



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique  
جامعة البليدة 1  
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologies et Agro-Ecologie

### *Mémoire*

*En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique*

### *Option*

*Biotechnologie et Pathologie Moléculaire*

### *Thème*

*Etude de l'effet thérapeutique fertilisant d'une plante de la famille  
de lamiacées : étude histologique des follicules ovariens chez des rats  
wistar*

*Présenté par :*

*Melle. TERRANTI Aicha.*

*Melle. LABED Nesrine*

*Devant le Jury :*

<i>Mme. BENAZOUZE F</i>	<i>MAITRE ASSISTANT A</i>	<i>Univ , Blida1-SNV</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mme. ZATRA Y</i>	<i>MAITRE CONFERENCE B</i>	<i>Univ , Blida1-SNV</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mme. ZERMANE F</i>	<i>PROFESSEUR</i>	<i>Univ. Blida1-FSc</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme. DJAZOULI ALIM F.Z</i>	<i>PROFESSEUR</i>	<i>Univ , Blida1-SNV</i>	<i>Co-Promotric</i>

*Session 2021 / 2022*

# Dédicace

---

## Je dédie ce mémoire

A Ma mère **Mme NAIT HAMOUD Saïda**, ma fierté , tu ne cesses de prier pour moi jours et nuits. tu n'as jamais baissé les bras, même dans les moments les plus difficiles . Tu m'as toujours assistée et soutenue, saches que tu es aussi la cheville ouvrière de ce travail et soit éternellement remerciée. la meilleure. Je t'aime maman.

A Mon père **Mr TERRANTI Med Akli** , ton vœux se réalise aujourd'hui grâce à tes multiples efforts et sacrifices consentis à mon égard depuis ma naissance jusqu'à ce jour. Tu as cru en moi, je ne trouve pas les mots pour exprimer ma reconnaissance tu es le meilleur papa du monde. Je t'aime papa.

A Ma petite sœurs **Inès** , et mon frère **Ilyes** , merci pour votre soutien, vos encouragements, vos prières et votre amour.

A ma tante **Dr TERRANTI Samia**, pour ton aide. Reconnaissance infinie.

A lame de ma grand mère **Jiddah Zahra**, je te porte dans mon cœur et je t'aime très fort grand-mère. Que dieu t'accueille dans son vaste paradis.

A ma copine **Chaïma** , merci pour ce lien fort d'amitié et de fraternité qui nous lie depuis des années.

A mon binôme **Nesrine**, merci Ce travail est le fruit de la complicité qui nous lie.

A mes chers cousins et cousines.

**Terranti Aicha**

# Dédicace

---

Je remercie Allah et je lui rends grâce de m'avoir donné foi et volonté pour la réalisation de ce travail.

Je dédie ce travail à...

A Ma très chère Maman **BOUAKKAZ KHEIRA**

Vous m'avez toujours poussé et motivé dans mes études, j'espère que vous appréciez ce geste humble, vous m'avez doté d'une éducation digne, votre amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui, je ferai toujours mon mieux.

A Mon très cher Père **LABED BRAHIM**

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond respect pour les sacrifices que vous avez déployé pour mon instruction. Je vous remercie pour votre soutien dans les moments difficiles depuis mon existence. Quoi que je fasse je ne saurais comment vous remercier, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse vous offrir.

Que le grand Dieu vous protège et vous donne santé et longue vie.

A MA TANTE KHALIDA qui a cru en moi. Merci pour votre soutien éternel

A Mes sœurs INES, ANFEL ET LA PETITE NAILA

A Ma binôme **MIRA** Nous avons vécu et partagé tellement de moments et d'événements ensemble merci pour ta patience

A la doctorante **ZINEB**

A Ma **NIH**, *c'est le hasard qui fait la famille, mais c'est le cœur qui fait les amis.*

**LABED Nesrine**

# Remerciement

Pour commencer, nous souhaiterons remercier les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail. Un grand merci à **Mme BENAZOUZ** la présidente de jury, ainsi qu'à **Mme ZATRA Yamina** l'examinatrice de jury.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre directrice de ce mémoire, **Madame la professeur ZERMANE Faiza**, Merci de nous avoir encadré, orienté, aidé et nous offert l'opportunité de faire cette recherche qui a également enrichit notre savoir et savoir-faire. Que vous trouviez ici le témoignage de notre profond respect et de notre grande gratitude.

Nous tenons à exprimer toute nos reconnaissances à notre co-promotrice **Madame la professeur DJAZOULI ALI F.Z** pour le temps que vous avez consacré à nous apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche. Merci en particulier pour votre accueil et vos précieux conseils.

Nous désirons aussi remercier **Messieurs le Dr DJELLOULI et Madame NABI Ikram**, pour leur soutien et leur accompagnement lors de notre étude in vivo au laboratoire de pharmacologie ainsi que leur expérience personnelle.

Un grand merci également pour la doctorante **SALEM Zineb** d'avoir eu la patience de répondre à nos questions, de sa disponibilité.

Merci à ***Madame HAMDANI Karima*** pour nous avoir donné l'occasion extraordinaire de réaliser notre travail sur terrain, Grâce à son extrême compétence dans le domaine de l'histologie et son esprit de coopération, et surtout sa confiance et sa patience.

Nous remercions également toute l'équipe pédagogique et les intervenants professionnels responsables de notre formation, pour la richesse et la rigueur de leur enseignement tout au long de nos études au département de biotechnologie à l'université de Blida1.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à nos familles et nos parents, on ne vous remerciera jamais assez pour votre soutien et vos encouragements tout au long de la réalisation de ce mémoire.

# SOMMAIRE

DEDICACE.....	ii
REMERCIEMENT.....	iii
TABLE DES MATIERE.....	iv
LISTE DES FIGURES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES ABREVIATIONS.....	vii
RESUME.....	viii
ABSTRACT.....	ix
ملخص.....	x
INTRODUCTION.....	01

## I. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

1.1. Aperçu sur l'utilisation des plantes médicinales.....	03
1.1.1. La Phytothérapie.....	03
1.1.2. Plante médicinale.....	03
1.2. Généralités sur la plante <i>Ajuga Iva</i> .....	04
1.2.1. Description botanique de l'espèce <i>Ajuga Iva</i> .....	04
1.2.2. Systématique de l'espèce <i>Ajuga Iva</i> .....	05
1.2.3. Répartition géographique et habitat de l'espèce <i>Ajuga Iva</i> .....	06
1.2.4. Nomenclature de l'espèce <i>Ajuga Iva</i> .....	07
1.2.5. Propriété de la plante <i>Ajuga Iva</i> .....	07
1.2.5.1. Stéroïdes.....	07
1.2.5.2. Terpénoïdes.....	08
1.2.5.3. Flavonoïdes.....	08
1.2.5.4. Acide gras.....	08
1.2.6. Toxicité de l'espèce <i>Ajuga Iva</i> .....	09
1.2.7. Usage traditionnelle et propriété pharmacologique de l'espèce <i>Ajuga Iva</i> .....	10
1.2.8. Les travaux réalisés sur l'espèce <i>Ajuga Iva</i> .....	10
1.2.8.1. Activité Antidiabétiques.....	11
1.2.8.2. Activité Anti Hypercholestérolémique.....	11
1.2.8.3. Activité Anti oxydante.....	11
1.2.8.4. Activité Antimicrobienne.....	11
1.2.8.5. Activité Analgésique.....	11
1.2.8.6. Activité Vasorelaxante.....	12
1.2.8.7. Activité Antiviral.....	12

1.2.8.8.	Activité insecticide .....	12
1.3.	Physiologie de l'Appareil reproducteur de la ratte.....	13
1.3.1.	Evolution morphologique et moléculaire des follicules.....	14
1.3.2.	Régulation de la folliculogénèse.....	19
1.3.3.	Histologie de l'ovaire de la ratte .....	21
1.4.	Aperçus sur la fertilité féminine.....	23
1.4.1.	Introduction .....	23
1.4.2.	Définition.....	23
1.4.3.	Causes d'infertilité .....	23
1.4.3.1.	L'indice de masse corporelle (IMC).....	24
1.4.3.2.	Le stress .....	24
1.4.3.3.	Le tabac .....	25
1.4.3.4.	L'alcool .....	25
1.4.3.5.	Les médicaments .....	25
1.4.4.	Les pathologies lié a l'infertilité .....	25
1.4.4.1.	L'insuffisance ovarienne .....	26
1.4.4.2.	Dysfonctionnement hypophysaire ou folliculaire.....	26
1.4.4.3.	Fertilité et infections sexuellement transmissible(IST).....	26
1.4.4.4.	Les fibromes utérines .....	26
1.4.5.	Les examens de diagnostic .....	26
1.4.5.1.	L'échographie pelvienne .....	26
1.4.5.2.	La courbe de température .....	27
1.4.5.3.	Les dosages hormonaux.....	27
1.4.5.4.	L'examen de la glaire ou mucus cervical.....	27
1.4.5.5.	L'hystérosalpingographie.....	27
1.4.5.6.	La cœlioscopie.....	28
1.4.6.	Traitement de la stérilité féminine.....	28
1.4.6.1.	Médicamenteux.....	28
1.4.6.2.	chirurgicales .....	29

## II. MATERIELS ET METHODES

2.1.	Introduction.....	30
2.2.	Présentation des lieux d'accueil.....	30
2.3.	Protocoles d'extraction des huiles essentielles.....	30

2.3.1.	Présentation de la plante .....	30
2.3.2.	Procédé d'extraction.....	30
2.4.	Caractérisation de l'huile essentielle.....	31
2.4.1.	Spectrophotométrie UV Visible.....	31
2.5.	Evaluation de la toxicité aigüe de l'extrait obtenu.....	32
2.5.1.	Administration des doses.....	32
2.5.2.	Test limite (acute orale toxicity – up and down – procedure(UDP)	32
2.5.3.	Mode opératoire.....	32
2.6.	Evaluation de l'activité fertilisante in vivo.....	32
2.6.1.	Principe.....	33
2.6.2.	Protocole de la dissection.....	34
2.7.	Techniques d'étude histologique.....	36
2.7.1.	Prélèvement et fixation.....	36
2.7.2.	Déshydratation.....	37
2.7.3.	Eclaircissement et Imprégnation à la paraffine.....	37
2.7.4.	Inclusion et confection des blocs de paraffine.....	37
2.7.5.	Confection des coupes histologique (microtomie).....	38
2.7.6.	Etallement et collage des coupes sur des lames de verre.....	39
2.7.7.	Coloration.....	40
2.7.8.	montage .....	40

### **III. RESULTATS ET DISCUSSIONS**

3.1.	Introduction.....	42
3.2.	Les résultats de la caractérisation de l'extrait.....	42
3.2.1.	Teneur en extrait.....	42
3.2.2.	Propriétés organoleptiques de l'extrait.....	42
3.2.3.	Résultats de la spectrophotométrie UV-Visible.	43
3.3.	Résultats de la toxicité aigüe.....	43
3.4.	Résultats de l'évaluation de l'activité fertilisante in vivo.....	44
3.5.	Résultats de l'examen histologique des ovaires femelles traités.....	46

<b>CONCLUSION .....</b>	<b>50</b>
-------------------------	-----------

<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>52</b>
---------------------------	-----------

### **ANNEXES**



# LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Organigramme pour l'étude de la médecine traditionnelle.....	04
Figure 2 : Différentes parties de la plante <i>Ajuga Iva</i> .....	05
Figure 3 : Aspect morphologique d' <i>Ajuga Iva</i> .....	06
Figure 4 : Les différents stades folliculaires.....	16
Figure 5 : Les différents stades du développement folliculaire.....	17
Figure 6 : Durée du recrutement et de la sélection folliculaire chez la femme et la ratte.....	18
Figure 7 : L'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique.....	20
Figure 8 : coupe transversale de l'ovaire par coloration H&E.....	21
Figure 9 : coupe transversale montrant des corps jaune dans une partie de l'ovaire.....	22
Figure 10 : Abaissement du nombre folliculaires en fonction de l'âge .....	24
Figure 11 : Différentes phases de la glaire cervicale.....	28.
Figure 12 : Extrait d' <i>Ajuga Iva</i> .....	31.
Figure 13 : le gavage du rat.....	33
Figure 14 : la dissection de l'animal.....	35.
Figure 15 : les ovaires des rats traités fixés dans le formol 10%.....	36

Figure 16 : les cassettes contenant les ovaires déshydrater.....	37
Figure 17 : les étapes d'inclusion avec l'automate de paraffine fondue.....	38
Figure 18 : Obtention des coupes des ovaires sous forme des rubans de paraffine 5µm.....	39
Figure 19 : étalement du ruban coupé sur les lames dans un bain marie. .....	39
Figure 20 : Coloration hématoxyline- éosine-safran (HES).....	40
Figure 21 : les coupes histologique des ovaires colorier et monter entre lame et lamelle.....	41
Figure 22 : Spectre UV-VIS d'extrait d' <i>Ajuga lva</i> .....	43
Figure 23 : Histogramme montrant l'évolution pondérale des ovaires chez les différents lots des rats.....	46
Figure 24 : coupes transversales des ovaires de rats non traitées par l'extrait d'ecdystéroïde et traitées par clomid .....	47
Figure 25 : Stades folliculaires retrouvés dans les ovaires des animaux traités.....	48

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau .I.1. Déférente nomenclature de l'espèce <i>Ajuga Iva</i> dans la région méditerranéenne.....	07
Tableau .I.2. Traitement de la stérilité féminine.....	29
Tableau III.1. Teneur en extrait.....	42
Tableau III.2. Les caractéristiques organoleptiques d'extrait.....	43
Tableau III.3. Les résultats de la toxicité.....	44
Tableau III.4. Tableau récapitulatif le poids des ovaires des rats non traités par l'extrait d' <i>Ajuga iva</i> .....	44
Tableau III.5. Tableau récapitulatif les poids des ovaires des rats traités par l'extrait.....	45
Tableau III.6. Tableau récapitulatif les poids des ovaires des rats traités par le clomid 50mg.....	45

## LISTE DES ABREVIATION

- A. Iva* : *Ajuga Iva*.
- AMH : Hormone Anti-Müllerienne.
- DL50 : Dose létale médiane.
- FIV : Fécondation in vitro.
- FSH : Hormone folliculostimulante .
- HPLC : La chromatographie en phase liquide.
- HH :Hypothalamo-hypophysair.
- IAC : Insémination avec sperme de conjoint.
- ICSI : Fécondation in vitro avec micromarupulation.
- ISCI : injection intracytoplasmique.
- GnRH : Gonatrophine releasing hormone.
- LC-MS : la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse.
- LH : Hormone lutéinisante.
- LTH : Hormone lutéotrope ou Prolactine.
- NGF : Nerve growth factor.
- PMA : Procréation médicalement assisté.
- TGF  $\beta$  : facteur de croissance transformant.
- UV : Ultrat- violet.

## RESUME

L'infertilité féminine est un problème de santé mondial qui touche des millions de personnes en âge de procréer dans le monde. L'étude réalisée est basée sur l'utilisation d'une plante de la famille de lamiacées : *Ajuga Iva* dans l'intention d'étudier son effet thérapeutique fertilisant.

Selon un protocole d'extraction par macération on a pu extraire l'huile essentielle qui a été analysé par uv-visible et à une longueur d'onde de 243 nm a révélé que les ecdystéroïdes et les flavonoïdes sont détectés. En références des études toxicologiques et durant la période d'observation, l'*Ajuga Iva* semble être sûre est sans effet de toxicité.

Dans cette étude on a choisi trois lots de rats femelles matures : un lot témoin, un lot de référence (traité par le clomid), et un lot traité par l'extrait pour tester l'effet thérapeutique fertilisant de la plante se manifeste initialement par l'augmentation du poids des ovaires des rats traités par l'extrait de la plante en comparant avec celui des ovaires des rats non traités, secondement par une étude histologique des tissus ovariens.

En vue des résultats obtenus, nous avons notées que le poids des ovaires des rats traités par l'extrait contenant les ecdystéroïdes et les flavonoïdes renferme une augmentation expressive de l'ordre de 3 fois supérieure à celui des ovaires non traités.

L'étude histologique des ovaires traités par l'extrait a démontré une croissance de cellules folliculaires volumineuse à taille homogène (follicules cavitaires).

**Mots clés** : *Ajuga Iva*, extrait, Infertilité, Folliculogénèse, Histologie.

## ABSTRACT

Female infertility is a global health problem that affects millions of people of reproductive age around the world. The study carried out is based on the use of a plant from the Lamiaceae family: *Ajuga Iva* with the intention of studying its therapeutic fertilizing effect.

According to a protocol of extraction by maceration we could extract the essential oil which was analyzed by uv-visible and at a wavelength of 243 nm revealed that the ecdysteroids and the flavonoids are detected. In reference to toxicological studies and during the observation period, *Ajuga Iva* seems to be safe and without effect of toxicity.

In this study, three batches of mature female rats were chosen: a control batch, a reference batch (treated with clomid), and a batch treated with the extract to test the therapeutic fertilizing effect of the plant is manifested initially by the increase in the weight of the ovaries of the rats treated with the extract of the plant in comparison with the ovaries of the untreated rats, secondly by a histological study of the ovarian tissues.

