

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Science de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Orientation du Diplôme de Master

Filière : Science biologique

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

Bioactivité et cytotoxicité de l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica urens* sur le cycle cellulaire d'*Allium cepa*.

Présenté par :

- ✓ Dardar Marroua
- ✓ Chelirem Hadyl
- ✓ Haddad Maissa
- ✓ Redjem Roumaissa

Membre de Jury :

- | | | |
|------------------------|-----------|--------------------------------------|
| ✓ Slimani Souheila(Pr) | Président | Université. Du 20 Août 1955 – Skikda |
| ✓ Souilah Nabila (MCA) | Examineur | Université. Du 20 Août 1955 – Skikda |
| ✓ Nassar Meryem (MCA) | Encadrant | Université. Du 20 Août 1955 – Skikda |

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Après cinq années d'efforts au cours desquelles nous avons acquis de nombreuses compétences, nous voilà arrivés à l'ultime étape avant l'obtention de nos diplômes.

C'est avec l'aide de Dieu tout puissant, que ce modeste projet a pu être réalisé, Dieu qui nous a donné fois, raison et lucidité.

*Nous tenons à remercier **Mme Nassar Meryem**, qui nous a fait l'honneur de diriger cette étude, et qu'elle nous a proposé ce thème suivi ce modeste travail et ses efforts considérables qu'il a déployés pour nos guider et conseiller.*

Nous tenons à exprimer notre sincère reconnaissance aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Nous remercions également tous les enseignants qui ont partagé leurs connaissances avec nous tout au long de nos années d'études.

*Ce mémoire a été réalisé grâce aux travaux effectués au laboratoire de Biochimie du Hall de Technologie de Université de 20 aout 1955. Nous souhaitons exprimer notre gratitude à **Mme Nassira et Asma** pour sa précieuse contribution.*

Et aussi nous souhaitons également remercier nos amis du 1^{er} groupe de nous avoir aidés et guidés.

Pour finir, nous tenons à remercier chaleureusement nos familles, amis et camarades pour leur soutien indéfectible tout au long de ce projet.

Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect, avec d'expérience de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie

Tout d'abord à mes parents et mes sœurs, mes deux tantes et mes oncles, et aussi à ma grand-mère **Djamila**, dont le souci pour mon succès et les prières ont été des facteurs déterminants dans l'accomplissement de mes objectifs jusqu'à présent, sans oublier mon grand-père **Rabah**.

À mon havre de paix, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, mon astre nocturne et la lueur d'espoir qui éclaire mon parcours, ma moitié,

Mamon

À celui qui a fait de moi une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection, mon soutien inébranlable qui a toujours été à mes côtés pour me reconforter et m'encourager, à mon prince, **papa**.

À mes sœurs **Hadil, Hadjer** et **Ritta**, pour l'amour qu'elles me portent, pour leurs conseils, leur soutien constant et leurs encouragements tout au long de mes études surtout ma petite chère **Ritta**.

Sans oublier mes amis de groupe mémoire **Hadil, Maissa** et **Roumaissa**, pour leur soutiens moraux et leur respect et m'avoir laissé la liberté d'écrire et de rechercher....

Marroua

Dédicace

Je me dédie d'abord ce succès, puis à tous ceux qui ont travaillé avec moi pour mener à bien ce voyage.

Puissiez-vous toujours être mon soutien. A celui qui m'a soutenu sans limites et m'a donné pour rien en retour, à celui qui m'a appris que le monde est un combat et que son arme est la connaissance, mon premier soutien sur mon chemin et ma force après Dieu, « **mon cher père** ».

À celle que Dieu a mis le paradis sous les pieds de qui, à celle dont les prières ont été le secret de ma réussite et dont la tendresse a été le baume de mes blessures, mon modèle, mon premier professeur et l'ami de mes jours, « **ma mère** ».

À celui qui m'a donné de son temps et m'a honoré de sa grâce, en reconnaissance de sa gratitude et de son droit, car il a été ma meilleure aide et mon meilleur soutien pour mon « **mon mari Houssin** ».

Et à ceux pour qui Dieu a renforcé mon soutien, et ils ont été la meilleure aide, « **mon frère et sœurs Chaima, Saif, Fatima** ».

À ceux qui m'ont soutenu quand j'étais faible et qui m'ont guidé avec amour, à ceux qui m'ont dessiné l'avenir avec des lignes de confiance et d'amour, ma 2ème famille, « **la famille de mon mari** ».

À la prunelle de mes yeux, au battement de mon cœur et à ma première joie, « **mon petit-fils Ghaite** » et **le fils de ma sœur Ayan**.

Je souhaite remercier chaleureusement **mme Nassar M**, pour son encadrement et son soutien tout au long de ce projet. Sa patience, ses conseils avisés et sa bienveillance ont été d'une aide inestimable. Aussi mes amies de groupe mémoire **Marroua, Maissa, Hadyl** pour leur soutiens moraux et leur respect.

« Je remercie Dieu d'avoir du temps pour ce moment »

Roumaissa

Dédicace

Je loue et remercie « Dieu » pour la guidance et la sagesse qui m'ont donné la force d'accomplir cet exploit. Les bienfaits envers moi sont innombrables, et Son soutien à chaque étape a été évident et impactant.

Je dédie ce travail à ma famille bien-aimée, qui a été un soutien inépuisable et une boussole guidant toujours mes pas. **À mes chers parents**, qui ont été ma source de force et d'inspiration.

À mes chers frères **Youcef, Abdelmouez** et sœurs **Sondous, Hibat Erahmen**,

Aucun mot de remerciement ne suffit pour exprimer ma profonde gratitude pour votre amour et votre compréhension. Vous avez toujours été la famille à laquelle je reviens, portant mes soucis et me donnant espoir et force. Merci pour être à mes côtés à chaque instant, et pour être le soutien inébranlable et inépuisable. Je vous aime de tout cœur.

À mes amis de mémoire **Marroua Maissa Romaissa**,

Je vous remercie de tout cœur pour votre accompagnement tout au long de ce parcours académique et pour les beaux souvenirs que nous avons créés ensemble. Grâce à vous, cette expérience a été riche en sens et en belles valeurs. Merci pour chaque moment passé ensemble et pour tout le soutien et l'assistance que vous m'avez apportés

Hadyl

Dédicace

Il n'y a pas de travail plus joyeux que celui accompli avec le soutien moral de nos proches, et tous les mots ne peuvent pas exprimer la gratitude, Amour et respect, je tiens simplement à exprimer ma plus profonde gratitude à :

Ma mère attentionnée et **mon père**, qui ont travaillé à ma réussite avec leur amour et leur soutien et tous les sacrifices qu'ils ont consentis et leurs précieux conseils, pour toute leur aide et leur présence dans ma vie. Soyez l'expression de mes sentiments et de ma gratitude éternelle car vous représentez pour moi une source de tendresse et un exemple de dévouement qui ne cesse de m'encourager.

À mon mari : **Ahmed**, vos sacrifices et votre soutien moral m'ont permis de réussir mes études. Ce travail est un témoignage de ma gratitude et de mon amour sincères et sincères. À mon fils, raison de ma joie et de ma réussite, ma vie **Firas**.

À mes chers frères : **Sid Ali, Hani** et mes chères sœurs : **Wissel, Hind**.

À mes partenaires de recherche : Roumaïssa, Hadyl, Marroua et tous les membres de ma promo, qui ont étudié avec moi en biochimie appliquée. Mon professeur encadreur Dr, Nassr Mariem pour son aide et sa précieuse attention.

Maïssa

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1.	<i>Urtica urens</i> , (A) les feuilles, (B) la tige, (C) la racine.	06
Figure 2	Schéma représentatif le cycle cellulaire.	10
Figure 3	Les différents types des tests de génotoxicité.	14
Figure 4	Différent degré d'altération primaire d'AND : test des comètes.	15
Figure 5	Schéma représentant le mécanisme de formation des MN.	16
Figure 6	Le principe du test Ames.	17
Figure 7	L'extraction méthanolique et l'extrait d' <i>Urtica urens</i> .	19
Figure 8	La préparation des concentrations de l'extrait d' <i>Urtica urens</i> dans le laboratoire.	20
Figure 9	Test de cytotoxicité sur les graines de l' <i>Allium cepa</i> avec les différentes concentrations de l'extrait hydroalcoolique d' <i>Urtica urens</i> .	21
Figure 10	Courbe d'étalonnage des polyphénols réalisée à l'aide de l'acide gallique.	23
Figure 11	Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée à l'aide de la Quercitine.	23
Figure 12	Courbe d'étalonnage des tanins condensés réalisée à l'aide de la Catechine.	24
Figure 13	Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydant réalisée à l'aide d'acide Ascorbique.	25
Figure 14	Variation de la longueur racinaire en fonction des concentrations de l'extrait hydroalcoolique d' <i>Urtica urens</i> après 7 jours d'incubation.	26
Figure 15	Indice mitotique pour les cinq concentrations de l'extrait d' <i>Urtica urens</i>	27
Figure 16	Variation de l'indice d'aberration chromosomique selon les concentrations de l'extrait d' <i>Urtica urens</i> .	29
Figure 17	Les aberrations chromosomiques intuités par les différentes concentrations de l'extrait hydroalcoolique d' <i>Urtica urens</i> .	31

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Les principales espèces identifiées sous le genre <i>Urtica</i>	04
Tableau 2	La classification d'ortie d'après Angiosperme phylogeny groupe III	07
Tableau 3	Le tableau présente les diverses combinaisons de traitements.	21
Tableau 4	Effet de l'extrait d' <i>Urtica urens</i> sur la division mitotique de l' <i>Allium cepa</i> .	28
Tableau 5	Effet de l'extrait d' <i>Urtica urens</i> sur la fréquence et le type d'aberrations chromosomiques chez les cellules de l' <i>Allium cepa</i> .	30
Tableau 6	Criblage des dosages des polyphénols, flavonoïdes et des tanins de l'extrait d' <i>Urtica urens</i>	31
Tableau 7	Criblage de l'activité antioxydant de l'extrait d' <i>Urtica urens</i>	32

Liste d'abréviation

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AC	Aberrations Chromosomiques
IP	Indice de phase
CAT	Catechine
DPPH	1,1- diphenyl-2-pierylhydrazyl
EC₅₀	La demi-concentration efficace maximale
IC₅₀	La demi-concentration inhibitrice maximale
IM	Indice Mitotique
SCGE	Electrophorèse sur gel unicellulaire
SCE	Echange de chromatide soeur

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste de figure	
Liste d'abréviation	
Introduction	1
Chapitre 1. Généralités.....	3
1.1. Description botanique de la famille de l'Urticacées.....	3
1.2. Usage pharmacologique et nutritionnel des Urticacées.....	3
2. Description botanique du genre <i>Urtica</i>	3
2.1. Distribution géographique du genre <i>Urtica</i>	4
2.2. Propriétés et usage traditionnel de quelques espèces du genre <i>Urtica</i>	5
3. Description botanique de l'espèce <i>Urtica urens</i>	5
3.1. Classification botanique de l'espèce <i>Urtica urens</i>	6
3.2. Distribution géographique du l'espèce <i>Urtica urens</i>	7
4. Les métabolites secondaires des plantes.....	7
4.1. Métabolites secondaires de l'espèce de <i>Urtica urens</i>	7
4.2. Les composés phénoliques	8
4.3. Classification des composés phénoliques	8
Chapitre 2. Cytotoxicité et génotoxicité.....	9
1. Le cycle cellulaire.....	9
2. Définition de la cytotoxicité	11
3. Les tests de cytotoxicités	11
4. Définition de la génotoxicité	12
5. Les agents génotoxiques	12
6. Les tests de la génotoxicité	13
A. Test de comète :	14
B. Test des adduits	15
C. Test des micronoyaux.....	15

D. Test d'Ames.....	16
E. Test des aberrations chromosomique	16
F. Test des échanges de chromatides sœurs	17
Chapitre 3. Matériel et méthodes.....	19
1. Matériel.....	19
1.1 Matériel végétale	19
2. Méthodes.....	19
2.1. Extraction	19
2.2. Le test de cytotoxicité.....	20
2.2.1. Préparation des concentrations testées de l'extrait	20
2.2.2. Test d' <i>Allium cepa</i>	20
2.2.3. L'élongation racinaire.....	20
2.3. Le test de cytotoxicité et génotoxicité	21
2.4. L'analyse phytochimique	22
2.4.1. Dosage des polyphénols totaux	22
2.4.2. Dosage des flavonoïdes	23
2.4.3. Dosage des tanins condensés	24
2.4.4. Activités antioxydantes.....	24
Chapitre 4. Résultat et Discussion	

Introduction

Introduction

Depuis l'Antiquité, les humains ont exploité une gamme variée de plantes trouvées dans leur environnement pour répondre à leurs besoins médicaux et alimentaires, les utilisant pour traiter et guérir un large éventail de maladies (Boumediou et Addoun, 2017).

À travers les siècles, les êtres humains ont exploité leur observation et leur expérience pour découvrir les propriétés curatives des plantes. Cette exploration a conduit à l'émergence de la phytothérapie, une approche de guérison qui utilise les plantes comme moyen de traitement. Le coût prohibitif des médicaments pharmaceutiques contraint près de 85 % de la population des pays en développement à recourir à la phytothérapie comme alternative, selon une étude menée par (Cstroua, 1985 ; Handa *et al.*, 2008 ; Zerbo *et al.*, 2012). En Algérie, la médecine traditionnelle a été largement utilisée en raison de la richesse et de la diversité de la flore du pays, qui constitue un véritable trésor de biodiversité, abritant environ 3000 espèces appartenant à diverses familles botaniques (Bouزيد *et al.*, 2016). Actuellement, les plantes demeurent une source primordiale de nouveaux médicaments, étant considérées comme des matières premières cruciales pour la recherche de nouvelles molécules en vue du développement de futurs traitements médicaux (Maurice, 1997).

Les plantes médicinales sont des végétaux dont certaines parties possèdent des propriétés thérapeutiques. Elles renferment des constituants dotés de potentiels remèdes naturels, connus sous le nom de « métabolites secondaires ». Ces composés, notamment les acides phénoliques et les flavonoïdes, sont activement étudiés pour leurs vertus biologiques, telles que des effets antidiabétiques, anticancéreux et antioxydants. Ces propriétés permettent d'envisager leur utilisation dans le traitement curatif et préventif de diverses maladies humaines, comme le diabète, le cancer et le stress oxydatif (Mghezzi-Habellah *et al.*, 2016).

Les feuilles d'*Urtica urens* sont une source riche de protéines, lipides, glucides, vitamines, minéraux et oligo-éléments (Pradhan *et al.*, 2015). Les oligo-éléments et les vitamines infections bactériennes et virales. Les extraits ont démontré des propriétés antibactériennes contre différentes souches bactériennes dans plusieurs études.

A cet effet notre étude porté sur l'effet renforcent le système immunitaire et permettent à l'organisme de mieux résister aux cytotoxique/anti-cytotoxicité etgénétoxique/anti-génétoxicité de l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica urens* par test *Allium cepa* ce dernier est utilisé comme modèle expérimental, et d'évaluer également son activité antioxydant et de doser certains métabolites secondaires tel que le polyphénol et le flavonoïde.

Introduction

Le présent travail est divisé en deux parties principales :

La première partie présentera une revue bibliographique qui comporte deux chapitres :

- Le premier est consacré à la plante étudiée *Urtica urens*.
- Le deuxième chapitre traite le cycle cellulaire, la cytotoxicité et la génotoxicité.

