



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahim B.B.A.
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم الطبيعية والحياة
Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

Thème :

**Étude de l'impact de *Costus indien* sur l'activité ovarienne des
Rates wistar**

Présenté par : Hammoudi Nesrine
Benmaiza Nada

Soutenu le : Lundi 19 Septembre 2022 .

Devant le jury :

	Nom, Prénom	Grade	Affiliation
Président :	Mme Boussahel Soulef	MCA	Faculté SNV-STU, Univ. Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	M ^{elle} : Slimani Ourdia	MAA	Faculté SNV-STU, Univ. Bordj Bou Arreridj
Examineur :	Mme Benradia Hamida	MCB	Faculté SNV-STU, Univ. Bordj Bou Arreridj

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements Et Dédicaces

REMERCIEMENTS

*Nous tenons avant tout à exprimer nos reconnaissance à madame **Slimani Ourdia** pour avoir accepté de nos encadrer dans cette étude. Nous la remercies pour son implication, son soutien et ses encouragements tout au long de ce travail.*

*Nous exprimons ensuite nos estime et nos remerciements aux membres de jury madame **Boussahel soulef** et madame **Benradia Hamida**, qui nous fait l'honneur de juger ce travail et de nos faire ainsi bénéficier de leurs compétences et de leurs connaissance.*

Nos sincères remerciements à Mr Mekhoukhe qui nous a aidées et orientées au cour de notre stage

Nous souhaite également remercier très chaleureusement Ben Chabane Hamid et tous les membres du laboratoire anatomopathologie de 'hôpital bouzidi à BBA plus particulièrement Dr taibi sihem.

Dédicace

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

*Je dédie ce mémoire à **Ma mère**, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*A mes cher **frère Amine**, mon adorable **sœur Amel***

*A Hamid et tous mes **camarades plus particulièrement Meriem et Faiza** et à toute personne que j'ai aimée et respectée*

NESRINE

Dédicace

Je dédie ce projet :

A ma chère mère,

A mon cher père,

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir

et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mon frère, CHAKIB

A ma chère petite sœur Dina e

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mon cher binôme, Nesrine pour son entente et sa sympathie.

A tous mes autres ami(e)s,

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

NADA

TABLE DES MATIÈRES

PARTIE BIBLIOGRAPHIE

Résumé		
Liste des figures		
Liste des tableaux		
Listes	des	abréviations
Introduction		3

SYNTHÈSES BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Monographie de *Saussurea costus*

I-1- Classification botanique.....	5
I-2- Description morphologique de la plant.....	6
I-3- Utilisations médicales de <i>Costus indien</i>	9

chapitre II : Généralités sur l'ovaire

II-1 Anatomie de l'ovaire.....	
II-2 Histologie de l'ovaire.....	10
II-3 Histologie du follicule.....	10
II-4 Physiologie de l'ovaire.....	12
Régulation de la fonction ovarienne	13
Régulation de la fonction ovarienne par la prolactine.....	14
Régulation de la fonction ovarienne par les hormones thyroïdiennes.....	16
Action indirecte par le biais de la prolactine	16
II- 5-4-Effet directe des hormones thyroïdiennes.....	16

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Matériels et Méthodes

I-1-Matériels Biologiques	17
I.2.Méthodes.....	20

I-2-1- Préparation de l'Extrait aqueux brute.....	20
I-2-2- Calcul du rendement de l'extraction.....	20
1.2.3. Calcul du taux d'humidité.....	20
I.2.4.Dosage des polyphénols	21
I.2.5.Étude de l'activité anti oxydante <i>in vitro</i> des polyphénols.....	21
I-2-1- Traitements des animaux.....	25
induction de l'hypothyroïdie	25
traitement de l'hypothyroïdie par <i>costus indien</i>	25
I-2-3 Techniques histologiques.....	26
Déshydratation	26
Imprégnation et inclusion à la paraffine.....	26
Enrobage ou confection de blocs.....	27
Réalisation de coupes histologiques	27
Coloration.....	28
II- Résultats et discussions	
Analyse phytochimique quantitative de <i>Costus indien</i>	28
Calcul de rendement d'extraction	28
Détermination de taux de polyphénols	30
Piégeage du radical libre DPPH et détermination de IC50.....	31
Détermination de Taux d'humidité de <i>Saussurea Costus</i>	32
II.2 Résultats du test <i>in vivo</i>	32
II .2.1. Impact de thiocyanate de potassium(KSCN) sur l'histologie des ovaires	33
II.2.2.Impact de <i>costus indien</i> sur l'histologie de l'ovaire	36
Discussions.....	36
CONCLUSION	37
Référence bibliographiques	