In view of the results obtained, we noted that the weight of the ovaries of the rats treated with the extract containing ecdysteroids and flavonoids contained an expressive increase of the order of 3 times greater than that of the untreated ovaries.

The histological study of the ovaries treated with the extract demonstrated a growth of voluminous follicular cells of homogeneous size (cavitary follicles).

**Keywords:** *Ajuga Iva*, extract, Infertility, Folliculogenesis, Histology .

## ملخص

عقم الاناث مشكلة صحية عالمية تؤثر على ملايين الاشخاص في سن الانجاب حول العالم. تستند الدراسة الى استخدام نبات من عائلة لامياسي اجوجا ايفا من اجل دراسة تأثيره العلاجي المخصب.

وفقاً لبروتوكول الاستخراج عن طريق النقع تم استخراج الزيت العطري الذي تم تحليله بواسطة الأشعة فوق البنفسجية وعلى طول موجي يبلغ 243 نانومتر تم اكتشاف الاكسرويد و فلافينويد استنادا الي دراسات السموم خلال فترة المراقبة أن أجوجا إيفا ليست سامة.

يتجلى تأثير الإخصاب العلاجي للنبات في البداية من خلال زيادة وزن المبيض للفئران المعالجة بمستخلص النبات مقارنة بمبايض الفئران غير المعالجة، ثانيًا من خلال دراسة أنسجة المبايض.

بالنسبة للنتائج التي تم الحصول عليها، لاحظنا أن وزن المبيض للفئران التي تمت معالجتها بالمستخلص الذي يحتوي على الإكديستيرويدات والفلافونويد يحتوي على زيادة معبرة تزيد 3 مرات عن زيادة المبايض غير المعالجة أظهرت الدراسة النسيجية للمبايض المعالجة بالمستخلص نمو خلايا جريبية كبيرة متجانسة الحجم (بصيلات التجوييف).

**الكلمات المفتاحية :** تكون الجريبات, العقم, علم الانسجة, اجوجا ايفا.

# INTRODUCTION

« Les plantes semblent avoir été semées avec profusion sur la terre, comme les étoiles dans le ciel, pour inviter l'homme par l'attrait du plaisir et de la curiosité à l'étude de la nature » **Jean jacques ROUSSEA**

La phytothérapie est très répandue dans la société algérienne, par l'utilisation de nombreuses plantes et leurs extraits en thérapeutique traditionnelle, Généralement assurée par des herboristes qui délivrent oralement de véritables ordonnances avec posologie, durée de traitement et voie d'administration, mettant en garde contre les effets indésirables, les risques d'interaction et de surdosage. (Hammich *et al.*, 2013). La plante médicinale est la base de la phytothérapie, cette dernière est utilisée pour ces propriétés thérapeutiques, une de ces parties est usée dans le but de se soigner. Leur utilisation n'est pas spécifique aux maladies bénignes, mais s'étend également aux maladies incurables. (Hamel *et al.*, 2018). Cependant, la flore médicinale algérienne reste méconnue jusqu'à nos jours, car sur les quelques milliers d'espèces végétales, seules 146 sont dénombrées comme médicinales (Baba Aissa, 1999 cité par Hamel *et al.*, 2018). *L'Ivette*, fait partie des plantes médicinales, elle renferme un extrême effet guérison contre diverse maladies grâce à ces composés métabolique comme les flavonoïdes, les tannins, tri terpènes, les huiles essentielles et les stéroïdes qui se trouvent en grande quantité. Pour cette raison, cette étude est menée afin d'évaluer l'effet fertilisant.

La fertilité féminine est liée aux cycles d'ovulation de la femme, mesure l'aptitude à procréer, indépendamment des souhaits des individus (Dubois-Bunel, 2016). Implique la présence des organes sexuels sans anomalies (utérus, trompes, ovaire fonctionnels).



Les follicules se développent en passant par différents stades ; primordial, primaire, secondaire et tertiaire, ce développement est contrôlé par des hormones gonadotrophine FSH et LH. (Sèdes, 2014). Le processus biologique de la folliculogénèse permet aux différents facteurs endocrine, paracrines et autocrines d'agir de façon temporelle afin de réguler et coordonner la croissance et le développement de l'ovocyte et la granulosa. (McGee,et al., 2000).

Les hormones sexuelles féminines qui contribuent l'ovulation font partie de la famille des stéroïdes hormonaux, et les composés appartenant à cette famille dans la plante *d'Ivette* sont des ecdystéroïdes.

L'objectif de la présente étude est donc, d'étudier l'effet de l'extrait de la plante *d'Ivette* sur l'infertilité féminine et aussi l'étude histologique ovarienne qualitative.

Dans ce contexte nous avons essayé de réaliser un travail qui comprend trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré pour l'étude bibliographique mettant l'accent sur : la phytothérapie, une généralité sur la plante *d'Ivette*, un abrégé sur l'aspect moléculaire et cellulaire de la folliculogénèse et une analyse sur la fertilité féminine.
- Le deuxième chapitre illustre le matériel et les méthodes utilisées pour évaluer l'activité fertilisante *d'Ivette* sur les rats ainsi que l'étude histologique ovarienne qualitative.
- Le troisième chapitre discute les résultats obtenus

### I. DONNES BIBLIOGRAPGIQUES

#### 1.1. Aperçu sur l'utilisation des plantes médicinales

##### 1.1.1. La Phytothérapie

Étymologiquement, le terme « phytothérapie » peut être divisé en deux termes différents « *Phuton* » et « *therapeia* », signifiant respectivement « plante » et « traitement ». De leurs racines grecques. La phytothérapie est donc une thérapie destinée à traiter des dysfonctionnements spécifiques et certains états pathologiques à l'aide de plantes, des parties de plantes et de formulations à base de plantes. C'est un soin inspiré de la médecine traditionnelle basé sur une expérience acquise au fil des générations. C'est ce qu'on appelle la « phytothérapie traditionnelle ». (Limonier, 2018).

##### 1.1.2. Plante médicinale

Plante médicinale Selon la définition de la Pharmacopée Française (11ème édition en vigueur) : « Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée Européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques ». (Limonier, 2018).

La drogue végétale correspond à la partie de la plante possédant les propriétés thérapeutiques. C'est elle qui possède la plus grande concentration en principe(s) actif(s) auquel(s) Ces drogues végétales peuvent être des bourgeons, sommités floraux, racines, tige, graine, feuille, fruit. (Limonier, 2018). Et qui sont responsables d'une activité thérapeutique mais aussi responsables d'effets indésirables appelés toxicité, tout comme les médicaments chimiques.

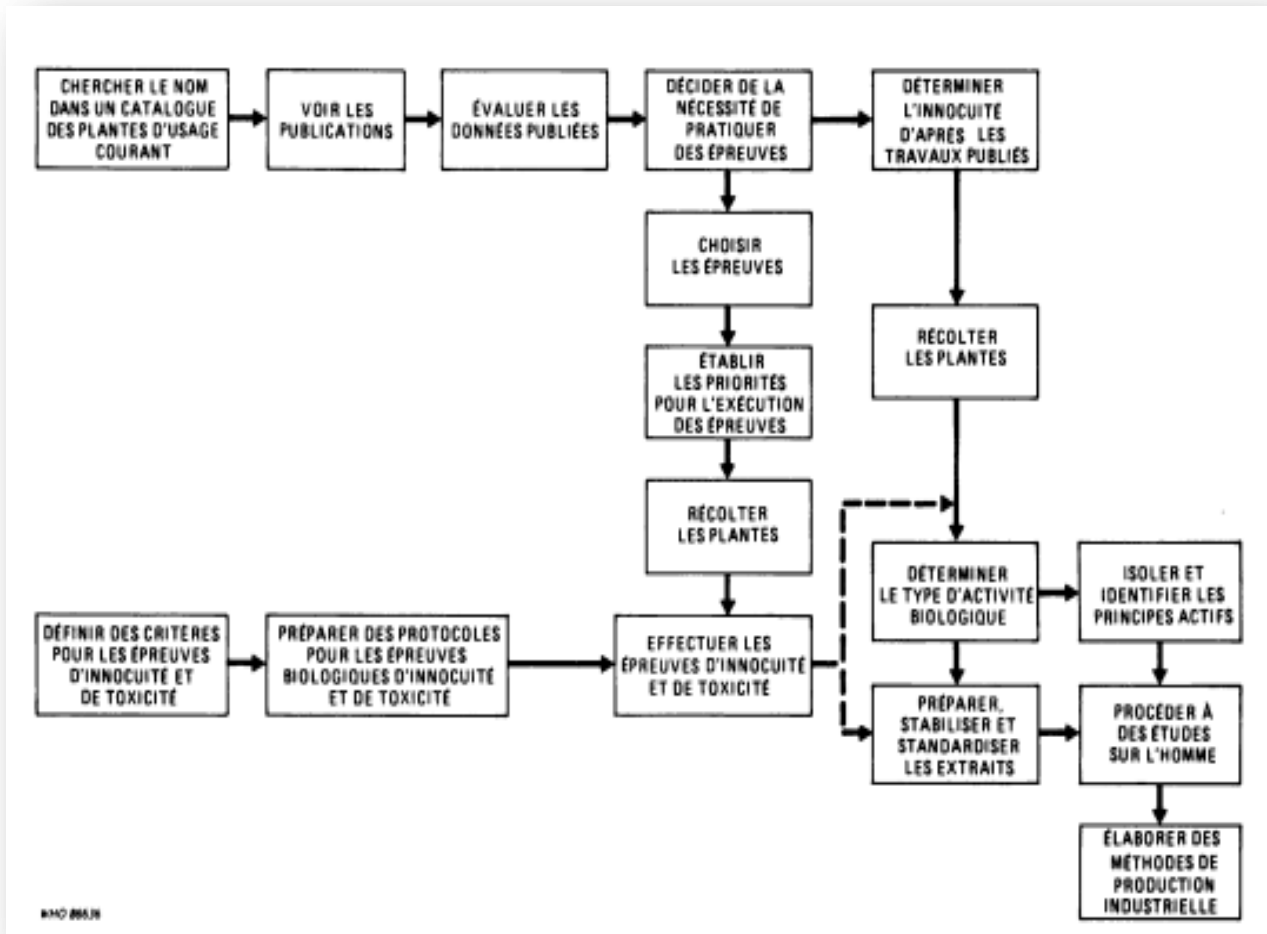


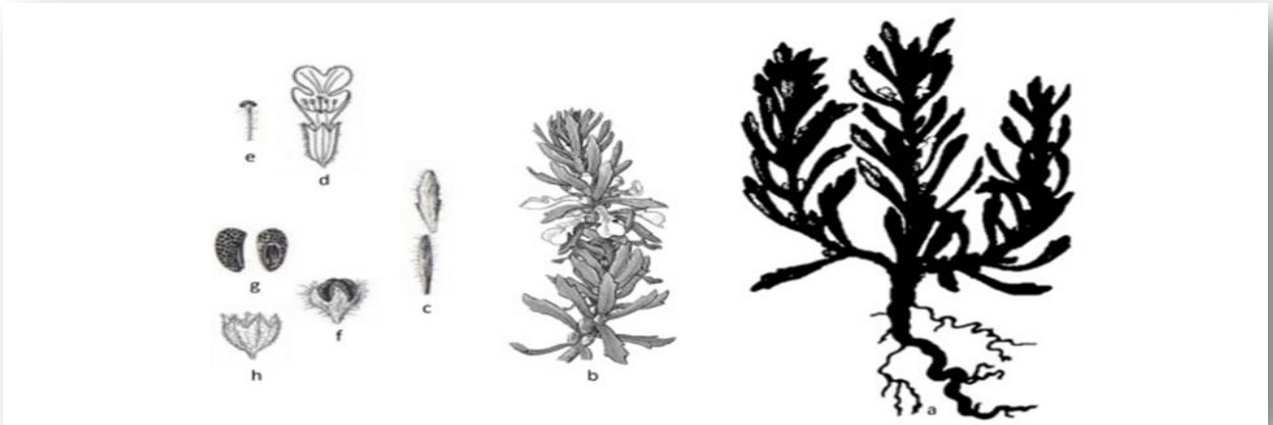
Figure 1. Organigramme pour l'étude de la médecine traditionnelle. (Norman et al, 1986).

## 1.2. Généralités sur la plante Ivette

### 1.2.1. Description botanique de l'espèce Ivette

C'est une petite plante herbacée vivace de goût amer de 10-20 cm, à tiges vertes, étalées, rameuses et velues, à feuilles vertes de 14-25 mm de longueur, denses et couvertes de duvets. Les fleurs sont denses, très serrées, violettes, roses, ou jaunes, de 20 mm de longueur. (EL Hilaly, 2007 ; IUCN, 2005). La lèvre supérieure de la corolle est réduite ou absente et la lèvre inférieure est divisée en trois lobes velus. Le lobe central est plus large décoré dans sa base par un axe central jaunâtre avec des spots de la même couleur de la fleur généralement en violet, alors que les lobes latéraux sont petits. A l'intérieur de la fleur

il y a quatre étamines liées à quatre carpelles noirs. Les graines sont marrons et ont la forme des graines de *Nigella sativa*. (IUCN, 2005).



**Figure 2** .Différentes parties de la plante *Ajuga Iva* adapté de (Bouyahya et al, 2020).

(a). Plante *Ajuga Iva* (b). Branche florale. (e). Étamine. (h). Calice fructifère.  
(c). Feuille. (f). tetranuclea fruit. (d). Corolle. (g). Noyau.

### 1.2.2. Systématique de l'espèce *Ivette*.

La description de la plante est donnée selon (EL Hilaly, 2007) de la manière suivante :

- Règne: Plantae.
- Division: Spermatophyta (Angiospermae).
- Classe: Dicotyledones.
- Ordre: Tubiflorae.
- Famille: Lamiaceae / Labiatae.
- Genre: *Ajuga*.
- Espèce: *Iva* Autre: (L.) Schreber.

### 1.2.3. Répartition géographique et habitat de l'espèce Ivette

Cette plante aromatique se développe dans le sol profond des terres friches à 2700 m de hauteur, dans la période étendue du printemps jusqu'à la fin de l'été. La période de floraison est entre Mai et Juin. Elle est largement distribuée dans la région méditerranéenne: le sud de l'Europe et le nord de l'Afrique, en particulier en Algérie, Maroc, Tunisie, et en Egypte. (IUCN, 2005).

Cette dernière fait partie de la famille des Lamiacées, qui fixe 266 genres qui comprend près de 301 espèces. *L'Ivette* est assez présente en Afrique du Nord ainsi qu'en Europe méridionale pays. on la trouve beaucoup plus dans les îles Baléares, Corse, Crète, France (y compris Monaco et les îles anglo-normandes), Grèce, Espagne (y compris Andorre mais pas aux Baléares), Italie, ex-Yougoslavie, Portugal, Sardaigne, Sicile et/ou Malte, mais aussi en Australie et en Amérique du Nord. (Bouyahya et al, 2020).

En Algérie l'espèce est très commune dans tout le Tell et très rare dans le reste du pays, elle pousse surtout dans les herbages et pelouses montagnardes, (Ait Youssef, 2006 cité par Messaoudi, 2012).

### 1.2.4. Nomenclature de l'espèce Ivette

*L'Ivette*, est un ancien nom féminin latin qui est utilisé pour la première fois pour cette plante.

**Tableau .I.1.** Différente nomenclature de l'espèce Ivette, dans la région méditerranéenne.

Nom botanique	Ajuga Iva (L.) Schreb
Nom commun (français)	Bugle Ivette, Ivette-musquée
Nom commun (Anglais)	Herb ivy, Musky bugle.
Nom vernaculaire (Berbère)	Chendgoura, Taftelba
Nom maltais	Xantkura
Synonyme	Ajuga Iva subsp. Iva, Ajuga humilis, Ajuga moschata, Teucrium Iva L

### 1.2.5. Propriété de la plante Ivette

Plusieurs classes de composés bioactifs ont été isolés par exemple : les terpènes, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les acides phénoliques et les stéroïdes. (Bouyahya et al, 2020)

#### 1.2.5.1. Stéroïdes

Divers stéroïdes ont été identifiés et caractérisés à partir d'A. iva. l'extrait aqueux-méthanolique de la plante entière d'A-Iva ont révélés la présence de cyastérone, ecdystérone, la makistéron A, l'ecdysone, 20-hydroxyecdysone, (Wessner et al., 1992), et en utilisant des outils avancés tels que HPLC et LC-MS ont révélés aussi la présence d'un stéroïde (clérol) et d'un lipide (ester méthylique de l'acide 3-hydroxy-hexadécanoïque). (Jannet et al 1997).

#### 1.2.5.2. Terpénoïdes

Les extraits d'A. iva contiennent plusieurs composés volatils dont des terpénoïdes, cinq terpénoïdes ont été identifiés (ivaine I, ivaine II, ivaine III, ivaine IV) dans l'extrait d'éther (Camps et al, 1982). En 2017 une analyse des composés volatils des huiles essentielles des

feuilles d'A. iva à été réalisée en utilisant une méthode d'analyse de l'eau par la GC-MS a signalé la présence de plusieurs terpénoïdes tels que l'asdi-(2-éthylhexyl) phtalate dienestrol, l'eucalyptol, benzène, 1,2-diméthoxy-4-(2-propényle), O-xylène, 9-octadecen-12-ynoic acid, methyl ester 1-octadecanol (Chouitah et al, 2017) .Un de ces composants l'eucalyptol a présenté des effets antibactériens, anti-inflammatoires, antioxydants et anticancéreux. (Bhowal et Gopal ,2016).