Pour la deuxième partie expérimentale, elle est structurée comme suit :

- Le premier chapitre traite le matériel et les méthodes adoptées dans notre étude.
- Le deuxième illustre les résultats obtenus et leur discussion.

Partie bibliographique

Chapitre 1. Généralités

1. Généralité sur la famille de l'Urticacées

1.1. Description botanique de la famille de l'Urticacées

Cette famille rassemble à elle seule 48 genres (dont le genre *Urtica*) pour environ 1000 espèces que l'on retrouve répartir essentiellement en régions tropicales mais aussi jusque dans les régions tempérées (Dupont *et al.*, 2012). Les membres de cette famille se composent principalement de plantes herbacées, qu'elles soient vivaces ou annuelles, mais comprennent également des arbustes, des lianes, voire même des arbres. (Garnier *et al.*, 1969 ; Spichiger *et al.*, 2002 et Botineau, 2010). Les Urticacées désignent un groupe de plantes herbacées qui se caractérisent par leur forme élancée, leurs feuilles stipulées opposées deux par deux et leurs petites fleurs unisexuées. Les fleurs mâles se distinguent par la présence de quatre sépales et quatre étamines, tandis que les fleurs femelles sont constituées de quatre sépales et d'un carpelle. Ces dernières produisent ensuite un fruit sec appelé un akène. (Bertrand et Bézanger-Beauquesne *et al.*, 1961).

1.2. Usage pharmacologique et nutritionnel des Urticacées

Les feuilles sont une source riche de protéines, lipides, glucides, vitamines, minéraux et oligo-éléments (Pradhan *et al.*, 2015). De plus, les feuilles contiennent également des traces de cobalt, nickel, molybdène et sélénium. (Mihaljev *et al.*, 2014). Et elle est composé de nombreuse vitamine nécessaire (Wetherilt, 1992). Ces nutriments confèrent à la plante des propriétés pharmacologiques intéressantes.

Les oligo-éléments et les vitamines renforcent le système immunitaire et permettent à l'organisme de mieux résister aux infections bactériennes et virales. Ces feuilles contiennent une quantité importante de chlorophylle (Rafajlovska, 2001). Les extraits ont démontré des propriétés antibactériennes contre différentes souches bactériennes dans plusieurs études.

2. Description botanique du genre *Urtica*

Le terme *Urtica* tire son nom du latin *uro* ou *urere* qui signifie "celle qui brûle", allusion à ses poils urticants dont le contact est très irritant (Rioux *et al.*, 2009). *Urtica* L., communément connue sous le nom d'ortie (Urticacée), est une plante annuelle ou vivace caractérisée par ses poils urticants. Les feuilles sont disposées de manière opposée et les fleurs, vertes avec des étamines jaunes, se trouvent sur des plantes distinctes pour les fleurs mâles et femelles. Les fruits produits sont des akènes. Ces traits définissent le genre *Urtica* au sein de la famille des Urticacées. Les principales espèces identifiées sous le genre *Urtica* comprennent *U. dioica* L., *U. urens* L., *U. pilulifera* L., *U. cannabina* L., *U.*

membranacea Poiret., *U. haussknechtii* Boiss., *U. atrovirens* Req., *U. rupestris* Guss., *U. chamaedryoides* Pursh., et *U. ferox* Forst. (Gulsel et kavalali, 2003).

Tableau 1. Les principales espèces identifiées sous le genre *Urtica* (Bertrand, 2010 ; Tissier, 2011 ; Delvaille, 2013).

Espèce	Localisation
<i>Urtica dioica</i>	Elle se trouve dans toutes les régions du monde de l'Europe et l'Afrique, l'Asie Amérique du Nord et Sud
<i>Urtica urens</i> L	On la retrouve dans les mêmes zones que <i>Urtica dioica</i> , excepté le nord de la Scandinavie et l'Amérique du Sud.
<i>Urtica pilulifera</i> L	Europe et Asie occidentales et méridionales, Afrique septentrionale. En France on la rencontre surtout dans le Midi, l'Ouest et en Corse
<i>Urtica cannabina</i> L	Les régions tempérées à subtropicales d'Europe, d'Asie, d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient. Elle pousse souvent dans des zones humides comme les berges des rivières, les marais et les prairies humides.
<i>Urtica membranacea</i> Poiret	Région méditerranéenne, également dans le Finistère.
<i>Urtica ferox</i> forst	Elle est principalement présente dans les régions montagneuses et forestières de l'île du Sud de la Nouvelle-Zélande, dans les forêts humides et les zones de broussailles le long des cours d'eau et dans les zones montagneuses.
<i>Urtica atrovirens</i> Req	En France on la rencontre seulement en Corse.

2.1. Distribution géographique du genre *Urtica*

A. Dans le monde

Originnaire d'Eurasie, elle s'est répandue dans toutes les régions tempérées du monde. On la rencontre plus en Europe du Nord qu'en Europe du Sud, en Afrique du nord, en Asie et largement distribuée en Amérique du Nord et du Sud (Brisse et *al.*, 2003). En effet, elle est présente dans les Alpes et les Pyrénées et peut atteindre les sommets du Jura et du Massif Central (Fleurentin, 2008).

B. En Algérie

En Algérie, la Grande ortie est commune dans tout le nord et surtout dans le Tel algérien d'Est en Ouest (Beloued, 1998). L'Algérie abrite une flore végétale abondante et variée, comprenant de nombreuses plantes médicinales. Parmi celles-ci se trouve l'ortie, également connue sous le nom scientifique "*Urtica*", une plante spontanée présente le long des chemins et dans les zones abandonnées. Souvent perçue à tort comme une "mauvaise herbe", l'ortie est en réalité utilisée dans divers domaines tels que l'agriculture, l'alimentation, la cosmétique, la teinturerie, l'industrie textile et à des fins médicinales (Bertrand, 2010).

2.2. Propriétés et usage traditionnel de quelques espèces du genre *Urtica*

L'ortie ou *Urtica* représente un sujet d'intérêt tant sur le plan scientifique que commercial, en raison de sa capacité à générer de nombreux produits naturels à forte valeur ajoutée, exploitant ainsi toutes les parties de la plante, que ce soit la tige, les feuilles, les racines ou les graines (Di virgilio, 2014). Toutes les parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle. Au Maroc La plante entière est employée pour ses vertus diurétiques, anti hypertensives, antidiabétiques, dépuratives, hémostatiques, anti asthéniques, anti anémiques, antispasmodiques, antirhumatismales et comme remède dans les maux de tête et les coups de froid (Hmamouchi, 1999 ; Bnouham *et al.*, 2002).

Est également utilisée pour traiter les affections spléniques, rénales et dermiques (Daoudi *et al.*, 2008). Le jus frais d'ortie a un effet hémostatique sur les saignements cutanés, de nez et remédie aux règles abondantes dont elle réduit le flux (Chevallier, 2013). L'ortie nous plonge au tout début de l'agriculture. Car cette plante fut rapidement apprivoisée et devint une alliée précieuse du jardinier, qui peut, grâce à quelques applications simples, rendre son jardin plus productif (Tabardel, 2003).

La tisane d'ortie est souvent recommandée par les praticiens de la phytothérapie comme un remède traditionnel pour la goutte et les rhumatismes. En Allemagne, elle est utilisée comme diurétique léger, bien qu'elle ne soit pas considérée comme suffisamment puissante pour traiter l'hypertension ou les problèmes cardiaques. En Russie, l'ortie est également utilisée pour les troubles biliaires et hépatiques, comme le mentionne (Valnet, 1983).

3. Description botanique de l'espèce *Urtica urens*

Urtica urens est une plante herbacée annuelle généralement une taille de 20 à 60 cm Et ne dépasse pas 70 cm de hauteur. Elle est également recouverte de poils urticants (Frély, 2012).

Les feuilles sont de petite taille, de couleur vert foncé, disposées de manière opposée sur la tige. Elles sont de forme ovale à arrondie, parfois atténuées à la base, avec des bords incisés et dentelés. Elles sont à peine plus longues que larges, régulières et relativement fragiles à la base. Elles sont portées sur de longs pétioles. Les piqûres de ces feuilles sont particulièrement brûlantes (Delahaye et Lefief-Delcourt, 2015).

La tige de la plante est verticale, présentant des angles distincts et souvent ramifiée à la base. Elle est couverte de poils urticants (Delhaye et Lefief -delcourt, 2015).

La racine de la petite ortie est pivotante elle n'a pas rhizome (Frély, 2012).

La fleur a un goût acidulé et est de couleur jaune verdâtre. Elle est monoïque, ce qui signifie qu'elle porte à la fois des organes mâles et femelles. Les fleurs mâles se présentent sous forme de petits chatons verdâtres, tandis que celles des femelles se regroupent en grappes pendantes. Les fleurs ont quatre sépales mais pas de pétales. Les fleurs femelles sont plus nombreuses que les fleurs mâles. La floraison s'étend de mars à octobre. La plante se reproduit principalement par ses graines dispersées par le vent, avec chaque pied pouvant produire environ 1200 graines (Couplan, 2008 ; Mostade, 2015).

Les fruits de l'ortie est un akène de forme ovoïde, il est minuscule, mesurant moins de 1 mm (Frély, 2012).



(A)

(B)

(C)

Figure 1. *Urtica urens*, (A) les feuilles, (B) la tige, (C) la racine.

3.1. Classification botanique de l'espèce *Urtica urens*

D'après Angiosperme phylogeny groupe III (APGIII, 2009), l'ortie suit la classification suivante :

Tableau 2. La classification d'ortie d'après Angiosperme phylogeny groupe III.

Règne	Plantae
Embranchement	Angiosperme
Classe	Rosidae
Ordre	Rosales
Famille	Urticacée
Genre	<i>Urtica</i>
Espèce	<i>urens</i>

Le nom vernaculaire : l'espèce *Urtica urens* est connue par d'autres noms vernaculaires (Mostade, 2015), qui sont :

- ✓ En français : petite ortie, ortie brûlant, grièche, grec, sauvage, barbare et folle.
- ✓ En arabe : القراص.
- ✓ En anglais : Small Nettle.
- ✓ En espagnole : Ortigamenor.

3.2. Distribution géographique du l'espèce *Urtica urens*

A. Dans le monde

On la trouve en Europe, très répandue en France, en Afrique du nord, Afrique du sud, en Asie, dans les régions tempérées et montagneuses et ce jusqu'à 2400 mètres d'altitude. Et aussi en Amérique du Nord (Frély, 2012).

B. En Algérie

Espèce cosmopolite, relativement commune dans les ravins des montagnes de Kabylie et dans les régions de Skikda et Annaba, moins fréquente dans L'Atlas blidéen (Baba aissa, 1999).

4. Les métabolites secondaires des plantes

Les métabolites secondaires sont des composés organiques complexes produits et stockés en quantités limitées par les plantes autotrophes. Ces métabolites sont principalement classés en trois grandes catégories : les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Lutge *et al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007).

4.1. Métabolites secondaires de l'espèce de *Urtica urens*

Les espèces du genre *Urtica* ont fait l'objet de nombreuses recherches phytochimiques en raison de leur diversité, qui a permis la séparation d'un certain nombre de métabolites secondaires, y compris les acides phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles (terpénoïdes et autres composés), etc. dont le contenu varie selon les variations régionales, climatiques, de séchage, de stockage et de méthodes de recherche (extraction et détection).

4.2. Les composés phénoliques les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui se distinguent par la présence d'un cycle aromatique, accompagné de groupements hydroxyles soit libres, soit liés à des glucides. Les composés phénoliques sont des molécules ayant une activité biologique significative. Ils sont fréquemment employés en médecine pour leurs propriétés diverses telles que leur capacité à agir en tant que vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, antioxydants, agents antiradicalaires et antimicrobiens (djemai et Zoughlache, 2008).

4.3. Classification des composés phénoliques :

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en nombreuses classes :

A. Les acides phénoliques

Ce sont des composés phénoliques possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol (Richter, 1993 et soobratte *et al.*, 2005). Ils sont solubles dans les solvants organiques (Guignarg, 2000).

B. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes comme un ensemble de plus de 6000 composés naturels largement répandus chez les plantes vasculaires. Ces substances agissent en tant que pigments, conférant aux organes végétaux des teintes jaunes, oranges et rouges (Ghedira, 2005). Tous les flavonoïdes partagent une structure de base commune (C6-C3-C6) composée de quinze atomes de carbone. Cette structure comprend deux cycles aromatiques A et B, chacun composé de six atomes de carbone, reliés par une unité de trois atomes de carbone, qui peut être ou non une partie d'un troisième cycle (Tapas, 2008).

C. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols aux structures variées, partageant la capacité à tanner la peau, les rendant ainsi imputrescibles. Ils se lient aux protéines, expliquant leur action tannante. Présents largement dans le règne végétal, ils s'accumulent surtout dans les tissus âgés ou pathologiques, localisés dans les vacuoles et parfois associés aux protéines et aux

alcaloïdes. On distingue deux types de tanins : les hydrolysables et les condensés (Roux, et Catier, 2007). Les tanins sont abondants dans les plantes, surtout dans les fruits, les graines de céréales et certaines boissons. Les principales sources alimentaires de tannins pour les humains sont le vin et le thé (Pénicaud, 2009).

Chapitre 2. Cytotoxicité et génotoxicité

1. cycle cellulaire

Le cycle cellulaire représente une séquence d'événements rigoureusement organisés aboutissant à la division cellulaire. Walter Flemming a initialement décrit ce processus biologique essentiel en 1882. D'après ses observations, le cycle cellulaire se compose de deux phases principales : la mitose et l'interphase (Marteil, 2010).

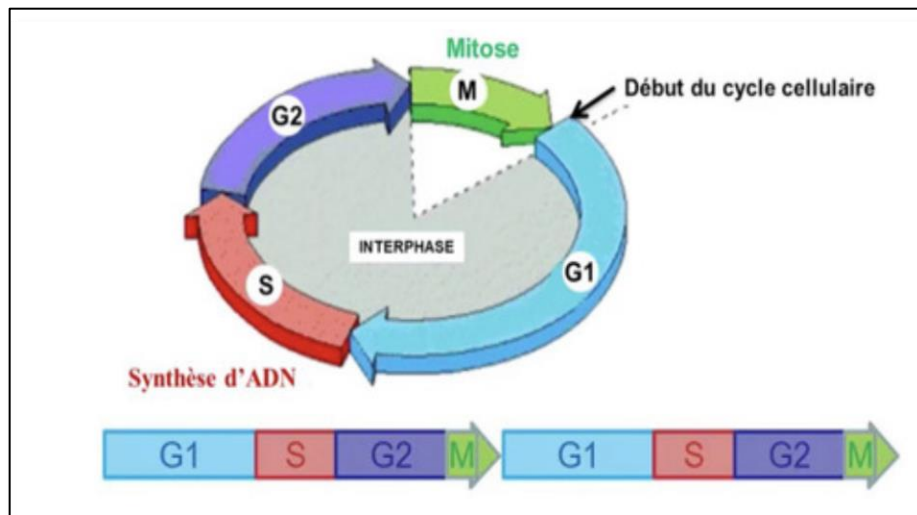


Figure 2. Cycle cellulaire (interphase et mitose) (Bruce, 1999).

➤ **Interphase** l'interphase se décompose en trois phases successives : la phase G1, la phase S et la phase G2.

