

EFFET DE L'EXTRAIT TOTAL AQUEUX DE *CHRYSOPHYLLUM PERPULCHRUM* SUR LES PARAMÈTRES HÉMATOLOGIQUES, BIOCHIMIQUES ET LA CROISSANCE PONDÉRALE DES RATS WISTAR SAINS

**Alain Dit Philippe BIDIE^{1*}, Franck Mansour ADEOTI²,
Francis Adou YAPO¹, Justine Wawa TIEKPA³,
Jean David N'GUESSAN¹ et Joseph Allico DJAMAN¹**

¹Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique, UFR Biosciences,
Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Biochimie Médicale, CHU de Yopougon,
BP V 166 Abidjan, Côte d'Ivoire

³Université Péléforo Gon Coulibaly, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire

* Correspondance, e-mail : alphbidie@yahoo.fr

RÉSUMÉ

Chrysophyllum perpulchrum est une plante qui présente plusieurs vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle. Dans une tentative de déterminer une marge de sécurité à son utilisation, nous avons réalisé une étude toxicologique par voie orale de son l'extrait total aqueux (*ETACp*). Pour cette étude, douze rats ont été divisés en trois lots tests (1, 2 et 3) et un lot témoin (4) de trois rats chacun. Les lots tests ont reçu respectivement les doses 100, 2000 et 5000 mg / kg pc et le lot témoin, de l'eau distillée en prise unique. Concernant la toxicité subaiguë, 36 rats wistar ont été répartis en 6 lots de 6 rats. Le lot 1 témoin, a reçu 1 mL d'eau distillée et les 5 lots tests ont reçu différentes doses de l'extrait par gavage pendant 28 jours. Les animaux ont été pesés tous les 7 jours. Et leur sang a été prélevé pour le dosage des paramètres hématologiques et biochimiques. Les rats ont été ensuite sacrifiés afin de peser les organes cibles de toxicité (cœur, foie et rein). Les résultats de la présente étude ont montré que le traitement des rats par *ETACp* n'exerce aucun signe de toxicité à tous les niveaux de dose utilisée dans l'étude. Les doses 2000 et 5000 mg / kg pc augmentent les taux sériques des plaquettes sanguines, des globules blancs, des HDL et diminue les LDL par rapport aux témoins. *ETACp* pourrait être un immunostimulateur et un cardioprotecteur.

Mots-clés : *Chrysophyllum perpulchrum*, hématologiques, biochimiques, pondérale.

ABSTRACT

Effect of total aqueous extract of *Chrysophyllum perpulchrum* on hematological, biochemical parameters and weight growth in wistar healthy rats

Chrysophyllum perpulchrum is a medicinal plant with several therapeutic properties in traditional medicine. In an attempt to determine a safety margin for its use, we conducted an oral toxicological study of its total aqueous extract (*ETACp*). For this study, twelve rats were divided into three test groups (1, 2 and 3) and one control (4) of three rats each. The test group received doses 100, 2000 and 5000 mg / kg bw, respectively, and the control group, single distilled water. Concerning subacute toxicity, 36 wistar rats were divided into 6 groups of 6 rats. Control group received 1 mL of distilled water and the 5 test group received different doses of the extract by gavage for 28 days. The animals were weighed every 7 days. And their blood was taken for the determination of hematological and biochemical parameters. Then the rats were sacrificed to weigh the target organs of toxicity (heart, liver and kidney). Results from this study elucidated that rat *ETACp* showed no evidence of toxicity at all dose levels used in the study. Doses 2000 and 5000 mg / kg bw increase serum levels of blood platelets, white blood cells, HDL and decreases LDL by comparison with controls. (*ETACp*) could be an immunostimulator and cardioprotector.

Keywords : *Chrysophyllum perpulchrum*, hematological, biochemical, ponderal.

I - INTRODUCTION

Chrysophyllum perpulchrum (*C. perpulchrum*) est un grand arbre atteignant 40 m de haut avec un tronc énorme, rectiligne et cylindrique de 100 cm de diamètre pourvu de contreforts à la base [1]. En Côte d'Ivoire, *C. perpulchrum* se rencontre en plus grande abondance dans les types de forêt sèche, en particulier sur les pentes où il apparaît localement très dominant [2]. Cette plante présente plusieurs vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle. Les racines réduites en poudre sont appliquées sur les enflures, et une décoction de racines est employée pour traiter la dysménorrhée, la stérilité féminine et la schistosomiase. Une décoction d'écorces du tronc sert à soigner la blennorragie, les douleurs abdominales et les affections de la peau, et les feuilles servent à traiter les morsures de serpents. Selon [3], L'extrait total méthanolique de *C. perpulchrum* présente une très bonne activité antioxydante. Dans le Sud - Ouest de la Côte d'ivoire, un extrait de *C. perpulchrum* est utilisé dans le milieu traditionnel comme un

antihypertenseur très efficace. Or pour qu'une drogue possédant des effets pharmacologiques puisse éventuellement être utilisée comme médicament, il est d'abord nécessaire que son activité apparaisse à des doses pour lesquelles la toxicité est négligeable. Son absorption peut avoir pour effet la perturbation du fonctionnement de l'organisme, provoquant des troubles physiologiques pouvant aller jusqu'à la mort des individus exposés. Les essais de toxicité doivent donc accompagner les essais d'activités biologiques au cours de la sélection de ces nouvelles molécules à la suite de plusieurs études. L'objectif de ce travail est donc d'évaluer la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait total aqueux (*ETACp*) de *Chrysophyllum perpulchrum* chez les rats sains.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

II-1. Matériel végétal

Chrysophyllum perpulchrum est la plante médicinale utilisée pour cette étude. Elle a été récoltée dans la région forestière du centre-ouest dans le département d'Issia (Côte d'Ivoire). Cette plante a été authentifiée par le Professeur AKE ASSI Laurent au Centre National de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët Boigny, où spécimen a été déposé sous le numéro: 10378 du 22-05-1980.

