

La DL_{50} chez les souris femelles est de **5623,41** mg/kg (LITCHFIELD et WILCOXON).

D'après les valeurs expérimentales des DL_{50} (**8709.6** mg/kg et de **9733.3** mg/kg), les souris femelles sont plus sensibles aux effets toxiques d'huile de ricin que les souris mâles, cette sensibilité liée au sexe pourrait être due aux différences physiologiques (Dugan et al., 1989).

D'après la classification des produits chimiques de Frank(1992), ($DL_{50} > 5000$ mg/kg) l'extrait de l'huile des graines de *Ricinus communis* est classée dans la catégorie des produits faiblement toxiques.

Dans les conditions de la toxicité aiguë des souris femelles traitées par l'extrait d'huile des graines de *Ricinus communis L* avec la dose de 2433.3 mg/kg, et après 24 h et 5 jours de l'application, aucun signe physique de toxicité, et aucune mortalité n'ont été observés chez les souris traitées, la masse relative des poumons, du cœur, du foie et de cerveau indique une diminution significative pendant le 1^{er} jour, ce résultat est en accord avec celui de (Meerts et al., 2009) qui a évalué la toxicité aiguë et subaiguë d'huile des graines de grenade chez les rats.

On a enregistré aussi une diminution de la masse relative des poumons, du cœur, des reins et de cerveau pendant le 5^{ème} jour de l'application.

Cette étude a montré également une perturbation de quelques paramètres hématologiques. une augmentation significative de RBC a été enregistrée, sachant que l'augmentation des érythrocytes et des leucocytes est due à la surproduction des éléments de régulation de l'hématopoïèse tels que les CSF (Colony stimulating factor), l'EPO (Erythropoïétin), la TPO (Thrombopoïétin) par les macrophages et les cellules stromales de la moelle osseuse et fournissant ainsi un environnement local favorable pour l'hématopoïèse (Chang-Gue et al., 2003; Udut et al, 2005). Cette augmentation est associée à une diminution du taux d'hémoglobine et du MCHC chez les femelles indiquant ainsi la diminution de la

concentration d'hémoglobine dans les globules rouges. On assiste donc à une hypochromie (Bain, 2006).

Les résultats montrent clairement l'augmentation de la créatinine au 5^{ème} jour, cette augmentation pourrait être expliquée par une augmentation de catabolisme de la créatine, mais l'évaluation importante de la créatinine en physiologie des reins indique une altération de la filtration glomérulaire et une atteinte de la fonction rénale (Phillips, 1949).

Le foie est l'organe cible présenté dans les vertébrés et qui joue un rôle principal dans le métabolisme (Thophon *et al.*, 2003). Plusieurs composés de plantes toxiques passent par le foie, lieu principal du métabolisme (Clarke et Clarke, 1977), et devient ainsi l'organe le plus exposé à la toxicité des produits chimiques, surtout par les produits absorbés au niveau l'intestin grêle. Le foie pourrait métaboliser ces substances étrangères en composés hépatotoxiques (Geubel et Rahier, 2006 ; Rhouani *et al.*, 2008).

Le foie travaille en association avec les reins pour éliminer les substances toxiques du sang (Tulsawani, 2010).

Parmi les paramètres biochimiques d'évaluation de la fonction hépatique, on signalé une augmentation significative de GOT, enzyme présent dans le foie, mais aussi présent dans d'autres organes comme le cœur, son dosage aide à détecter certaines affections hépatiques.

il catalyse la conversion de l'alanine en pyruvate et glutamate et est libéré dans le sang quand les cellules du foie sont endommagées (Willianson *et al.*, 1996 ; Mehta *et al.*, 2009 ; Coulibaly *et al.*, 2010) expliquant ainsi les atteintes hépatiques (Atsamo *et al.*, 2011).

La LD₅₀ de l'extrait de l'huile de ricin calculée chez les rats femelles est de **7247,90** mg/kg. Cette valeur classe l'huile de ricin parmi les produits chimiques faiblement toxiques selon la classification des produits chimiques de Frank (1992).

Dans les conditions de la toxicité aigue chez les rats traités avec la dose (DL50), des diarrhées et une faiblesse (manque de vivacité), sont observés, ces symptômes ont été aussi enregistrés chez les souris femelles.

Le changement de masse relative des organes est un signe vulnérable de toxicité des produits chimiques et un indicateur de l'atteinte des organes (Raza *et al.*, 2002; Teo *et al.*, 2002).

les différents organes chez les rats témoins et traités, ont montré une diminution significative des masses relatives des reins, du foie, des poumons et de cerveau pendant le 1^{er} jour après l'application, et une diminution significative de la masse relative du cœur, du foie

et d cerveau après le 5^{ème} jour de l'application, ces résultats suggèrent que l'extrait d'huile de ricin a des effets sur ces organes étudiés. Ces résultats nécessitent cependant, des analyses plus approfondies pour connaître l'effet de l'extrait sur ces organes.

Le système hématopoïétique est l'une des cibles les plus sensibles aux produits chimiques et un index important du statut physiologique et pathologique de l'être humain et de l'animal (Mukinda et Syce ,2007). Dans cette étude, les paramètres hématologiques indiquent une augmentation significative de MPV (volume plaquettaire moyenne) pouvant être expliqué soit par une augmentation du taux des plaquettes.les autres paramètres n'ont pas montré de changements notables.