- **La phase G1** représente le point critique où la plupart des cellules prennent la décision de se diviser ou de quitter le cycle cellulaire, car elle marque une période de régulation cruciale. En cas de conditions de croissance défavorables ou en réponse à des signaux inhibiteurs, les cellules peuvent entrer en phase G1 pour une durée prolongée, voire même entrer dans un état de non-division prolongée appelé G0 (Morgan, 2010).
- **La phase S** également connue sous le nom de phase de synthèse ou de réplication de l'ADN, est caractérisée par la duplication de l'ADN chromosomique. La réplication de chaque chromosome débute à de multiples sites distincts, appelés origines de réplication, situés le long de la molécule d'ADN chromosomique. Chaque segment du chromosome répliqué à partir d'une origine unique est appelé réplicon (Lints, 1991).
- **La phase G2** est une période de croissance et de préparation à la mitose. À la fin de la phase G1 et de la phase G2, des points de contrôle, ou "check-points", se

situent où la cellule vérifie que toutes les conditions sont réunies pour que la réplication de l'ADN et la mitose se déroulent normalement (Morgan, 2010).

- **La mitose** la mitose se déroule en quatre étapes caractéristiques qui sont la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase
- **La prophase** : durant cette étape, la chromatine subit une modification de sa structure, passant de l'état diffus interphasique à des structures bien définies et individualisées appelées chromosomes. Chaque chromosome se compose de deux chromatides sœurs alignées verticalement ; une région de hypercondensation apparaît, connue sous le nom de centromère (Campbell, 1995). La condensation des chromosomes est l'un des premiers événements morphologiques de la division cellulaire (Meijer *et al.*, 2003). Lorsque la condensation des chromosomes mitotiques se produit, il y a phosphorylation de certaines histones, notamment de l'histone H1. Des interactions se produisent alors entre les molécules d'histones phosphorylées, ce qui entraîne un réarrangement des chromosomes, les rendant ainsi plus condensés. L'histone H3 est également phosphorylée pendant la mitose (CD Universalis 6, 2000).
 - **La métaphase** : la tension exercée par les microtubules aligne et maintient les chromosomes au niveau équatorial de la cellule, formant ainsi la plaque métaphasique, située à mi-chemin entre les deux pôles. Les deux chromatides sœurs sont attachées à des microtubules distincts, chacun connecté à l'un des deux pôles du fuseau mitotique (Collura *et al.*, 2005).
 - **L'anaphase** : se caractérise par la séparation des deux chromatides sœurs (désormais appelées chromosomes) au niveau de leur centromère (Lodish *et al.*, 1997). La transition de la métaphase à l'anaphase nécessite la dégradation protéolytique des molécules régulant l'appariement des chromatides sœurs. Pendant l'anaphase, les chromatides sœurs séparées migrent vers les deux pôles du fuseau mitotique, qui s'éloignent également l'un de l'autre (Tomas *et al.*, 2004).
 - **La télophase** : à la télophase, la disparition des microtubules kinétochoriens et le regroupement des chromosomes fils aux pôles de la cellule marquent la fin de la mitose. Une enveloppe nucléaire se reconstitue autour de chaque ensemble de chromosomes fils, qui commencent à se décondenser, tandis que les nucléoles réapparaissent (Petit *et al.*, 1997).

2. Définition de la cytotoxicité

La cytotoxicité représente l'une des principales stratégies utilisées par le système immunitaire pour contrer les agressions externes ainsi que les agents chimiques ou biologiques susceptibles de nuire aux cellules, voire de les détruire. Elle est évaluée en observant les modifications de l'indice mitotique (IM) des cellules méristématiques. Cette mesure revêt une importance cruciale dans la surveillance régulière de la santé cellulaire et du taux de prolifération (Vély *et Vivier*, 1996 ; Kim *et al.*, 2016 ; Cudazzo *et al.*, 2019 ; Santos Filho *et al.*, 2019).

La cytotoxicité se réfère à la capacité d'un agent chimique ou biologique à causer des dommages aux cellules, pouvant éventuellement entraîner la mort de la cellule cible. Ce processus se manifeste fréquemment par la lyse cellulaire (Dausset, 1976).

La cytotoxicité peut également être induite par certains médicaments, connus sous le nom de médicaments cytotoxiques. Ces médicaments sont définis comme ceux qui entravent ou inhibent les fonctions cellulaires. Ils sont principalement utilisés dans le traitement du cancer, généralement dans le cadre de la chimiothérapie (Martin *et al.*, 2004). Plus récemment, l'utilisation des médicaments cytotoxiques s'est élargie pour inclure le traitement de certaines affections cutanées telles que le psoriasis, ainsi que pour des conditions telles que l'arthrite rhumatoïde et l'arthrite rhumatoïde juvénile, ainsi que des troubles musculaires résistant aux stéroïdes.

Parmi les médicaments cytotoxiques les plus renommés figurent les agents antinéoplasiques (Augry *et al.*, 1998).

3. Les tests de cytotoxicités

Le test de cytotoxicité est une méthode colorimétrique (Le bleu trypan, MTT) largement utilisée et fiable pour évaluer la viabilité cellulaire. Il comprend des épreuves d'activité cellulaire ainsi que des analyses morphologiques.

Ce test implique le comptage du pourcentage de cellules vivantes, représenté par l'indice mitotique (IM), après exposition d'une culture cellulaire à une large gamme de concentrations de substances génotoxiques (Fasla, 2009 ; Techer, 2013 ; Lai *et al.*, 2017). Chez les végétaux le test de l'élongation racinaire est adopté comme étant un test de cytotoxicité.

4. Définition de la génotoxicité

La génotoxicité, également connue sous le nom de toxicité génétique, fait référence à la capacité de certains agents physiques, chimiques ou biologiques à causer des dommages à l'ADN, pouvant entraîner des mutations génétiques si ces lésions ne sont pas réparées.

Ces agents sont appelés mutagènes et peuvent altérer le matériel génétique, soit directement en provoquant des modifications de l'ADN (mutations géniques) ou des chromosomes (mutations chromosomiques), soit indirectement en affectant la structure des nucléotides avant leur incorporation dans l'ADN ou en inhibant des enzymes de synthèse ou de réparation (comme l'ADN polymérase, les ligases, les topoisomérases), etc. (Cachot et Dégremont, 2009 ; Fasla, 2009).

5. Les agents génotoxiques

Un agent génotoxique fait référence à un agent chimique ou toute autre substance qui provoque des dommages à l'ADN cellulaire, ce qui peut conduire à des mutations génétiques ou au développement de cancers (Saks *et al.*, 2017).

Les agents génotoxiques peuvent être classés de différentes manières :

Les agents génotoxiques peuvent être classés en agents directs, qui contiennent généralement des molécules intrinsèquement réactives ne nécessitant pas d'activation métabolique par des enzymes cellulaires pour interagir de manière covalente avec l'ADN, tels que les moutardes à l'azote, ou indirects, qui requièrent une activation métabolique par des enzymes cellulaires pour former des espèces carcinogènes ultimes qui se lient de manière covalente à l'ADN, comme le benzo [a] pyrène. Certains agents peuvent agir à la fois de manière directe et indirecte, comme les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les radiations ionisantes (Robert, 2004).

Les agents génotoxiques peuvent être endogènes, résultant de processus internes au corps tels que le métabolisme oxydatif mitochondrial et l'activation des cellules inflammatoires, par exemple la formation de ROS (espèces réactives de l'oxygène) (Erkekoglu *et al.*, 2014), tout comme ils peuvent être exogènes, provenant de sources externes telles que des agents physiques, chimiques ou biologiques (Lucy *et al.*, 2014).

- **Agents chimiques** : ce sont des mutagènes électrophiles qui forment des liaisons covalentes avec des sites nucléophiles sur les bases de l'ADN. Les azotes aromatiques, les groupements hydroxyles et carbonyles des bases de l'ADN sont parmi les sites nucléophiles qui sont les cibles préférées des agents chimiques génotoxiques (Benhacine et Sahil, 2016).
- **Agents physiques** : les agents physiques se réfèrent principalement aux radiations ionisantes hautement énergétiques comme les rayons X ou gamma, ainsi qu'aux radiations non ionisantes telles que la lumière ultraviolette. Ces agents peuvent induire divers types de mutations (Dégremont et Cachot, 2009).

- **Agents biologiques** : les mutagènes biologiques incluent des virus tels que les rétrovirus, responsables du sida, ainsi que les Filoviridae, dont le virus Ebola. Leur action génotoxique peut conduire à la formation de cancers (Dégremont et Cachot, 2009).

6. Les tests de la génotoxicité

Les tests de génotoxicité sont conçus pour identifier les altérations causées par des composés chimiques ou physiques sur le matériel génétique (ADN et/ou chromosomes), pouvant entraîner des mutations si ces lésions ne sont pas correctement réparées par les systèmes enzymatiques appropriés. Ils sont principalement destinés à détecter les dommages à l'ADN et/ou aux chromosomes, ainsi que leurs conséquences telles que les effets phénotypiques des mutations géniques. Ces tests ne sont pas conçus pour détecter directement les cellules cancéreuses, mais plutôt les cellules normales ayant subi une altération ou une agression génétique.

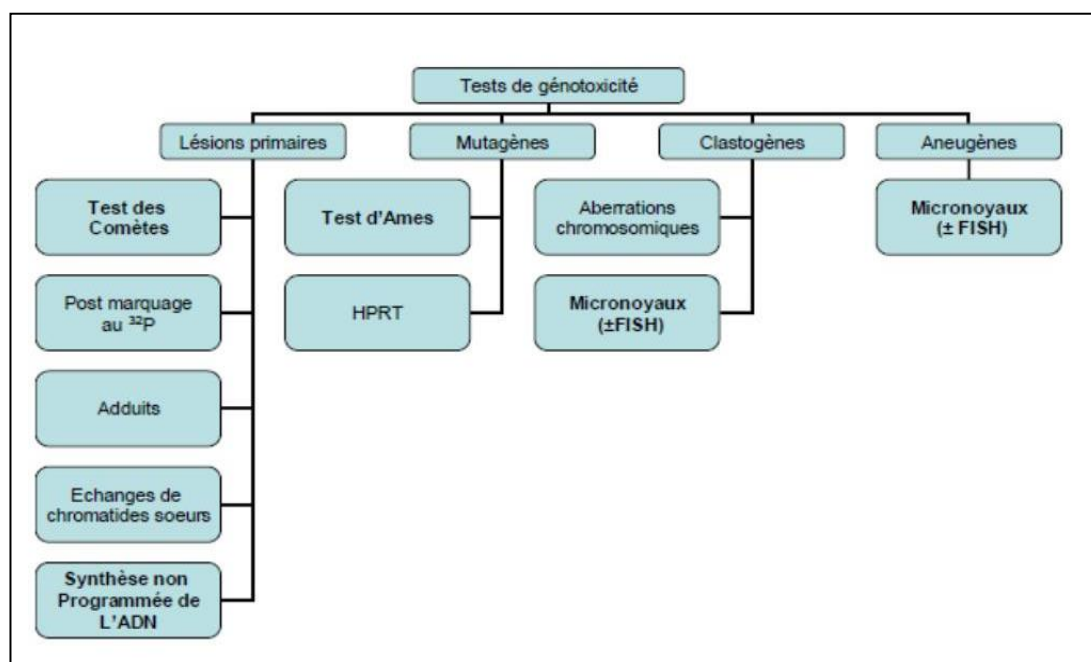


Figure 3. Les différents types des tests de génotoxicité (Orsière *et al.*, 2005).

A. Test de comète :

Le test des comètes aussi appelé en anglais « Single Cell Gel Electrophoresis » ou SCGE est un test simple, peu coûteux et d'une très grande sensibilité. C'est un outil incontournable pour l'étude de la génotoxicité à l'échelle cellulaire d'une ou plusieurs substances sur n'importe quel tissu vivant constitué de cellules eucaryotes. En effet, pour effectuer ce test, il suffit de pouvoir disposer de noyaux : il est donc virtuellement possible de l'appliquer à tout tissu, animal ou végétal, dont on peut extraire les noyaux

ou isoler les cellules. Donnent une bonne illustration de la variété des espèces, animales ou végétales, sur lesquelles le test des comètes été effectué avec succès. Le test des comètes requiert peu de matériel biologique et peut s'effectuer sur cellules mitotiques ou non. Il est hautement sensible et donc peu spécifique, et permet de visualiser les lésions génotoxiques à l'échelle de chaque cellule (Cachot et Dégremont, 2009 ; Fardel *et al.*, 2009).

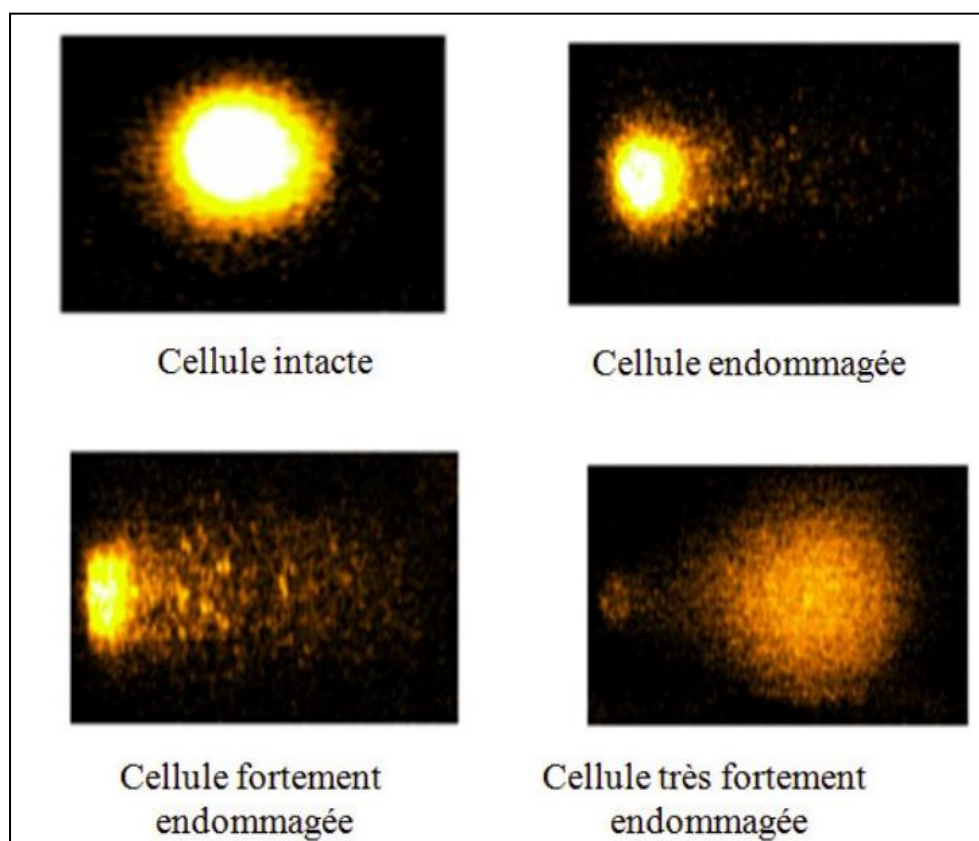


Figure 4. Différent degré d'altération primaire d'ADN : test des comètes (Nesslany, 2013).

B. Test des adduits

La technique des adduits consiste à détecter les liaisons entre les agents génotoxiques et les macromolécules telles que l'ADN (adduits à l'ADN) ou les protéines (adduits aux protéines) après l'exposition de l'organisme à ces agents. Bien que cette méthode soit très sensible, elle présente l'inconvénient majeur de manquer de spécificité. De plus, les réactions enzymatiques utilisées ne sont pas complètes, ce qui compromet l'aspect quantitatif de la mesure (Tarantini, 2009).