II-2. Matériel animal

Les rats de l'espèce *Rattus norvegicus*, de souche *Wistar* pesant entre 200 et 300 g sont utilisés pour cette étude. Ils ont été fournis par les fermes d'élevage de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Les animaux maintenus dans des cages en plastique avec couvertures en acier inoxydable sont mis à acclimater dans l'animalerie de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) (Abidjan, Côte d'Ivoire). Les cages contenaient une litière de copeaux de bois renouvelée tous les deux jours durant toute l'expérimentation.

II-3. Préparation de l'extrait total aqueux de *C. perpulchrum*

L'extrait total aqueux de *C. perpulchrum* a été préparé selon la méthode décrite par [4]. En effet, cent grammes (100 g) de poudre de *C. perpulchrum* ont été dissous dans deux litres (2 L) d'eau distillée. La mixture aqueuse a été agitée pendant 48 heures à 80°C à l'aide d'un agitateur magnétique de type IKA - MAG RCT. L'homogénat obtenu a été filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile puis sur büchner avec du papier filtre Whatmann 3 mm. Le filtrat obtenu a été évaporé à pression réduite à la température de 50°C à l'aide d'un évaporateur rotatif BÜCHI. L'évaporat de couleur marron obtenu a constitué l'extrait total aqueux de *C. perpulchrum* (*ETACp*).

II-4. Évaluation de la toxicité aiguë

La détermination expérimentale de la toxicité aiguë a été réalisée en deux phases selon la méthode de [5]. Dans la première phase, douze rats ont été divisés en trois lots tests (1, 2 et 3) et un lot témoin (4) de trois rats chacun. Les lots tests 1, 2 et 3 ont reçu respectivement les doses 100, 2000 et 5000 mg / kg de poids corporel (pc) de *ETACp* par gavage à l'aide d'une canule orophagun. Tous les animaux ont été observés pendant 24 heures de traitement et les survivants ont été observés par jour pendant deux semaines pour des signes de toxicité aiguë. La récupération et le gain de poids ont été vus comme des indications d'avoir survécu à la toxicité aiguë.

II-5. Évaluation de la toxicité subaiguë

La toxicité subaiguë est déterminée à partir de la ligne directrice 407 de [6] avec quelques modifications. Des doses croissantes de l'extrait ont été administrées, quotidiennement par voie orale, à des lots de rats à raison d'une dose unique par lot pendant 28 jours. Ainsi, 36 rats wistar dont le poids varie de 130 à 150 g ont été répartis en 6 lots de 1 à 6 rats en fonction de leur poids corporel. Le lot 1 correspondant au lot témoin, a reçu 1 mL d'eau distillée par gavage. Les animaux des lots 2, 3, 4, 5 et 6 qui sont les lots tests ont reçu par gavage différentes doses de l'extrait en fonction de leur poids corporel pendant 28 jours. Les lots d'animaux sont observés une fois chaque jour au même moment sur toute la période de l'étude pour les indices de souffrance de toxicité et la mort. L'influence des différentes doses de *ETACp* sur l'organisme est appréciée à partir des examens hématologiques, biochimiques et la croissance pondérale des rats. Les rats ont été pesés tous les sept jours afin de déterminer l'impact de l'extrait sur la croissance pondérale des animaux. Le sang des animaux a été ensuite prélevé afin de doser les paramètres hématologiques et biochimiques.

II-5-1. Dosages des paramètres hématologiques

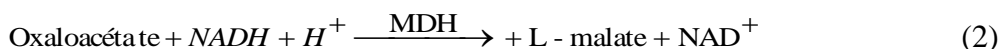
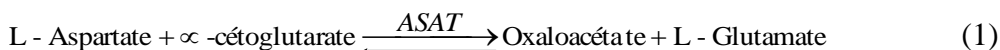
L'analyse hématologique a été effectuée en utilisant un analyseur automatique hématologique (Coulter STKS, Beckman) selon la méthode décrite par [7]. En effet, le sang total des animaux traités par *ETACp* a été prélevé dans des tubes avec de l'anticoagulant (EDTA). Les paramètres inclus : le comptage des globules rouges (GR), le nombre de globules blancs (GB), l'hémoglobine (Hb), le taux d'hématocrite (HCT), le volume globulaire moyen (VGM), la concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire (CCMH) et le nombre de plaquettes ont été déterminés selon [8, 9].

II-5-2. Dosages des paramètres biochimiques

L'analyse biochimique a été réalisée à l'aide d'une centrifugeuse à 1480 tours / min, pendant 10 minutes, pour obtenir le sérum. Celui-ci a été conservé à -20 °C jusqu'à la détermination des paramètres biochimiques suivants : l'aspartate aminotransférase (ASAT), l'alanine amino-transférase (ALAT), la lactate déshydrogénase (LDH), l'urée, la créatinine, la phosphatase alcaline (PAL), le cholestérol total, les triglycérides, les lipoprotéines de faibles densité (LDL), les lipoprotéines de haute densité (HDL). Les dosages ont été effectués avec un automate Lisa 300 de Hycel.

II-5-2-1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

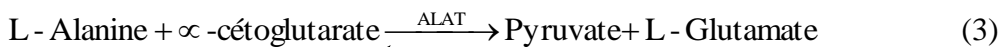
L'ASAT a été dosée selon la méthode de [10]. L'ASAT catalyse la réaction de la L-aspartate et l' α -cétoglutarate en oxalate et L-glutamate. Puis l'oxaloacétate est converti en malate en oxydant en NAD^+ , le NADH par le catalyste MDH selon la réaction suivante.