La phosphatase alcaline est un enzyme présent dans le foie, le rein, les intestins et les os. La phosphatase alcaline est impliquée dans le métabolisme des phosphates et les échanges cellulaires. Son augmentation dans le sérum, indique une perturbation de la fonction du foie, particulièrement l'élimination des métabolites par la bile, due à une obstruction du canal cholédoque ou à une désorganisation de l'architecture hépatique et dans les maladies caractérisées par l'inflammation (Wang *et al.*, 2010) Les résultats obtenus, montrent seulement une augmentation de l'ALP dans le sérum des rats femelles pendant le premier jour. En revanche après le 5^{ème} jour de l'application, son taux a regagné les limites normales, indiquant une meilleure amélioration de la fonction excrétoire du foie (Sacher et McPherson, 1991). L'Altération des cellules hépatiques se traduit par une libération de quantités importantes de transaminases dans le sang (Wang *et al.*, 2010). Les paramètres GOT, GPT n'ont montré aucun changement significatif chez les rats traités dans les conditions de la toxicité aigue.

Une augmentation significative du taux de la créatinine a été observé chez les rats traités après le 1^{er} jour dans les conditions de la toxicité aigue, ce résultat est semblable à celle qui été observé chez les souris femelles dans les même conditions, indiquant ainsi une altération de la fonction rénale car la créatinine est connue comme indicateur efficace de la fonction rénale particulièrement la filtration glomérulaire du néphron (Lameire *et al.*, 2005).

Les résultats de l'examen histopathologique des reins montrent modifications caractérisées des congestions sanguines chez les rats traités.

Les foies des rats traités montrent des modifications dégénératives; l'architecture du tissu hépatique est conservée, mais caractérisée par la présence de cavités de 1 mm remplies de sang. Cette lésion correspond à une destruction localisée des cellules endothéliales de la sinusoïde hépatique, et probablement des hépatocytes voisins. Elle est répartie de façon

hétérogène dans le lobule hépatique et dans le foie, sans prédominance zonal et qui peut être expliqué par une atteinte de péliose au niveau du foie (Zafrani *et al.*, 1984).

Dans les conditions de la toxicité subaiguë, les seuls signes cliniques observés chez les rats traités, sont des diarrhées (l'action de l'acide Ricinoléique sur la muqueuse intestinale) et une faiblesse (manque de vivacité), ce résultat est en accord avec celui de la toxicité aigue chez les souris femelles.

Le suivi de la variation du poids corporel des animaux au cours de l'expérience de la toxicité subaiguë par l'extrait brut de l'huile de *Ricinus communis* a montré qu'il y a une diminution du poids surtout pendant les deux premières semaines et pendant la 4^{ème} semaine comparativement aux témoins. La baisse pourrait être due à une baisse de la consommation de nourriture (Wang *et al.*, 2010).

Nous n'avons noté aucune différence significative dans la masse relative des organes des rats traités, indiquant que l'huile de ricin dans les conditions de la toxicité subaiguë n'a pas des effets nuisibles, probablement due à la tolérance de l'organisme animal à l'huile de ricin.

Les résultats hématologiques des rats traités par l'extrait brut d'huile de ricin dans les conditions de la toxicité subaiguë, montrent une augmentation significative des taux des WBC (globules blancs) et MCHC (Concentration corpusculaire moyenne en Hémoglobine) par rapport aux groupes témoins et une quelconque augmentation des érythrocytes et des leucocytes est due à la surproduction des éléments de régulation de l'hématopoïèse (Chang-Gue *et al.*, 2003; Udut *et al.*, 2005). Cette augmentation est associée à une élévation du taux de MCHC indiquant ainsi l'augmentation de la concentration d'hémoglobine dans les globules rouges. On assiste donc à une hyperchromie (Bain, 2006).

Les résultats biochimiques obtenus après le traitement des rats dans les conditions de la toxicité subaiguë confirment une augmentation significative du glucose de sang dans le groupe traité, comparé au groupe témoin, indiquant que l'extrait d'huile de ricin a une activité hyper glycémique (Li *et al.*, 2008). Il est fort probable que l'huile de ricin n'a pas d'effets nuisibles dans les conditions subchroniques sur le foie et le rein, puisque l'analyse biochimique des paramètres de la créatinine, GOT, GTP et de l'ALP n'a pas montré de changements notables. L'examen histologique du rein des rats traités dans les conditions de la toxicité subchronique révèle aussi la présence des congestions sanguines. Les foies des rats traités montrent aussi la présence des cavités remplies de sang qui sont des pélioses, ces résultats sont les mêmes observés chez les souris dans les conditions de la toxicité aigue.