Liste des tableaux

Tableau1: Les différents noms du <i>Saussurea Costus</i>	3
Tableau 2 : Montrant l'utilisation ethno médicinales du Costus.....	7
Tableau3 : Méthode d'application traditionnelle du <i>Saussurea costus</i>	8
Tableau4: Les poids des rattus traité et témoins.....	24
Tableau 5 : Les dilutions des extraits	24.
Tableau 6 : L'absorbance de l'extrait et de blanc des polyphénols.....	30

LISTE DES FIGURES

Figure1:Imagephotographiqued'uneplantede <i>Costusindien</i>	4
Figure 2 : champs de <i>costus</i>	4
Figure3: Partie florale du <i>costus</i>	5
Figure4:Racines du <i>costus</i>	6
Figure5: L'appareilgénitalféminin	9
Figure6: Schémad'unecouped'ovaire	11
Figure7:schéma montrant la structure d'un follicule de De-Graaf.....	11
Figure8 :La régulation de l'axe hypothalamo-hypophyse-ovaire	14
Figure9: La poudredecostus indien	19
Figure10: Les racines de <i>costus</i> indien	19
Figure11 :Préparation de l'extrait brut de racine de <i>saussurealappa</i> par Macération.....	20
Figure12 : Protocole de dosage des polyphénols	21
Figure13: La présentation chimique d'essai de piégeage des radicaux DPPH' <i>in vitro</i>	23
Figure14: protocole de la méthode de DPPH.....	25
Figure15: Batterie de coloration.....	28
Figure16 : courbe d'étalonnage de l'Acide gallique	31
Figure17: Pourcentage d'inhibition de l'extrait du <i>costus</i>	32
Figure18 :Taux d'humidité de <i>Costus indien</i>	33

LISTE DES PLANCHES

- Planche I :Photomicrographie de coupes histologiques des ovaires de rates témoins et traitées au KSCN observées sous microscope optique Gx100 (H/E) 33
- Planche II: Photomicrographie de coupes histologiques des ovaires de rates traitées au KSCN er les traitées par l'extrait de *costus indien* observées sous microscope optique Gx100 (H/E) 35
- Planche III: photomicrographie de coupes histologiques des ovaires de rates traitées au KSCN et les traitées par l'extrait de *Costus indien* observées sous microscope optique Gx400 (H/E) 36

Liste des abréviations

ATS: Antithyroïdien de synthèse.

FSH: Follicule Stimulating Hormone.

GH: Growth Hormon.

GLS : Glucosinolates.

GNRH: Gonadotrophine Releasing Hormon.

HT : Hormones Thyroïdiennes.

KSCN: Thiocyanate de Potassium

LH : Luteinizing Hormon.

PE : Perturbateurs endocriniens.

PRL : Prolactin.

T3 : Triiodothyronine.

T4 : Tétraiodothyronine ou thyroxine.

Tg: Thyroglobulin.

TPO: Thyroperoxydase.

TRH : Thyrotrophin Releasing Hormon.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

TSH : Thyroid Stimulating Hormon.

Introduction

La phytothérapie est une ancienne discipline médicale. Cette médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement de nombreuses maladies, continue à être utilisée, et au cours de ces dernières années sa popularité n'a fait qu'augmenter. Les pratiques de la médecine traditionnelle varient grandement d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre. Elles sont influencées par des facteurs connus : la culture, l'histoire, les philosophies personnelles et surtout le coût des médicaments ainsi que leurs effets secondaires qui nuisent à la vie quotidienne des patients. Pour cela, l'homme a tendance à retourner vers la nature pour puiser de sa flore non seulement sa nourriture mais aussi se procurer des remèdes naturels moins offensifs pour sa santé et à moindre coût (**Kuniyal et al., 2019**).

Le système endocrinien regroupe les organes : hypophyse, thyroïde, ovaires, testicules, surrénal... qui sécrètent des hormones : Gonadotrophine Releasing Hormone (GnRH), Follicule Stimulating Hormone (FSH), la thyrotrophine (TSH), ACTH...etc. Ces médiateurs chimiques libérés dans la circulation sanguine, agissent à distance sur les tissus cibles régulant ainsi toutes les fonctions de l'organisme comme la croissance, le métabolisme, le développement sexuel, et la fonction de reproduction... Il s'agit donc d'un système de communication et d'interaction entre organes (**Alain R et al., 2007**). De ce fait, toute perturbation qui entrave la synthèse, la sécrétion ou le mode d'action de ces médiateurs entraîne des troubles endocriniens qui touchent le plus souvent plusieurs fonctions comme elles sont en étroite interaction.