L'augmentation du NAD^+ lue à 340 nm / 405 nm est directement proportionnelle à la quantité de l'ASAT présente dans l'échantillon.

II-5-2-2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

L'ALAT a été dosée selon la méthode de [11]. L'ALAT catalyse le transfert d'un groupe amine de L-alanine sur l' α -cétoglutarate pour former du L-glutamate et du pyruvate. De même la NADH est oxydée en NAD^+ en convertissant le pyruvate en lactate sous la catalyse de la lactate déshydrogénase (LDH), tel qu'illustré dans le plan de réaction suivant.



Le taux de réduction du NADH est proportionnel à la quantité de pyruvate formé dans le milieu et donc à l'activité de l'alanine.

II-5-2-3. Dosage de la lactate déshydrogénase

La lactate déshydrogénase (LDH) a été dosée par la méthode de [12] selon le **Schéma** réactionnel suivant,



La diminution de l'absorbance due à la conversion de la NADH en NAD⁺ est directement proportionnelle à l'activité de la LDH

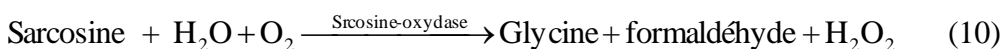
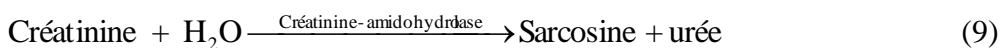
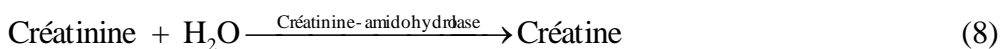
II-5-2-4. Dosage de l'urée

La méthode enzymatique utilisée est basée sur la réaction décrite par [13]. La méthode a été optimisée par [14] qui a montré que la concentration de l'urée dans l'échantillon est proportionnelle à la variation de l'absorbance mesuré à 340 nm pendant un temps donné. Le **Schéma** réactionnel est le suivant :



II-5-2-5. Dosage de la créatinine

Ce dosage est basé sur la réaction colorimétrique de [15] tel qu'optimisée par [16, 17]. Sans traitement préalable de l'échantillon de créatinine avec de l'acide picrique en milieu alcalin, la cinétique de la réaction est mesurée à 490 nm.



II-5-2-6. Dosage de la lactate déshydrogénase

La lactate déshydrogénase (LDH) a été dosée par la méthode de [12] selon le **Schéma** réactionnel suivant :



La diminution de l'absorbance due à la conversion de la NADH en NAD⁺ est directement proportionnelle à l'activité de la LDH.

II-5-2-7. Dosage de la créatinine phosphokinase (CPK)

La CPK a été dosée selon la méthode de Picololo telle que modifiée par la Fédération Internationale de Chimie Clinique [18]. L'activité catalytique de la CPK est proportionnelle à la vitesse d'apparition du NADPH dont l'absorbance a été déterminée au spectrophotomètre à 340 nm.



II-5-2-8. Dosage de la phosphatase alcaline

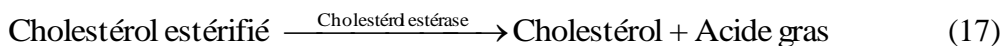
L'activité de la PAL a été déterminée selon la méthode de [19] suivant la réaction ci-dessous :

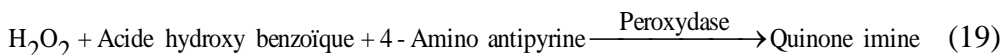


Le phénol libéré par hydrolyse du substrat réagit en présence de 4-aminoantipyrine et de ferricyanure de potassium pour former un complexe rouge dont l'absorbance mesurée à 510 nm est directement proportionnelle à l'activité la PAL dans l'échantillon.

II-5-2-9. Dosage du cholestérol total

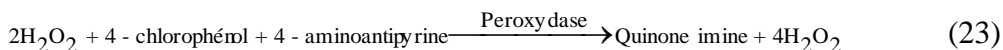
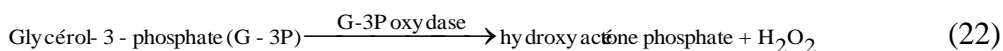
Le cholestérol sanguin est dosé par la méthode de [20] selon la chaîne de réaction ci-dessous. Le peroxyde d'hydrogène réagit avec l'acide hydroxy-benzoïque (HBA) et la 4-aminoantipyrine pour former la quinone imine de couleur rouge. L'absorbance de cette coloration mesurée à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol contenue dans le sérum.





II-5-2-10. Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides a été effectué selon [20]. Les triglycérides, à la suite de plusieurs réactions couplées, donnent un complexe coloré dont l'intensité déterminée à 500 nm est proportionnelle à la quantité des triglycérides présentes dans le sérum. Le principe est résumé ci-dessous.



II-5-2-11. Dosage du HDL cholestérol et du LDL cholestérol

Le dosage du HDL-cholestérol (HDL-C) et le LDL-C est réalisé selon la méthode de [20]. Ce test s'effectue dans un premier temps grâce au réactif de phosphotungstique associé au chlorure de magnésium qui permet de précipiter le LDL-C et doser le HDL-C à 500 nm. Ensuite homogénéiser le précipité préalablement obtenu dans 1 mL dans du tensioactif Emulgen B-66. Après centrifugation, l'absorbance du surnagent lue à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité du LDL-C dans le sérum.