Conclusions

- *Ricinus communis* L est classée parmi les plantes toxiques chez l'homme et les animaux, sa toxicité est due aux glycoprotéines qui sont des protéines d'inactivation ribosomale.
- Les données expérimentales de la toxicité aiguë de l'huile de ricin chez les souris males (DL_{50} **8709.6** = mg/kg) et femelles (DL_{50} = **5623,41** mg/kg) montre une grande sensibilité de sexe et permettent de classer l'extrait d'huile de *Ricinus communis* L. dans la catégorie des produits faiblement toxiques selon la classification de Frank.
- La DL_{50} de l'huile de ricin chez les rats femelles (DL_{50} = **7247,90** mg/kg) aussi est classée dans la catégorie des produits faiblement toxiques selon la classification de Frank.
- La comparaison entre les deux espèces (souris et rats), sur la base de la DL_{50} montre que les rats sont plus résistants à l'effet de l'huile de ricin par rapport aux souris.
- Malgré que l'extrait brut d'huile de ricin soit classée parmi les produits non toxiques, néanmoins nos études ont montré que l'huile de ricin a un effet toxique sur quelques paramètres hématologiques et sérique liés à la structure et la fonction rénale et hépatique chez les rats et les souris.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abdulazim, S.S., Salah, O. A.T., Munir, N. G. M., Shomaf. S.** (1998). The Abortifacient effects of Castor Bean Extract and Ricin-A Chain in Rabbits. *Contraception*. 58: 193–197.
- Adolfo, A.C., Michael, H.** (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *J. Ethnopharmacol.* 99: 325–348.
- Akpan, U. G., Jimoh, A., Mohammed, A. D.** (2006). Extraction, Characterization and Modification of Castor Seed Oil. *Leonardo J. Sci.* 8: 43-52.
- Alexander, J ., Diane ,B ., Andrew ,C ., Jean-Pierre ,C ., Eugenia ,D ., Alessandro, D.D ., Maria Luisa, F ., Peter,F ., Fink-Gremmels ,J ., Corrado , L.G.** (2008). Ricin (from *Ricinus communis*) as undesirable substances in animal feed1 Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA J.* 726-738.
- Anete ,C. F ., Miriam, E.M. A ., Mariana ,L. D.C ., Ilza ,R. B ., Bras ,H. D.O., Claudio, D.C.** (1999). Pharmacological Evaluation of Ricinine, a Central Nervous System Stimulant Isolated from *Ricinus communis*. *J. Pharmacol. Biochemis Beh.* 63(3): 367–375.
- Anjani, K.** (2005). Purple-coloured castor (*Ricinus communis* L.)-A rare multiple resistant morphotype. *Curr. sci.* 88(2): 215-216.
- Anosike, E. O ., Chibogwu K. E.** (1981). Biochemical changes during the fermentation of castor oil (*Ricinus communis*) seeds for use as a seasoning agent. *Plant Fd. Hum. Nutr.* 30: 181-185.
- Archaya, K.T.** (1971). Chemical Derivatives of Castor Oil. *Amer. oil chem.. soc.* 48: 758-763.
- Arseneault, Y.** (2000). Quelle est la place de l'huile de ricin dans le déclenchement de travail? *Québec pharmac.* 47(9) : 746- 748.
- Arthur ,S.K ., Nyarko ,A.K ., Asaku , J.Y ., Akyeampong , A.Y.** (1997) .A study of nephron function in normal tropical residents using the creatinine and lithium clearances. *Int. J. Biometeorol.* 41: 40–43.
- Aslania , M.R ., Malekib ,M ., Mohria, M ., Sharifia,K ., Najjar,V. N ., Afshari ,E.** (2007). Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. *Toxicon.* 49: 400–406.
- Atsamo, A .D., Télesphore., Nguelefacka., Jacques, Y. D., Albert , K.** (2011). Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 134: 697–702.
- Audi, J., Belson, M., Patel, M., Schier, J., Osterloh, J.** (2005). Ricin poisoning: A comprehensive review. *JAMA.* 294(18) : 2342-2351.
- Aurélié , G., Sihem, M., Boukortt, F., Cherkaoui-Malki, M ., Jacques , B., Josiane Prost.** (2006). Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition* 22: 758–766.
- Baenziger, J.U., Fiete, D.** (1979). Structural determinants of *Ricinus communis* agglutinin and toxin specificity for oligosaccharides. *J. Biol. Chem.* 254: 9795–9799.

- Bain, B.J.** (2006). Blood cells a practical guide. Ed Blackwell, Australia, pp: 71-89.
- Balint, G.A.** (1974). Ricin: the toxic protein of castor oil seeds. *Toxicol.* 2: 77-102.
- Barbosa, D.D.C., Tatiana, M. S., Simoni, M. Plentz, M., Mario, R. M.** (2010). Biodiesel production by ethanolsis of mixed castor and soybean oils. *Fuel.* 89 : 3791–3794.
- Benouadah , Z.** (2009). Etude de l'effet de la toxicité du *Datura stramonium L.* sur le rein du rat blanc (*Albinos Wistars*). Mémoire de Magistère. Université Mentouri Constantine. pp : 20.
- Bigalke, H., Rummel, A.** (2005). Medical aspects of toxin weapons. *Toxicol.* 214: 210-20.
- Borch-Jensen, C., Benny Jensen., Mathiasen, K ., Jørgen , M.** (1997). Analysis of Seed Oil from *Ricinus communis* and *Dimorphoteca pluvialis* by Gas and Supercritical Fluid Chromatography. *JAOCS.* 74(3) : 277-284.
- Bowles, D. J., Claus, S., Heinrich, K.** (1976) Lectins as Membrane Components of Mitochondria from *Ricinus communis*. *B. Pochem. J.* 160: 375-382.
- Bradberry, S.M., Dickers, K.J., Rice, P., Griffiths, G.D. and Vale, J.A.** (2003). Ricin poisoning. *Toxicol. Rev.* 22: 65-70.
- Bricon, T., Theret, E., Legendre, C ., Erlich, D.** (2000). La cystatine C : un nouveau marqueur de la filtration glomkulaire Application en transplantation reale. *Rev. Gén. Anal. prospect.* 15 : 85-90.
- Bruneton , J** (2001). Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2^{ème}éd. Tec et Doc. Paris.
- Campbell, I.** (2006). Liver: functional anatomy and blood supply. *Anaest. Intens. Care Med.* 7(2): 49-51.
- Cangemi, J. M., Antonia, M. d. S., Salvador, C. N., Gilberto, O. C.** (2008) Biodegradation of Polyurethane Derived from Castor Oil. *Ciência Technol.* 18(3): 201- 206.
- Cazal, C.D. M., Jaqueline, R .B., Vanessa, D. C. D., Odair, C. B., Edson, R. F., Moacir, R. F ., Maria, F. G. F ., Paulo, C., João, B.F.** (2009). High-speed counter-current chromatographic isolation of ricinine, an insecticide from *Ricinus communis*. *J. Chromat.* 1216: 4290–4294.
- Challoner, K.R., McCarron, M.M.** (1990). Castor bean intoxication. *Ann. Emerg. Med.* 19: 1177- 83.
- Chang-Gue, S ., Seung-Hyun, H., Jung-Hyo, C., Jang-Woo, S., Chin-Ho, C., Yeon-Weol, L., Chong-Kwan, C.**(2003). Induction of hemopoiesis by saenghyuldan, a mixture of *Ginseng radix*, *Paeoniae radix alba*, and *Hominis placenta* extracts. *Act. Pharmacol. Sinica.* 24: 120–126.