### **1.2.5.3. Flavonoïdes**

De nombreux flavonoïdes ont été identifiés à partir des extraits d'A. Iva en utilisant des techniques spectroscopiques avancées comme l'UV/VIS (Bennaghmouch et al, 2001); les parties aériennes de l'extrait aqueux de A. iva d'Algérie ont été isolés montrant une richesse de différents flavonoïdes comme l'Apigénine dihexoside, apigénine hexoside-pentoside, apigénine 7-O-néohespéridoside, et naringénine-hexoside ont été isolés de l'extrait aqueux d'A. iva d'Algérie. (Boudjelal et al, 2015).

### **1.2.5.4. Acides gras**

Des acides gras ont été identifiés à partir des parties aériennes de A. Iva tels que l'acide octadécanoïque, l'ester 2,3-bis [(triméthylsilyl)oxy] propylique, l'acide hexadécanoïque, l'ester 2,3-bis[(triméthylsilyl)oxy]propylique, le palmitate de méthyle, l'acide palmitique et l'ester triméthylsilylique.( Medjeldi et al, 2018).Ces acides gras isolés ont démontré de puissantes pharmacologiques, notamment des effets antidiabétiques. (Moghadasian, 2000; Tiger et al, 2000).

### **1.2.6. Toxicité de l'espèce Ivette**

Des essais pharmacologiques ont été réalisés A partir Ivette ont isolés les flavonoïdes identifiés par UV/VIS et par spectrométrie de masse pour étudier la toxicité et l'activité

## CHAPITRE 1 : DONNES BIBLIOGRAPHIQUES

psychotrope sur des souris swiss et des rats wistar (les deux sexes). (Bennaghmouch et al., 2001).

Trois lots sont utilisés : un lot témoin non traité, un lot de référence du Tranxène et de l'hypnosedon( 0.5mg/kg), un lot traité par le Tranxène et l'extrait d'A. Iva contenant les flavonoïdes. Après l'injection les animaux sont observés pendant 14 jours en remarquant les signes apparents tels que les variations du poids corporel et le taux de mortalité. . (Bennaghmouch et al., 2001).

Les DL50 mesurées permettant d'affirmer que les flavonoides d'Ivette ne sont pas toxiques (3600mg/kg pour les souris et 4800mg/kg pour les rats).

Des doses uniques par voie orale (2 à 14 g/kg) d'un extrait aqueux lyophilisé d'extrait d'AI chez des souris et des rats administrées quotidiennement par voie orale de 10 mg/kg, pendant 2 semaines n'ont entraîné aucun effet nocif. Suit à une évaluation de l'extrait pour ses effets comportementaux et pharmaco toxicologiques après administration aiguë et chronique par voie orale et intra péritonéale. Aucune toxicité n'a été observée chez la souris après une seule dose orale de 14 g/kg d'extrait d'AI. (El Hilaly et al., 2004).

Cependant, des injections intra péritonéales uniques de l'extrait d'AI (1500 à 5500 mg/kg de poids corporel) ont produit une augmentation des effets nocifs liés à la dose dans le comportement général et le taux de mortalité; la DL50 de la dose intra péritonéale aiguë était de 3,6 g/kg. Dans les études toxicologiques chroniques sur les rats, l'extrait d'AI (administré par voie orale à des doses quotidiennes de 100, 300 et 600 mg/kg pendant 3 mois) n'a pas modifié les paramètres hématologiques et biochimiques, à l'exception d'une augmentation transitoire du nombre de plaquettes et d'une diminution à court terme du taux de glucose sérique. L'examen histopathologique du cerveau, du foie et des reins à la fin de l'étude durant 3 mois a montré une architecture normale ne suggérant aucune perturbation morphologique. (El Hilaly et al., 2004).



### 1.2.7. Usage traditionnelle et propriété pharmacologique de l'espèce *Ivette*

*Ivette* est une plante très utilisée en médecine traditionnelle marocaine pour traiter le diabète, l'hypertension, la gastralgie, la stérilité féminine, et pour calmer les douleurs. (Bellakhdar, 1978) et comme une panacée (cure-all), spécifiquement pour les troubles gastro-intestinaux et le diabète, et aussi comme un anthelminthique. En Afrique de l'Est ont été utilisées comme remède contre la fièvre, les maux de dents, la dysenterie et l'hypertension. En Chine ont été connues pour leur effet diurétique. (El Hilaly et al 2004). En plus les rhumatismes, les allergies, infection oculaire, le cancer, les maladies rénales, métaboliques, cardiovasculaires et les troubles digestifs et respiratoires (Bouyahya et al, 2020).

Elle présente un large éventail d'activités pharmacologiques et biologique : Antidiabétiques, anti-hypercholestérolémique, analgésiques, antioxydant, antibactérien, anticancéreux, analgésiques, les agents antiviraux, insecticides et. Il possède carminative, stomachique, anti-allergique, et antihypertenseur en plus il y'a une activité protectrice contre les troubles cardiovasculaires et métaboliques, rénaux, digestifs et respiratoires, (Bouyahya et al., 2020), antifongiques, anti mycobactéries, anti hypertensives, l'activité hypoglycémique. (El Hilaly et al 2004).

### 1.2.8. Les travaux réalisés sur l'espèce *Ivette*

L'*Ivette* a été utilisée pour remédier plusieurs maladies, nous décrivons dans la partie suivantes les travaux les plus intéressants :

**1.2.8.1. Antidiabétiques** : Les extraits d'*A. Iva* et leurs principaux composés ont présenté un effet antidiabétique en augmentant la sécrétion d'insuline ainsi qu'en contrôlant la synthèse de la glycémie hépatique, triglycérides, du cholestérol et les lipides totaux. (Bouyahya et al, 2020). « Le traitement par *Ivette* a considérablement réduit la valeur de la glycémie par 31% le septième jour de l'expérience atteignant un maximum baisse au 28e jour (-41%), alors que l'hyperglycémie était soutenue dans le groupe témoin diabétique » (Taleb senouci et al, 2012).

- 1.2.8.2. **Activité anti hypercholestérolémique :** L'extrait aqueux lyophilisé d'A. Iva à 0,5 g/100 g a corrigé la dyslipidémie, réduit le stress oxydatif chez les rats hypercholestérolémiques et améliore le statut antioxydant. (Chenni et al, 2007 ; Bouderbala et al, 2008). Cette activité s'est manifestée par une diminution du cholestérol total, des triacylglycérols et des lipides totaux dans le plasma. (Bouyahya et al, 2020).
- 1.2.8.3. **Activité antioxydante :** Dans une étude in vitro, ont testés l'effet antioxydant des huiles essentielles de l'A. Iva tunisien en utilisant les tests DPPH et FRAP. L'huile essentielle isolée de l'A. Iva collectée à Béjaia a montré un effet antioxydant intéressant (IC50 = 28,42 µg/mL pour le test DPPH et IC50 = 585,46 µmol/g pour le test FRAP) par rapport à A. iva collectée à Bizerte (IC50 = 32,67 µg/mL pour le test DPPH et IC50 = 585,46 µmol/g pour le test FRAP). (Ayari et al, 2013).
- 1.2.8.4. **Activité antimicrobienne:** Les huiles essentielles d'A. iva extraites des feuilles ont montré une activité antibactérienne contre un grands nombre de bactéries. L'activité antibactérienne la plus importante a été observée contre les souches bactériennes Gram-positives, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* avec des diamètres de zone d'inhibition allant de 30 à 38 mm. (Chouitah et al, 2017). Par contre l'extrait aqueux d'A.iva montre une activité très faible contre les champignons et les bactéries. Toutes les souches microbiennes ont résistants à l'extrait à 100 mg/ml. A la concentration de 300 mg/ml, la zone d'inhibition n'a pas dépassé  $8,88 \pm 1,23$  mm (*Salmonella spp.*), ce qui est très faible par rapport au diamètre de la référence. (MOUHEB et al, 2018).
- 1.2.8.5. **Activité analgésique:** L'extrait aqueux des parties aériennes riches en flavonoïdes et saponines ont été administrés par voie intra péritonéale à différentes doses. L'extrait (à 0,4 g/L) a diminué le nombre de crampes abdominales. Nombre de crampes abdominales provoquées par l'acide acétique.

- A 200 mg/kg tandis que l'extrait aqueux à présenter un effet analgésique puissant ( $85,39 \pm 4,29 \%$ ) par rapport à l'ibuprofène utilisé pour le traitement (témoin) de l'asthme ( $77,53 \pm 3,80 \%$ ). (Rouibi et al 2012).
- 1.2.8.6. **Activité vasorelaxante** : l'extrait d'ivette présente un effet vasorelaxante et antihypertenseur dans SHR-SP et diminution de la contraction vasculaire à la noradrénaline. Ces effets peuvent être dus, au moins en partie, aux composés phénoliques polaires comme les glycosides flavonoïdes et/ou leurs métabolites. (El-Hilaly et al, 2004 ; El Hilaly et al, 2021).
- 1.2.8.7. **Activité antiviral** : Les flavonoïdes isolés d'Ajuga sont de puissants inhibiteurs de la transcriptase inverse du virus de l'immunodéficience humaine, tandis que d'autres composés de la même espèce, ont un effet inhibiteur important sur l'induction de l'antigène précoce du virus Epstein-Barr (El Hilaly et al., 2004). Par ailleurs l'extrait a montré une activité antivirale contre le virus Coxsackie de type B-3 (CVB-3). Un résultat confirme le potentiel médicinal de cette plante (Medjeldi et al., 2018).
- 1.2.8.8. **Activité insecticide** : « Les études de Pascual- Villalobos et Robledo (1998, 1999) ont montré que l'extrait aqueux d'Ajuga iva inhibe la croissance de la larve *Tribolium castaneum* (70-100% de mortalité). Son effet insecticide est aussi étudié contre *Spodoptera frugiperda* et *S. littoralis*. » (Ben Jannet et al., 1999).
- 1.3. **Physiologie de l'Appareil reproducteur de la ratte.**

L'appareil génital de la ratte comprend deux ovaires et un tractus génital.

- L'Ovaire : L'ovaire est un organe ovoïde et bosselé, des glandes paires enfermées dans la bourse ovarique formée par le mésovarium et le mésosalpinx. Situé juste sous les reins, il a diverses dimensions, formes et localisation selon l'espèce. Constitué d'une zone périphérique appelée le cortex ovarien, contient une tunique albuginée, un épithélium pavimenteux ou cubique, un stroma des follicules ovariens à différents stades du développement. Et une autre zone interne appelée la zone médullaire,

contient des nerfs, de nombreux vaisseaux sanguins, des vaisseaux lymphatiques. (Barone, 1978 cité par Ghouri 2019).

- Oviducte : Les oviductes autrement dit trompes de Fallope (ou salpinx) sont tortueux chez la ratte, liés au segment propre de l'ovaire. Ils garantissent la fécondation et le transport des gamètes mâles. (vaissaire, 1977).
- Utérus : L'utérus joue un rôle essentiel dans le transport des gamètes, l'implantation et le développement de l'embryon en fœtus. L'utérus de la rate présente une morphologie de type bicornis (Ghouri, 2019).
- Vagin : Le vagin de la rate est un conduit cylindrique musculo-membraneux qui s'étend du col de l'utérus à la vulve, son rôle essentiel est mécanique car il favorise l'ascension des spermatozoïdes par ses contractions et se distend au moment de la parturition (Ghouri, 2019).
- Vestibule vaginal & Vulve : C'est la partie la plus caudale du vagin où se rejoignent les systèmes reproducteur et urinaire. On retrouve dans le vestibule la fosse clitoridienne où se trouve le clitoris. ( barone, 1978 cité par Ghouri, 2019). La vulve correspond au sinus uro-génital de la femelle. C'est la partie visible du système reproducteur femelle des mammifères. (Ghouri 2019).
  - Cycle œstral :

Le terme «œstral» fut utilisé pour la période spéciale du désir sexuel de la femelle. Et le cycle œstral de la rate dure 21 jours (5 à 6 jours la phase oestrus) qui est sous le contrôle de trois hormones d'origine hypophysaire (Vaissaire, 1977).

### 1.3.1. Evolution morphologique et moléculaire des follicules

La folliculogénèse est un processus continu se déroule dans la corticale de l'ovaire ,le système de classification a été bien établi pour différencier les stades folliculaires (Edson, Nagaraja *et al.*, 2009).

- **Le follicule primordial**

Les follicules primordiaux représentent la majorité des follicules dans l'ovaire. Les cellules de la granulosa sont séparées du reste du stroma par une membrane basale et à ce stade ne sont pas encore capables de produire des œstrogènes et sont indépendantes des gonadotrophines hypophysaires (Skinner 2005).

Le facteur NGF important pour la mise en place des follicules primordiaux.

- **Le follicule primaire**

A ce stade les récepteurs de FSH apparaissent sur les cellules de la granulosa, leur nombre augmente progressivement dans les follicules préantraux, reste stable dans les follicules à antrum et enfin diminue au stade préovulatoire. (Rajkovic, Pangas *et al.*, 2004).

- **Le follicule secondaire**

Les follicules primaires persistent et se transforment en follicules secondaires au moment où les cellules de la granulosa forment un épithélium pluristratifié. (Edson, Nagaraja *et al.* 2009).

Des facteurs de la famille du TGF- $\beta$ , tels que GDF9 ou BMP15, interviennent dans la croissance du follicule primaire et dans son passage vers le stade secondaire. (Beppu, Kawabata *et al.*, 2000).

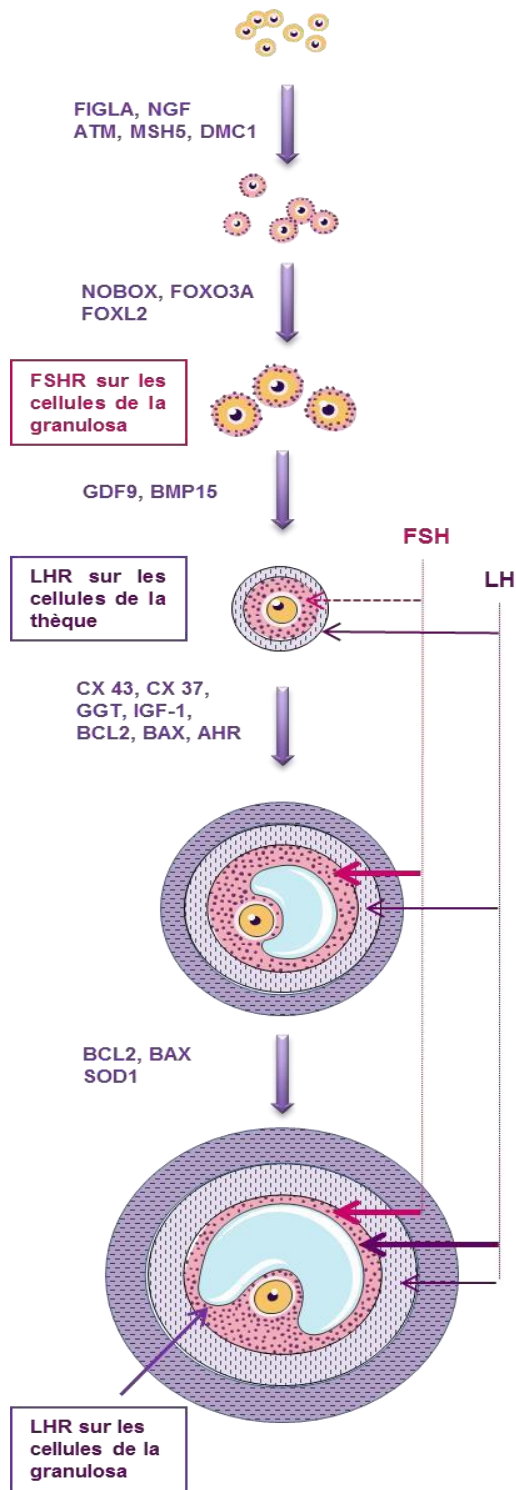
- **Le follicule antral**

Apparaître aux environs de 15 jours après la naissance chez la souris (Edson, Nagaraja *et al.*, 2009). Caractérisé par l'apparition d'une cavité folliculaire (antrum) au sein des couches de cellules de la granulosa.

Chez la ratte, il faut environ 60 jours pour qu'un follicule primordial atteigne le stade antral (McGee and Hsueh 2000).

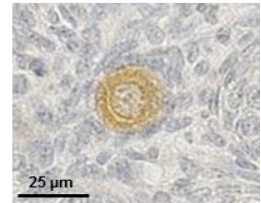
- **Le follicule mûr (de Graaf)**

Il correspond à un follicule antral particulièrement grand arrivera jusqu'à l'ovulation avec l'apparition de récepteurs pour la LH sur les cellules de la granulosa du follicule pré-ovulatoire (Monniaux, Huet et al. 1997).