III - RÉSULTATS

III-1. Évaluation de la toxicité aiguë

L'étude de la toxicité aiguë indique qu'avec la dose de 300 mg / kg pc per os, les rats n'ont présenté aucun signe de toxicité 30 minutes après l'administration de *ETACp*. Il n'y a aucun changement au niveau de la mobilité, du comportement, de l'appétit des rats. Aucune mortalité n'a été observée. Ces mêmes observations ont été faites après 3 heures et pendant les 14 jours, après l'administration du produit. A la dose de 2000 mg / kg pc, il n'y a pas eu

également de mortalité, de changement au niveau de la mobilité, du comportement, de l'appétit des rats après 30 minutes, 3 heures et pendant les 14 jours après administration du produit. L'administration per os de *ETACp* à la dose de 5000 mg / kg pc a provoqué, après 30 minutes, une perte d'appétit, un changement au niveau de la mobilité et du comportement des rats. Les animaux sont affaiblis et leur rythme cardiaque est accéléré. Aucune mort n'a été constatée. De ces observations, il ressort que l'*ETACp* a une DL_{50} comprise entre 2000 et 5000 mg / kg pc.

III-2. Évaluation de la toxicité subaiguë

III-2-1. Effet de l'*ETACp* sur le poids des rats

La **Figure 1** montre l'effet de l'*ETACp* sur la croissance pondérale des rats traités avec ce produit durant 28 jours par voie orale. Les résultats ont montré que le lot témoin a eu un gain de poids journalier de $0,97 \pm 0,09$ g soit un pourcentage de gain poids journalier de 0,75 % et un gain de poids moyen journalier de $0,32 \pm 0,09$ g. L'administration par voie orale de l'*ETACp* aux doses de 700, 1000, 1300 mg / kg pc du 1^{er} au 21^e jour n'a pas affecté significativement le poids des animaux. Cependant les doses 2000 et 3000 mg / kg pc augmentent significativement ($p < 0,01$) le poids des animaux de $127,65 \pm 0,61$ g aux valeurs respectives de $200,08 \pm 0,08$ et $215,32 \pm 0,12$ g. Le gain de poids journalier et le gain de poids moyen journalier de chaque lot d'animaux traité par *ETACp* sont inscrits dans le **Tableau 1**.

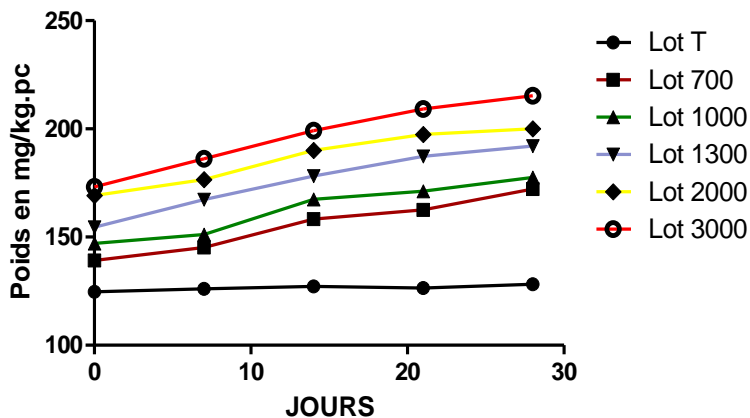


Figure 1 : Effet de *ETACp* sur le poids des rats en fonction du temps

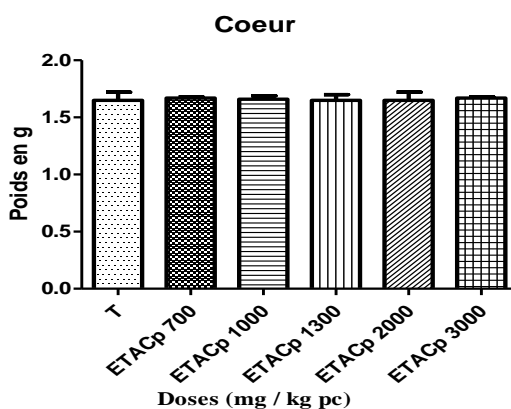
Tableau 1 : Effet de ETACp sur la variation du poids corporels des rats

	Gain de poids journalier (g)	Pourcentage de gain de poids journalier (%)	Gain de poids moyen journalier (g)	Pourcentage de gain de poids journalier (%)
Lot témoin	0,97 ± 0,09	0,75	0,32 ± 0,09	0,21 ± 0,05
700 mg / kg pc	0,61 ± 0,01 ^{ns}	0,47	0,20 ± 0,04*	0,15 ± 0,03
1000 mg / kg pc	0,69 ± 0,08 ^{ns}	0,57	0,23 ± 0,08*	0,18 ± 0,02
1300 mg / kg pc	1,32 ± 0,21 ^{ns}	1,03	0,44 ± 0,07**	0,34 ± 0,04
2000 mg / kg pc	1,61 ± 0,04 ^{ns}	1,26	0,53 ± 0,09***	0,41 ± 0,01
3000 mg / kg pc	2,16 ± 0,04	1,69	0,72 ± 0,04***	0,56 ± 0,02

Les données sont exprimées par moyenne ± SEM ; (n = 4) ; ns : différence non significative, * différence significatif à p < 0,05 ; ** différence significatif à P < 0,01 ; *** : différence Significatif à p < 0,001 par rapport aux rats du lot témoin.

III-2-2. Effet de l'ETACp sur le poids des organes cibles de toxicité chez les rats

Les *Figures 2, 3 et 4* présentent les effets de ETACp sur le poids des organes (cœur, foie et rein) des animaux traités. Les résultats montrent que les différentes doses de ETACp administrés aux animaux pendant 28 jours ne modifient pas significativement le poids des organes cibles de toxicité par rapport aux animaux du lot témoins.