- Cheema, N. M., Muhammad, A., Ghulam, Q., Malik, A. R.** (2010). Characterization of castor bean genotypes under various environments using SDS6PAGE of total storage proteins. *Pak. J. Bot.* 42(3): 1797-1805.
- Cindy, L., Dick, A., Rial, R., Tom, M., John, G** (2007) . Barriers to Commercialization of a Castor Cultivar with Reduced Concentration of Ricin. *Issues in new crops and new uses* .pp: 99-100.
- Clarke, E.G.C., Clarke, M.L.** (1977). Veterinary Toxicology. Ed Cassel and Collier Macmillan, London, pp: 268–277.
- Collier, J., Maggie, B.** (2002). How to respond to abnormal liver function tests. *Clinic. Med* . 2(5) :406-409.
- Coopman, V., Marc, D. L., Cordonnier, J., Werner, J.**(2009) . Suicidal death after injection of a castor bean extract (*Ricinus communis* L.). *Forensic Sci. Internatl.* 189: e13–e20.
- Coulibaly, F.A., Djyh, B.N., Doumbia, I., Yapi, H.F ., Djaman, A.J.** (2010). Évaluation des marqueurs sériques enzymatiques du coeur chez les lapins traités par *Phyllanthus amarus* (Euphorbiacées). *Phytothér.* 8 : 348–352.
- Couplan, F., Styner, E.** (1994). Guides des plantes sauvages: comestibles et toxiques (1994), Paris, pp :367-368.
- Despott, E., Mario, J. C.** (2004). A Case of Accidental Ricin Poisoning. *Malta Med.* 16(4) :39-41.
- Dimitrios, T., Isabelle, B.** (2006). Appréciation de la fonction rénale: créatininémie, urée et filtration glomérulaire. *For. Med. Suis.* 6 : 414–419.
- Dirk, P.B., Yolanda, B. R ., Wim, C. Hop., Karlien, C., Eiske, M. D.** (2010). Reference values for serum creatinine in children younger than 1 year of age. *J. Pediatr. Nephrol.* 25 : 2107–2113.
- Dubourg, L.** (2001). Nouvelles explorations de la fonction rénale. *Arch. Pédiatr.* 8(2): 308-310.
- Dugan, G.M., Gumbmann, M. R., Mendel, F.** (1989). Toxicological evaluation of Jimson weed (*Datura stramonium*) seed. *Fd. Chem. Toxic.* 27(8):501-510.
- Duvaldestin, P., Agostini, M. M.** (1999).Anesthésie et insuffisance rénale (collection d’anesthésie de réanimation et d’urgences). éd. franç. France. Elsevier. pp: 59-87.
- Fenton, R.A ., Mark, A. K** (2007). Urea and Renal Function in the 21st Century: Insights from Knockout Mice. *J. Am. Soc. Nephrol.* 18: 679–688.
- Frank, C.L. U.** (1992). Toxicologie, Données générales procédures d’évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris. pp: 73- 202.
- Franz , D. R., Nancy, K. J.** (1997). Ricin Toxin. *Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare*, (Washington, DC: Borden Institute, Walter Reed Army Medical Center), Chapter 32: 631-642.

- Frenoy, J., Tran, A., Bourrillon, R.** (1986). Structure and stability of Ricinus communis hemagglutinin. *Biochem. J.* 240: 227–231.
- Garba, A, I** (2006). Production of Detergent from Castor Oil. *Pract. Technol.* 9:153-160.
- Garber, E. A. E.** (2008). Toxicity and Detection of Ricin and Abrin in Beverages. *J. Fd Protect.* 71(9) :1875–1883.
- García, J. J.G ., Bartolomeá –zavala., Del MAR, M .T., Barceloá –Munãoz, J.M ., Fernaã, S ., Negro-Carrasco, M.A., Carmona-Bueno, M.J ., Vega-Chicote, J.M ., Munãoz-Romaã, G ., Palacios-Pelaãez, R ., Cabezudo-artero ., Martiãnez-Quesada, J.** (1999). Pollinosis to Ricinus communis (castor bean): an aerobiological, clinical and immunochemical study. *Clin. Experim. Allerg.* 29: 1265- 1275.
- Garland, T., Bailey, E. M.** (2006) Toxins of concern to animals and people. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 25(31):341-351.
- Gerard, A., Amber, W., Pablo, D. R., Agnes, P ., Jacques, R., Paul, K.** (2008) .Worldwide genotyping of castor bean germplasm (Ricinus communis L.) using AFLPs and SSRs. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 55:365–378.
- Geubel , A.P., Rahier, P.** (2006).Toxicité hépatique des médicaments : le point de vue du clinicien., et du pathologiste. *Act. Endoscop.* 36(3):315-323.
- Górnicki. A.** (2008).The hemolysis kinetics of psoriatic red blood cells. *Blood Cells, Molecul. Diseas.* 41 :154–157.
- Grace, Q. C., Charlotta, T., Xiaohua, H., Tasha, N., Thomas, A. M., Laudencia-Chinguanco.D.** (2007).Expression Profiles of Genes Involved in Fatty Acid and Triacylglycerol Synthesis in Castor Bean (Ricinus communis L). *JAOCS Lipids.* 42: 263–274.
- Grace, Q. C., Xiaohua, H ., Lucy, P. L., Thomas, A. M.** (2004).2S Albumin Gene Expression in Castor Plant (*Ricinus communis* L.). *JAOCS.* 81(9):867–872.
- Hammiche, V., Khadra, M.** (2006).Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N’ajjer. *J. Ethnopharmacol.* 105: 358–367.
- Harley, S., Beevers, H.** (1986). Lectins in Castor Bean Seedlings. *Plant Phys.* 80: 1-6.
- Hassan, I., Deray.G.** (2004).Évaluation de la fonction rénale. *J. Oncol.* 6: 279-28.
- Hogge, L.R ., Taylor, D.C ., Reed . D.W., Underhill, E.W.** (1991).Characterization of Castor Bean Neutral Lipids by Mass Spectrometry/Mass Spectrometry. *JAOCS.* 68: 863-868.
- Ilavarasan, R., Moni, Subramanian, M ., Venkataraman** (2006).Anti-inflammatory and free radical scavenging activity of *Ricinus communis* root extract. *J. Ethnopharmacol.* 103: 478–480.