C. Test des micronoyaux

Les micronoyaux sont des structures nucléaires distinctes du noyau principal, formées par la perte de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers lors de la division cellulaire, résultant respectivement d'effets clastogènes (cassures double brin de l'ADN) ou d'effets aneugènes (perturbations de l'appareil mitotique, principalement dues à des interactions avec les protéines). Les tests des micronoyaux visent à détecter et à quantifier ces structures dans des cellules exposées *in vitro* à un agent génotoxique, ou dans des cellules provenant d'une exposition *in vivo*, comme les lymphocytes de rongeurs ou d'humains exposés à cet agent (Mateuca *et al.*, 2006).

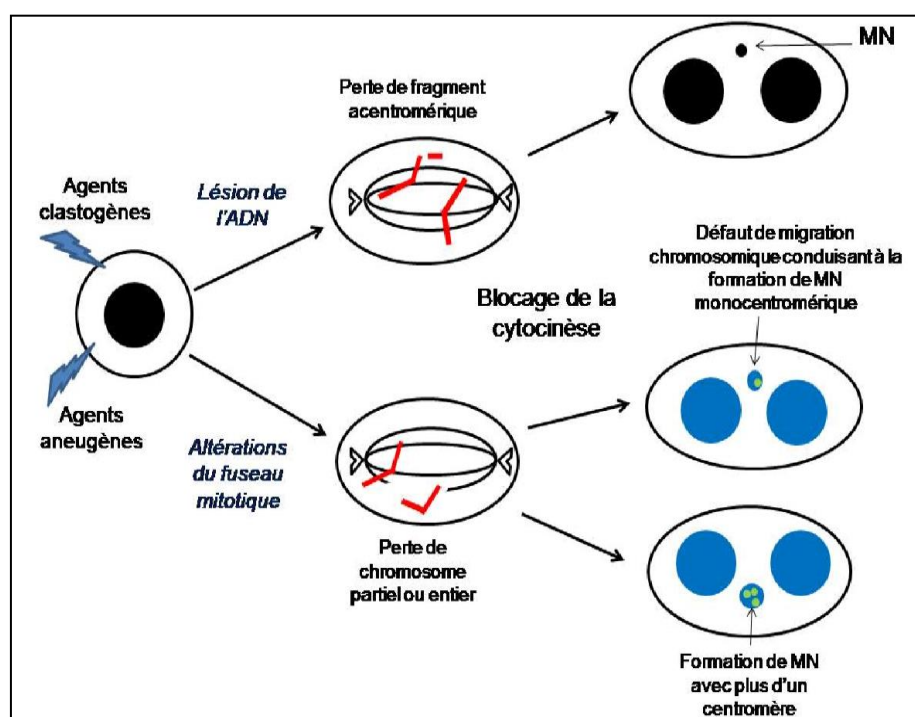


Figure 5. Schéma représentant le mécanisme de formation des MN dû à un effet clastogène et/ou aneugène (pham, 2011).

D. Test d'Ames

Le test d'Ames, développé au début des années 1970 par Bruce Ames, est une méthode simple, économique et sensible pour évaluer la mutagenicité d'une substance chimique ou d'un agent physique. Il consiste à examiner si une substance est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium*. Ces souches portent une mutation dans un gène régissant la synthèse de l'histidine, les rendant incapables de croître dans un milieu sans histidine (His⁻). Cependant, ces souches peuvent spontanément revenir à un

état capable de croître en l'absence d'histidine (His⁺). Cette réversion spontanée est très rare mais peut être augmentée en exposant les bactéries (His⁻) à des agents mutagènes. Le test évalue alors la capacité de la substance testée à induire une nouvelle mutation dans la même région de l'ADN, ce qui se traduit par la réversion de l'auxotrophie de la souche bactérienne vis-à-vis de l'histidine (Cachot et Dégremont, 2009 ; Fardel *et al.*, 2009).

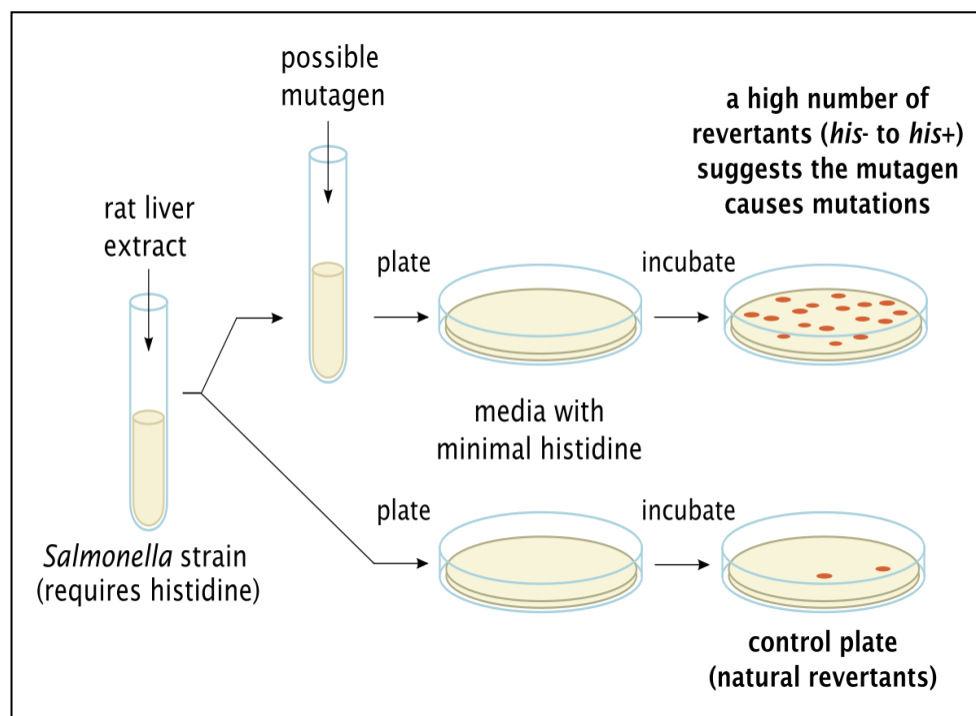


Figure 6. Le principe du test Ames (Jain *et al.*, 2018).

E. Test des aberrations chromosomique

Les aberrations chromosomiques signalent un dommage stable et durable (mutation) qui peut être un événement initiateur dans le processus conduisant au développement de néoplasies. Ce test est un biomarqueur d'effets précoces, ces aberrations chromosomiques pouvant être chromatidiennes (échanges, cassures, etc.) ou chromosomiques (affectant les deux chromatides du chromosome : fragments acentriques, dicentriques, translocations, etc.). Ces anomalies surviennent suite à des cassures de l'ADN ; par la suite, les fragments peuvent se reconnecter au chromosome à leur emplacement d'origine, à un autre emplacement, ou ne pas se reconnecter du tout. Ces deux derniers types de lésions sont observables au microscope dans les cellules en métaphase (Ortege, 2004).

F. Test des échanges de chromatides sœurs

L'échange entre chromatides sœurs (SCE) est un processus qui reflète les réarrangements de l'ADN au sein d'un même chromosome. Il implique un échange complet et réciproque entre les deux chromatides sœurs lors d'une mitose réalisée *in vitro*. Ce test mesure le taux d'échanges entre chromatides sœurs survenus pendant une mitose *in vitro*, conformément aux directives de l'OCDE pour les essais de produits chimiques.

- SCE est assez complexe à réaliser, nécessitant notamment la mise en place de cultures cellulaires. De plus, elle ne détecte pas systématiquement les lésions génétiques fixées. Pour surveiller les individus exposés, des prélèvements cellulaires sont requis, ce qui peut être considéré comme une mesure invasive.
- SCE est sensible à certains facteurs perturbateurs tels que la consommation de tabac et d'alcool, ainsi que le polymorphisme de l'expression enzymatique, pouvant entraîner des résultats biaisés (Ortege, 2004 ; Fardel *et al.*, 2009 ; Fasla, 2009).

Partie expérimentale

Chapitre 3. Matériel et méthodes

1. Matériel

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer les effets cytotoxiques et génotoxiques de l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica urens* en utilisant le test d'*Allium cepa*. En parallèle, nous visons à évaluer l'activité antioxydante de cet extrait et obtenir le dosage de certains métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins. Il est important de souligner que le test d'*Allium cepa* est adopté comme étant un indicateur biologique de la pollution environnementale (Bagatini *et al.*, 2009 ; Leme, 2009).

Selon Laughing house (2007), ce test a été utilisé pour étudier des extraits bruts de cyanobactéries et pour évaluer le risque génotoxique des plantes médicinales (Silveira *et al.*, 2017).

1.1. Matériel végétale

Urtica urens est une espèce de plantes très répandue dans toute l'Algérie, y compris dans la région de Skikda. Une fois que les feuilles d'*Urtica urens* ont été récoltées, elles ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 10 jours. Après avoir été séchées, les feuilles ont été broyées et tamisées, par la suite, la poudre obtenue a été stockée jusqu'à utilisation.

2. Méthodes

2.1. Extraction

Afin d'obtenir un extrait méthanolique brut, 50 g de poudre de *Urtica urens* ont été immergés dans une solution hydroalcoolique (3/1 v/v, méthanol/eau distillée) et placés dans un dessiccateur à l'abri de la lumière pendant 24 heures. Après filtration, le macérât a été concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le liquide concentré a ensuite été séché dans une étuve à 40°C pendant 24 heures.



Figure 7. L'extraction méthanolique et l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica urens*.

2.2. Le test de cytotoxicité

2.2.1. Préparation des concentrations testées de l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica urens*

Après avoir obtenu un extrait complètement sec, 160 mg de l'extrait a été dissous dans 40 ml d'eau distillée pour obtenir une concentration mère de 4 mg/ml à partir de laquelle différentes concentrations filles, ont été préparées à savoir : 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml.



Figure 8. La préparation des concentrations de l'extrait d'*Urtica urens* dans le laboratoire.

2.2.2 Test d'*Allium cepa*

Les plantes supérieures sont reconnues comme d'excellents modèles génétiques pour détecter les mutagènes environnementaux et sont fréquemment utilisées dans les études de surveillance. Parmi lesquelles l'*Allium cepa* qui a été utilisée pour évaluer les dommages à l'ADN, tels que les aberrations chromosomiques et les perturbations du cycle mitotiques. L'utilisation d'*Allium cepa* comme système de test pour détecter les agents mutagènes remonte aux années 40. Il est utilisé jusqu'à aujourd'hui pour un grand nombre d'agents chimiques, ce qui contribue à son application croissante dans la surveillance environnementale (Leme et Marin-Morales, 2009).

2.2.3. L'élongation racinaire

Le potentiel cytotoxique de l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne d'*Urtica urens* a été évalué en utilisant des graines d'*Allium cepa*. L'expérience a été réalisée avec deux répétitions, chaque répétition étant représentée par une boîte de Pétri contenant 25 graines. Les graines ont été placées sur du papier filtre humidifié avec 5 ml de l'extrait. Cinq concentrations de l'extrait (0.25, 0.5, 1, 2 et 4 mg/ml) ont été testées, tandis que l'eau

distillée a été utilisée comme témoin négatif. Après traitement, les boîtes ont été conservées à température ambiante, avec une variation maximale de ± 2 °C, dans une pièce sombre pendant 7 jours. Toutes les 24 heures, les mesures de l'élongation racinaire de chaque graine pour chaque traitement ont été pris.

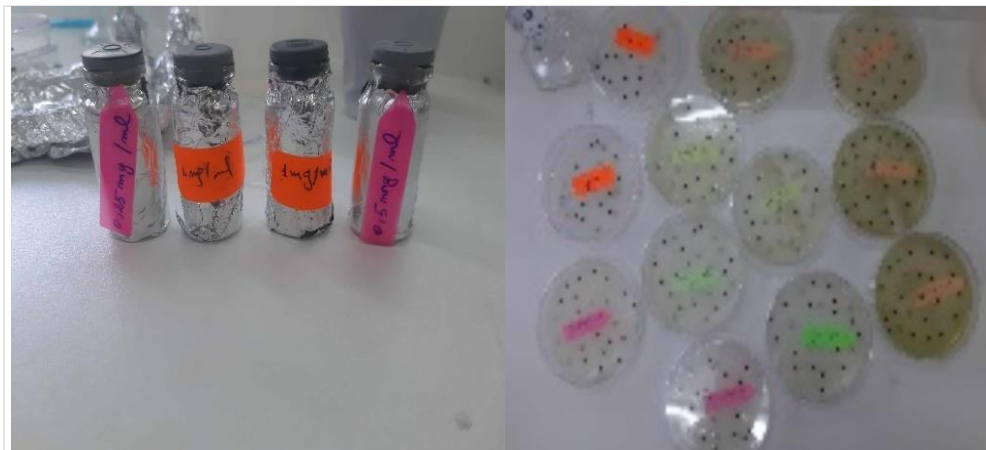


Figure 9. Test de cytotoxicité sur les graines de l'*Allium cepa* avec les différentes concentrations de l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica urens*.

2.3. Le test de cytotoxicité et génotoxicité

La cytotoxicité et la génotoxicité de l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica urens* ont été évaluées en faisant germer des graines d'*Allium cepa* dans l'obscurité jusqu'à ce que les racines atteignent une longueur racinaire comprise entre 1 et 1.5 cm. Les racines ont ensuite été exposées à différentes concentrations de l'extrait d'*Urtica urens*, avec et sans H₂O₂ à 6% (contrôle positif), pendant 24 heures. Le tableau ci-dessous présente les diverses combinaisons de traitements.

Tableau 3. Tableau relative aux différents traitements

Groupes	Traitement
1	Control négatif
2	H ₂ O ₂ 6%
3	<i>U. urens</i> 0.25 mg/ml
4	<i>U. urens</i> 0.5 mg/ml
5	<i>U. urens</i> 1 mg/ml
6	H ₂ O ₂ 6%+ <i>U. urens</i> 0.25 mg/ml
7	H ₂ O ₂ 6%+ <i>U. urens</i> 0.5 mg/ml
8	H ₂ O ₂ 6%+ <i>U. urens</i> 1 mg/ml

Les racines ont été collectées et fixées dans une solution d'éthanol et d'acide acétique pendant 24 heures, puis conservées dans de l'éthanol à 70 % à 4 °C pendant au moins 24 heures. Les pointes racinaires de chaque traitement ont été immergées dans de l'HCl 1N à 60 °C, puis colorées avec le réactif de Feulgen pendant 45 minutes. Elles ont ensuite été écrasées entre lame et lamelle dans une goutte d'acide acétique à 45 %.

Les différentes phases de division mitotique, ainsi que les éventuelles altérations chromosomiques et nucléaires, ont été soigneusement observées et enregistrées. Des paramètres de cytotoxicité tels que l'indice mitotique (IM) et l'indice de phase (IP) (prophase, métaphase, anaphase et télophase) ont été calculés en fonction des observations réalisées (Aragão *et al.*, 2015).

$$\text{➤ IM (\%)} = \frac{\text{Nombre totale de cellules en division}}{\text{Nombre de cellules examinées}} \times 100.$$

$$\text{➤ IP (\%)} = \frac{\text{Nombre totale de cellules en phase i}}{\text{Totale des cellules examinées}} \times 100.$$

Pour les paramètres de génotoxicité on a l'indice d'altérations chromosomiques (IA) qui a été obtenu selon (Aragão *et al.*, 2015).

$$\text{➤ IA (\%)} = \frac{\text{Nombre totale d'aberrations chromosomiques}}{\text{Totale des cellules examinées}} \times 100$$

2.4. L'analyse phytochimique

2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Cette méthode est basée sur la réduction des acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques du réactif de Folin-Ciocalteu par les phénols présents dans l'extrait à analyser dans un milieu alcalin. Pour cela, 200 µl de l'extrait à différentes concentrations (0.5 mg/ml, 1 mg/ml) ont été ajoutés à 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (1/10). Après 4 min, 800 µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃, 7.5 %) ont été additionnés. Le mélange a été incubé pendant 2 heures à température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc en utilisant un spectrophotomètre UV-Vis (7220G). L'acide gallique (0-400 µg/ml) = (3.9, 7.8, 15.6, 31.25, 65, 125, 250, 500 µg/ml) est utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait) (Figure 10).