**Figure 2** : Effet de ETACp sur le poids du cœur des rats

Chaque barre représente la moyenne ± ESM, n = 5; ns : différence non significative par rapport au lot témoin. T = lot témoin, ETACp 700 = lot traité

avec ETACp à la dose de 700 mg / kg pc, ETACp 1000 = lot traité avec ETACp à la dose de 1000 mg / kg pc, ETACp 1300 = lot traité avec ETACp à la dose 1300 mg / kg pc, ETACp 3000 ; lot traité avec ETACp à la dose de 3000 mg / kg pc

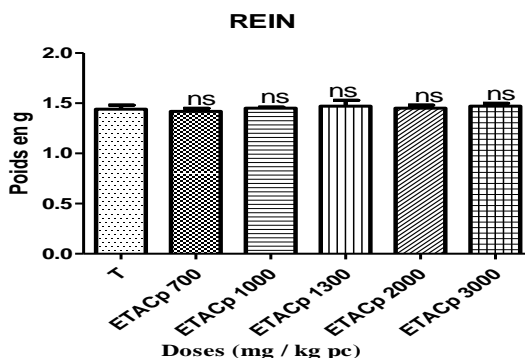


Figure 3 : Effet de ETACp sur le poids du rein des rats

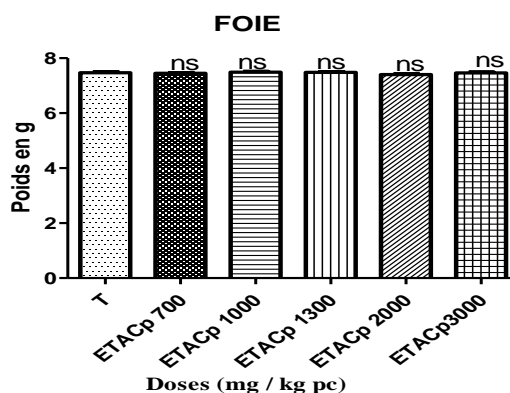


Figure 4 : Effet de ETACp sur le poids du rein des rats

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM, n = 5; ns :différence non significative par rapport au lot témoin. T = lot témoin, ETACp 700 = lot traité avec ETACp à la dose de 700 mg / kg pc, ETACp 1000 = lot traité avec ETACp à la dose de 1000 mg / kg pc, ETACp 1300 = lot traité avec ETACp à la dose 1300 mg / kg pc, ETACp 3000 ; lot traité avec ETACp à la dose de 3000 mg / kg pc

III-2-3. Effet de ETACp sur les paramètres hématologiques des rats

L'effet de ETACp sur les paramètres hématologiques chez les rats est présenté dans le **Tableau 3**. Les résultats indiquent que sur huit (8) paramètres mesurés au cours de la période de traitement des animaux (28 jours), seulement deux

(2) ont varié de manière significative avec les doses de 2000 et 3000 mg / kg pc de *ETACp*. Ces variations significatives sont observées au niveau des globules blancs dont la valeur s'élève de $7,85 \pm 0,38$ à $9,97 \pm 0,03$ ($\times 10^6 / \text{mm}^3$) et de $7,85 \pm 0,38$ à $10,76 \pm 0,21$ ($\times 10^6 / \text{mm}^3$) aux doses respectives de 2000 et 3000 mg / kg pc. Les plaquettes sanguines augmentent à $123 \pm 7,37$ ($\times 10^6 / \text{mm}^3$) pour la dose 2000 mg / kg pc et à $127 \pm 0,62$ ($\times 10^6 / \text{mm}^3$) par rapport aux valeurs témoin pour la dose 3000 mg / kg pc.

III-2-4. Effet de *ETACp* sur les paramètres biochimiques des rats

Le **Tableau 4** montre l'effet de *ETACp* sur les paramètres biochimiques chez les rats. Les résultats montrent que sur les doses 700; 1000; 1300; 2000; mg / kg pc de *ETACp* n'a entraîné aucune variation significative des paramètres biochimiques par rapport au lot témoin. Cependant la dose 3000 mg / kg pc provoque une augmentation significative ($p < 0,5$) des HDL de $0,54 \pm 0,01$ à $0,69 \pm 0,01$ g / l et une baisse des LDL de $0,14 \pm 0,04$ à $0,07 \pm 0,01$ g / l par rapport au lot témoin.