Références bibliographiques

- Jackson , L. S., Willam, H., Tolleson ., Stuart, J., Chirtel.** (2006). Thermal Inactivation of Ricin Using Infant Formula as a Food Matrix. *J. Agric. Fd. Chem.* 54: 7300-7304.
- João, C.M. B ., Sabel, C.F.R. F ., Beatriz, P.P. O., José, A.P.** (2008). Antioxidant activity and bioactive compounds of ten Portuguese regional and commercial almond cultivars. *Fd. a Chem. Toxicol.* 46: 2230–2235.
- Jonathan, D., Lucy, J. W., Gareth, D. G.** (2009). Inflammatory gene expression in response to sub-lethal ricin exposure in Balb/c mice. *Toxicol.* 264: 119–130.
- Jumat, S ., Nadia, S ., Emad, Y** (2010). Biolubricant basestocks from chemically modified ricinoleic acid. *J. King Saud University (Science)* .xxx: xxx–xxx.
- Kadambi , K., Dabral, S.N.**(1955) The silviculture of *Ricinus communis* L. *Ind. Forester.* 8(1):53-58.
- Kalpna, S., Sweety, G., Mathur, P.K.**(2010) Investigation on ethnomedicinal plants of district firozabad. *J. Adv. Lab. Res. Biol.* 1(1): 83- 87.
- Kang , S .S., Geoffrey, A. C., Djaja, Soejarto, D ., Harry, H. S. F.**(1998). Alkaloids and Flavonoids from *Ricinus communis*. *J. Nat. Prod.* 48(1):155–156.
- Kenigsberg , J. D., Agnès, B., Eric A.E. G** (2008). Rapid detection of ricin in cosmetics and elimination of artifacts associated with wheat lectin. *J. Immuno.l Meth.* 336: 251–254.
- Kenneth, J. B ., David, R. K.**(2001). Muscatine Receptor Agonists and Antagonists. *Mol.* 6: 142-193.
- Khan, M. I ., Avadhessa, S.** (1998) .Chemical Modification Studies on *Ricinus communis* (Castor Bean) Agglutinin. *Eur. J. Biochem.* 126: 495-500.
- Korcheva, V., Wong, j ., Meghan, Li., David, B. J ., Mihail, S. I ., Bruce, M** (2007). Role of apoptotic signaling pathways in regulation of inflammatory responses to ricin in primary murine macrophages. *Mol. Immunol.* 44: 2761–2771.
- Ladin, B.E ., Elizabeth, E. M ., Amy, C. H ., Kevin, C. H ., Nanda, T., George, L. L ., Houston , L.L ., Robert, E. W.**(1987). Characterization of a cDNA encoding ricin E, a hybrid *ricin-Ricinus communis* agglutinin gene from the castor plant *Ricinus communis*. *Plant Mol. Biol.* 9:287-295.
- Lagnika, L.**(2005). Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse doctorat .Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Lakshmana, P.V. R ., Jayaraja, R ., Bhaskara, A.S.B ., Kumara, O ., Bhattacharyaa, R ., Parag, S., Dashb, P. K ., Vijayaraghavana, R.**(2005). Mechanism of ricin-induced apoptosis in human cervical cancer cells. *J. Biochem. Pharmacol.* 69: 855–865.
- Lameire, N., Van Biesen, W., Vanholder, R.**(2005). Acute renal failure. *The Lancet.* 365 : 417–430.