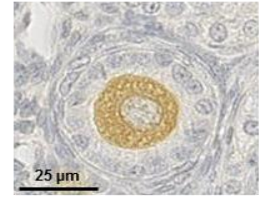


**Ovocyte I**

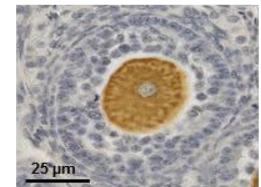
**Follicule primordial:**  
L'ovocyte I est entouré d'une couche de cellules squameuses de la granulosa aplaties



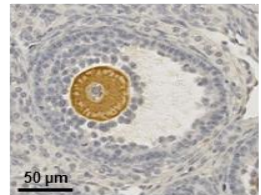
**Follicule primaire:**  
L'ovocyte I est entouré d'une couche de cellules de la granulosa cubiques.



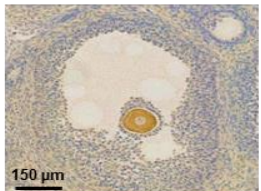
**Follicule secondaire:**  
L'ovocyte I est entouré d'une couche pluristratifiée de cellules de la granulosa. Un deuxième type cellulaire apparait, les cellules de la thèque interne.



**Follicule à antrum:**  
L'ovocyte I est entouré d'une couche pluristratifiée de cellules de la granulosa dans laquelle apparait une cavité, l'antrum. Les cellules de la thèque interne se développent et les cellules de la thèque externe apparaissent.



**Follicule mûr (De Graaf):**  
Il s'agit d'un follicule antral particulièrement grand qui aboutira à l'expulsion de l'ovocyte précédée de la reprise de la méiose

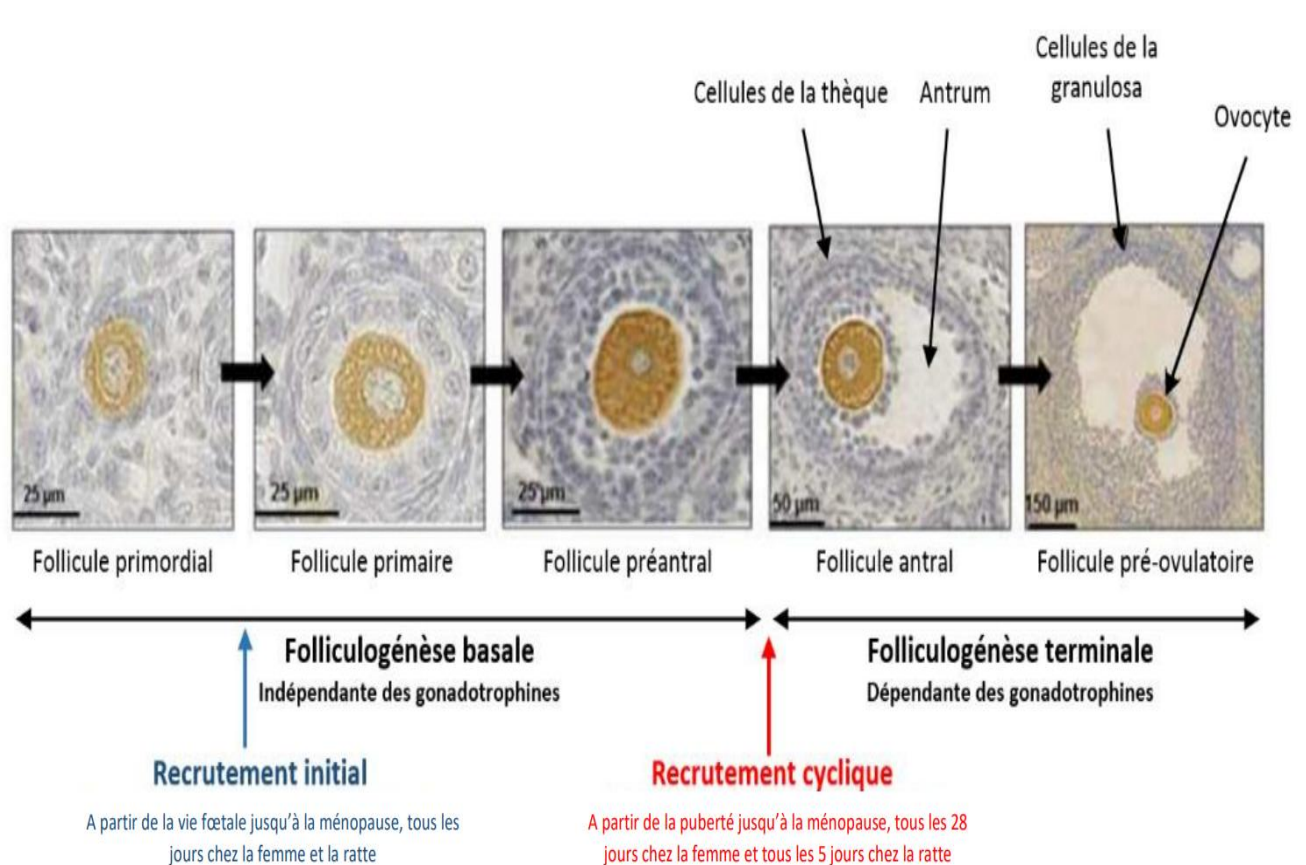


**Figure 4.** Les différents stades folliculaires. .(Lauriane, 2014).



La croissance folliculaire comprend deux étapes :

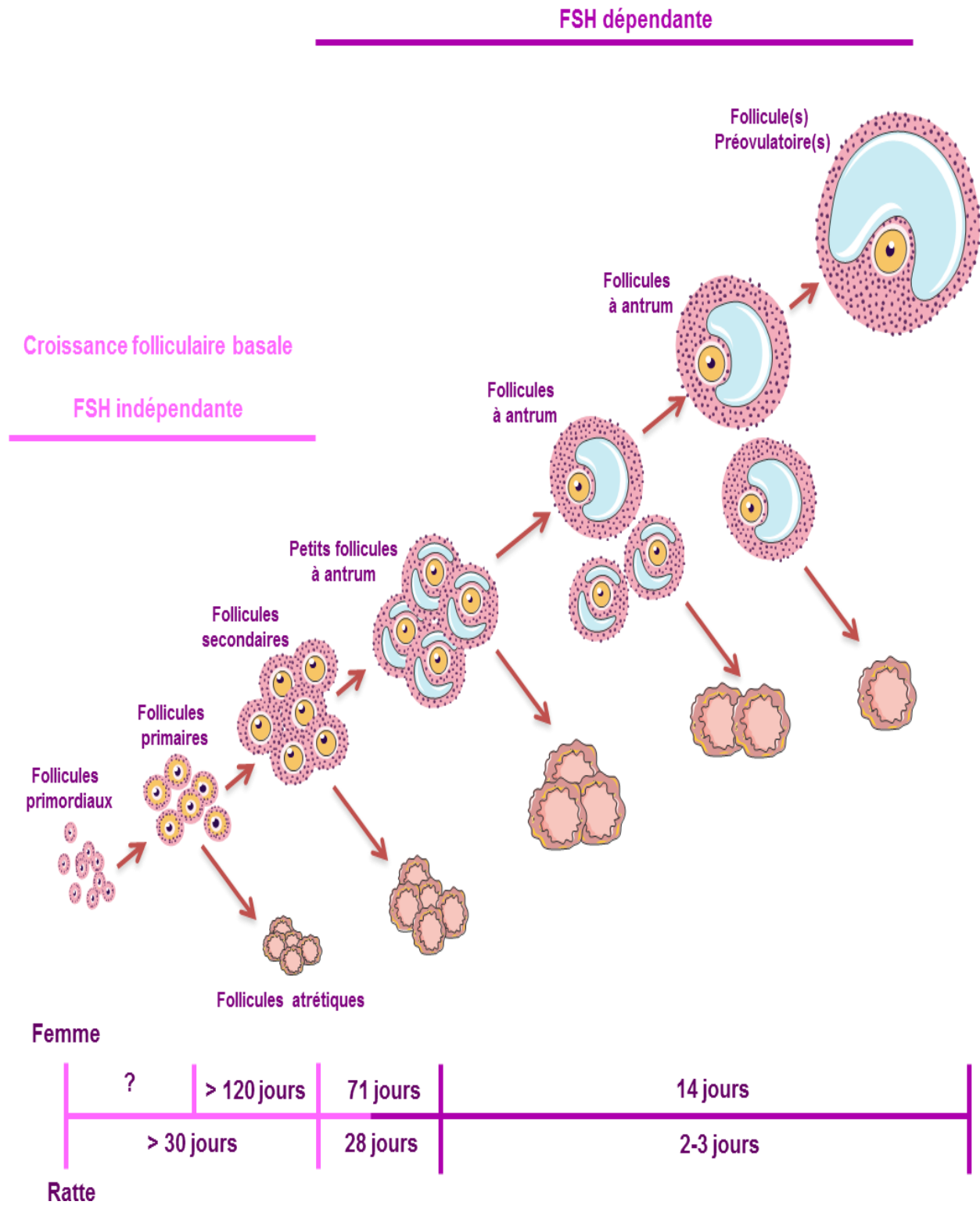
- ❖ Le recrutement initial à partir des follicules primordiaux en dormance : c'est la folliculogénèse basale ou stade pré-antral. (Monniaux, 1999).
- ❖ le recrutement cyclique des follicules en croissance pour former le(s) follicule(s) ovulatoire(s): C'est la folliculogénèse terminale ou stade antral qui comprend trois phases le recrutement, la sélection et la dominance. (Monniaux, 1999).



**Figure 5.** Les différents stades du développement folliculaire. (Lauriane, 2014).



Croissance folliculaire terminale



**Figure 6** . Durée du recrutement et de la sélection folliculaire chez la femme et la ratte. (Lauriane, 2014).

### 1.3.2. Régulation de la folliculogénèse

- **L'axe hypothalamo-hypophysaire**

L'hypothalamus est une structure nerveuse située au centre de l'encéphale, impliquée dans un grand nombre de fonctions centrales, relié par la tige pituitaire à l'hypophyse, glande endocrine composée de trois lobes : la neurohypophyse, l'adénohypophyse, et le lobe intermédiaire. L'adénohypophyse contient des cellules gonadotropes qui sécrètent des hormones gonadotropines régulant les fonctions gonadiques. (Lauriane, 2014).

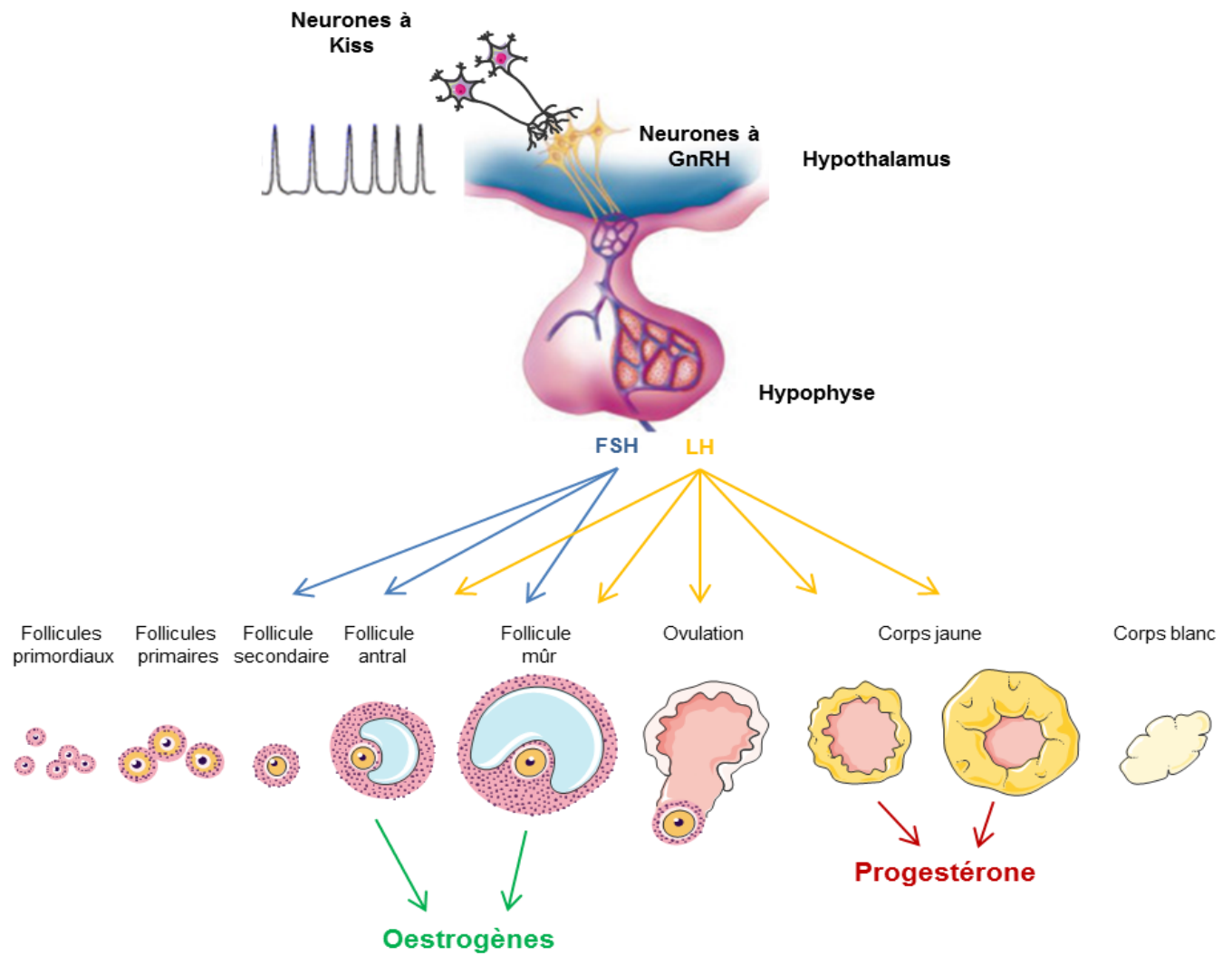
La GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone), neurohormone clé régulant les fonctions reproductrices et stimule la sécrétion des gonadotropines FSH (Follicule Stimulating Hormone) et LH (Luteinizing Hormone). Celles-ci sont libérées de façon pulsatile dans la circulation sanguine générale et vont agir sur l'ovaire pour réguler la folliculogénèse et la stéroïdogénèse. (Lauriane, 2014).

La FSH possède des récepteurs sur les cellules de granulosa. Elle stimule la croissance folliculaire ainsi que la sécrétion d'œstradiol. (Lauriane, 2014).

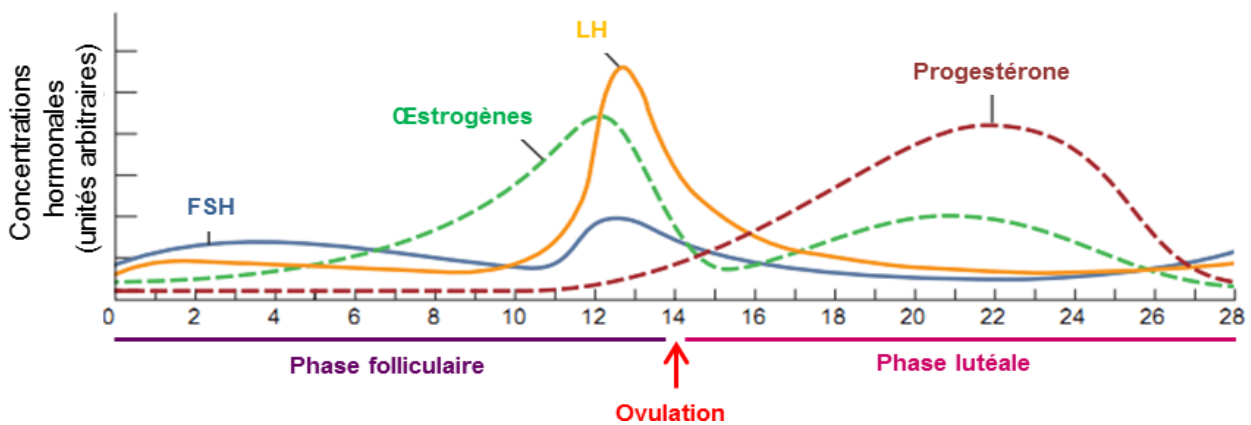
La LH, possède en début de croissance terminale des récepteurs sur les cellules thécales uniquement, stimule la production d'androgènes. (Lauriane, 2014).

LTH (Hormone lutéotrope ou Prolactine) Elle stimule chez la rate la formation du corps jaune et la sécrétion de progestérone. (Lauriane, 2014).

# CHAPITRE 1 : DONNES BIBLIOGRAPHIQUES



**B**



**Figure 7.** L'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique .(Lauriane, 2014).

**1.3.3. Histologie de l'ovaire de la ratte :**

La zone corticales de l'ovaire d'une ratte immature contient de nombreux follicules à différents stades de développement, bien que la zone médullaire est très vascularisée et riche en nerfs (Ghouri, 2019), cependant chez la ratte mature se trouve des follicules de stade avancé.