Tableau 3 : Profil hématologique des rats traités par extrait aqueux *ETACp*

Paramètres	Lot T	700 mg / kg	1000 mg / kg	1300 mg / kg	2000 mg / kg	3000 mg / kg
GB ^a ($\times 10^6 / \text{mm}^3$)	$7,85 \pm 0,38$	$7,19 \pm 2,04^{\text{ns}}$	$8,90 \pm 0,30^{\text{ns}}$	$9,16 \pm 0,40$	$9,97 \pm 0,03^{\mu**}$	$10,76 \pm 0,21^{**}$
GR ^b ($\times 10^6 / \text{mm}^3$)	$37,66 \pm 2,05$	$37,88 \pm 1,45^{\text{ns}}$	$39,61 \pm 0,34^{\text{ns}}$	$43 \pm 0,22^{\text{ns}}$	$45 \pm 0,38^{\text{ns}}$	$47,65 \pm 0,75^{\text{ns}}$
Hb ^c (g / dl)	$13,23 \pm 0,26$	$13,62 \pm 0,47^{\text{ns}}$	$13,97 \pm 0,12^{\text{ns}}$	$13,60 \pm 0,20$	$13,65 \pm 0,14^{\text{ns}}$	$13,98 \pm 0,87^{\text{ns}}$
CCMH ^d (g / dl)	$27,83 \pm 1,25$	$27,78 \pm 0,21^{\text{ns}}$	$28,48 \pm 0,49^{\text{ns}}$	$28,48 \pm 1,16^{\text{ns}}$	$28,48 \pm 1,50^{\text{ns}}$	$28,15 \pm 0,19^{\text{ns}}$
PLAQ ^c ($\times 10^6 / \text{mm}^3$)	$105,88 \pm 1,28$	$106,98 \pm 14,01^{\text{ns}}$	$105 \pm 23,04^{\text{ns}}$	$107 \pm 7,21^{\text{ns}}$	$123 \pm 7,37^{**}$	$127 \pm 0,62^{**}$
LYM ^d (%)	$82,5 \pm 3,17$	$81,03 \pm 9,89^{\text{ns}}$	$98 \pm 2,28^{\text{ns}}$	$98 \pm 0,63^{\text{ns}}$	$98 \pm 1,41^{\text{ns}}$	$99 \pm 0,95^{\text{ns}}$
HCTE ^e (%)	$47,52 \pm 1,85$	$47,31 \pm 0,05^{\text{ns}}$	$47,84 \pm 2,43^{\text{ns}}$	$47,1 \pm 0,86^{\text{ns}}$	$47,42 \pm 1,48^{\text{ns}}$	$47,70 \pm 1,32^{\text{ns}}$
VGM ^h (FL / cell)	$60,53 \pm 2,21$	$61,62 \pm 1,25^{\text{ns}}$	$64,40 \pm 0,56^{\text{ns}}$	$66,80 \pm 1,18^{\text{ns}}$	$67,40 \pm 1,56^{\text{ns}}$	$68,20 \pm 1,70^{\text{ns}}$

Les données sont exprimées par moyenne \pm SEM; ^{ns} (Non significatif); ^a Globules blancs ($\times 10^3 / \text{mm}^3$); GB, Globules rouges ($\times 10^6 / \text{mm}^3$); ^c Hémoglobine (g / dl); Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (g / dl); ^e Plaquettes ($\times 10^3 / \text{mm}^3$); ^f Lymphocyte(%); ^g Hématocrite (%); ^h Volume globulaire moyen (FL / cell).

Tableau 4 : Effet de l'ETACp sur les paramètres biochimiques des rats

Paramètres	T	700 mg / kg	1000 mg / kg	1300 mg / kg	2000 mg / kg	3000 mg / kg
ASAT(UI)	263 ± 2,36	258 ± 3,44 ^{ns}	257 ± 2,60 ^{ns}	256 ± 2,19 ^{ns}	259 ± 1,76 ^{ns}	257 ± 3,19 ^{ns}
ALAT (UI)	154 ± 4,28	154 ± 6,2 ^{ns}	151 ± 4,97 ^{ns}	154 ± 3,63 ^{ns}	153 ± 2,28 ^{ns}	156 ± 4,64 ^{ns}
UREE (mg / L)	0,43 ± 0,24	0,46 ± 0,14 ^{ns}	0,47 ± 0,35 ^{ns}	0,47 ± 0,14 ^{ns}	0,47 ± 0,21 ^{ns}	0,46 ± 0,14*
CREAT (mg / L)	16,2 ± 2,98	17,1 ± 0,02 ^{ns}	17,80 ± 1,78 ^{ns}	16,90 ± 0,06 ^{ns}	16,50 ± 0,26 ^{ns}	21,8 ± 1,26*
LDH (UI)	245 ± 3,51	247 ± 1,67 ^{ns}	247 ± 0,89 ^{ns}	247,41 ± 0,89 ^{ns}	247,66 ± 0,99 ^{ns}	265,80 ± 2 ^{ns}
CPK(UI)	125,66 ± 1,54	125,33 ± 0,81 ^{ns}	125,60 ± 1,14 ^{ns}	125,62 ± 2,37 ^{ns}	126,33 ± 2,77 ^{ns}	127,75 ± 1,5 ^{ns}
PAL (UI)	254 ± 3,51	256 ± 1,67 ^{ns}	253,8 ± 2,77 ^{ns}	256 ± 2,89 ^{ns}	257 ± 1,34 ^{ns}	253 ± 2,46 ^{ns}
CHOLT (g / L)	0,67 ± 0,01	0,66 ± 0,02 ^{ns}	0,68 ± 0,03 ^{ns}	0,67 ± 1,03 ^{ns}	0,56 ± 0,11 ^{ns}	0,67 ± 0,03 ^{ns}
TG (g / L)	0,74 ± 0,03	0,75 ± 0,01 ^{ns}	0,74 ± 0,13 ^{ns}	0,73 ± 0,03 ^{ns}	0,73 ± 0,3 ^{ns}	0,74 ± 0,04 ^{ns}
HDL (g / L)	0,54 ± 0,01	0,54 ± 0,03	0,57 ± 0,03 ^{ns}	0,58 ± 0,01 ^{ns}	0,67 ± 0,03*	0,69 ± 0,01**
LDL (g / L)	0,14 ± 0,04	0,15 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,05*	0,07 ± 0,01**

Les données sont exprimées par moyenne ± SEM., (n = 5) ; ^{ns} (Non significatif), *(Significative, p < 0.05); **,*(significatif, p < 0.01) ; ASAT, Aspartate aminotransférase (U / l) ; ALAT, Alanine aminotransférase (U / l) ; Uree (mg / l) ; CEAT, Créatine (mg/l) ; LDH, Lactate déshydrogénase (U / l) ; CPK, Créatine phosphokinase (U / l) ; PAL, Phosphatase alcaline (U / l); PT, Protéines totales (g / l) ; CHOL, Cholestérol (g / l); TG, Triglycérides (g / l); HDL, Lipoprotéines de haute densité ; LDL, Lipoprotéines de haute densité (g / l).