Références bibliographiques

- Lendent, C., Mairesse, M.**(2008).Rural allergy. *Rev. Franç. Allergol. Immunol. Clin.* 48(2):109-110.
- Leo, W. D. V. R., Vancutsem, J., Jan Sten, J.** (2009).A survey on the presence of undesirable botanical substances in feed in the European Union. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*13(S):33-38.
- Li, X.R., Wang, L.J., Li, Y.H., Xu, Y.X., Chen, Y., Ruan, J.X., Xue, M.**(2008). Effect of danxiangfang on reducing serum lipids level in rat model with hyperlipidemia induced by high lipid diet. *Experim. Trad. Med. Form.* 14: 42–45.
- Lin Jiann-Tsyh., Carol, L. W., Olivier, J. L., McKeon, T.A., Allan, E. S., Goodrich-Tanrikulu, M., Singleton, J. A., Carol, A. H.**(1998). Biosynthesis of Triacylglycerols Containing Ricinoleate in Castor Microsomes Using 1-Acyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine as the Substrate of Oleoyl-12-hydroxylase. *Lipids.* 33(1):59-69.
- Lin Jiann-Tsyh., Jennifer, M. C., Chen, P., Lucy, P. L., McKeon, T.A** (2002).Molecular Species of PC and PE Formed During Castor Oil Biosynthesis. *Lipids.* 37(10):991-995.
- Litchfield, J.J., Wilcoxon, F.** (1985). A simplified method of evaluating dose effective experiment. In Kalayanova. Sofia.
- Little, E.L., Woodbury, R.O., Wadsworth, F.H.** (1974). Trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Agriculture Handbook. 449. U.S. Depart. Agricul. Forest. Serv. Washington, DC. 2.
- Liu, L., Hongwei, G., Jiping, L., Ying, D., Ning, L., Jiayu, W., Wensen, L., Yucheng, S., Ming Xu.** (2009) Analysis of Intestinal Injuries Induced by Ricin *in Vitro* Using SPR Technology and MS Identification. *Int. J. Mol. Sci.* 10: 2431-2439.
- Lombard, S., Helmy, M. E., Piéroni, G.**(2001) Lipolytic activity of ricin from *Ricinus sanguineus* and *Ricinus communis* on neutral lipids. *Biochem. J.* 358: 773- 781.
- Lorenzo, F., Lynne, M. R.** (1998) The enemy within: ricin and plant cells. *Experim. Bot.* 49 (326):1473–1480.
- Mabley, J.G., Pacher, P., Csaba, S.** (2009).Activation of the Cholinergic Antiinflammatory Pathway Reduces Ricin-Induced Mortality and Organ Failure in Mice. *Mol Med.*15 (5-6): 166-172.
- Madrahimov, N., Olaf, D., Christoph, B., Uta Dahmen.** (2006).Marginal Hepatectomy in the Rat From Anatomy to Surgery. *Ann. Surg.* 244(1):89- 98.
- Malathi, B., Ramesh, S., Venkateswara, K. R., Dashavantha, V. R.** (2006). *Agrobacterium*-mediated genetic transformation and production of semilooper resistant transgenic castor (*Ricinus communis* L.). *Euphytica.* 147: 441–449.
- Malik, R., Selden, C., Hodgson, H.**(2002).The role of non-parenchymal cells in liver growth. *Semin. Cell. Develop. Biol.* 13:425-431.
- Marchall, W.J., Bangert, S.K.** (2004) Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic.5^{ème} ed .

Références bibliographiques

- Mário, M., Espírito, S.** (2007). Secondary seed dispersal of *Ricinus communis* Linnaeus (Euphorbiaceae) by ants in secondary growth vegetation minas gerais. *R. Árvore Viçosa-MG*. 31(6):1013-1018.
- Markus, G. A. H. H., Melanie S., Ewai.D, K., Karlheinz, S.** (1998). Ricinine In Phloem Sap of *Ricinus Communis*. *Phytochemist*. 47(8):1461 1463.
- Maroyi, A.**, 2007. *Ricinus communis* L. In: van der Vossen, H.A.M. & Mkamilo, G.S. (Editeurs). PROTA 14: Vegetable oils/Oléagineux. PROTA, Wageningen, Pays Bas.
- Mboui –Ondo, S.E.** (2003). Huile de palmiste traditionnelle .Thèse de docteur en pharmacie .pp : 75- 76. ??????????????????????
- Mckeen1, T.A., Chen, G.Q., Lin, J. T.** (2000) Biochemical aspects of castor oil biosynthesis. *Biochem. Soc. Transact*. 28(6): 972-974.
- Meerts, I.A.T.M., Verspeek-Rip, C.M., Buskens C.A.F., Keizer, H.G., Bassaganya-Riera, J., Jouni, Z.E., Van Huygevoort, A.H.B.M., Van Otterdijk, F.M., E.J. Van De, W.** (2009). Toxicological evaluation of pomegranate seed oil. *Fd. Chem. Toxicol*. 47: 1085–1092.
- Mehta, A.K., Arora, N., Gaur, S.N., Singh, B.P.** (2009). Acute toxicity assessment of choline by inhalation, intraperitoneal and oral routes in Balb/c mice. *Regul. Toxicol. Pharmacol*. 54 : 282–286.
- Meier, P., Dayer, E., Donzé, N.** (2009). Les marqueurs de la fonction rénale et leurs valeurs prédictives. *ICHV*. 11(9) .
- Meneghettia, S.M. P., Mario, Meneghettia, R., Carlos, R.W., Eid, C. S., Gilvan, E.S. L., Masurquede, A. C., João Inácio Solettib., Sandra, H.V. C** (2006). Ethanolysis of Castor and Cottonseed Oil: A Systematic Study Using Classical Catalysts. *JAOCS*. 83(9) : 819-822.
- Moffat, D. B., Fourman, J.** (1963). The vascular pattern of the rat kidney. *J. Anat. Lond*. 97(4):543-553.
- Montfort, W., Jesus, E. V., Arthur, F. M., Stephen, R. E., Betsy Katzing., Earl, R., Nuyhen, H. X., Ron Hamlin., Robertus, J.D.** (1987). The Three-dimensional Structure of Ricin at 2.8 Å. *Biol. chemist*. 262(11):5398-5403.
- Mouser, P., Filigenzi, M.S., Birgit, P., Valerie Johnson., Margaret, A. S.M. B., Hooser.** (2007). Fatal ricin toxicosis in a puppy confirmed by liquid chromatography/mass spectrometry when using ricinine as a marker. *J. Vet. Diagn. Invest*. 19: 16–220.
- Mukinda, J.T., Syce, J.A.** (2007). Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *J. Ethnopharmacol*. 112: 138–144.
- Nazan Deniz Koç.** (2006). The comparative Recherche of Kidneys of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, walbaum 1792) and Rat (*Rattus norvegicus*), Berkehnout 1769) in Morphometric and Histologic Manner. *Biol. sci*. 9(3):445-447.
- N'guessan, K., Kouassi Konan, E., Kouadio, K.** (2009). Ethnobotanical Study of Plants Used to Treat Diabetes, in Traditional Medicine, by Abbey and Krobou People of Agboville (Côte-d'Ivoire). *Amer Sci Res*. 4: 45-58.