La teneur en polyphénols totaux des extraits bruts par Li et ses collaborateurs, (2007).

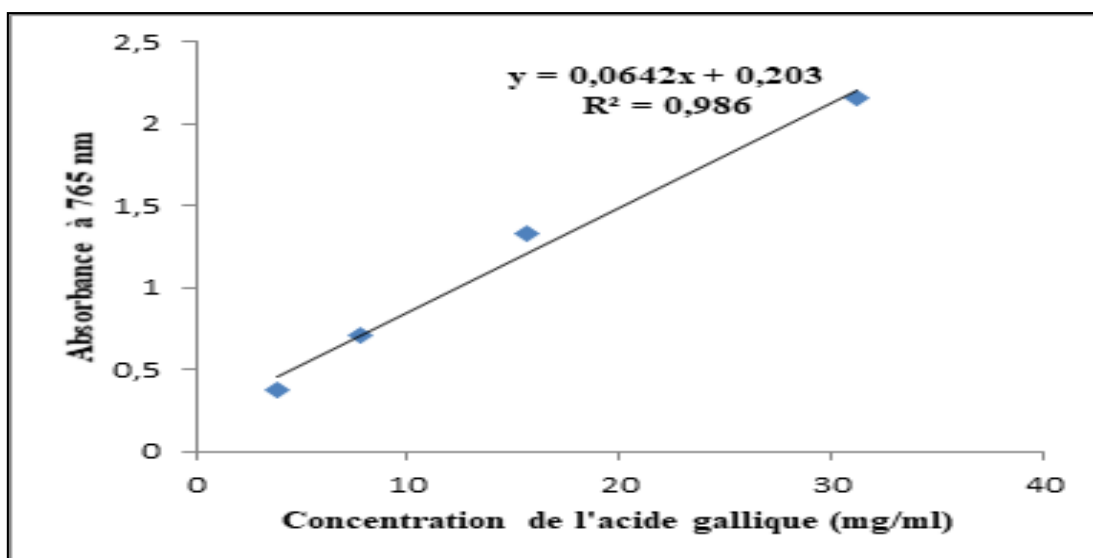


Figure 10. Courbe d'étalonnage des polyphénols réalisée à l'aide de l'acide gallique

2.4.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode colorimétrique du trichlorure d'aluminium a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits de plantes (Turkoglu *et al.*, 2007). Elle est basée sur la capacité des flavonoïdes à former des complexes de couleur jaunâtre avec les chlorures d'aluminium. 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 2%) a été ajouté à 1 ml de l'échantillon (extraits ou standard) à différentes concentrations (0.5 mg/ml, 1 mg/ml). Le mélange est incubé pendant 10 min à température ambiante puis la lecture est faite à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La teneur en flavonoïdes dans les extraits a été calculée à partir de la gamme d'étalonnage établie par la quercétine (2.5-40 $\mu\text{g/ml}$) = (2.5, 5, 10, 20, 40 $\mu\text{g/ml}$) et les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de la quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait), (Figure 11).

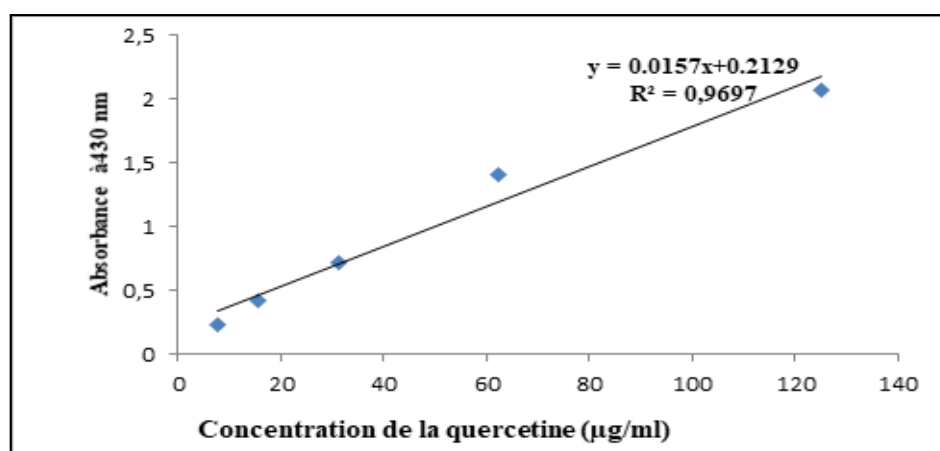


Figure 11. Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée à l'aide de la Quercitine

2.4.3. Dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés a été déterminée selon la méthode de (Schofield *et al.*, 2001). Cette technique est basée sur la formation d'un complexe rouge entre la vanilline et les tannins. 3 ml d'une solution de vanilline (4%) et 1.5 ml d'acide hydrochlorique concentré ont été ajoutés à 400 µl de chaque échantillon ou standard. Après 15 min d'incubation l'absorbance est lue à 500 nm. La concentration des tanins condensés a été déterminée à partir d'une gamme d'étalonnage établie par la catéchine (0-400 µg/ml) et les résultats sont exprimés en microgramme équivalents de la catéchine par milligramme d'extrait (µg CT/mg d'extrait (**Figure 12**))

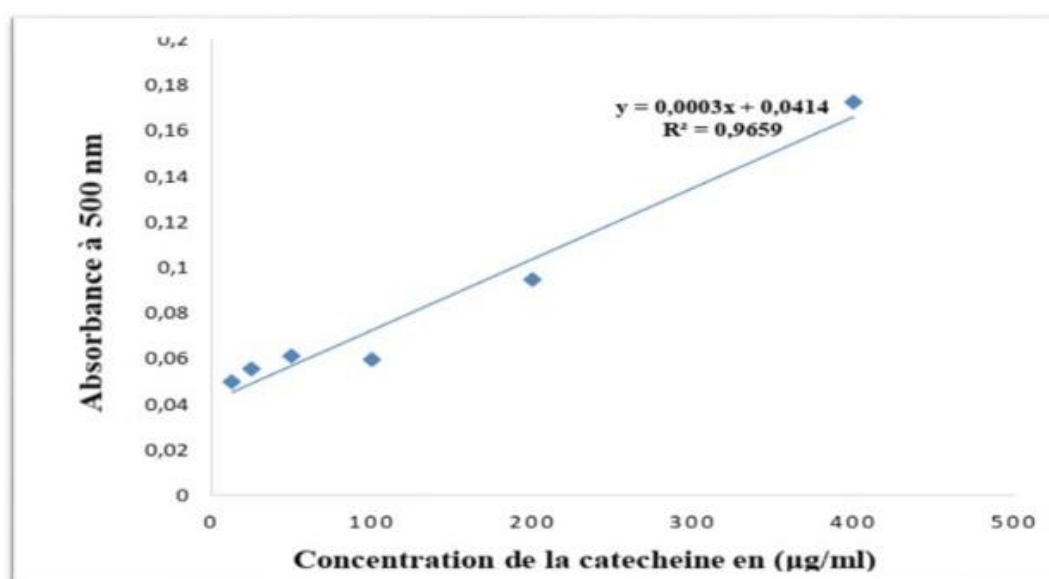


Figure 12. Courbe d'étalonnage des tanins condensés réalisée à l'aide de la Catéchine.

2.4.4. Activités antioxydantes

Piégeage des radicaux libres DPPH l'activité anti-radicalaire de l'extrait (a été testée spectrophotométriquement par le piégeage des radicaux libres DPPH (Blois, 1958). Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical libre stable de couleur violette en solution présentant une absorbance caractéristique entre 512 et 517 nm. Lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un antioxydant, sa couleur violette disparaît rapidement pour devenir jaune. L'intensité de cette couleur jaune est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante (sanchez-moreno, 2002), ce qui signifie que plus la couleur jaune est intense, moins l'activité antiradicalaire est élevée. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH• est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un antioxydant. La forme réduite de couleur jaune n'absorbe plus à 517 nm, dont l'intensité

de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants (sanchez-moreno, 2002). $\text{DPPH}\cdot + \text{A-H} \rightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}\cdot$ Où A-H représente un composé capable de céder un H• au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune). Pour réaliser l'analyse, différents échantillons (extraits ou standards) sont mélangés avec une solution de DPPH dans du méthanol. Un blanc est également préparé en ajoutant uniquement du méthanol à la solution de DPPH pour servir de référence. Après une incubation de 30 minutes à température ambiante et dans l'obscurité, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le pourcentage d'inhibition du DPPH est ensuite calculé en comparant l'absorbance de l'échantillon à celle du contrôle (blanc) à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire}\% = \frac{(\text{Ab contrôle} - \text{Ab échantillon})}{\text{Ab contrôle}} \times 100$$

- ✓ Ab contrôle : l'absorbance du blanc.
- ✓ Ab échantillon : l'absorbance du contrôle positif ou de l'échantillon.

L'évaluation de l'activité de piégeage des radicaux libres se fait en exprimant les résultats en pourcentage d'inhibition (%). Cette mesure est complétée par l'utilisation de l'IC₅₀, représentant la concentration inhibitrice de l'extrait nécessaire pour neutraliser 50 % des radicaux DPPH dans le milieu réactionnel. Une IC₅₀ plus basse indique une activité antiradicalaire plus forte (Ionuț *et al.*, 2018). Pour obtenir une caractérisation plus détaillée du pouvoir anti-radicalaire, deux autres paramètres sont calculés : l'EC₅₀ et l'APR (Prakash *et al.*, 2007). L'EC₅₀, ou concentration effective à 50 %, prend en compte la concentration initiale de DPPH dans le milieu réactionnel. Cette valeur est calculée en divisant l'IC₅₀ par la concentration de DPPH (en µg/ml d'extrait) (**Figure 13**)

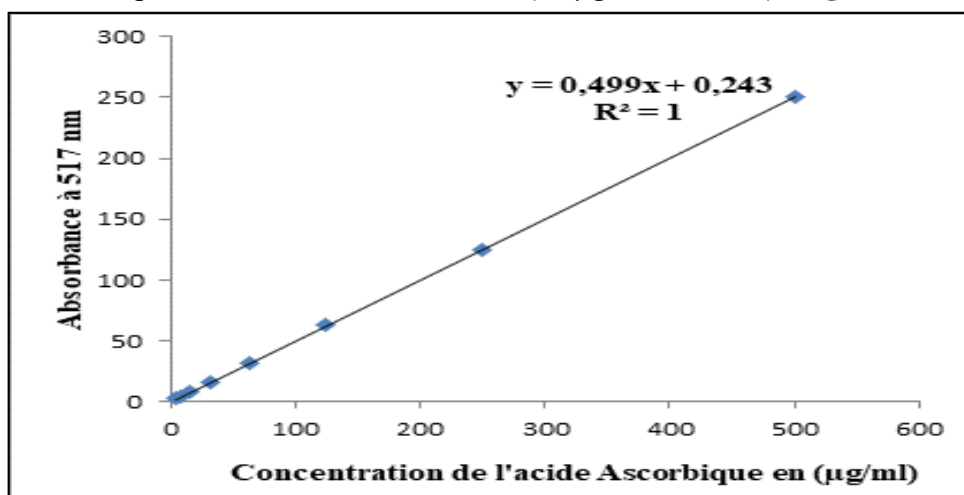


Figure 13. Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydant réalisée à l'aide d'acide Ascorbique

2.5. L'analyse statistique

Les données ont été traitées à l'aide du logiciel (SPSS. 25), les cytotoxiques et génotoxiques ont été obtenus à partir de trois répétitions, les résultats ont été exprimés sous la forme de la moyenne \pm l'écart-type (SD). Une analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivie du test de comparaison multiple de Dunnett a été utilisée pour comparer les moyennes à $p \leq 0.05$.

Résultat et discussion

1. Résultats

1.1. Évaluation de l'activité cytotoxique

1.1.1. Etude de la taille racinaire

La figure ci-dessous illustre l'effet de différentes concentrations de l'extrait d'*Urtica urens* (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml et 4 mg/ml) sur la germination et l'élongation racinaire des graines d'*Allium cepa* sur une période de 168 heures, avec des mesures prises toutes les 24 heures. Les résultats montrent que, dans le groupe témoin, l'élongation racinaire progresse de manière régulière, atteignant environ 9.26 mm à 168 heures. En revanche, les traitements avec les différentes concentrations de l'extrait hydroalcoolique montrent une diminution de l'élongation racinaire par rapport au contrôle. Les concentrations de 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml et 1 mg/ml n'ont pas montré d'effet inhibiteur sur la germination des graines d'*Allium cepa* durant les premiers 96 heures de traitement. Cependant, à partir de 120 heures de traitement, une réduction de l'élongation racinaire devient notable. En effet, après 168 heures de traitement, la taille racinaire est d'environ 6 mm à 0.25 mg/ml, 4.15 mm à 0.5 mg/ml et 5.5 mm à 1 mg/ml. Aux concentrations plus élevées de 2 mg/ml et 4 mg/ml, une inhibition de l'élongation racinaire est observée dès 72 heures de traitement. Cette inhibition devient significative (* $p < 0.05$) après 144 heures et 168 heures de traitement, avec des tailles respectives de 1.64 mm, 2.75 mm, et 2.5 mm, 4.3 mm, comparativement à 5.36 mm et 9.26 mm pour le contrôle. Ces deux concentrations (2 mg/ml et 4 mg/ml) sont considérées comme cytotoxiques, car elles ont inhibé la croissance racinaire et ont entraîné une taille inférieure de plus de 50 % à celle du contrôle.

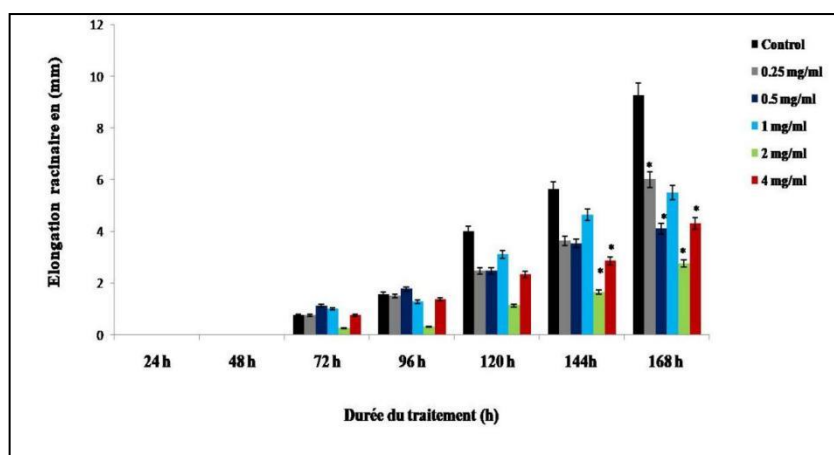


Figure 14. Variation de la longueur racinaire en fonction des concentrations de l'extrait de l'*Urtica urens* après 7 jours de traitement (* $p < 0.05$).