IV - DISCUSSION

L'étude de la toxicité d'une substance thérapeutique utilisée en milieu traditionnel est nécessaire pour déterminer son innocuité en vue de son utilisation sans risque d'intoxication. Cette étude se déroule généralement en deux phases à savoir, la détermination de la dose létale 50 (DL₅₀) par la toxicité aiguë, puis le dosage des paramètres hématologiques biochimiques et l'analyse des organes cibles d'intoxication par la toxicité subaiguë. Dans notre étude, la toxicité aiguë de ETACp par l'administration des doses de cet extrait allant de 300 à 5000 mg / kg pc à des rats sains n'a montré, aucun signe de toxicité durant les 14 jours d'observation. Selon la ligne directrice 423 de l'OCDE pour les essais des produits chimiques, ETACp a une dose létale 50 (DL₅₀) supérieure à 5000 mg / kg pc. Ce procédé n'est pas prévu pour déterminer une valeur précise de la DL₅₀, mais il sert de suggestion pour la classification de l'extrait brut sur la base de la prévision de la dose à laquelle les animaux doivent survivre [21]. Au regard de cette ligne directrice, ETACp n'est pas toxique. Pour la suite de nos travaux, les doses de ETACp utilisées sont des doses strictement inférieures à 5000 mg / kg pc. Le système hématopoïétique

permettant la synthèse des cellules sanguines est l'une des principales cibles de la toxicité [22]. L'altération de ce système après l'administration d'une substance thérapeutique se caractérise par une anémie suite à la lyse des cellules sanguines par les agents actifs du produit [22]. Ainsi, l'analyse des paramètres sanguins dans les études toxicologiques sont pertinentes pour évaluer l'innocuité d'une substance soumise à cette étude [23]. L'administration des doses de *ETACp* allant de 700 à 1300 mg / kg pc n'altère pas l'ensemble des paramètres hématologiques par rapport au témoin. Par contre, *ETACp* aux doses 2000 et 3000 mg / kg pc augmente les taux sériques des globules blancs et des plaquettes sanguines. Les globules blancs sont des cellules protectrices de l'organisme contre l'infection par des corps étrangers, et les plaquettes protègent l'endothélium vasculaire contre les lésions générées par les radicaux libres [24]. *ETACp* aux doses 2000 et 3000 mg / kg pc augmentant les taux sériques des globules blancs et des plaquettes sanguines serait un bon immunostimulateur et un bon antioxydant.

Par ailleurs, l'activité antioxydante de l'extrait total méthanolique (*ETMECp*) a été déterminée par [25]. En général, une perte de poids corporel et le gain du poids des organes internes des rats reflètent la toxicité après une exposition à des substances toxiques [26]. Le maintien du poids corporel observé chez les rats après l'administration de *ETACp* 700 et 1300 pendant 28 jours pourrait s'expliquer par des réponses normales d'adaptation physiologique des animaux à l'extrait [27]. *ETACp* 2000 et 3000 mg / kg pc génèrent un gain de poids corporel chez les animaux. Cela serait dû au fait que l'extrait n'entraîne pas une perte d'appétit chez les rats pouvant occasionner une diminution de l'apport nutritionnel et par voie de conséquence, une perte de poids. Le cœur, les reins et le foie sont les cibles privilégiées des substances toxiques. Une fois lésés, ces organes libèrent leurs contenus enzymatiques ou protéiques dans le sang.

Nos résultats montrent que les activités des enzymes tels que l'ALAT et l'ASAT ne sont pas modifiées chez les animaux traités par *ETACp* par rapport aux témoins. ALAT et ASAT sont des marqueurs de la toxicité hépatique et leur taux sériques élevés renseignent sur une lésion des hépatocytes [28]. *ETACp* n'ayant pas perturbés les taux sériques de ces transaminases, il n'a donc causé aucun dommage au foie. Les concentrations sériques de l'urée et la créatinine qui sont les marqueurs d'atteinte de la fonction rénale [29] n'ont pas variées significativement en présence de *ETACp* de même que la LDH qui est un marqueur de la fonction cardiaque [30]. L'administration des différentes doses de *ETACp* aux rats pendant 28 jour, n'a pas modifié significativement les valeurs sériques de l'ensemble des paramètres biochimiques des marqueurs d'atteinte du rein, du cœur et du foie par rapport aux rats du lot témoin, ce qui suggère que *ETACp* n'a pas affecté ces organes vitaux. Concernant la

lipidémie, *ETACp* n'a également pas modifié les valeurs sériques de HDL-cholestérol (HDL-c), LDL-cholestérol (LDL-c), du cholestérol total et des triglycérides. Toutefois, une légère diminution du taux des LDL-c et une légère augmentation du taux des HDL-c sont observées par rapport au lot témoin. L'augmentation du taux du HDL-c est un facteur de protection du muscle cardiaque [31] de par son effet bénéfique contre les complications cardiovasculaires notamment l'athérosclérose. *ETACp* pourrait donc prévenir les complications cardiovasculaires.

V - CONCLUSION

L'étude toxicologique de *ETACp* a permis d'affirmer que cet extrait n'est pas toxique avec une DL_{50} supérieure à 5000. Il ne présente aucun signe clinique de toxicité, ne modifie pas la croissance pondérale des animaux, et ne perturbe pas les valeurs sériques des paramètres hématologiques et biochimiques. Toutefois, *ETACp* augmente les taux sériques des globules blancs, des plaquettes sanguines, des HDL et diminue les LDL. *Chrysophyllum perpulchrum* serait donc un bon immunostimulateur et un cardioprotecteur et présenterait une bonne marge de sécurité à son utilisation dans le milieu traditionnel.