Références bibliographiques

- Nicholas, A. J., Alessandra Di Cola., Catherine, J. M ., Michael Lord, J ., Aldo, C., Lorenzo, F., Lynne, M. R.** (2006) .The N-terminal Ricin Propeptide Influences the Fate of Ricin A-chain in Tobacco Protoplasts. *J. Biol. Chem.* 281(33): 23377–23385.
- O’Connell , K.P., Menuey, B.C., Foster, D.** (2002). Issues in preparedness for biologic terrorism: a perspective for critical care nursing. *AACN Clin.* 13: 452-69.
- Ogunleye, O.O., Oyawale, F.A., Suru, E.** (2008) .Effects of Castor Oil on the Physical Properties of Polyether Based Flexible Polyurethane Foam. *J. Adv. Nat. Appl. Sci.* 2 (1): 10-15.
- Olsnes, S., Refsnes, K., Pihl, A.** (1974). Mechanism of action of the toxic lectins abrin and ricin. *Nat.* 249:627-631.
- Pane Eric, F. ., Carol Bucking., Monika, P., Chris, M. W.** (2005) .Renal function in the freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following acute and prolonged exposure to waterborne nickel. *Aquat. Toxicol.* 72: 119–133.
- Paul, C.J. Van, R., Lynell, K. T.** (1999) .The contribution of extrafloral nectar to survival and reproduction of the predatory mite *Iphiseius degenerans* on *Ricinus communis*. *Exper. Appl. Acarol.* 23: 281–296.
- Payal, S., Khan, M., Kumar, O., Vijayaraghavan ,R.** (2010).Purification, characterization and toxicity profile of ricin isoforms from castor beans. *Fd Chem. Toxicol.* 48 : 3171–3176.
- Pellet, M.V.** (1977). Le milieu intérieur. Le rein. Physiologie humaine. 2^{ème} partie. Sime p. Editions Villeurbanne. Paris.
- Phillips, R. A.** (1949). Kidney. *Ann. Rev. Physiol.* 11: 493-526.
- Pitts , R.F** (1976) . Physiologie du rein et du milieu intérieur. 2^{ème} éd, Paris ,pp 01-03.
- Pohl, P., Sapar, M. S., Elena, E., Veronika, Y.E., Igor, I. A ., Alexander, G. T.** (1998). Dehydration of Model Membranes Induced by Lectins from *Ricinus communis* and *Viscum album*. *Biophys.l J.* 75 : 2868–2876.
- Polvèche, V.** (1996) .La culture de ricin en Europe . *Ingénieries-EAT.* 6 : 49-58.
- Poonam, S., Prachi, A., Krishna Murali, Y., Vibha, T.** (2008) .Antidiabetic activity of 50% ethanolic extract of *Ricinus communis* and its purified fractions. *Fd Chem. Toxicol.* 46: 3458–3466.
- Puri, M ., Kaur, I ., Kanwar, R.K ., Gupta, R.C ., Chauhan, A ., Kanwar, J.R.** (2009). Ribosome Inactivating Proteins (RIPs) from *Momordica charantia* for Anti Viral Therapy. *Curr. Mol. Med.* 9 (9): 1080-1094.
- Quetin-Leclercq.J.** (2002).Le Voyage Insolite de La Plante Au Médicament. *Pharm. Belg.* 57:13-20.
- Ramiro, E. T.** (2007) .Essentials of Equine Renal and Urinary Tract Physiology. *Vet. Clin. Equine.* 23: 533–561.
- Ramprasad, R ., Bandopadhyay, R.** (2010) .Future of *Ricinus communis* after completion of the draft genome sequence .*Curr. sci.* 99(10): 1316-1318.

- Rao, M. U., Sreenivasulu, M., Chengaiah, B., Jaganmohan Reddy, K., Madhusudhana Chetty, C.** (2010). Herbal Medicines for Diabetes Mellitus: A Review. *Int. J. Pharm. Tech. Res.* 2(3): 1883-1892.
- Rauber, A. Heard, J.** (1985). Castor bean toxicity re-examined: a new perspective. *Vet. Hum. Toxicol.* 27: 498-502.
- Raza, M., Al-Shabanah, O.A., El-Hadiyah, T.M., Al-Majed, A.A.** (2002). Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss *albino* mice. *Scientia Pharmaceutica.* 70: 135–145.
- Reilly, R.F., David, H. E.** (2000). Mammalian Distal Tubule: Physiology, Pathophysiology, and Molecular Anatomy. *Physiol. Rev.* 80(1): 277-306.
- Rushing, Rene´e, S., Michelle, L. S., Martha, L. H.** (2009) .Translocation of ricin across polarized human bronchial epithelial cells. *Toxicon.* 54: 184–191.
- Sacher, R.A., McPherson, R.A.** (1991) .Widmann’s Clinical Interpretation of Laboratory Test. Pennsylvania, USA, pp: 16–443.
- Sailaja, M ., Tarakeswari, M ., Sujatha, M.** (2008). Stable genetic transformation of castor (*Ricinus communis* L.) via particle gun-mediated gene transfer using embryo axes from mature seeds. *Plant Cell. Rep.* 27: 1509–1519.
- Schep , L. J ., Wayne, A. T ., Grant, A. B ., Michael, D. B.** (2009) .Ricin as a weapon of mass terror - separating fact from fiction. *Environ. Internat.* 35: 1267–1271.
- Shaoan, F., Feng, W., Martiniuk, F ., Martha, L . H ., Andrew Ellington, D ., Kam-Meng Tchou-Wong.** (2008) Protective effects of anti-ricin A-chain RNA aptamer against ricin toxicity. *World J. Gastroenterol.* 7(14): 6360-6365.
- Sharma, S., Satish, B., Avadhesha, S., Sunil Kumar, P.** (1998). Evaluation of the stoichiometry and energetics of carbohydrate binding to *Ricinus communis agglutinin*: a calorimetric study. *J. Biochem.* 333: 539-542.
- Sigal, S.H., Brill, S., Fiorino, A.S.** (1992). Reid L.M. The liver as a stem cell lineage system. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 263:139-148.
- Silva, E. C. D ., Silva, M. G. A. D ., Meneghetti, S. M. P ., Machado, G ., Alencar, M. A. R. C ., Hickmann, J. M ., Meneghetti, M. R.** (2008) .Synthesis of colloids based on gold nanoparticles dispersed in castor oil. *Nanopart Res.* 10: 201–208.
- Slichter, S.J.**(2004). Relationship between platelet count and bleeding risk in thrombocytopenic patients. *Transf. Med. Revi.* 18: 153–167.
- Stephen Kardasz.** (2009). The function of the nephron and the formation of urine. *Anaesthes. Intens. Care Med.* 10(6): 265-270.
- Strocchi, P ., Barbara, D., Irene , P., Michela, F., Emilio, C., Fiorenzo , S.** (2005). Lesions Caused by Ricin Applied to Rabbit Eyes. *IOVS.* 46(4): 1113-1116.