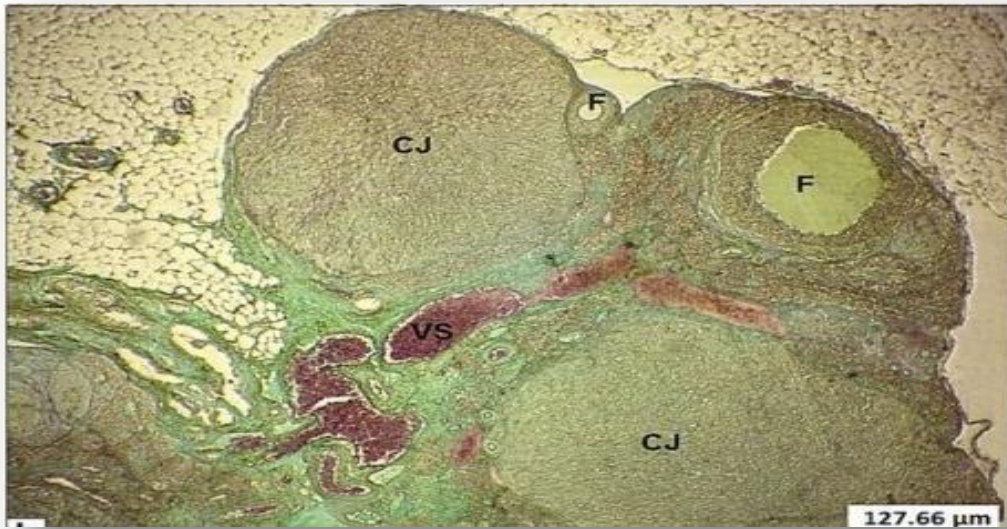


**Figure 8.** A : c d'une ratte immature qui montre de nombreux follicules à différents stades de développement

**B :** une ratte adulte qui montre un follicule pré- ovulatoire

**C :** cortex **F :** follicule **M :** médulle **VS :** vaisseau sanguin

**FPrO :** Follicule pré-ovulatoire. (Ghouri, 2019).



**Figure 9.** coupe transversale montrant des corps jaune dans une partie de l'ovaire d'une ratte adulte par coloration de Trichrome de Masson modifiée  
**CJ** : Corps jaune **F** : Follicule **VS** : vaisseaux sanguin. (Ghouri, 2019) .

### 1.4. Aperçus sur la fertilité féminine

#### 1.4.1. Introduction

La grossesse est une stimulation immunitaire particulière, qui se développe dans un organe spécialisé (l'utérus). L'incapacité des femmes à tomber enceinte après au moins 12 cycles de rapports sexuels non protégés, ou après six cycles pour les femmes de plus de 35 ans, est appelé une infertilité (Kayem and Batteux , 2008).

#### 1.4.2. Définition

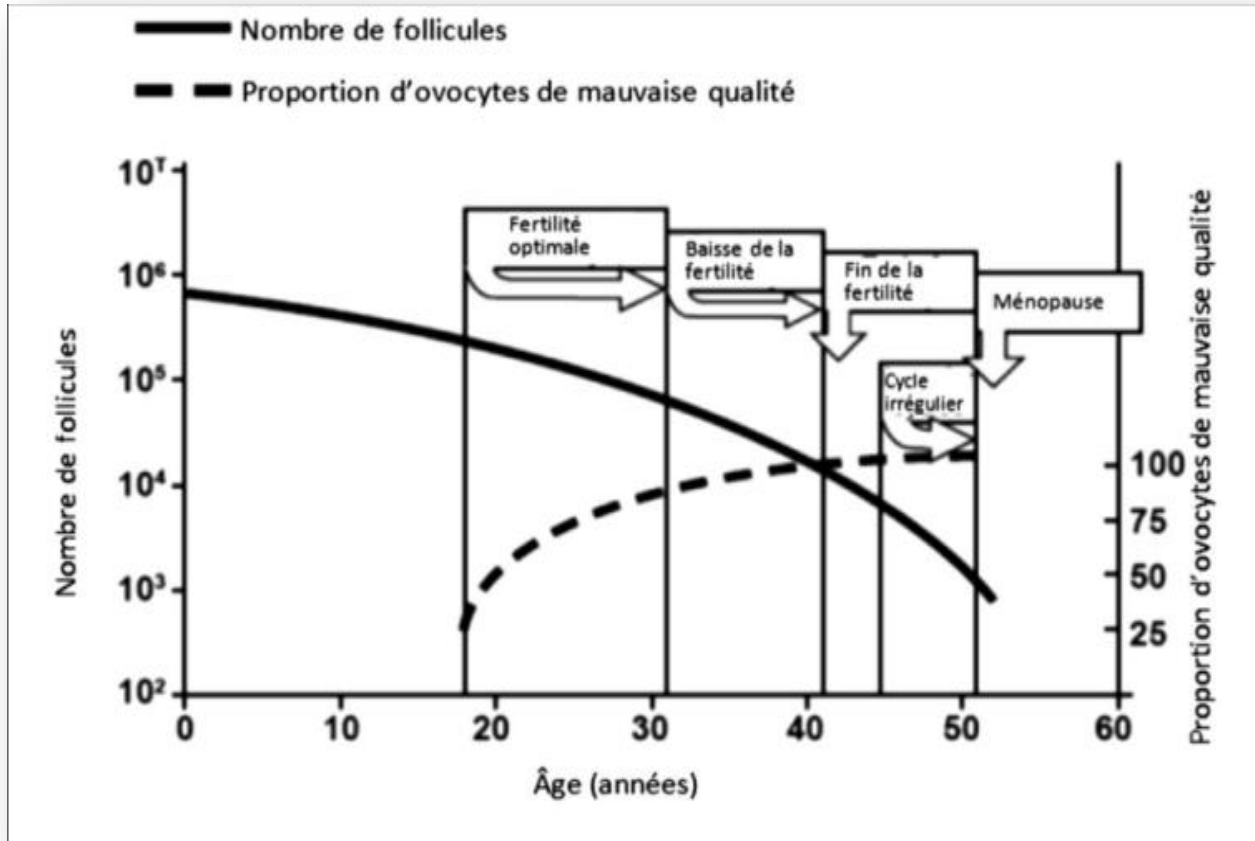
La fertilité est déterminé comme la capacité à « être enceinte et pouvoir avoir un enfant».La définition du délai de conception rapide diffère fortement entre les femmes. (Dubois-Bunel, 2016).

Une baisse du nombre de follicules ovariens chez les femmes entraîne l'infertilité, la stérilité, une réduction de la durée du cycle menstruel, une irrégularité du cycle et, finalement, la ménopause. (Liu, K. E., & Case, A, 2017).

#### 1.4.3. Causes d'infertilité

La fertilité féminine diminue avec l'âge, à partir de 32 ans, mais surtout après 37 ans. (Leridon *et al.*, 2010). L'âge optimal pour obtenir une grossesse est défini entre 25 et 30 ans.





**Figure 10.** Abaissement du nombre folliculaires en fonction de l'âge. (Dubois-Bunel, 2016).

#### 1.4.3.1. L'indice de masse corporelle (IMC)

L'obésité est un facteur de risque influençant la fécondité. Chaque augmentation de l'IMC d'un  $\text{kg}/\text{m}^2$  au-dessus de  $29 \text{ kg}/\text{m}^2$ , augmentait la probabilité de ne pas pouvoir concevoir sans intervention médicale de 5%. (Dubois-Bunel, 2016).

#### 1.4.3.2. Le stress

Un acteur majeur de la fécondité capable de la freiner ou de la libérer, lié au psychisme et à l'inconscient. Selon une étude américaine a examiné la corrélation entre la présence d'un marqueur de stress (alpha-amylase salivaire) et la survenue de grossesse. Le groupe

qui avait le taux le plus élevé du marqueur a montré un taux significativement plus bas de grossesses. (Lynch *et al.*, 2014).

### **1.4.3.3. Le tabac**

« Fumer peut nuire aux spermatozoïdes et réduit la fertilité »

Une étude d'*Hassan et al* a montrés que le délai pour obtenir une grossesse chez les femmes non fumeuses est de 9 mois par contres chez les femmes fumeuses 11.1 mois. (Hassan, 2004). De plus l'alcool qui est un facteur connu provoquant des anomalies du développement psychomoteur. (Anderson *et al.*, 2015).

### **1.4.3.4. L'alcool**

un facteur connu qui provoque des anomalies du développement psychomoteur. (Anderson *et al.*, 2015).

### **1.4.3.5. Les médicaments**

selon les recherches bibliographiques, les types de molécules qui auraient un effet sur la fertilité : les inhibiteurs calciques, les chimiothérapies anticancéreuses et les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (IRS) et antidépresseurs. (Tanrikut *et al.*, 2010 ; Gauthier *et al.*, 2010).

## **1.4.4. Les pathologies lié a l'infertilité**

La pathologie touche les trompes de Fallope lorsqu'ils sont bouchés ou absente, (salpingite, grossesse extra-utérine...), la cavité utérine ou l'utérus (malformation utérine, utérus poly fibromateux).

Les troubles de la fertilité peuvent aussi être liés à des pathologies ovariennes ou hormonales par exemple :



### **1.4.4.1. Insuffisance ovarienne**

Par définition c'est la perte de la capacité des ovaires à produire de l'œstrogène. Sera considérée prématurée si elle survient avant l'âge de 40 ans avec une augmentation du taux de FSH > 20 mUI/L et baisse du taux d'AMH < 0,5 ng/mL (Ravel *et al.*, 2016).

### **1.4.4.2. Dysfonctionnement hypophysaire ou folliculaire**

Le dysfonctionnement se traduit par une augmentation de la FSH au début de la phase folliculaire, Le syndrome des ovaires polyky prématurée et fibrome utérin représentent les maladies d'hypophysaire ou folliculaire causent l'anovulation. (Pillon, 2012 cité par Daoui and Hacini, 2021).

### **1.4.4.3. Fertilité et Infections sexuellement transmissibles (IST)**

Chlamydiae trachomatis C'est la première cause de stérilité tubaire dans les pays développés. L'infection est asymptomatique dans 60 % des cas, provoque 20 % d'infection génitale haute, 2 % de grossesses extra-utérines, 3% d'infertilité et 4% de douleurs pelviennes chroniques. (Daoui and Hacini, 2021).

### **1.4.4.4. Les fibromes utérins**

Il s'agit des tumeurs gynécologiques bénignes les plus courantes chez les femmes en âge de procréer. (Carranza-Mamane *et al.*, 2016).

## **1.4.5. les examens de diagnostic**

Avant la prise en charge médicale, un bon diagnostic suivi par des examens est nécessaire pour déterminer l'origine de l'infertilité et augmenter les chances de procréer. (Le grand livre de fertilité, 2015).

### **1.4.5.1. L'échographie pelvienne**

Examen indolore, l'échographie pelvienne est réalisée au début du cycle pour définir le nombre de follicules antraux au niveau des ovaires, c'est-à-dire la réserve ovarienne, et

l'intégrité de l'appareil génital féminin. (Le grand livre de fertilité, 2015).

### **1.4.5.2. La courbe de température**

Un examen simple fournit des informations sur le cycle ovarien, la température doit être prise dans les mêmes conditions.

### **1.4.5.3. Les dosages hormonaux**

- Hormone folliculostimulante (FSH), Hormone lutéinisante (LH), Hormone antimüllérienne (AMH). Autres dosages en fonction de la clinique :
- Prolactine (PRL)
- TSH (thyroïde)
- Testostérone

Ces dosages permettent d'effectuer le nombre de follicules, l'intégrité de l'axe hypothalamo-hypophysaire et aussi la qualité de l'ovulation.

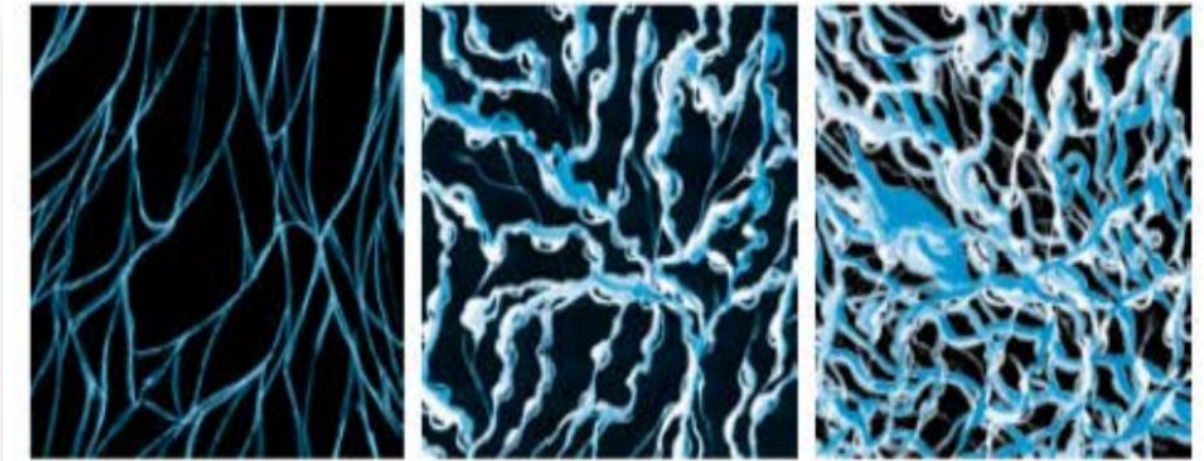
L'hormone antimüllérienne (AMH) influe sur le recrutement des follicules primordiaux, et sur le processus de la mise en place du follicule dominant. Elle est stable au cours du cycle. (Le grand livre de fertilité, 2015).

### **1.4.5.4. L'examen de la glaire ou mucus cervical**

C'est un examen gynécologique simple appelé test de Hühner ou test postcoïtal, a pour utilité de définir la qualité du mucus cervical et son pH, ainsi que la pénétration et la survie des spermatozoïdes dans le mucus. (Le grand livre de fertilité,2015).

### **1.4.5.5. L'hystérosalpingographie**

Cet examen recherche la qualité fonctionnelle des trompes et de la cavité utérine. Le radioloradiologue injecte un produit dans l'utérus. (Le grand livre de fertilité, 2015).



**Figure 11.** Différentes phases de la glaire cervicale. (Le grand livre de fertilité, 2015).

#### **1.4.5.6. La œlioscopie**

A pour but de vérifier l'intégrité fonctionnelle des trompes, des ovaires et de la cavité péritonéale à l'aide d'une caméra introduite dans la cavité abdominale sous anesthésie générale. (Le grand livre de fertilité, 2015).

#### **1.4.6. Traitement de la stérilité féminine**

##### **1.4.6.1. médicamenteux**

- Anti-œstrogènes : citrate de clomifène (Clomid®, Pergotime®), administré par voie orale.
- Gonadotrophines, essentiellement FSH seule (Gonal-F®, Puregon®, Fostimon®), la LH seule (Luvéris®) ou une combinaison FSH + LH (Pergoveris®).
- Dihydrogestérone (Duphaston®) et la progestérone micronisée (Utrogestan®, Estima®, Ménaelle®) par voie orale. (Le grand livre de fertilité, 2015).

**1.4.6.2. chirurgical**

Seulement le médecin, le biologiste et le psychologue affirme la nécessité du couple de procéder à une PMA. (Le grand livre de fertilité, 2015).

**Tableau .I.2.** Traitement de la stérilité féminine. (Le grand livre de fertilité, 2015).

Fécondation in vitro (FIV) et injection intracytoplasmique (ICSI)	Infertilité inexplicée, Échec des inséminations, Infertilité mixte, Âge maternel, trompes bouchées.
Insémination avec sperme de conjoint (IAC)	Infertilité inexplicée, Risques viraux.
Fécondation in vitro sans, micromarupulation	Infertilité féminine (tubaire, endométriose, ovulatoire).
Fécondation in vitro avec micromarupulation (ICSI)	Infertilité masculine sévère.
Congélation d'ovocytes	Avant une chimiothérapie, une radiothérapie ou d'autres traitements stérilisants
Congélation d'embryons	Échec de transfert d'embryons

## II. MATERIELS ET METHODES

### 1.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous exposerons d'abord, les sites d'accueil où notre étude a été réalisée, ensuite nous présentons la partie relative aux matériels et méthodes utilisés pour réaliser l'extraction de notre matière active de la plante *Ajuga Iva* et l'étude toxicologique de la substance active sur des rats suivis par l'étude histologique des ovaires.

### 2.2. Présentation des lieux d'accueil

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche de chimie, physique des interfaces des matériaux appliqués à l'environnement (PIMAE) et le laboratoire de la pharmacologie de l'université de Saad Dahleb-Blida 1, ainsi que le laboratoire d'histologie Pr Djazouli Alim et l'école des sciences de l'aliment et des industries Agro-Alimentaires à El Harrach.

### 2.3. Protocoles d'extraction des huiles essentielles

#### 2.3.1. Présentation de la plante

Notre étude est portée sur la plante *d'Ivette*, récoltée dans la région d'Aflou. La plante a été cueillis, puis lavée et séchée afin d'éliminer toutes traces de poussières et d'impuretés.