RÉFÉRENCES

- [1] - E. BOLZA et W. G. KEATING, Division of Building Research, CSIRO, Melbourne, Australia, (1972) 710 p.
- [2] - H. M. BURKILL, Volume 5, Families S–Z, Addenda. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom, (2000) 686 p.
- [3] - A. P. BIDIÉ, B. BANGA, N'GUESSAN, F. ADOU, YAPO, J. D. N'GUESSAN & A. J. DJAMAN, *Sciences & Nature*, 1 (2011) 1 - 11.
- [4] - F. GUÉDÉ-GUINA, M. VANGAH-MANDA, D. HAROUNA, & C. BAH, *Mycol. Med.*, (5) (4) (1993) 225 - 229.
- [5] - D. Lorke, *Archives of Toxicology*, 53 (1983) 275 - 287.
- [6] - OCDE, *Guidance Document on Acute Oral*, (1995) 407 - 9 p.
- [7] - H. F. YAPI, A. YAPO, A. P. BIDIE, H. AHIBOH, E. YAYO, M. L. HAUHOOT-ATTOUNBRE, E. A. NGUESSAN, A. J. DJAMAN, *Mali Médical Tome XXVI*, 2 (2011) 31 - 36.
- [8] - N. M. BLEYERE, J. D. EKAZA, Y. P. ANGOUE, J. Y. DATTE, N. B. BANGA, N. M. A. CATHY, M. VANGA, M. KONE, E. E. EHOUAN, *Ann. Biol. Clin.*, 65, 5 (2007) 525 - 532 p.

- [9] - E. J. R. Silva, E. S. Concalves, F. J. S. Aguiar, L. B. Evencio, M. M. A. Lyra, M. C. O. C. Coelho, M. C. C. A. Fraga, A. G. Wanderley, *Phytotherapy Research*, 21 (2007) 332 - 336.
- [10] - A. KARMEN, *Clinical Investigation*, 34 (1955) 131 - 133.
- [11] - H U. BERGMAYER, M. HORDER, *Journal of Clinical and Biochemistry*, 18 (1980) 521 - 53.
- [12] - R. J. HENRY, D. C. CANNON & J. W. WINKELMAN, *Clinical Chemistry* New York. Harper and Row, (1974) 428 - 538 p.
- [13] - H. TALKE, SCHUBERT G. E. KLIN. WOCHENSCHR, 19 (43) (1965) 174.
- [14] - T. O. TIFFANY, J. M. JANSEN, C. A. BURTIS, J. B. OVERTON, C. D. SCOTT, *Clin. Chem*, 18 (1972) 829 - 840.
- [15] - M. Jaffe, *Physiology Chemical*, 10 (1886) 39 - 400.
- [16] - D. L. FABINY, G. ERTINGSHAUSEN, *Clin. Chem*, 17 (1971) 696 - 700.
- [17] - D. LABBÉ, A. VASSAULT, B. CHERRUAU, P. BALTASSAT, R. BONÈTE, G. CARROGER, A. COSTANTINI, S. GUÉRIN, O. HOUOT, B. LACOUR, A. NICOLAS, E. THIOULOUSE, C. LANGLEY, G. LANGLEY, (2003) 2.
- [18] - Expert Panel on enzymes, committees of Standards (IFCC), *Clinical Chemistry Acta*, 98 (1979) 163 - 174.
- [19] - W. WITHOLD, U. SCHULTE, H. REINAUER, *Clin. Chem*, 42 (1996) 210 - 217.
- [20] - P. Fossati, 29 (1983) 1494 - 1496 p.
- [21] - T. S. ROOPASHREE, D. RAMAN, R. H. S. RANI & C. NARENDRA, *Thai J pharm. Sci*, 33 (2009) 74 - 83.
- [22] - B. GANDHARE, S. KAVIMANI and B. RAJKAPOOR, *J. Sci. Res*, 5 (2) (2013) 315 - 324.
- [23] - E. UDUT, V. V. ZHDANOV, I. GUR, LA., M. I. MINAKOVA & AM. DYGAJ, *Eksperimental'naia i Klinicheskaia Farmakologija*, 68 (2005) 43 - 45.
- [24] - A. C. GUYTON & J. E. HALL, 11th Ed. *Elsevier Saunders*, USA, (2006) 1152 p.
- [25] - A. P. BIDIE, K. NDJOKO, K. B. ATTIOUA, G. N. ZIRIHI, J. D. N'GUESSAN, A. J. DJAMAN, H. KURT, *Molecules*, 15 (2010) 6386 - 6398.
- [26] - S. A. CAROL, *In CRC Handbook of Toxicology*, Michael J.D., manfred A.H., Eds *CRC Press Inc*. Boca Raton, FL, USA, (1995) 51 - 104 p.
- [27] - H. RHIOUANI, J. EL-HILALYA, Z. H. ISRAILI & B. LYOUSSIA, *J. Ethnopharmacol*, 118 (2008) 378 - 386.
- [28] - B. KUMAR, P. SHARMILA, M. VANITHAPAPPA, M. SUNDARARAJAN & P. RAJASEKARA, *J. ethnopharmacol*, 92 (2004) 37 - 40.
- [29] - J. E. HILALY, Z. H. ISRAILI & B. LYOUSS, *J. Ethnopharmacol*, 91 (2004) 43 - 50.
- [30] - A. Coulibaly, B. N. Djih, I. Dombia, H. F. Yapi & A. J. Djaman, *phytothérapie*, 8 (6) (2010) 348 - 352.
- [31] - HAS, Service de recommandation professionnelle, (2005) 117 p.