1.1.2. Etude de l'indice mitotique (IM)

Les résultats de l'indice mitotique (% de division) des cellules méristématiques d'*Allium cepa* après traitement avec diverses concentrations de l'extrait hydroalcoolique d'*Urtica urens*, seul et en combinaison avec du H₂O₂ sont présentés dans la figure 15. Le groupe témoin montre un indice mitotique élevé, atteignant environ 8 %, ce qui indique une division cellulaire active sous des conditions normales. En contraste, le traitement avec H₂O₂ 6 à % réduit fortement l'indice mitotique à environ 0.7 %, révélant une forte cytotoxicité (### p<0.001 par rapport au contrôle). Lorsque les cellules sont traitées avec l'extrait d'*Urtica urens* seul, aux concentrations de 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml et 1 mg/ml, les indices mitotiques observés sont respectivement de 4 %, 7.3 %, et 5.4 %, montrant que ces concentrations n'ont pas d'effet inhibiteur significatif par rapport au contrôle. En revanche, les traitements combinés de l'extrait avec H₂O₂ montrent une réduction de l'indice mitotique par rapport au groupe témoin, mais une augmentation par rapport au contrôle positif (H₂O₂). À 0.25 mg/ml+H₂O₂ et 0.5 mg/ml+H₂O₂, les indices mitotiques sont respectivement de 2.8 % et 3 %, révélant une légère augmentation de la division cellulaire mitotique par rapport au contrôle positif. Pour la concentration de 1 mg/ml + H₂O₂, l'indice mitotique atteint 5.4 %, ce qui représente une augmentation considérable de l'activité mitotique. Ces résultats indiquent que l'extrait d'*Urtica urens* a un effet cytotoxique faible sur les cellules méristématiques d'*Allium cepa*, à l'inverse l'extrait d'*Urtica urens* favorise l'activité mitotique en atténuant la toxicité du peroxyde d'hydrogène.

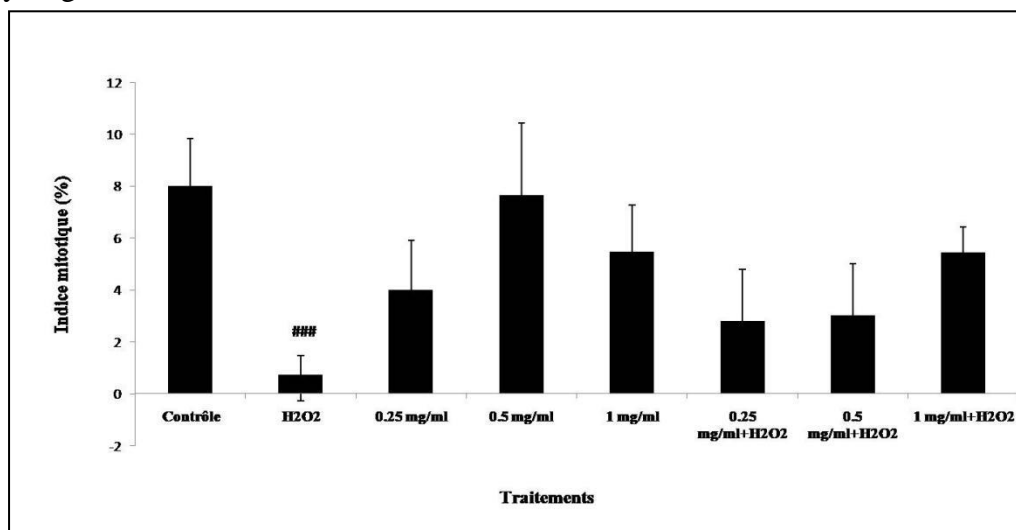


Figure 15. Indice mitotique pour les cinq concentrations de l'extrait de *Urtica urens* (###p<0.001).

1.1.3. L'indice de phase

Le tableau ci-dessous présente l'effet de l'extrait aqueux d'*Urtica urens* sur la fréquence des différentes phases de la division mitotique chez les cellules de *Allium cepa*, à différentes concentrations, tant sans H₂O₂ qu'avec H₂O₂ à 6%. Les concentrations testées sont de 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, ainsi que des combinaisons avec H₂O₂ (0.25+H₂O₂ mg/ml, 0.5+H₂O₂ mg/ml, 1+H₂O₂ mg/ml, H₂O₂ à 6%). Les résultats indiquent que l'interphase prédomine dans tous les groupes, y compris le groupe contrôle. Il est important de noter que l'interphase ne représente pas une phase active de division, mais plutôt une phase de repos entre les divisions cellulaires. Quant aux phases de division mitotique, les données révèlent que dans le groupe contrôle, l'anaphase est la phase la plus fréquente, suivie de la métaphase, de la télophase et enfin de la prophase. En revanche, chez les groupes traités avec les différentes concentrations de l'extrait seul (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml), la prophase devient la phase la plus fréquente, suivie de la métaphase, de l'anaphase et enfin de la télophase. Lorsque l'extrait d'*Urtica urens* est combiné avec H₂O₂, toutes les phases de la division cellulaire montrent une diminution significative de leur fréquence, devenant très faibles. Cependant, la séquence des phases reste la même : prophase, métaphase, anaphase et enfin télophase. L'extrait d'*Urtica urens* semble influencer la fréquence des phases de division cellulaire chez *Allium cepa*, avec des variations observées selon les concentrations et la présence de H₂O₂.

Tableau 4 : Effet de l'extrait de *Urtica urens* sur la division mitotique de *Allium cepa* (###p<0.001).

Concentrations	Interphase	Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase	IM
Contrôle	92.1± 1.946	1.333± 0.251	2.5± 0.755	2.033± 0.231	2.033± 1.021	8± 1.84
H ₂ O ₂ 6%	98.933± 1.007	0.266± 0.306 ###	0.233± 0.404 ###	0.166± 0.288###	0.066± 0.115 ###	0.73± 1.1###
0.25 mg/ml	94.833± 0.461	1.8± 0.985	1.233± 0.611	1.333± 0.850	0.8± 0.360	4± 1.56
0.5 mg/ml	92.366± 1.501	2.066± 0.757	2.466± 0.737	1.733± 0.602	1.1± 0.818	7.36± 1.93
1 mg/ml	95.8± 3.041	1.433± 1.115	1.066± 0.568	0.833± 0.757	0.666± 0.416	5.46± 2.83
0.25 mg/ml+ H ₂ O ₂	97.266± 1.755	0.766± 0.251	0.733±0.472	0.633± 0.665	0.6± 0.519	2.8± 1.81
0.5 mg/ml+ H ₂ O ₂	97.1±2.206	0.633±0.288	1.066±1.096	0.633±0.665	0.566±0.513	3±2.21
1 mg/ml+ H ₂ O ₂	94.566± 2.145	1.733± 1.101	1.933± 0.230	0.933± 0.416	0.833± 0.404	5.43± 2.15

1.2. Evaluation de l'activité génotoxique

1.2.1. Etude de l'indice d'aberration chromosomiques (IA)

La figure illustre l'indice d'aberrations chromosomiques (%) chez les cellules d'*Allium cepa* après un traitement de 24 heures des racines avec différentes concentrations d'extrait d'*Urtica urens*, seul et en combinaison avec H₂O₂. Le groupe contrôle montre un indice d'environ 4%, tandis que l'application de H₂O₂ à 6% réduit cet indice de façon significative à environ 0.4%, en grande partie en raison d'une diminution marquée de la division cellulaire, comme en témoigne un indice mitotique (IM) très faible de 0.7%.

Les traitements avec 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml et 0.1 mg/ml d'extrait d'*Urtica urens* seuls présentent des indices d'aberrations de 3%, 5% et 2.5% respectivement, ce qui est proche de celui du contrôle. En combinaison avec H₂O₂, les concentrations de 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml et 1 mg/ml d'extrait montrent des indices d'aberrations de 2%, 3% et 4% respectivement, des valeurs proches les unes des autres et du contrôle négatif. Cependant, ces valeurs sont légèrement supérieures à celles observées avec H₂O₂ seul, ce qui suggère que l'extrait d'*Urtica urens*, à différentes concentrations, stimule la prolifération cellulaire chez l'*Allium cepa*, déjà freinée par H₂O₂. Et que cette stimulation a été accompagnée par la présence des aberrations chromosomique.

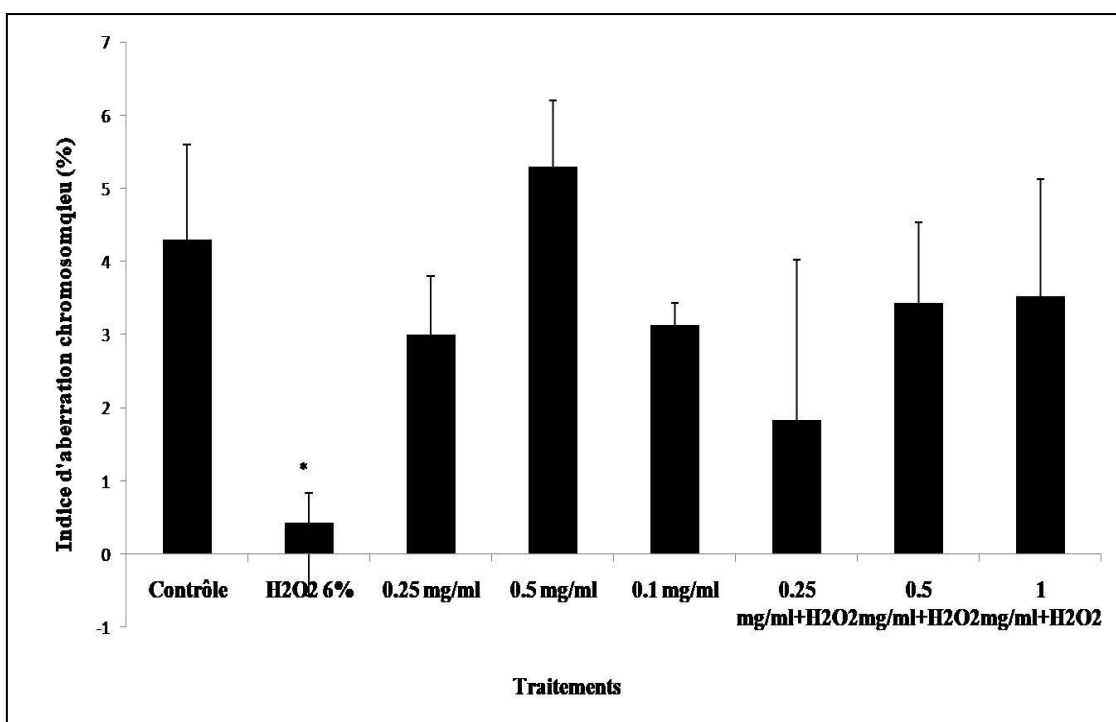


Figure 16. Variation de l'indice d'aberration chromosomique selon les concentrations de l'extrait d'*Urtica urens*

1.2.2. Les type d'aberrations reconnues

L'analyse cytogénétique des racines d'*Allium cepa* traitées avec différentes concentrations d'extrait d'*Urtica urens*, avec ou sans H₂O₂, révèle la présence de divers types d'aberrations chromosomiques. Parmi ces aberrations, on retrouve la C-mitose, les micronoyaux, les ponts chromosomiques, les multipolaires, l'adhérence (Stickness), les noyaux allongés, la fragmentation et les chromosomes vagabonds. La fréquence de ces aberrations varie selon la concentration, mais généralement, l'adhérence, les chromosomes vagabonds et la multipolarité sont les plus fréquents. Le contrôle négatif montre une fréquence élevée d'adhérence chromosomique, tandis que les micronoyaux sont plus fréquents en présence de H₂O₂. Les concentrations d'extrait d'*Urtica urens* de 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml et 1 mg/ml entraînent une augmentation de la fréquence de l'adhérence chromosomique, suivie par les chromosomes vagabonds et la multipolarité. En présence de H₂O₂, les effets varient, mais en général, les concentrations d'extrait semblent influencer la fréquence et le type d'aberrations chromosomiques, suggérant un potentiel modulateur de l'extrait sur les dommages induits par le peroxyde.

Tableau 5 : Effet de l'extrait de *Urtica urens* sur la fréquence et le type d'aberrations chromosomiques chez les cellules de l'*Allium cepa* (*p<0.001).

Concentration	C-Mitose	Micro-noyau	Pont ch	Multi - polaire	Adhérence	Noyau Allongé	Fragmentation	Ch. Vagabond	IA
Contrôle	0.066±0.058	0.033±0.0578	0.566±0.115	1.566±0.288	1.7±1.3	0±0	0.8±0.360	0.466±0.351	4.3±0.95
H ₂ O ₂ 6%	0±0**	0.1±0.173**	0.033±0.057**	0.066±0.115**	0.033±0.057**	0.133±0.230**	0.066±0.115**	0±0**	0.43±0.51*
0.25 mg/ml	0.166±0.152	0±0	1.166±0.115	0.666±0.723	0.5±0.458	0.333±0.305	0.133±0.057	0.933±1.531	3±2.43
0.5 mg/ml	0.166±0.057	0.1±0.173	0.633±0.850	1.466±0.832	1.4±0.655	0.2±0.2	0.5±0.529	0.833±0.404	5.3±2.33
1 mg/ml	0.066±0.115	0.066±0.115	0.1±0.1	0.7±0.608	0.566±0.737	0.366±0.057	0.6±0.721	0.666±0.808	3.13±3.1
0.25 mg/ml	0.066±0.0577	0.1±0.1	0.3±0.2	0.5±0.472	0.566±0.472	0±0	0.066±0.115	0.233±0.152	1.83±1.5
0.5 mg/ml	0.133±0.115	0.1±0.173	0.466±0.461	0.566±0.472	1.1±0.624	0.166±0.635	0.366±0.230	0.333±0.404	3.43±2.32
1 mg/ml	0.066±0.057	0.066±0.057	0.466±0.378	0.333±0.057	1.3±0.7	0±0	0.666±0.723	0.633±0.251	3.53±1.5

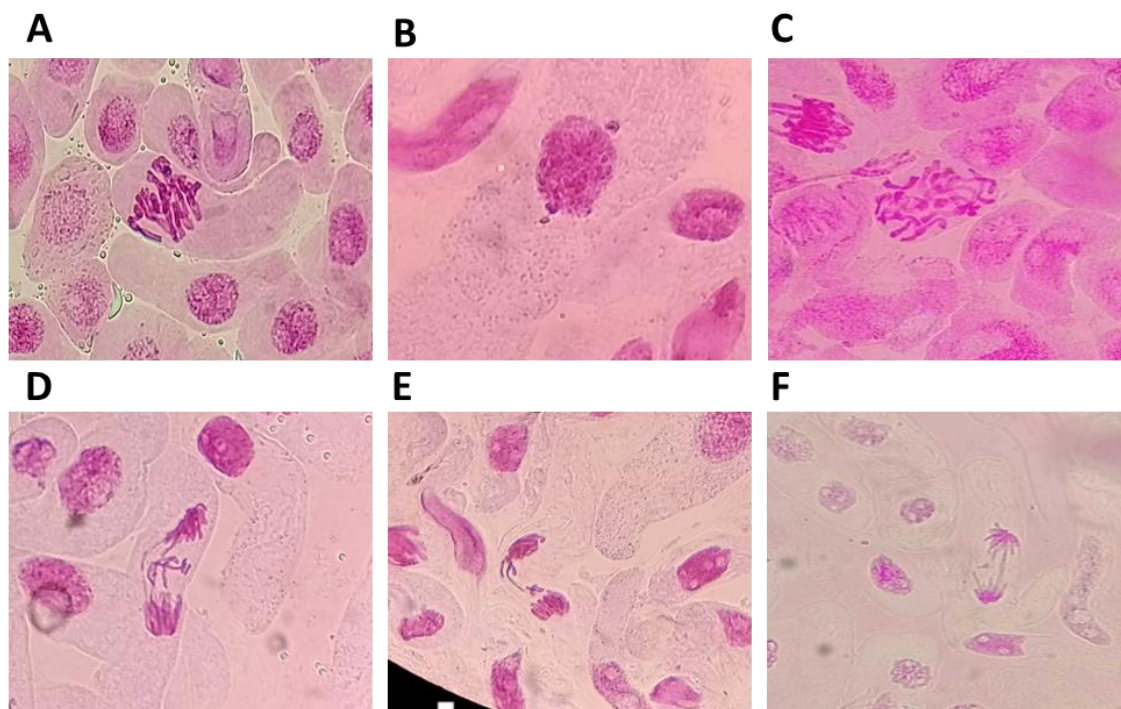


Figure 17. Les aberrations chromosomiques induites par les différentes concentrations de l'extrait hydroalcoolique de *Urtica urens*. **A** : adhésion chromosomique (Stickness, **B** : micronoyaux, **C** : c-mitose, **D** : anaphase (pont chromosomique). **E** : fragmentation (chromosome vagabond, **F**, télophase (pont chromosomique)

1.3. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes

Le but de l'analyse photochimique réalisée est de mettre en évidence la présence ou l'absence de différents composés tels que les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins. Après avoir effectué l'analyse sur l'extrait *d'urtica urens*, il a été remarqué la présence d'une quantité faible de polyphénols, évaluée à 18.33 mg dans 1g, ainsi que d'une faible quantité de flavonoïdes, évaluée à environ 10.33 mg dans 1g. Quant au tanins l'analyse phytochimique a révélé l'absence totale de tanins dans l'extrait.