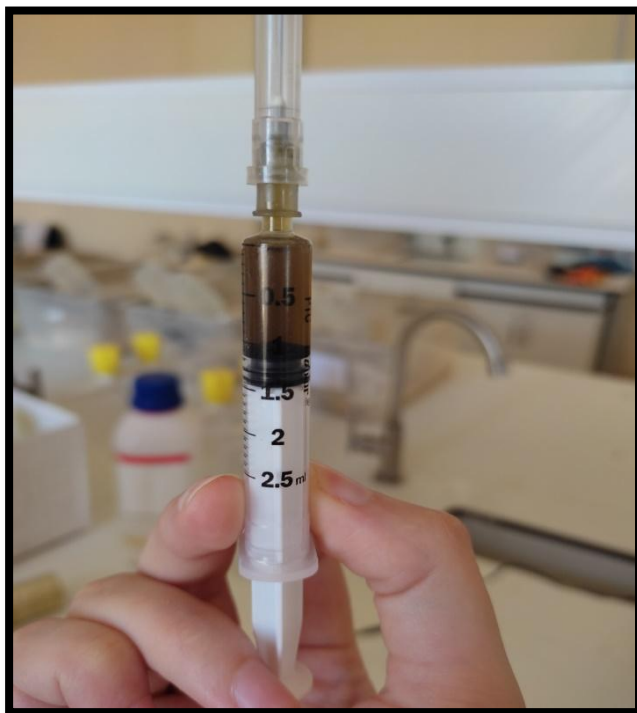
Une fois complètement séchée, la plante *d'Ivette*, a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisée pour devenir une poudre fine et homogène. La poudre obtenue a été conservée dans un récipient et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité.

#### 2.3.2. Procédé d'extraction

Pour extraire la matière active qui représente l'élément responsable de l'activité thérapeutique (activité fertilisante) qu'on a étudié, on a choisi l'extraction par macération comme un procédé adéquat pour effectuer cette étape. Ce procédé consiste à mélanger dans un erlenmeyer une quantité de la poudre *d'Ivette*, avec 500 ml l'éthanol.

Le mélange a été soumis à l'agitation, la solution obtenue a été filtrée sous vide en utilisant un papier filtre. Après la filtration, le filtrat a été évaporé pour éliminer le solvant.

Le résidu obtenu a été conservée dans un flacon en verre ambré pour éviter toute dégradation.



**Figure 12 .** Extrait *d'Ivette*,.

#### **2.4. Caractérisation de l'huile essentielle**

L'Huile essentielle obtenus est caractérisée pour identifier la composition chimique et la structure afin d'évaluer les différentes propriétés organoleptiques et chimiques obtenues.

##### **2.4.1. Spectrophotométrie UV-Visible**

Dans cette étude Le spectrophotomètre utilisé est de type "Shimadzu 1900 Pharmaspec". On a utilisées des cuves en quartz d'épaisseur ( $l=1$  cm). La longueur d'ondes maximale d'absorption du principe actif est obtenue directement par balayage automatique entre 200 et 400 nm. Cette méthode est caractérisée par sa rapidité et permet une analyse immédiate et fiable des échantillons dosés ainsi que leur prélèvement pour éviter toute

éventuelle photodégradation. La détermination des concentrations de principe actif libéré en fonction de temps est effectuée par dosage spectrométrique UV-visible.

### **2.5. Evaluation de la toxicité aigüe de l'extrait obtenu**

#### **2.5.1. Administration des doses**

La substance d'essais est administrée en une seule dose par gavage à l'aide d'une sonde gastrique. Les animaux doivent être à jeun avant l'administration ; la nourriture doit être supprimée pendant une nuit. Après la période de jeune. Le poids corporel à jeun de chaque animal est déterminé et la dose est calculée en fonction du poids corporel. Après l'administration de la substance, alimentation peut être suspendue pendant 3h à 4h supplémentaire.

Il s'agit des rats de souche *Wistar* de poids  $175 \pm 1g$  obtenus de l'institut Pasteur d'alger – EL Kouba , ils reçoivent de l'eau et de la nourriture à volonté.

#### **2.5.2. Test limite (acute orale toxicity – up and down – procedure(UDP)**

L'essai limite est principalement utilisé dans les situations où l'expérimentateur dispose d'information indiquant que le produit d'essai est probablement non toxique, c'est-à-dire qu'il présente une toxicité inférieure aux doses limites réglementaires.

#### **2.5.3. Mode opératoire**

Administrer à un animal la dose d'essais à 2000 mg .Si l'animal meurt, il est indispensable d'effectuer le test principal pour déterminer la DL50. Si l'animal survit dosez quatre autres animaux de manière séquentielle, de sorte qu'un totale de cinq soit testé. Les résultats seront observés pendant 14 jours.

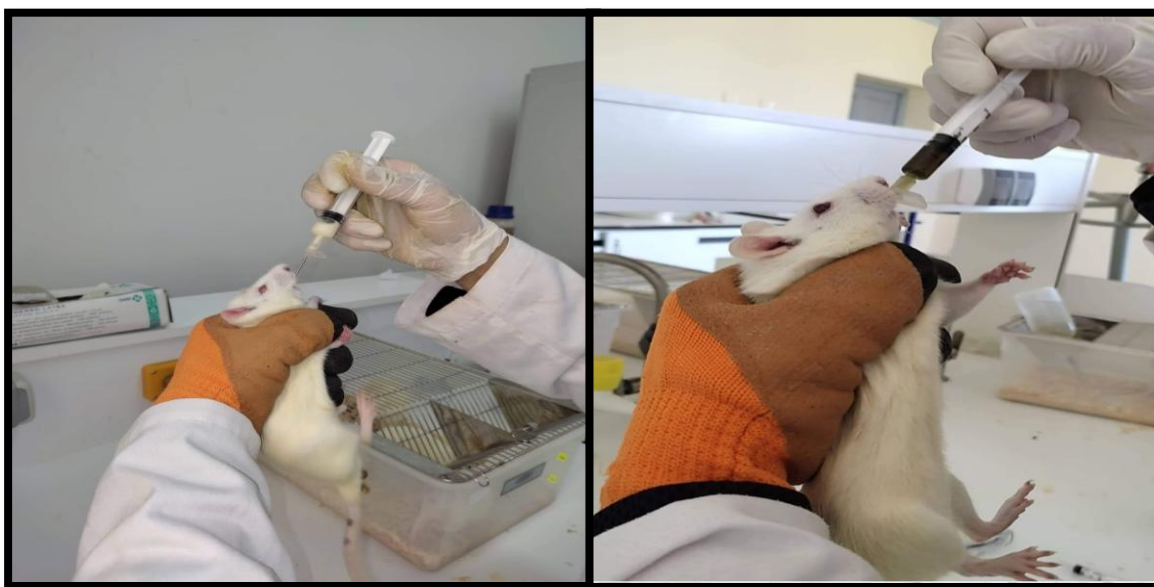
### **2.6. Evaluation de l'activité fertilisante in vivo**

Le but de notre étude est de tester l'effet de la plante *d'Ivette*, sur la fertilité féminine chez des rats femelles matures.

### 2.6.1. Principe

L'activité de la plante sur la fertilité féminine est explorée par la comparaison du poids des ovaires des rats traités avec l'extrait et à celui des ovaires des rats non traités (témoin négatif).

Après avoir validé la dose toxique, deux lots des rats femelles sont choisis au hasard, marquées pour permettre une identification individuelle. Ensuite, ils ont été pesés et répartis en deux groupes de quatre animaux chacun (un groupe témoin et un groupe traité). Les rats femelles traités ont reçu une dose diluée pendant 5 jours (l'équivalent d'un cycle œstrus chez le rat) par gavage l'extrait de la plante *Ajuga Iva* pendant 5 jours. Au 6ème jour, les rats sont disséqués, les ovaires prélevés et pesés. Le lot témoin également composé de cinq rats mais ne recevant aucun traitement, nous permet de comparer le poids moyen des ovaires des rats traités à celui des ovaires des rats non traités.



**Figure 13.** Le gavage des rats

### 2.6.2. Protocol de la dissection

Dans cette partie de notre étude nous avons utilisé le matériel ci-dessous:



### ❖ **Matériel**

- Paire de gants
- Papier absorbant
- Chloroforme
- Coton
- Cuve à dissection
- Trousse de dissection : scalpel, sonde cannelée, plusieurs pinces, ciseaux, des aiguilles de fixation, Sac de plastique. (Annexe 1).

Le protocole de la dissection consiste aux étapes suivantes:

- Prendre un rat avec délicatesse, le placer sous la cloche où est placé un bout de coton imbibé de chloroforme. A l'aide des aiguilles, on a accroché le rat au bac de dissection au niveau des pattes. Cette étape facilite le déroulement de la dissection.
- Soulever la peau avec la pince et faire une boutonnière de l'abdomen en avant de l'orifice urinaire afin d'y introduire la sonde cannelée.
- Découper la peau le long de la cannelure de la sonde à l'aide d'un Scalpel ou par des ciseaux (le plus fin possible) pour obtenir une découpe nette et précis;
- Dégagement de la peau de la paroi musculaire à l'aide d'une pince et du scalpel, en retirant les adhérences puis on a accroché la peau au bac de dissection à l'aide des aiguilles.
- Les deux gonades sont situées à la face dorsale près des reins. Les ovaires sont massifs et très petits. Ils sont généralement masqués par une lame de tissu adipeux. Les ovaires sont au contact du pavillon de la trompe que l'on appelle oviducte et se prolonge par l'utérus qui bifide puis le vagin en contact avec l'extérieur au niveau de la vulve.

- A la fin de la dissection, l'animal doit être retourné au responsable de l'animalerie pour prendre en charge les animaux morts qui sont soumis à une lourde réglementation (visant à l'hygiène et à un respect de l'animal).

L'ensemble du matériel et le lieu de dissection doivent être propres nettoyés, désinfectés et séchés.



**Figure 14.** La dissection de l'animal.

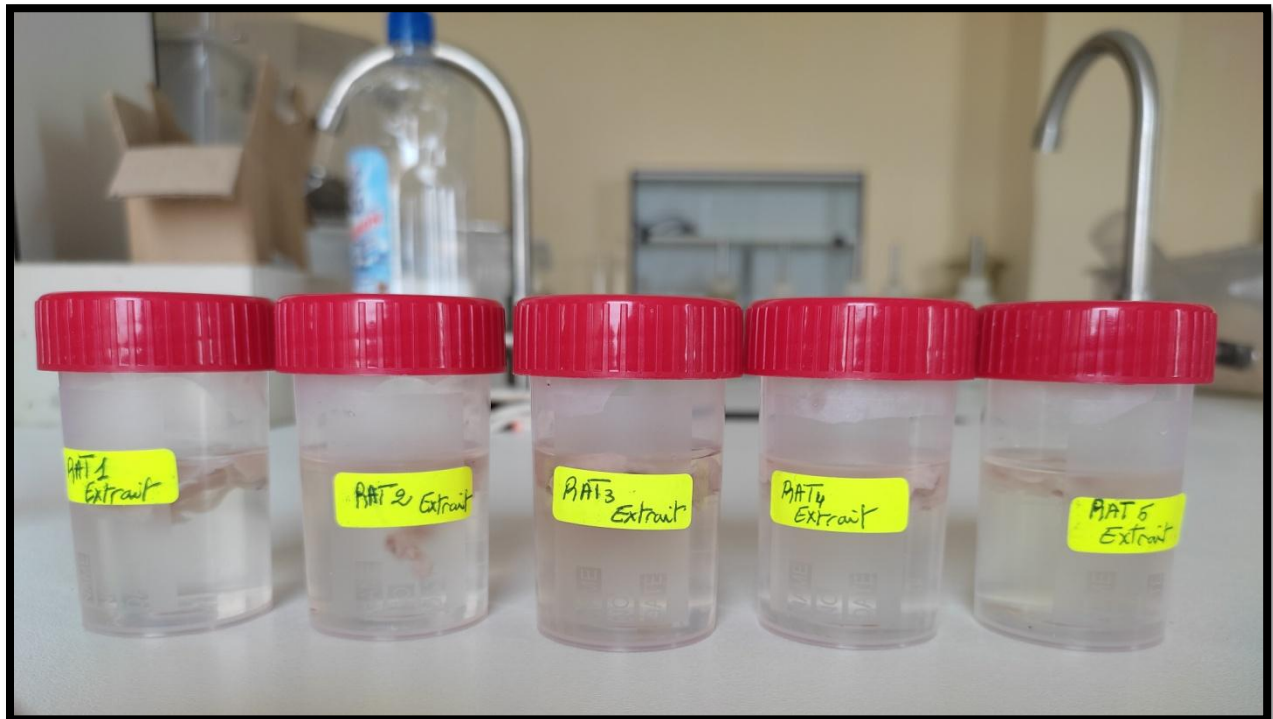
### 2.7. Techniques d'étude histologique

L'émergence de l'histologie a coïncidé avec le développement d'un microscope pour grossir et observer les tissus à travers des lames de verre, et examiner les cellules internes et d'autres corps d'un point de vue biochimique et cytologique. Lors de la préparation d'un échantillon histologique nous passons par huit étapes : le prélèvement et fixation, Eclaircissement et Imprégnation à la paraffine, l'inclusion, la microtomie, étalement et

collage des coupes sur des lames de verre, coloration des lames et enfin le montage des lames.

### 2.7.1. Prélèvement et fixation

Après la dissection de l'animal, prélever uniquement le tissu qui nous intéresse qui sont les ovaires, ils sont pesés et fixés dans le formol 10% (un fixateur), pour les conserver dans un état proche du vivant. Ils sont par la suite placés dans des cassettes d'inclusion en plastique. (Annexe 2).



**Figure 15** . les ovaires des rats traités conservés dans le formol 10%.

### 2.7.2. Déshydratation

La déshydratation a été réalisée en plaçant les cassettes contenant les ovaires dans du tampon PBS à 10% pour effectuer un lavage en suivant avec des bains d'alcool (éthanol) de concentration croissante (2 bain pour chaque concentration 70°, 90°, 96° et 100°), pour éliminer l'eau intra et extracellulaire.



**Figure 16.** les cassettes contenant les ovaires déshydrater dans des bains d'alcool (éthanol) de concentration croissante (70°, 90°, 96° et 100°).

### 2.7.3. Eclaircissement et Imprégnation à la paraffine

On utilise dans cette étape d'éclaircissement le xylène, solvant intermédiaire favorable aux échanges membranaires entre l'alcool ↔ xylène d'une part et xylène ↔ paraffine d'autre part la durée du premier bain de paraffine est de 24h, par contre la durée de second bain est illimitée. (voire protocole (Annexe 2)).

### 2.7.4. Inclusion et confection des blocs de paraffine

L'inclusion est réalisée à l'aide de la paraffine fondue à 60°C. (Annexe 2) à l'aide des petits moules en métal, la paraffine liquide est coulée sur les ovaires, en déposant les cassettes en plastique avec les indications de la pièce traitées sur les moules, c'est l'enrobage. Les bloc sont démoulée après refroidissement dans un congélateur pendant toute une nuit à une température - 10° c. On se trouve alors en présence d'un bloc de paraffine dur.



**Figure 17.** Les étapes d'inclusion avec l'automate de paraffine fondue.

### 2.7.5. Confection des coupes histologique (microtomie)

Le passage du bloc de paraffine dans un microtome permet de réaliser des sections de 2 à 5  $\mu\text{m}$  disposées en séries régulières sous forme d'un ruban constituée d'une section trapézoïdale continue contenant notre échantillon entouré de paraffine de l'ordre de 4-8  $\mu\text{m}$ .





**Figure 18.** Obtention des coupes des ovaires sous forme des rubans de paraffine 5 µm.

### 2.7.6. Etalement et collage des coupes sur des lames de verre

Déposer les coupes sur l'eau chauffée à 40 °C contenant un liquide d'étalement (**adhésive des section tissulaire**). (Annexe3) récupérer les segments de ruban de paraffine sur les lames de verre qui sont placées sur une plaque chauffante, réglée à une température de 40°C, pendant 15 min. Le séchage de la préparation se fait en inclinant les lames au moyen de papier buvard absorbant.



**Figure 19.** Etalement du ruban coupé sur les lames dans un bain marie.

### 2.7.7. Coloration

Le but de la coloration est d'accentuer les contrastes afin de différencier les différents constituants tissulaires. Les coupes doivent être débarrassé de la paraffine par deux bains de xylène à 10 min et réhydratée pour retirer le xylène en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissant (de l'alcool à 100° jusqu'à l'alcool à 70°), puis dans de l'eau distillée tout en suivant le protocole de coloration.

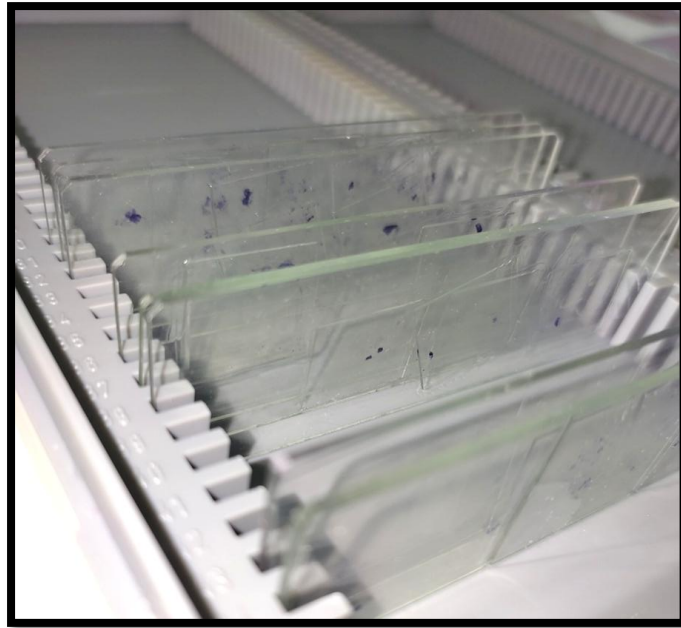
La Coloration topographique HE qui a été réalisée par émerger les lames en hématoxyline à 7 min pour colorer le noyau en bleu après lavage puis coloré par éosine (5 min) pour colorer le cytoplasme en rose puis lavé. L'éclair-cément se fait par le xylène pour la facilité et éclairette de la lecture. (Protocole de coloration). (Annexe 3).