Plus de 800 produits recensés, sont suspectés d'être susceptibles de perturber le système endocrinien, d'où leur nom "les perturbateurs endocriniens (PE)". Ces derniers sont des substances ou un mélange de substances naturelles ou synthétiques qui altèrent le fonctionnement du système endocrinien, en interagissant avec la synthèse, la dégradation, le transport et le mode d'action des hormones, de ce fait, ils induisent des effets délétères sur la santé de l'individu. Ils sont responsables en partie des malformations génitales, de puberté précoce ainsi que la diminution de la fertilité (**Multigner et al., 2018**). Ces substances, comme cela a été cité, sont d'origines naturelles ou synthétiques, se trouvent dans nos aliments, nos produits de soins, dans nos meubles et dans nos vêtements... Parmi lesquels : parabènes, phtalates et les pesticides comme les organochlorés et les organophosphorés. Les glucosinolates font

partie de cette classe de PE. Ce sont des substances naturelles contenues dans certaines plantes de la famille des Brassicacées telle que le chou, navet, manioc, colza...etc. Une fois dans le corps animal, ces substances se transforment en thiocyanates qui entrent en interaction avec la thyroïde et perturbent son fonctionnement à plusieurs niveaux(**Multigner et al., 2018**).

L'effet de ces substances ne se limite pas à la perturbation de la fonction thyroïdienne mais il s'avère qu'elles altèrent aussi la fonction de reproduction qui est étroitement dépendante de l'équilibre thyroïdien. En effet, le dépistage des dysthyroïdies est l'un des examens effectués dans les cas d'infertilité et est réservé pour les bilans d'anovulations et des fausses couches à répétition. Les recommandations américaines récentes de l'Association Américaine Endocrinologues (AAE) et l'Association Américaine pour la Thyroïde (ATA) publiées en 2011 identifient les femmes infertiles comme étant à risque de présenter des dysthyroïdies (**Gronier H et al., 2015**).

Costus indien est une plante médicinale largement utilisée en thérapeutique traditionnelle, il attire récemment l'attention de plusieurs recherches au monde (**Rajender K et al., 2014**) Son effet protecteur de la thyroïde a été mis en évidence dans plusieurs recherches. Ses composés phénoliques semblent contrecarrer les effets délétères des perturbateurs endocriniens.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail, à travers lequel nous avons essayé d'étudier les vertus de Costus indien sur ces deux fonctions endocriniennes qui sont interdépendantes, à savoir la fonction thyroïdienne et la fonction ovarienne. En effet, nous avons tenté de traiter des rats rendus hypothyroïdiens par le thiocyanate de potassium (KSCN) par costus indien et vérifier les répercussions sur la fonction ovarienne.

Chapitre I

I Monographie de *Saussurea costus*

Saussurea costus appelée communément *costus indien* est une plante médicinale, appartenant à la famille des *Astéracées*, originaire de l'Inde, du Pakistan, de la Chine et de la région de l'Himalaya où il pousse entre 2 500 et 3 500 m d'altitude (**Rao et al, 2013**). En Inde, cette plante est endémique dans les régions subalpines du Jammu et Cachemire, de l'Himachal Pradesh et de l'Uttaranchal. Cette plante est connue depuis environ 2500 ans et est largement utilisée en médecine traditionnelle indienne (**Kuniyal et al., 2019**).

Tableau 1 : Les différents noms du *Saussurea Costus*

La langue	Le nom
En arabe	القسط الهندي
Hindi et bengali	Kut, Kur, Pachak
Nom vernaculaire	<i>Costus indien</i>
Nom scientifique	<i>Saussurea costus</i>

I-1-Classification botanique :

La famille des *Asteraceae* comprend environ 1000 genres et 30.000 espèces, réparties plus ou moins dans le monde entier, dont environ 177 genres et 1052 espèces se trouvent en Inde (**Rao et al, 1988**). Le genre *Saussurea*. De la même famille comprend environ 300 espèces dans le monde (**Bremer, 1994**). Selon la classification (**Zahara et al, 2014**), il est classé comme suit:

Règne	<i>plantae</i>
Division	<i>tracheophyta</i>
Sous-division	<i>spermatophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Saussurea</i>
Espèce	<i>Saussurea costus</i>

I-2- Description morphologique de la plante

Plante herbacée, vivace, à feuilles persistantes, elle peut atteindre jusqu'à 2,7 mètres de long, à croissance modérée, où les plantes prospèrent dans les broussailles sous des forêts humides avec des sols organiques. Les feuilles sont de type simple, ovales à oblongues, à bords ondulés et à nervures parallèles, disposées alternativement sur la tige en spirale, de couleur vert vif. Les fleurs sont aromatiques, coniques,

Les fruits ont la forme d'une capsule de 2 cm de diamètre, les graines sont noires sphériques. Elle possède de nombreuses branches épaisses de couleur brun rougeâtre et les racines ont une croissance horizontale (Warrier.P et al.,1994 et Kirtikar ; K et al.,1987).