- Sujatha, M., Reddy, T.P., Mahasi, M.J.** (2008) .Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis L*) and *Jatropha curcas L*. *Biotechnol. Adv.* 26(5): 424-435.
- Sule, M. I., Sani, U. M.** (2008) .Isolation of ricinine from methanol extracts of three different seed varieties of *Ricinus communis L* (Euphorbiaceae). *Pharmaceut. Sci.* 7(1): 114 – 118.
- Tarloff, J.B; Lawrence, H.L.** (2004).Toxicology of kidney.3^{ème} ed , Lash ed, pp4-5.
- Teo, S., Stirling, D., Thomas, S., Hoberman, A., Kiorpes, A., Khetani, V.** (2002) .A 90-day oral gavage toxicity study of d-methylphenidate and d,l-methylphenidate in Sprague-Dawley rats. *Toxicol.* 179: 183–196.
- Thapa, B.R and Anuj, W.** (2007). Liver Function Tests and their Interpretation. *Ind. J. Pediatr.* 74(7): 663-671.
- Thophon, S., Kruatrachue, M., Upatham, E.S., Pokethitiyook, P., Sahaphong, S., Jaritkhuam, S.** (2003) .Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environ. Pollut.* 121: 307–320.
- Trivedi, R.K., Vasishtha, A.K.** (1988). Low Pressure Hydrogenation of Castor Oil. *JAOCS.* 65: 1467-1469.
- Tulsawani, R.** (2010). Ninety day repeated gavage administration of Hippophae rhamnoides extract in rats. *Fd. Chem. Toxicol.*48: 2483–2489.
- Udud, E.V., Zhdanov, V.V., Gur'iantseva, L.A., Minakova, M.I., Dygai, A.M.** (2005) .Mechanisms of the erythropoiesis-stimulating effect of skullcap (*Scutellaria baicalensis*) extract. *Ekspierimental'naia i Klinicheskaia Farmakologija.* 68, 43–45.
- Vitetta, E.S., Smallshaw, J.E., Coleman, E., Jafri, H., Foster, C., Munford, R., Schindler, J** (2006). A pilot clinical trial of a recombinant ricin vaccine in normal humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 2268-2273.
- Volker, V.** (2003). Tubuloglomerular Feedback and the Control of Glomerular Filtration Rate. *News Physiol. Sci.* 18: 169- 174.
- Volkshard, S., Nogueira, D.S.** (2007) .Castor oil as a fuel: Facts, Perspectives and Risks. *Engenhari Agricultur.* 15(2):168-172.
- Wang Xu., Wei Zhang., Yulian Wang., Dapeng Peng., Awais Ihsan., Xianju Huang., Lingli Huang., Zhenli Liu., Menghong Dai., Wen Zhou., Zong-Hui Yuan.** (2010). Acute and sub-chronic oral toxicological evaluations of quinocetone in Wistar rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 58 : 421–427.
- Wesch, J., Andrzej, R., Olsnes, S.** (1999). Dependence of Ricin Toxicity on Translocation of the Toxin A-chain from the Endoplasmic Reticulum to the Cytosol. *J. Biol. Chem.* 274(48): 34443–34449.
- Willianson, E.M., Okpako, D.T., Evans, F.J.** (1996). Selection, Preparation and Pharmacological Evaluation of Plant Material England. John Wiley

Références bibliographiques

Witchard , M. (1997). Paclobutrazol Is Phloem Mobile in Castor Oil Plant (*Ricinus communis* L). *J. Plant Grow. Regul.* 16: 215–217.

Wood Dan.,Tamsin Greenwell. (2008). Surgical anatomy of the kidney and ureters. *Ren. urol.* 26(4): 133-135.

Zafrani, E.S., Bernuau , D., Feldmann, G. (1984) .Peliosis-like ultrastructural changes of the hepatic sinusoids in human chronic hypervitaminosis A: report of three cases. *Hum. Pathol.* 15: 1166-1170.

Zhang Ying., Yutaka, Y., Bo Xu., Masaaki, N., Masahito, M.,Eishin, Y .,Tadashi , Y. (2007).Localization of Tyrosine-Phosphorylated Proteins in the Normal Rat Kidney. *Acta Med. Biol.* 55(1): 1-7.

Zieba, A. L., Matachowski ., Lalik, E ., Drelinkiewicz , A. (2009) .Methanolysis of Castor Oil Catalysed by Solid Potassium and Cesium Salts of 12-Tungstophosphoric Acid. *Catal. Lett.* 127: 183–194.

Ziyu Dai., Gerald, E. E., Maurice S. B. K. (1992) .Control of Photosynthesis and Stomatal Conductance in *Ricinus communis* L. (Castor Bean) by Leaf to Air Vapor Pressure Deficit. *Plant Physiol.* 99: 1426-1434.