**Figure 20.**Coloration hémateine- éosine- (HE).

### 2.7.8. Montage

Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec le 'Baume de Canada' dont l'indice de réfraction est proche de celui du verre. On obtient, ainsi des lames histologiques prêtes à être observée au microscope optique.



**Figure 21.** Les coupes histologique des ovaires colorier et monter entre lame et lamell



### III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

#### .1. Introduction

Dans ce chapitre, nous allons présenter et discuter les résultats expérimentaux obtenus de, la caractérisation et l'évaluation de l'activité fertilisante in vivo. Une dernière partie relative aux résultats de l'étude histologique des ovaires.

#### .2. Les résultats de la caractérisation de l'extrait

Dans notre étude, nous avons réalisé une extraction par macération, l'extrait obtenu est caractérisé par UV-Visible , pour but d'identifier et évaluer l'activité fertilisante.

##### .2.1. Teneur en extrait :

Le rendement en extrait est représenté dans le tableau suivant, il a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la plante.

**Tableau III.1.** Rendement de l'extrait.

Poids végétal(g)	Poids d'extrait	Rendement en EX %
10g	2,253	22,53

##### .2.2. Propriétés organoleptiques de l'extrait :

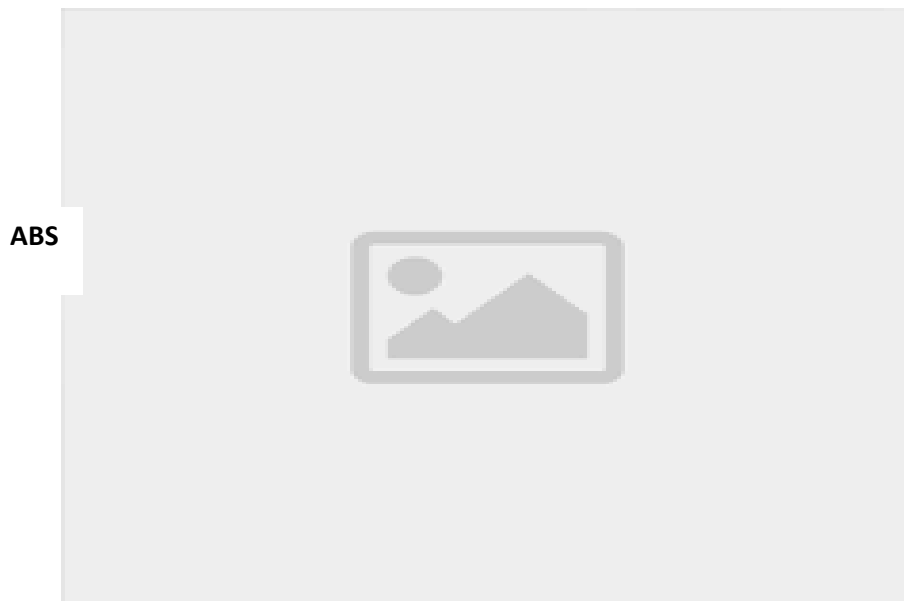
L'examen organoleptique de l'extrait *d'Ivette*, obtenue a donné les résultats présents comme suit :

**Tableau III.2.**Caractéristiques organoleptiques de l'extrait.

Aspect	Couleur	Odeur
huileux	verte	Aromatique

### 2.3. Résultats de la spectrophotométrie UV-Visible :

Nous avons analysé l'extrait obtenu par spectrophotométrie UV-Visible, le spectre d'analyse est représenté dans la figure suivante : \*



**Figure 22.** Spectre UV- visible d'extrait d'Ivette,

D'après la monographie nous avons trouvé que les phytostéroïdes sont généralement détecté par UV- visible à une longueur d'onde de 243 nm. Et les flavonoïdes sont détectés en deux bandes de longueur d'onde de 330 nm. (Lafont et al., 2017).

### 3. Résultats de la toxicité aigüe:

Les résultats de la toxicité obtenus sont regroupés dans le tableau III.3 suivant :

**Tableau III.3. Les résultats de la toxicité.**

Rats	Rat 1	Rat 2	Rat 3	Rat 4	Rat 5
<b>Morbidité</b>	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS
<b>Mortalité</b>	0	0	0	0	0

L'administration par voie orale d'une dose unique 2000 mg/kg de l'extrait administré n'a pas présenté de mortalité ni de signe de morbidité sur toute la durée d'observation. Nos résultats concordent avec les résultats des études toxicologiques menées sur les extraits de la plante *d'Ivette*, par (El Hilaly et al , 2004). Cette étude toxicologique nous a permis de déterminer la dose à administrer pour évaluer l'activité pharmacodynamique portant sur l'effet fertilisant féminin.

### 4. Résultats de l'évaluation de l'activité fertilisante in vivo :

L'évolution de l'activité fertilisante in vivo est marqué sur les poids des ovaires. Les résultats obtenus de cette partie sont rassemblés dans les tableaux suivants.

**Tableau III.4. Tableau récapitulatif le poids des ovaires des rats non traités par l'extrait *d'Ivette*.**

Lot Temoin	Rat N°	Poids de Rats	Ovaire gauche	Ovaire droite	Poids des ovaries
	(mg)				
	1	176.3	0.1<2	0.1^7	0.1^9
	2	178.6	0.1^2	0.0^8	0.1^5
	3	172.4	0.1^7	0.^2	0.1^9
	4	171.2	0.1^3	0.^1	0.1^3
<b>Moyenne ± σ</b>		179.625±19.643	0.1^2±0.029	0.1^2±0.032	0.1^7±0.029

**Tableau III.5. Tableau récapitulatif des poids des ovaires des rats traités par l'extrait**

Lot Extrait	Rat N°	Poids de Rats	Ovaire gauche	Ovaire droite	Poids des ovaries
		<b>(mg)</b>			
	1	170.7	0.233	0.278	0.51
	2	177.1	0.298	0.334	0.632
	3	174.1	0.211	0.177	0.388
	4	170.2	0.24	0.2	0.44
<b>Moyenne ± σ</b>		178.025±11.227	0.296±0.039	0.171±0.029	0.43±0.033

Les résultats obtenus et qui sont illustrés dans les tableaux ci-dessous nous montrent une progression notable des poids des ovaires des rats traités par voie orale avec notre extrait.

En comparant la moyenne de poids des ovaires des rats traités par l'extrait avec celle des rats non traités on trouve une augmentation significative de l'ordre de 3 fois supérieures. Nous notons aussi une manifestation dans le poids général des rats.

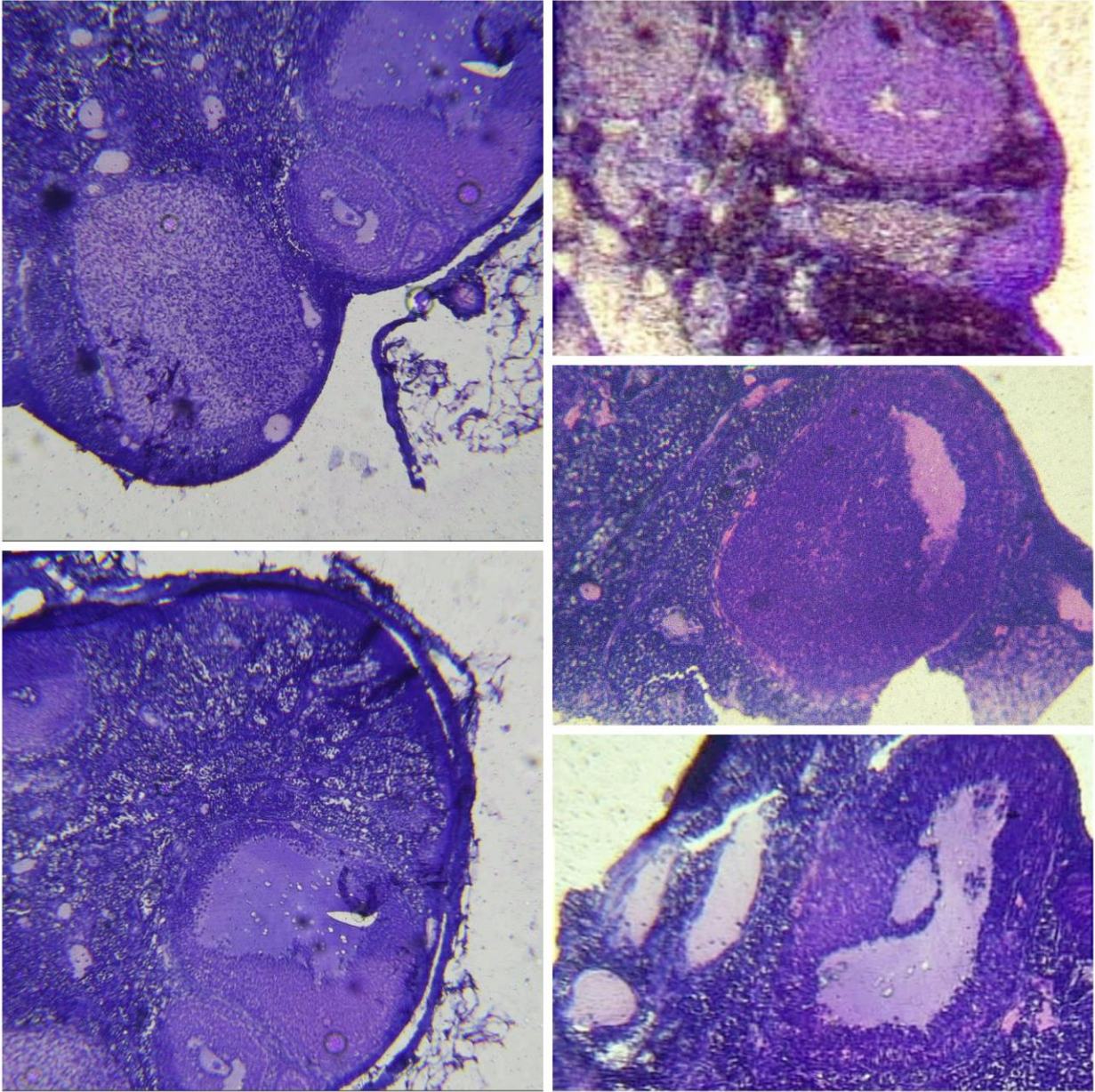


**Figure 23. Histogramme montrant l'évolution pondérale des ovaires chez les différents lots des rats.**

Cette augmentation pondérale des ovaires traités par l'extrait *d'Ivette*, probablement dû par son effet sur la gonade femelle en stimulant la prolifération des cellules qui composent le tissu ovarien pour atteindre un poids supérieur à celui des ovaires des rats non traités. Ce que nous avons confirmé par l'étude histologique.

### **5. Résultats de l'examen histologique des ovaires femelles traités**

Cette étude a pour but l'exploitation et l'observation des structures des ovaires des rats. Les résultats des coupes transversales coloriés et observés par un microscope photonique à différents grossissements des ovaires des rats traités par l'extrait et les non traité sont représentés dans la figure suivante :

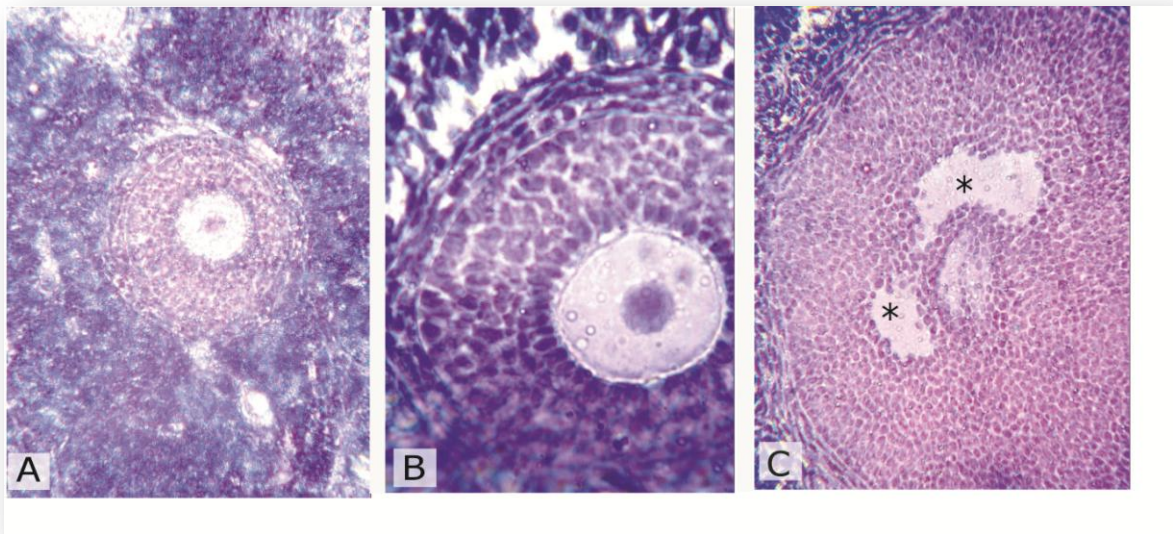


**Figure 24.** Coupes transversales des ovaires de rats non traitées, traitées par l'extrait d'ecdystéroïde et traitées par Clomid.

**A, A' :** Témoin. **B, B' :** traitement par l'extrait de plante ; noter l'abondance de follicules (asterisks) à taille homogène en stade cavitaire noter les collection cavitaires (flèches). Coloration Hématoxyline & Eosine.



L'étude histologique réalisées montre un effet majeur sur la taille de l'ovaire (très volumineux) pour les rattes traitées par l'extrait de plante *d'Ivette*, en comparant avec le témoin; ainsi une croissance des cellules folliculaires et une mobilisation importante des follicules ovariens de tailles homogènes sont observées. Comme le montre la (fig.25) par ; **B ; B'** (abondance de plusieurs follicules au même stade cavitaire).



**Figure 25.** Stades folliculaires retrouvés dans les ovaires des animaux traités

**A :** follicule primaire. **B :** follicule secondaire. **C :** follicule cavitaire ou tertiaire. Les collections cavitaires (asterisks) sont retrouvés essentiellement au niveau des animaux traité avec l'extrait de plante .

D'après les résultats de nos coupes histologiques, une abondance du stade tertiaire est observé chez les rattes traitées par l'extrait *d'Ivette*, ou les follicules se trouvent avec un liquide antrum. Ce stade folliculaire est caractérisé par son fort sensibilité en FSH en plus l'augmentation d'œstrogène qui induit un rétrocontrôle positif sur l'axe hypothalamo hypophysaire en sécrétant le LH et déclenchant l'ovulation par la suite.

Si on parle d'un point de vue moléculaire et en fonction de nos résultats de la caractérisation phytochimique par UV-VISIBLE de la plante *d'Ivette*, on peut dire que la molécule d'intérêt avec l'activité fertilisante. Vu que Le récepteur est une protéine de la superfamille des récepteurs nucléaires, et de la même famille que les récepteurs des œstrogènes (ER), les deux sont des récepteurs stéroïdes (Grand A ,2009). Dans ce cas nous pensons que la molécule peut agir aussi comme un agoniste sur les récepteurs qui joue un rôle important dans la régulation d'expression d'œstrogène.

Cette étude réalisée reste a confirmé par un bilan hormonal( FSH, LH, AMH et l'œstradiol) et avec un effectifs d'échantillons plus élevé et une morphométrie pour déduire et cibler le mode d'action de notre molécule d'intérêt.



## CONCLUSION

La recherche que nous avons menée a pour objectif général d'augmenter la proportion de traitements dispensés aux femmes souffrant de problèmes d'infertilité à base des principes actifs obtenus à partir de la plante *d'Ivette*, par le processus de macération.

L'extraction réalisée a permis d'avoir un rendement de 22,53 %. Il a été caractérisé et analysé par UV-VISIBLE et s'est avéré être des phytostéroïdes détecté à une longueur d'onde de 243 nm.

Grâce aux études toxicologiques, on a pu déduire que l'extrait de la plante *d'Ivette*, ne présente aucun signe de toxicité ou de morbidité tout au long de la période d'observation.

Les testes in vivo pratiquer sur des rats femelle Wistar traitée par notre extrait ,on donné des très bon résultats concernent l'évolution des poids des ovaires ainsi que le poids corporel.

L'augmentation significative dans le volume ovarien est bien démontré histologiquement . les ovaires traitais par l'extrait ont présenté une croissance folliculaire très intéressante. nous avons constaté que les cellules folliculaire trouvé en abondances sans dans le même stade et c'est le stade tertiaire .