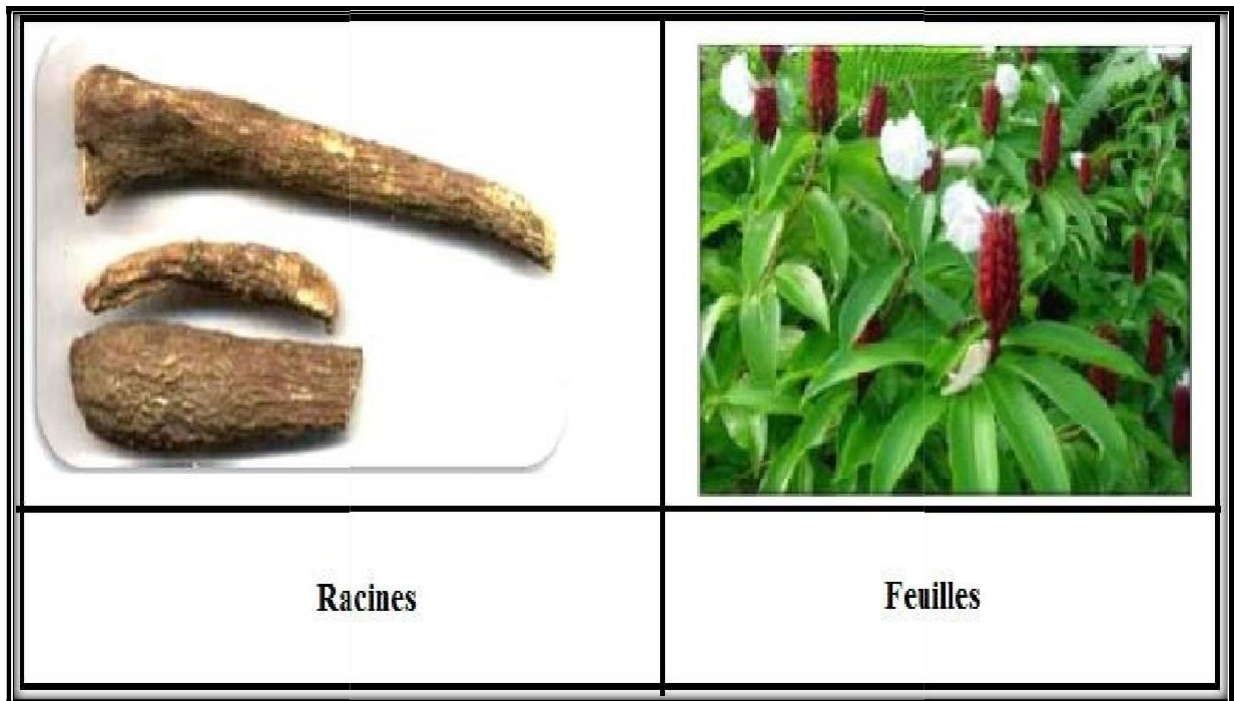


Figure 01 : Image photographique d'une plante de *Costus indien* (Bhogaonkar, P et al.,2012)