Tableau 6. Criblage des dosages des polyphénols, flavonoïdes et des tanins de l'extrait de l'*Urtica urens*

	Polyphénols totaux mg GAE/g	Flavonoïdes totaux mg Q/g	Tanins totaux mg CAT/g
<i>Urtica urens</i>	18.33±4.51	10.33±3.05	0±0

1.4.L'activité antioxydant

Cette étude vise à montrer l'activité antioxydante de l'extrait *Urtica urens*. Les résultats obtenus, qui indiquent les valeurs d'IC₅₀ obtenues par le test DPPH, montrent que l'activité antioxydant est complètement nulle. La valeur de IC₅₀ de l'extrait méthanolique d'*Urtica urens* = 0 µg/ml, l'expérience a été reproduit 3 fois.

Tableau 7. Criblage de L'activité antioxydant de l'extrait de *Urtica urens*.

	IC₅₀ (µg/ml)	EC₅₀	APR
<i>Urtica urens</i>	0±0	0±0	0±0
Acide Ascorbique	2± 0.01	0.0005	2000

2. Discussion

Dans cette étude, les effets cytotoxiques de l'extrait de feuilles d'*Urtica urens* ont été évalués en analysant la croissance des racines. Les concentrations les plus élevées d'*Urtica urens* ont provoqué une inhibition significative de la croissance des racines par rapport aux groupes témoins. La cytotoxicité et la génotoxicité ont été estimées en observant des paramètres cytologiques tels que l'index mitotique (IM) et la fréquence des différents types d'anomalies chromosomiques.

L'IM des cellules méristématiques d'*A. cepa* traitées avec H₂O₂ a diminué de manière significative (0.7 % par rapport au témoin négatif). Une réduction de la division cellulaire a été observée chez les cellules d'*A. cepa* après traitement avec les différentes concentrations de l'extrait d'*Urtica urens*. Cependant, cette diminution a été faible et non significative par rapport à celle du contrôle. Une corrélation positive a été trouvée entre l'inhibition de la croissance des racines et la diminution de l'IM, notamment à la concentration de 1 mg/ml ; cependant, ces effets ne sont pas significatifs. La diminution de l'IM en dessous de 20 % par rapport au témoin négatif peut avoir un impact létal sur l'organisme, tandis qu'une diminution en dessous de 50 % a généralement des effets sublétaux et est appelée valeur limite cytotoxique. Pour le groupe contrôle positif (H₂O₂), la diminution de l'IM était presque de 100 % par rapport à celle du contrôle négatif, ce qui suggère une toxicité sévère.

L'IM mesure la proportion de cellules en phase M du cycle cellulaire, et son inhibition peut être interprétée comme une mort cellulaire ou un retard dans la cinétique de prolifération cellulaire. La réduction de l'activité mitotique pourrait être due à une inhibition de la synthèse de l'ADN ou à un blocage en phase G₂ du cycle cellulaire, empêchant la cellule d'entrer en mitose (Celik et Aslanturk, 2010). Les effets mitodépressifs de certains extraits de plantes, y compris leur capacité à bloquer la synthèse de l'ADN et des protéines nucléaires, ont été rapportés auparavant (Celik et Aslanturk, 2010). Plusieurs autres extraits de plantes ont été signalés pour inhiber la mitose.

La diminution de l'IM dans les racines d'*A. cepa* traitées avec les extraits de feuilles d'*Urtica urens* est probablement due à des perturbations du cycle cellulaire ou à une dysfonction de la chromatine induite par un facteur externe, dans ce cas, les interactions entre l'extrait testé et l'ADN. Les résultats suggèrent que les concentrations testées des extraits de feuilles d'*Urtica urens* ont des effets mitodépressifs sur la division cellulaire d'*A. cepa*, pouvant empêcher la synthèse de l'ADN et réduire le nombre de cellules en

division dans les racines en raison des effets cytotoxiques de certaines métabolites secondaires présents dans les extraits de feuilles d'*Urtica urens*. Bien que les effets mitodépressifs aient été trouvés non significatifs, cela pourrait être attribué à la nature ou aux concentrations des métabolites secondaires présents dans l'extrait d'*Urtica urens*.

Par ailleurs, il a été observé que le traitement des cellules d'*A. cepa* avec différentes concentrations de l'extrait d'*Urtica urens* en présence de H₂O₂ a légèrement stimulé la division cellulaire. Bien que cette stimulation ne soit pas significative, l'indice mitotique a augmenté par rapport à celui marqué à 0.7 %. Ces observations pourraient s'interpréter par une possible interaction entre l'extrait d'*Urtica urens* et le peroxyde d'hydrogène. L'extrait seul semble inhiber légèrement l'IM, mais en présence de H₂O₂, il pourrait jouer un rôle protecteur ou antioxydant, neutralisant partiellement les effets toxiques du peroxyde d'hydrogène et stimulant ainsi la division cellulaire. Cela suggère que certains métabolites secondaires de l'extrait pourraient moduler la réponse cellulaire au stress oxydatif induit par H₂O₂.

L'extrait de feuilles d'*Urtica urens* n'a pas vraiment montré d'effets génotoxiques dans les cellules du méristème racinaire de l'*Allium cepa*, à l'inverse, le taux d'aberrations chromosomiques était même plus faible que celui du contrôle négatif aux concentrations de 0.25 mg/ml et 1 mg/ml. Cependant, à la concentration de 0.5 mg/ml, une légère augmentation de l'indice d'aberrations chromosomiques a été notée ($p > 0.05$). En ce qui concerne le contrôle positif, la diminution de l'indice d'aberrations chromosomiques est significative ($p < 0.05$) par rapport à celle du groupe contrôle, ce qui est probablement lié à la diminution significative de l'indice mitotique chez le même groupe.

L'analyse cytogénétique des cellules d'*Allium cepa* traitées avec les différentes concentrations de l'extrait d'*Urtica urens*, avec et sans H₂O₂, a montré la présence de différents types d'aberrations chromosomiques. Les aberrations chromosomiques (CA) sont des modifications de la structure des chromosomes résultant d'une cassure ou d'un échange de matériel chromosomique. La plupart des aberrations chromosomiques observées dans les cellules sont létales, mais il existe de nombreuses aberrations viables pouvant causer des effets génétiques, soit somatiques soit héréditaires (Celik et Aslanturk, 2010).

Dans notre cas, l'adhérence chromosomique, le pont chromosomique et le chromosome vagabond sont les plus fréquemment rencontrés. L'adhérence chromosomique survient lorsque les chromosomes perdent leur apparence normale et présentent une surface collante, entraînant une agglomération des chromosomes (Kurás, 2004). L'adhérence

chromosomique a été attribuée à l'effet des polluants et des composés chimiques sur les propriétés physico-chimiques de l'ADN, des protéines, ou des deux, sur la formation de complexes avec les groupes phosphates dans l'ADN, sur la condensation de l'ADN ou sur la formation de liens croisés inter- et intrachromatidiens (Kurás, 2004).

L'adhérence conduit également à la formation de ponts collants en anaphase et télophase, empêchant ainsi la cytokinèse normale. Les chromosomes collants indiquent la présence de substances qui affectent l'organisation de la chromatine. Cet effet est lié à un déséquilibre dans la quantité d'histones ou d'autres protéines responsables du contrôle de la structure correcte de la chromatine nucléaire (Kurás, 2004).

L'adhérence est considérée comme un signe commun des effets toxiques sur les chromosomes, probablement conduisant à la mort cellulaire (Fiskesjö, 1997).

Les ponts chromosomiques, un deuxième type fréquent dans notre étude, résultent de cassures chromosomiques et/ou chromatidiennes, indiquant un effet clastogène, tandis que les chromosomes vagabonds augmentent le risque d'aneuploïdie (Leme et Marin-Morales, 2009).

CONCLUSION

Conclusion

En conclusion, cette étude est la première à évaluer l'activité cytotoxique, génotoxique et antigénotoxique de l'extrait brut hydro-méthanolique d'*Urtica urens* contre le H₂O₂ en utilisant le test d'*Allium cepa*. L'extrait hydro-méthanolique d'*Urtica urens*, couramment utilisé en médecine traditionnelle, a montré des effets cytotoxiques clairs à des concentrations de 2 mg/ml et 4 mg/ml, se manifestant par une inhibition de la croissance des racines.

En revanche, les concentrations inférieures de 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml et 1 mg/ml n'ont pas montré d'effets cytotoxiques ni génotoxiques significatifs. Cependant, la concentration de 1 mg/ml a démontré un effet anti-génotoxique remarquable, se manifestant par une stimulation de la division cellulaire et une atténuation du blocage à l'interphase induit par le peroxyde d'hydrogène.

Bien que l'extrait n'ait pas montré une teneur importante en polyphénols, flavonoïdes, tanins, ni une activité antioxydante notable, il semble que l'extrait peut avoir un effet anti-génotoxique important à des concentrations élevées. Cet effet pourrait être lié à la présence d'autres composés chimiques ou métabolites secondaires dans l'extrait, en dehors des polyphénols et flavonoïdes.

Il est cependant crucial de souligner la nécessité d'études supplémentaires pour identifier la nature des substances bioactives présentes dans l'extrait, responsables des effets anti-génotoxiques observés. Ces recherches futures permettront d'élucider les mécanismes sous-jacents et de confirmer le potentiel de *l'Urtica urens* comme agent naturel pour atténuer la génotoxicité.

Résumé

Urtica urens est une plante médicinale appartenant à la famille des Urticacées, largement utilisée dans le traitement de diverses affections. Dans cette étude, l'extrait hydro-méthanolique des feuilles a été examiné pour ses propriétés phytochimiques, pour cela nous avons visé sa teneur totale en polyphénols, en flavonoïdes, en tanins ainsi que son activité de piégeage des radicaux libres DPPH. Les propriétés génotoxiques et géno-protectrices contre le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) dans les cellules racinaires d'*Allium cepa* ont été également évaluées. Pour évaluer la cytotoxicité de l'extrait, différentes concentrations (0.25, 0.5, 1, 2 et 4 mg/ml) ont été testées, puis identifiées par le test de l'élongation racinaire. L'effet anti-génotoxique de l'extrait d'*Urtica urens* a été investigué en traitant des bulbes d'oignon *A. cepa* pendant 24h avec diverses concentrations (0.25, 0.5, 1 mg/ml) de l'extrait, avec ou sans prétraitement au 6% de peroxyde d'hydrogène. Une légère réduction non significative de l'indice mitotique a été observée dans les groupes traités uniquement avec l'extrait d'*Urtica urens* par rapport au témoin négatif, tandis qu'une réduction significative de l'indice mitotique a été enregistrée dans le témoin positif (H_2O_2). Une légère augmentation de l'indice mitotique a été remarquée dans les groupes traités avec la combinaison de l'extrait d'*Urtica urens* et du H_2O_2 , notamment à la concentration de 1 mg/ml. Les concentrations testées de l'extrait n'ont pas entraîné une augmentation significative du taux d'aberrations chromosomiques, qui est resté proche de celui du contrôle négatif. Cependant, des aberrations chromosomiques telles que des adhérences, des ponts chromosomiques et des chromosomes vagabonds ont été observées après traitement avec différentes concentrations de l'extrait, bien que leur fréquence reste faible. Ces observations suggèrent que l'extrait aqueux des feuilles d'*Urtica urens* possède des effets anti-mitotiques à des concentrations élevées. Par conséquent, l'effet toxique induit par le stress oxydatif dû au H_2O_2 est efficacement atténué dans les cellules du méristème des racines d'*A. cepa* traitées avec cet extrait. L'analyse phytochimique de l'extrait a montré que la teneur totale en polyphénols (méthode de Folin-Ciocalteu) est 18.33 mg EAG/g. La teneur totale en flavonoïdes est 10.33 mg EQ/g. La teneur en tanins 0 mg CAT/g, l'activité antioxydant s'est avérée nulle.

Mots-clés : *Urtica urens*, *Allium cepa*, cytotoxicité, génotoxicité, phytochimique.

Abstract

Urtica urens is a medicinal plant belonging to the Urticaceae family, widely used in the treatment of various ailments. In this study, the hydro-methanolic extract of its leaves was examined for its phytochemical properties. We aimed to determine its total content of polyphenols, flavonoids, tannins, as well as its DPPH free radical scavenging activity. Genotoxic and genoprotective properties against hydrogen peroxide (H_2O_2) in *Allium cepa* root cells were also evaluated. To assess the extract's cytotoxicity, various concentrations (0.25, 0.5, 1, 2, and 4 mg/ml) were tested and identified using the root elongation test. The anti-genotoxic effect of *Urtica urens* extract was investigated by treating *A. cepa* onion bulbs for 24 h with various concentrations (0.25, 0.5 and 1 mg/ml) of the extract, with or without pre-treatment with 6% hydrogen peroxide. A slight, non-significant reduction in the mitotic index was observed in groups treated only with *Urtica urens* extract compared to the negative control, while a significant reduction in the mitotic index was recorded in the positive control (H_2O_2). A slight increase in the mitotic index was noticed in groups treated with the combination of *Urtica urens* extract and H_2O_2 , especially at a concentration of 1 mg/ml. The tested concentrations of the extract did not lead to a significant increase in the rate of chromosomal aberrations, which remained close to that of the negative control. However, chromosomal aberrations such as adhesions, chromosomal bridges, and lagging chromosomes were observed after treatment with different concentrations of the extract, although their frequency remained low. These observations suggest that the aqueous extract of *Urtica urens* leaves has anti-mitotic effects at high concentrations. Therefore, the toxic effect induced by oxidative stress due to H_2O_2 is effectively mitigated in *A. cepa* root meristem cells treated with this extract. Phytochemical analysis of the extract showed that the total polyphenol content (Folin-Ciocalteu method) is 18.33 mg GAE/g. The total flavonoid content is 10.33 mg EQ/g. The tannin content is 0 mg CAT/g, and the antioxidant activity was found to be nil.