Ce stade folliculaire se caractérise par une grande sensibilité à la FSH ,une hormone impliquée dans la maturation folliculaire. cette hormone joue son rôle après une stimulation due par notre extrait. Cela s'explique par des actions moléculaires sur les récepteurs nucléaires qui agissent suite à la modulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Dans la perspective de cette étude, nous recommandons fortement de la répéter avec une analyse morphométrique pour démontrer l'efficacité du traitement a un grande échelle.

Ciblé et localiser le mécanisme d'action de la d'intérêt afin de pouvoir formulé des médicaments pour résoudre les problèmes d'infertilités féminines.

**A**

- Anderson K, Norman RJ, Middleton P. Preconception lifestyle advice for people with subfertility. In: Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2010 [cité 13 janv 2015].
- Ayari, B., Riahi, L., Ziadi, S., Chograni, H., Mliki, A., (2013). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of tunisian *Ajuga iva* l. essential oils. *Revue FSB* 201–203.

**B**

- BAHORUN T., 1997 - Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius, 83-94.
- Ben Jannet H., Al Mourabit A., Gateau-Olesker A., Marazano C., Mighri Z. (1999). Enantioselective synthesis of natural biologically active ivaide A: 1,3-di-(R)-â hydroxyglyceride glycerol. *Tetrahedron Asymmetry* 10: 2381-2386.
- Bennaghmouch.L ,Hajjai.N, Zellou.A , Cherrah.Y (2001). Etude pharmacologique d'*Ajuga iva*. *Annales pharmaceutiques françaises. Elsevier Masson SAS*. Paris .vol, 59 :284.
- Beppu, H., M. Kawabata, et al. (2000). "BMP type II receptor is required for gastrulation and early development of mouse embryos." *Dev Biol* 221(1): 249-58.
- Bhowal, M., Gopal, M., (2016). Eucalyptol: safety and pharmacological profile. *RJPS* 5, 125–131. e-Dubois, M.A., Bouchenak, M., (2008). Changes in antioxidant defense status in hypercholesterolemic rats treated with *Ajuga iva*. *Phytomedicine* 15, 453–461.
- Boudjelal, A., Siracusa, L., Henchiri, C., Sarri, M., Abderrahim, B., Baali, F., Ruberto, G., (2015). Antidiabetic effects of aqueous infusions of *artemisia herba-alba* and *Ajuga iva* in alloxan-induced diabetic rats. *Planta Med.* 81, 696–704.
- Bourgneuf C.,(2020). Hormone anti- Müllérienne, Métabolisme et Ovaires Polykystiques. Thèse de doctorat d'état en Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique, Sorbonne Université, France .p. 222.

- Bouyahyaa, A, El Omarib, N, Elmenyiyc, N, Guaouguaoud, F. E, Balahbibe, A, El-Shazlyf,M , Chamkhi, I.(2020). Ethnomedicinal use, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Ajuga Iva* (L.) schreb. *Journal of Ethnopharmacology* . ELSEVIER. 258,20).

### C

- Camps, F., Coll, J., Cortel, A., (1982). New clerodane diterpenoids from *Ajuga iva* (Labiatae). *Chem. Lett.* 11, 1053–1056.
- Carranza-Mamane, B., Havelock, J., & Hemmings, R. . Prise en charge des fibromes utérins en présence d'une infertilité autrement inexpliquée. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, December 2016, 38(12), S597–S608.
- Chabert B.N. 2001, les SERMs selective eostrogen receptor modulator : un nouveau concept pour relever deux défis majeurs de santé publique ménopause et cancer du sein, *endocrinologie*, volume 3,n4,Paris, p 304-11.
- Chenni, A., Yahia, D.A., Boukortt, F.O., Prost, J., Lacaille-Dubois, M.A., Bouchenak, M., (2007). Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. *J. Ethnopharmacol.* 109, 207–213.
- Chouitah, O., Meddah, B., Aoues, A., Sonnet, P., (2017). Essential oil from the leaves of *Ajuga iva*: chemical composition and antimicrobial activity. *J. Essent. Oil Bear. Plant.* 20, 873–877.
- Croteau. M.2011, diagnostic et traitement des ovaires polykystique, le médecin du Québec, volume 46, n 3.p 6.

### D

- Daoui A, Hacini S., (2021).Implication de la polymorphisme I/D du gène HLA-G dans l'infertilité féminine idiopathique. Thèse de Master d'Etat en science biologique spécialité génétique moléculaire. Université des Frères Mentouri, Constantine. p. 88.
- Diafat,A. (2014). Evaluation des effets anti-arthritique et toxique de l'extrait méthanolique de l'*Ajuga Iva*. Thèse de Master en biochimie, département de biochimie, université Ferhat Abbas-sétif 1.Pp160.

- Dubois-Bunel J., (2016). Représentations de la fertilité et attentes d'un entretien médical sur la fertilité. Etude qualitative auprès de femmes d'Ile de France. Thèse de Doctorat d'État en Médecine générale. Université Paris Diderot- Paris, Faculté de Médecine. P. 83.

### E

- Edson, M. A., A. K. Nagaraja, et al. (2009). "The mammalian ovary from genesis to revelation." *Endocr Rev* 30(6): 624-712
- El Hilaly. J (2007). Les Propriétés Pharmacologiques, Ethnobotaniques Et Phytochimiques De *Ajuga Iva* *J Ethnopharmacol* , 86:149-158.
- El Hilaly. J, a, Zafar H. Israili b, Badiia Lyoussi (2004). Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animal. *J Ethnopharmacology* ,pp 91 43-50).
- El-Hilaly. J , Amarouch. M.Y , Morel. N , Lyoussi. B , Quetin-Leclercq. J (2021). *Ajuga iva* water extract antihypertensive effect on stroke-prone spontaneously hypertensive rats, vasorelaxant effects *ex vivo* and *in vitro* activity of fractions. *Journal of Ethnopharmacology*. 270, 113791, pp8.

### F

- Ford WCL. Increasing paternal age is associated with delayed conception in a large population of fertile couples: evidence for declining fecundity in older men. *Hum Reprod*. 1 août 2000;15(8):1703-8.
- Foucrien. J (2020). Les approche microscopique, In : PASS UC2 HISTOLOGIE .1<sup>er</sup> Ed , paris. Edi-science .pp 313.

### G

- Gauthier T, Piver P, Durand L-M, Donadel L, Pech J-C, Roux C, et al. Chimiothérapie et préservation de la fertilité féminine. *Presse Médicale*. juill 2010;39(7-8):786-93.
- Ghouri. I (2019). Influence de la leptine sure la fonction ovarienne chez la ratte femelle wistar. These de doctorat en science vétérinaire. université de blida 1 , pp241.
- Grand.A.2009. étude comparative de récepteurs aux œstrogènes : aspects moléculaire et cellulaire de la réponse aux œstrogènes et anti œstrogènes implique dans les causes de thérapies du cancer du sein. Thèse de doctorat biochimie, université de Bretagne sud. France, p 235.

**H**

- Hamel. T, Sadou. S, Seridi. R, Boukhdir. S, Boulemtafes. A (2018) . Pratique Traditionnelle d'utilisation Des Plantes Médicinales Dans La Population De La Péninsule De l'edough (Nord-Est Algérien). *Ethnopharmacologia*, N°59., pp75-81.
- Hammiche, V., Merad, R., Azzouz, M. (2013). Phytothérapie traditionnelle en Algérie. In: Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. *Collection Phytothérapie pratique*. Springer, Paris. p18–20.
- Hassan MA, Killick SR. Negative lifestyle is associated with a significant reduction in fecundity. *Fertil Steril*. févr 2004;81(2):384-92.
- Hichem B. Jannet ,Zine Mighri ,Laurent Serani ,Olivier Laprevote,Jean-Christophe Jullian & François Roblot. (04 octo 2006). Isolation and Structure Elucidation of Three New Diglyceride Compounds from *Ajuga Iva* Leaves, Pages 157-164.

**I**

- IUCN, (2005), Union internationale pour la conservation de la nature et de ses ressource, A Guide to medicinal plants in North Africa, 1<sup>er</sup> Edition, Spain, , .pp269.
- Johnson, J., J. Bagley, et al. (2005). "Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood." *Cell* 122(2): 303-15.

**K**

- Kayem G & Batteux ,2008. Immunologie de la grossesse. La Presse Médicale, 37(11), 1612-1619.
- Kouamé N, N'goan-Domoua A-M, Konan N et al ,2012. Apport de l'échographie transvaginale associée à l'hystérosalpingographie dans la recherche étiologique de l'infertilité féminine à Abidjan (Côte d'Ivoire). *African Journal of Reproductive Health* Decemb, ; 16(4): 43-49.

**L**

- Lauriane Sèdes. Voie de signalisation et gènes cibles de l'AMH dans le tractus génital femelle. Sciences agricoles. Université Paris Sud - Paris XI, 2014. Français
- Leridon H. L'espèce humaine a-t-elle un problème de fertilité ? population et sociétés Ined. oct 2010;
- Lévy-Dutel , L., Berthaut, I., Brunet, L., Dudkiewicz-Sibony, C., Minker, C., Jérôme PF, J. Quels sont les examens à pratiquer ? In : Le Grand livre de la Fertilité., Groupe Eyrolles., Paris 2015, p. 134
- Limonier A, S. (2018).La Phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie, thèse de doctorat en pharmacie, faculté de pharmacie, université de Aix Marseille.pp.93.
- Liu, K. E., & Case, A. (2017). N o 346-Âge génésique avancé et fertilité. Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada, 39(8), 696–708.
- Lynch CD, Sundaram R, Maisog JM, Sweeney AM, Buck Louis GM. Preconception stress increases the risk of infertility: results from a couple-based prospective cohort study--the LIFE study. Hum Reprod Oxf Engl. mai 2014;29(5):1067-75.

### M

- Maya Assie EH .A (2015). Analyse statistique des population pour interprétation d'image histologique. Thèse de doctorat en traitement des signal d'image, université paris d'escartes. Pp 185.
- McGee, E. A. and A. J. Hsueh (2000). "Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles." Page 263 Endocr Rev 21(2): 200-14
- Medjeldi. S, Bouzlama. L, Benabdalla. A, Essid. R, Haou. S, Elkahoui. S (2018). Biological activities, and phytocompounds of northwest Algeria *Ajuga iva* (L) extracts: Partial identification of the antibacterial fraction. *Microbial Pathogenesis*. pp22.
- Messaoudi. K, (2012). Flavonoïdes d'*Ajuga iva* et de *Rhamnus alaternus* : Etude de leur effet antioxydant et sur l'alpha glucosidase. Thèse de Master en biochimie appliquée faculté des sciences de la nature et de la vie .université de béjaia.p77
- Moghadasian, M.H., (2000). Pharmacological properties of plant sterols: In vivo and in vitro observations. Life Sci. 67, 605–615.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Monniaux D., Mandon-Pépin B. et Monget P., (1999) « L'atrésie folliculaire, un gaspillage programmé », Synthèse, Med Sci (Paris), V. 15, n° 2, , 157-166.
- Monniaux, D., C. Huet, et al. (1997). "Follicular growth and ovarian dynamics in mammals." J Reprod Fertil Suppl 51: 3-23.
- Mouheb. S, K 96 HALI. M , Rouibi. A, Saidi. F.(2018).Antimicrobial and Analgesic Activity of Aqueous Extract of Algerian Ajuga Iva (L.) SCHREB (LAMIACEAE). *Revue Agrobiologia* 8(1),pp 863-870).

### N

- Norman, R,F., Olayiwola, A .Audrey, S,B,. Djaja ,D,S. Zhengang ,G. (1986). place des plante médicinl dans la thérapeutique,. Bulletin de l'Organisation mondiale de la santé OMS.64(2) ,159-175.

### R

- Rajkovic, A., S. A. Pangas, et al. (2004). "NOBOX deficiency disrupts early folliculogenesis and oocyte-specific gene expression." *Science* 305(5687): 1157-9
- Ravel C, Kazdar Net Leveque J, 2016. Fertilite´ et insuffisance ovarienne : de nouveaux traitements en perspective ? *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 44,56-62.
- Reynaud, k ; Halter. S ; Tahir. Z ; Thoumire. S ; Chebrou. M ; S. Chastant-Maillard. S. Les follicules polyovocytaires.ELSEVIER MASSON. 18 mars 2010. 395–397.

### S

- Skinner, M. K. (2005). "Regulation of primordial follicle assembly and development." *Hum Reprod Update* 11(5): 461-71

### T

- Tanrikut C, Feldman AS, Altemus M, Paduch DA, Schlegel PN. Adverse effect of paroxetine on sperm. *Fertil Steril.* août 2010;94(3):1021-6.





Annexe 0 : Filtration de l'extrait



Annexe 1 : Trousse de dissection



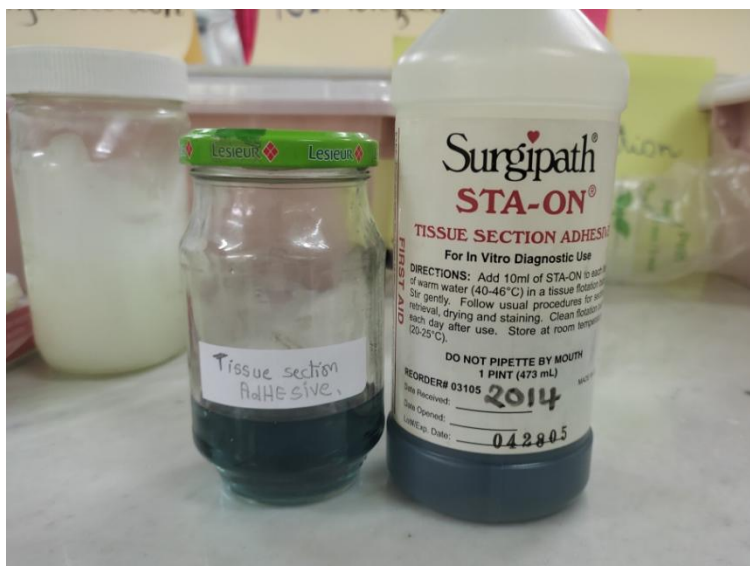
Annexe 2 : protocole suivie pour la déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation à la paraffine.

<b>Les bain utilisé</b>	<b>La durée (temps /h)</b>
Tampon PBS	1h
ALCOOL 70°	1h
ALCOOL 70°	1h
ALCOOL 90°	1h
ALCOOL 90°	1h
ALCOOL 96°	1h
ALCOOL 96°	1h
ALCOOL 100°	1h
ALCOOL 100°	1h
Xylène	1h
Xylène	2h
Paraffine	24h
Paraffine	3h

Annexe 3 : protocole suivie pour la coloration des coupes histologique.

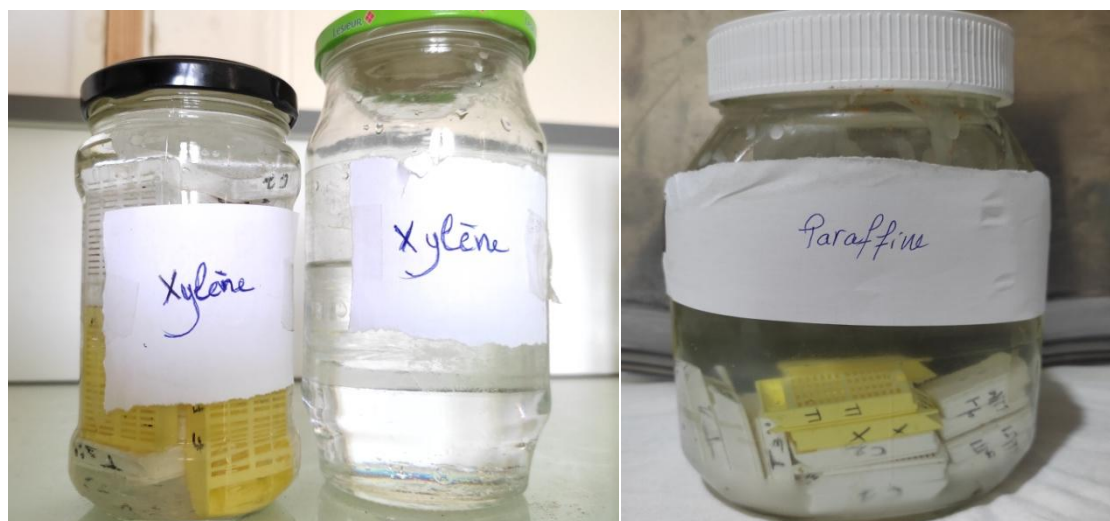
<b>Les étapes</b>	<b>La durée (temps /min)</b>
Xylène	10 min
Xylène	10 min
ALCOOL 100°	7 min
ALCOOL 90°	3 min
ALCOOL 70°	3 min
L'eau courante	5 min
Hématoxyline	7 min
L'eau courante	Lavage
L'eau acidulée	Passage
L'eau courante	2 min
L'eau ammoniacé	passage
Eosine	5 min
L'eau courante	5min
ALCOOL 70°	3 min
ALCOOL 90°	3 min
ALCOOL 100°	5min
Xylène	3min
Xylène	5 min

## Annexe 4 :



adhésive des section tissulaire

## Annexe 5 :



Les deux bain de xylène / paraffine