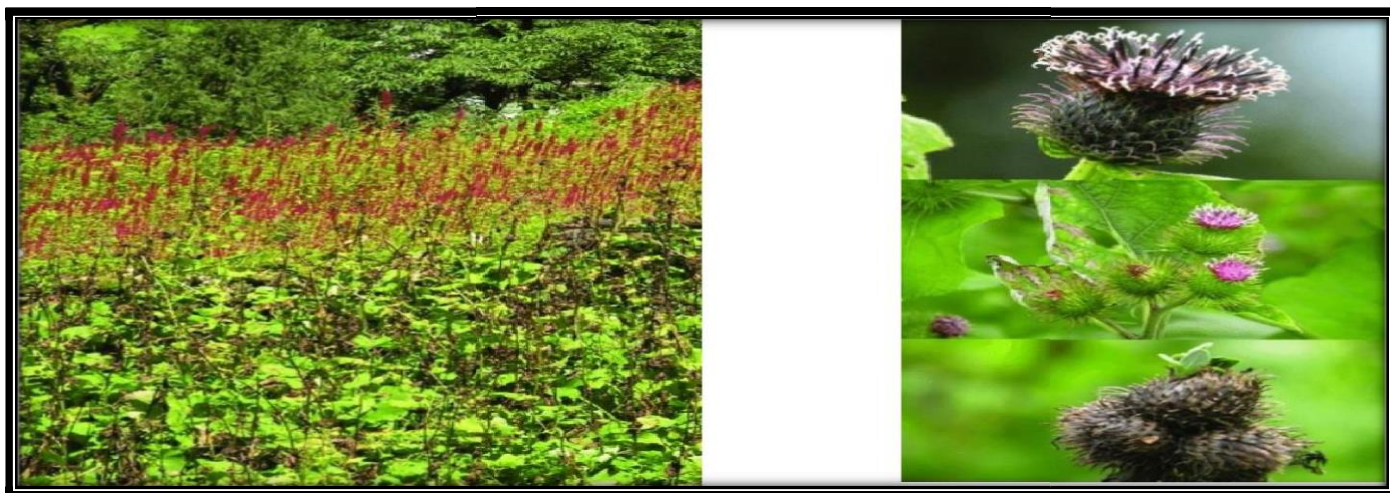


Figure 02: champs de costus

Figure 03 : Partie florale du costus

(Kuniyal P et al., 2019).

(Kuniyal P et al.,2019).

La racine est grosse, d'environ 60 cm et dégage une forte odeur caractéristique. La plupart du temps, l'huile essentielle de racine et la racine sont utilisées à des fins médicinales. La racine séchée qui a un goût légèrement amer est de couleur gris sale à jaune à l'extérieur et mesure environ 8 à 12 cm de long, 1 à 3 cm de diamètre .Elle est généralement ridée, striée et les racines secondaires sont plus ou moins cylindriques (Madhuri *et al.*, 2011).



Figure 4 : Racines du costus (Photo originale ; 2022)

I-3-Utilisations médicales de *Costus indien*:

L'utilisation de costus en thérapeutique est une pratique très ancienne qui datée de l'époque du prophète (ﷺ) qui l'avait conseillé pour le traitement de divers maladies selon les hadiths suivant :

Dans la médecine traditionnelle indienne (Ayurveda, Siddha et Unani), le costus est utilisé soit comme traitement unique, soit en combinaison avec d'autres médicaments. Ses racines sont principalement utilisées comme antispasmodique dans le traitement de l'asthme, la toux et également dans le traitement du choléra, des maladies chroniques de la peau et des rhumatismes.(Tableau :01) (**Chopra et al, 1956 ; Dhar et al, 1984**).

(**Ebadi et al ,2018 ; Hassan et al ,2020**) ont montré dans leurs études que la plante costus est très riche en certains composés bénéfiques pour la santé entre autres, les terpènes, sesquiterpènes, polyphénols, dont les alcaloïdes et flavonoïdes.ces molécules bioactives lui ont fait valoir ses propriétés antidiabétique, antifongique, anti-inflammatoire, anti hépatotoxique et antitumorale.(**Zahara et al 2014, Singiressu .S et al 2017**).

(**Muhammad S et al., 2013**) dans leurs études menées sur des rats rendus hypothyroïdiens par le propylthiouracil (PTU), ont montré l'effet protecteur de costus sur le tissu thyroïdien ainsi que l'amélioration du profil hormonal qui consiste à la baisse des niveaux de TSH qui étaient élevés sous l'effet de PTU. En outre, à travers leur étude qui a porté sur l'administration de l'extrait de racines de costus indien chez le rat, ont montré que ce dernier améliore la qualité du sperme, en réduisant les anomalies spermatique ainsi que la protection du tissu testiculaire.

Tableau 02 :montrant l'utilisation ethno médicinales du Costus

Partie de la plante de Costus	Utilisation ethnométricines	Référence
Décoction de racine	Dysenterie, Ulcère Maux d'estomac	Kala and manjarkar (1999)
Racine/ Poudre de racines	Paludisme ,Lèpre Hoquet persistant Rhumatisme Stimulant astringent	Kapoor (2001)
Racine	Maux d'estomac Maux des dents Fièvre typhoïde	Nautiyal et al.(2003)
Racine	Asthme,Troubles cutanés Maux de dents	Shah (1982)
Racine	Rhumatisme	Jain (1984)

Ses différentes préparations sont également utilisées par les médecins ayurvédiques pour le traitement de diverses affections comme la toux et le rhume, le paludisme, la lèpre, le hoquet persistant, les rhumatismes, les maux d'estomac, les maux de dents, la fièvre typhoïde, etc. C'est un médicament important pour la goutte, l'érysipèle et favorise la spermatogénèse. Le costus a été utilisé par différentes personnes et tribus ethniques du nord de l'Inde pour le traitement de diverses maladies. (Tsarong, 1994).