Keywords: *Urtica urens*, *Allium cepa*, cytotoxicity, genotoxicity, phytochemical.

ملخص

Urtica urens هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة القرصيات، واسع الاستخدام في علاج مختلف الأمراض. في هذه الدراسة، تم فحص hydro-méthanolique الاستخراج لأوراقه لخصائصه الفيتوكيميائية، حيث استهدفنا محتواه الكلي من البوليفينولات والفلافونويدات والتانينات، بالإضافة إلى نشاطه في امتصاص الجذور الحرة DPPH كما تم تقييم الخصائص الجينوتوكسية والجينوحافظة ضد بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) في خلايا جذور *Allium cepa*. ولتقييم سمية الاستخراج، تم اختبار تراكيز مختلفة (0.25، 0.5، 1، 2، 4 ملغ/مل)، ثم تم التعرف عليها باختبار التمدد الجذري. تم دراسة التأثير المضاد للجينوتوكسين لاستخراج *Urtica urens* من خلال معالجة بصل *Allium cepa* لمدة 24 ساعة بتراكيز مختلفة (0.25، 0.5، 1 ملغ/مل) من الاستخراج، مع أو بدون معالجة مسبقة بـ 6% من بيروكسيد الهيدروجين. لوحظ انخفاض طفيف غير معنوي في مؤشر التقسيم في المجموعات التي تم معالجتها فقط بمستخلص *Urtica urens* مقارنة بالضابط السلبي، بينما سُجل انخفاض معنوي في مؤشر التقسيم في الضابط الإيجابي (H_2O_2). لاحظ ارتفاع طفيف في مؤشر التقسيم في المجموعات التي تم معالجتها بتركيبية من استخراج *Urtica urens* و H_2O_2 ، خاصة عند تركيز 1 ملغ/مل. لم تؤدي التراكيز المختبرة من الاستخراج إلى زيادة معنوية في معدل الانحرافات الصبغية، الذي بقي قريباً من ذلك في الضابط السلبي. ومع ذلك، لوحظت انحرافات صبغية مثل الالتصاقات والجسور الصبغية والصبغيات الطافية بعد المعالجة بتراكيز مختلفة من الاستخراج، على الرغم من أن ترددها ظل منخفضاً. تشير هذه الملاحظات إلى أن الاستخراج المائي لأوراق *Urtica urens* يمتلك تأثيراً مضاداً للانقسام عند تراكيز عالية. وبالتالي، يتم تخفيف التأثير السام الناتج عن الإجهاد التأكسدي بسبب H_2O_2 بشكل فعال في خلايا الأنسجة الجذرية لـ *A. cepa* المعالجة بهذا الاستخراج. أظهر التحليل الفيتوكيميائي للاستخراج أن المحتوى الكلي للبوليفينولات) باستخدام طريقة (Folin-Ciocalteu هو 18.33 ملغ/ع. غ. وأظهر المحتوى الكلي للفلافونويدات أنه 10.33 ملغ/ع. غ. بينما كان محتوى التانينات 0 ملغ/ع. غ. وأظهرت النشاط المضاد للأكسدة أنه غير موجود.

الكلمات الدالة: *Allium cepa*, *Urtica urens*، السمية الخلوية، السمية الجينية، الكيمياء النباتية.

Références bibliographiques

- Abderrazak M. et Joël R. 2007. la botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. P 177
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants : APG III. Botanical Journal of the Linnean Society.
- Augry F, Ravaud P, Lopez I, Letellier D, Iltis A, Bouscary D et Hazebroucq G. 1998. Erreurs de prescription des médicaments cytotoxiques : étude prospective de 5 000 ordonnances. Journal de Pharmacie Clinique.17 1 : 20-4.
- Baba Aïssa F. 1999. Encyclopédie des plantes utilisées. Flore d'Algérie et du Maghreb – Substance végétale, Edition Librairie Moderne, Rouïba. P 145.
- Benhacine Louiza et Sahil Nassima. 2016. Etude de la génotoxicité des extraits de Pistacia lentiscus par le test d'Ames, Génétique Appliquée, Université A. MIRA – Bejaia. P 46.
- Beloued A. 1998. Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires Alger. P 277.
- Bertrand B. 2010. Les secrets de l'Ortie. De Terran. Vol. 1. Le compagnon végétal.
- Bézanger-Beauquesne L, Pinkas M, Torck M et Trotin F. 1996. Plantes médicinales des régions tempérées. Maloine
- Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A, Ziyat A. 2002. Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. Int J Diabetes Metab 10:33-50
- Boubdelli SE. 2020. Screening phytochimique , analyse chromatographie etActivité Anti-oxydante de l'Ortie (*Urtica dioica* L). Memoire, P 20.
- Boumediou A et Addoun S. 2017. Etude ethnobotanique sur l'usage Des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen. P 67.
- Bouzid A, Chadli R, Bouzid K. 2016. Étude ethnobotanique de la plante médicinale Arbutus unedo L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. Phytothérapie. 15 6 : 373-378.
- Botineau M. 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC (Travail Encadré Collectif) and DOC (Document d'Observation et de Compte-Rendu) Lavoisier. Paris.
- Brisse H, Grandjouan G, Hoff M, De Ruffray P et Garbolino E. 2003. Répartition.

- Bruce A. 1999. L'essentiel de la biologie moléculaire de la cellule ». Paris Flammarion.
- Cachot J et Dégremont C. 2009. Quel risque pour les espèces aquatiques ? 38.
- Campbell NA. 1995, Biologie. De Boeck, wesmeal,s,a; Bruxelles. Cancérogène génotoxique ou épigénique ? Recherche des effets génotoxiques par la technique de post-marquage de l'ADN en relation avec la métabolisation de l'ochratoxine A. P32.
- CD Universalis 6. 2000.
- Celik TA et Aslanturk OS. 2010. Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of *Inula viscosa* Leaf Extracts with *Allium* Test. Journal of Biomédecine and Biotechnology. 1-10.
- Chevallier A. 2013. Le Spécialiste : Les plantes médicinales. Gründ. Le spécialiste
- Cstroua, Handa SS, Khanuja SPS, Longo G et Rakesh DD. 2008. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. Earth, Environmental and Marine Sciences and Technologies. P 259
- Coupla F. 2008. « Remèdes et recettes à l'ortie : Les bonnes plantes de nos grands-mères ». Editeur : Rustica. P 5-10.
- Cudazzo G, Smart DJ, McHugh D et Vanscheeuwijck P. 2019. Lysosomotropic-related limitations of the BALB/c 3T3 cell-based neutral red uptake assay and an alternative testing approach for assessing e-liquid cytotoxicity. Toxicology in Vitro 61, 104647. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.104647> .
- Daher CF, Karmen G Baroody, et GM Baroody. 2006. « Effect of *Urtica Dioica* Extract Intake upon Blood Lipid Profile in the Rats ». Fitoterapia 77 : 18388.
- Daoudi A, Benboubker H, Bousta D et Aarab L. 2008. Screening of fourteen Moroccan medicinal plants for immunomodulating activities. Moroccan J Biol 4-5 /24-30.
- Dausset J. 1976. Le complexe HLA. Les associations entre HLA et maladies. Nouv. Presse Méd. 5 : 1477-1482.
- Delahaye J. 2015. « Utilisations de l'ortie *Urticadioica* L » Thèse de Doctorat En pharmacie. Université de Rouen. P 227.
- Dégremont C et Cachot J. 2009. La Génotoxicité, quel risque pour les espèces aquatiques. Fascicules Seine-Aval.
- Djemai et zaghlech S. 2008. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de

Zizyphus lotus L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna

- Dupont F, Guignard JL et Pelt JM. 2012. Botanique les familles de plantes. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson.
- Erkekoglu, P et Kocer-Gumusel B. 2014. Genotoxicity of phthalates. Toxicology mechanisms and methods, 24 9 : 616-626.
- Fasla, B. 2009. evaluation du potentiel antimitotique et génotoxique de plantes médicinales et analyse phytochimique. p172.
- Fardel O, Vernhet L et Nouvel V. 2009. Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets. P164.
- Fiskesjö G. 1985. The Allium test as a standard in environmental monitoring. Hereditas . 102 :99-112.
- Fleuret J. 2008. Plantes médicinales : traditions et thérapeutique. Ed, OUEST-FRANC. P 104-105.
- Frély R .2012. « Vertus et secrets de l'ortie ». Editeur : Larousse. P 128.
- Hmamouchi M. 1999. Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Maroc : Imprimerie de Fédala.
- Ghedira K. 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytotherapie 3(4): 162-169.
- Gulcin I, Kufrevioglu OI, Oktay M et Buyukokuroglu ME. 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). J Ethnopharmacol .90 : 205-15.
- Guignard JL. 2000. Les métabolites secondaires. Biochimie Végétal. Dunod, Paris. P 281.
- Kim SI, Kim HJ, Lee HJ, Lee K, Hong D, Lim H, Cho K et Jung N. 2016. Application of a non-hazardous vital dye for cell counting with automated cell counters. Analytical Biochemistry. 492 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.09.010>
- Kurás L. 2004. Characterization of protein–DNA association in vivo by chromatin immunoprecipitation. In : Dickson RC, Mendenhall MD, editors. Signal Transduction Protocols, Methods in Molecular Biology, 284. Totowa: Humana Press Inc. p147–62.
- Lai F, Shen Z, Wen H, Chen J, Zhang X, Lin P , Yin D, Cui H et Chen X. 2017. A Morphological identification cell cytotoxicity assay using cytoplasm localized

- Lints F. 1991, Génétique 3. p 45.
- Lefief-Delcourt A. 2012. « L'ortie, c'est malin : Santé, beauté, jardin, maison, cuisine... toutes les vertus et les conseils pratiques de cette plante magique».Ed LeducS. P 160. P 11-65.
- Leme D et Marin-Morales M A. 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: à review on its application.Mutation Research/Reviews in Mutation Research 682 :71-81
- Lodich, Baltimore, Berk, Zipursky, Matsudaira et Darnell. 1997. Biologie moléculaire de la cellule. P 178-179
- Louise Joly, Jean-Yves G et Projetbleu. 2010. Extrait de Radioprotection en radiodiagnostic. Éd 3, p 64.
- Lusy S, et Golsteyn R. 2014 . Genotoxic anti-cancer agents and their relationship to DNA damage, mitosis, and checkpoint adaptation in proliferating cancer cells. International journal of molecular sciences, 15 3 : 3403-3431.
- Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I et Kirsch-Volders M. 2006. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring.Biochimie.88 :1515–1531 <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.004>
- Maurice N. 1997. De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe Siècle. Éd. Lavoisier. Paris. P 1762.
- Martin F, Legat C, Coutet J, Bracco-Nolin CH, Jacquet M, Woronoff Lems MC et Limat S. 2004. Maîtrise des erreurs de préparation des médicaments anticancéreux en unité centralisée : de l'épidémiologie à l'assurance qualité. Bulletin du cancer. 91 12 : 972-976.
- Meijer L, Jezequel A et Roberge. 2003. Cell Cycle Regulator s as Therapeutic Target. Progress in Cell Cycle Research, Vol 5. Edition"Life in progress" Roscoff (54 chapitres), p 549.
- Mihaljev E, Eivkov-Baloea M, Cupic E et Jakaic S. 2014. Levels of some microelements and essential heavy metals. Acta Pol Pharm.71 :385-91.
- Mghezzi-habellah R, Karoune S, Kechebar M S, et Bounab H. 2016.Etude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de l'Acacia ehrenbergiana dela région de Tindouf.journal Algérien des Régions Arides (JARA) Crstra.34 13:56-81.
- Morgan D. 2010. Cell cycle : principes of Control. De Boeck Supérieur.
- Mostade JP .2015. « L'ortie et ses mille secrets ». Editions : Tylgo. p 15-23.

- Moutsie. 2002. l'ortie : une amie qui vous veut du bien. Utovie éd
- Orsière T, Sari-Minodier I, Decome L, Botta C, Iarmarcovai G et Botta A. 2005. De la génotoxicologie à la biosurveillance 4
- Ortege, EMI. 2004. Tests de genotoxicite: Utilite en medecine du travail Difficultes lors de son application a la surveillance medicale des travailleurs 11.
- Petit JM, Meftah A et Julien R .1997. Biologie cellulaire. P 55-58.
- Pradhan S, Manivannan S et Tamang JP. 2015. Proximité minéral composition et antioxydant propertes de some wild leafy vegetables. J Sci Ind Res.74 :155-9.
- Richter G. 1993. Les composés phénoliques des végétaux. Métabolisme des végétaux : phésiologie et biochimie. Gayon Dunod, paris, pp. 317-339.
- Robert SA, Strombom I, Trentham-Dietz A, Hampton JM, McElroy JA, Newcomb PA et Remington PL. 2004. Socioeconomic risk factors for breast cancer: distinguishing individual- and community- level effects. Epidemiology, 15:442-450
- Roux D et Catier O. 2007. Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Collection du " cahier du préparateur en pharmacie. 141- 146.
- Saks M, Sabita U, Rajendra SV et Raman D .2017. Genotoxicity: Mechanisms, Testing Guidelines and Methods, Glob J Pharmaceu Sci. 15.
- Santos F R. dos Vicari T, Santos SA, Felisbino K, Mattoso N, Sant'Anna-Santos, BF, Cestari MM et Leme DM. 2019. Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles and triggering of defense mechanisms in *Allium cepa*. Genet. Mol. Biol. 42 :425– 435. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2018-0205>.
- soobratte MA, Neergheen VS, Luximon-Ramma A, Aruoma OI et Bahorum T. 2005. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents : Mechanism and action. Mutation Research 579 : 200-213.
- Tabardel, J. 2003. Utilisation de l'ortie (*Urtica dioïca* L) en alimentation animale : étude bibliographique (Doctoral dissertation).
- Tapas AR, Sakarkar DM et Kakde RB. 2008. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 7 3 : 1089-1099.
- Tarantini A. 2009. Modulation de la génotoxicite des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges. Thèse de doctorat, Ecole doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement de Grenoble
- Techer S. 2013. Criblage d'activités biologiques de plantes endémiques ou indigènes de La Réunion - Recherche de molécules antivirales ciblant le virus du chikungunya.

LA REUNION - UFR DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES.

- Tissier Y. 2011. Les vertus de l'Ortie. Tredaniel. Le Courrier du Livre. France
- Tomas D, Pollard-Wiliam C et Earnshow. 2004. Biologie cellulaire. p 721-774.
- Valnet J. 1983. Phytothérapie : se soigner par les plantes. Librairie généralefrançaise
- Vély F, Vivier E. 1996. Mécanismes moléculaires de la cytotoxicité des cellules NK. Med Sci (Paris). 12 : P 458. <https://doi.org/10.4267/10608/764>.
- Wetherilt H. 1992. Evaluation of Urtica species as potential sources of important nutrients. Developments in Food Science. 29 :15-25.
- Zerbo P, Millogo-Rasolodimby J, Nacoulma OG et Van damme P. 2012. Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina Faso : cas des Sanan. p 1-13.