Tableau 03 : méthode d'application traditionnelle du *Saussurea costus*

États	Méthode d'utilisation	Références
Maux d'estomac	La poudre de racine prise avec de l'eau La décoction des racines La poudre de racine est tonifiée dans de l'huile de moutarde et la pate à appliquer sur l'estomac	Kumar (1989)
Maux de tête	L'huile de costus est chauffée avec des racines est appliquée au niveau des maux	
Toux et rhume	La poudre de racine est prise avec de l'eau chaude	
Mal de dos et douleur thoracique	La poudre de racine est prise avec du lait décoction de poudre de racine ,l'huile de racine chauffée et masser la zone touchée	
Les rougeurs de peau formées après la piqueur d'insecte	La poudre de racine est grillée dans du beurre et la beurre est appliqué sur la zone infecté	
Pustule	Une poudre de racine fine est saupoudrée sur la plaie L'huile de moutarde est chauffé avec de la poudre de racine et l'huile est appliquée et bandée	
Faiblesse générale	La racine est bouillé dans du lait et celui – ci est pris 2 fois par jour	Bapalal (1998)
Épilepsie	Les racines sont prises avec du miel	
Gale	Appliquer l'huile essentielle de la racine	

Chapitre II

Vu tous ses vertus, nous avons tenté d'étudier l'effet de cette plante costus sur la fonction ovarienne et ce, par le biais de traitement de l'hypothyroïdie tout en mettant en relation ces deux fonctions.

II-1- Anatomie de l'ovaire

L'ovaire est la gonade femelle, c'est une glande paire, symétriques, situé dans la cavité pelvienne. Chez la femme, Il mesure environ 3cm de longueur, 2cm de largeur et 1cm d'épaisseur et pèse environ 8g. il est d'une consistance ferme et de couleur blanc rosé. Les ovaires sont reliés à la paroi lombaire par un ligament dit ligament lombo- ovarien et reliés à l'utérus par le ligament utéro-ovarien (Michel L. 2015).

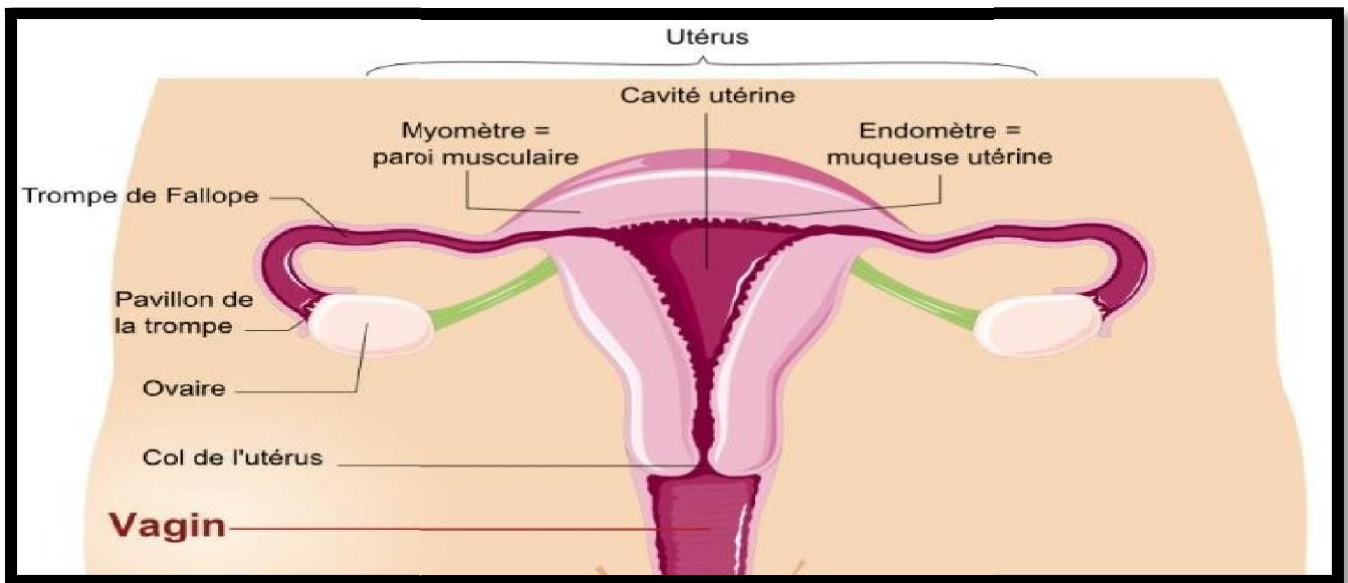


Figure 05 : L'appareil génital féminin. (svt-monde.org)

L'ovaire est une glande mixte, assure une fonction exocrine qui consiste à la libération de l'ovule fécondable et la fonction endocrine qui consiste à la synthèse et sécrétion des stéroïdes sexuels dans le sang « œstradiol et progestérone » qui contrôlent la croissance folliculaire, l'ovulation ainsi que le déroulement de la gestation (Sherwood., 2006).

II-2-Histologie de l'ovaire

L'ovaire est constitué de deux types cellulaires, les cellules germinales haploïdes et les cellules somatiques diploïdes. Les cellules germinales sont les ovocytes I qui constituent le stock de la femelle depuis la vie intra-utérine et qui donneront des ovocytes II puis ovule durant le processus de croissance et maturation.

Les cellules somatiques sont les cellules folliculaires qui entourent les ovocytes, de nature épithéliale, elles jouent un rôle nourricier, protecteur et surtout sécrétoire.

A l'extérieur, il est entouré par une tunique fibreuse protectrice, c'est l'albuginée, sous laquelle se trouve la zone corticale, où sont enfouis les follicules primordiaux, primaires, voir les secondaires qui constituent ensemble le stock ovarien de la femelle qui se forme depuis la vie intra utérine jusqu'à l'arrêt de l'activité génitale. Au centre, se trouve la médulla qui est constituée d'un tissu nourricier, c'est le lieu de développement des follicules (**Sherwood., 2006**)

Le follicule constitue l'unité fonctionnelle de l'ovaire qui aboutit à la formation de cellules fécondables.

II-3-Histologie du follicule

Le follicule est une structure complexe au sein duquel se déroulent plusieurs processus physiologiques et modifications structurales au cours de sa croissance et maturation qui aboutissent à l'expulsion de l'ovule fécondable. Il est composé essentiellement d'un ovocyte I qui s'entoure en premier lieu par quelques cellules folliculaires formant ainsi le follicule primordial.

D'autres structures se rajoutent au cours de la croissance. En effet l'ovocyte se met à sécréter une zone acellulaire protectrice de nature glycoprotéique, qui l'isole de l'ensemble des cellules folliculaire appelée la zone pellucide.

Autour de la zone pellucide, les cellules folliculaires se divisent et prolifèrent pour former plusieurs couches de cellules de Granulosa, c'est des cellules endocrines actives qui participent à la synthèse des stéroïdes sexuels, "œstrogènes".

Ces dernières, elles aussi sécrètent une couche acellulaire protectrice de nature glycoprotéique, c'est la membrane de Slavjanski.

Autour de cette membrane, s'organisent des cellules épithéliales endocrines, c'est les cellules de la thèque interne qui initient la synthèse des hormones sexuelles, à savoir la progestérone et les androgènes.

Un autre type de cellules vient entourer la thèque interne, ce sont les cellules de la thèque externe de nature conjonctive et qui jouent un rôle protecteur.

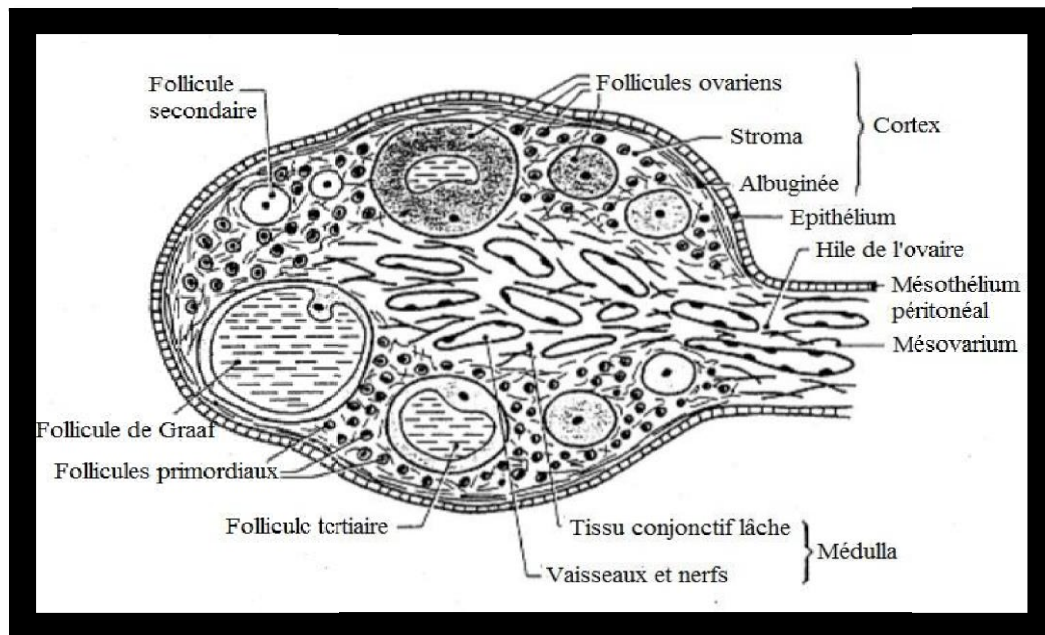


Figure 8 : Schéma d'une coupe d'ovaire. (chus.jussieu.fr)

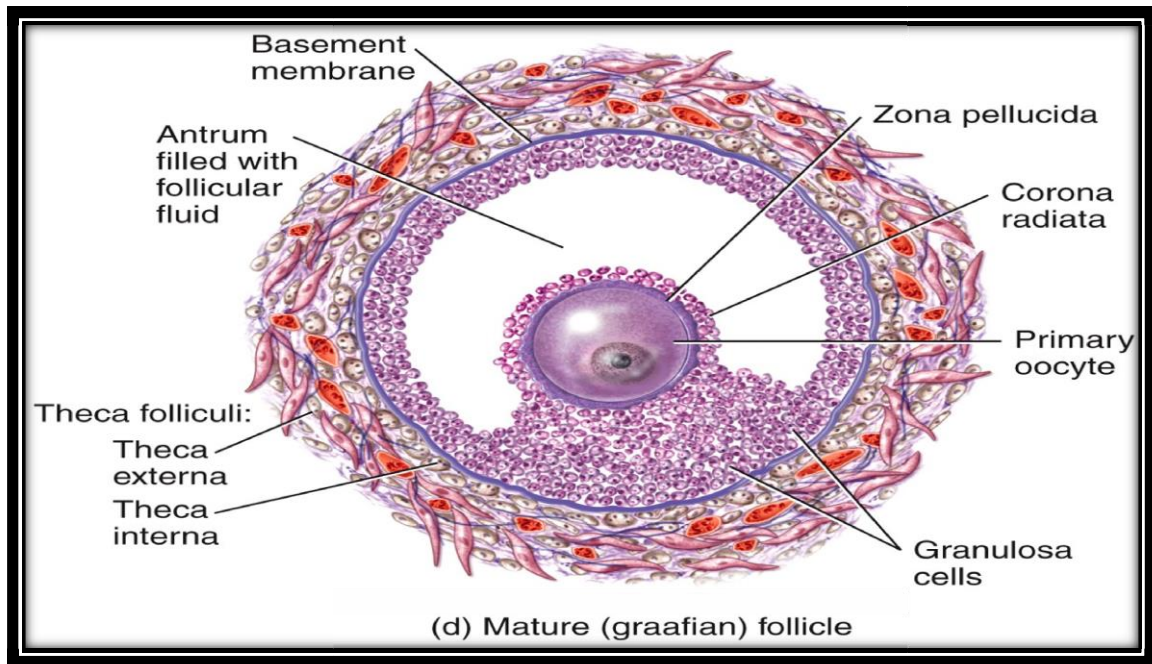


Figure 9: schéma montrant la structure d'un follicule de De-Graaf

II-4- Physiologie de l'ovaire

L'ovaire renferme deux structures fonctionnelles dont l'activité est en alternance, ce qui constitue le cycle ovarien. Ces structures sont les follicules à différents stades évolutifs et le corps jaune. L'ovaire renferme environ deux millions d'ovocytes de premier ordre à la naissance chez la femme, qui sont entourés par des cellules folliculaires ainsi que d'autres structures protéiques acellulaires protectrices qui constituent ensemble un follicule ovarien. Les follicules se trouvent à différents stades évolutifs allant du primordial, primaire, secondaire, tertiaire ou cavitaire jusqu'au mur ou follicule de De-Graaf.

Depuis la puberté jusqu'à la ménopause chez la femme ou encore cessation de l'activité chez les autres espèces, des cohortes de follicules entrent en croissance depuis leur sensibilité aux hormones gonadotropes (FSH/LH) (stade secondaire tardif/antral précoce) puis un seul follicule arrivera à l'ovulation et tous les autres subiront l'atrésie.

Au cours de cette croissance, des changements morphologiques et fonctionnels auront lieu et qui sont caractérisés par l'augmentation de la taille des follicules accompagnée d'une intense activité sécrétoire des stéroïdes sexuels principalement les œstrogènes et la progestérone. Cette activité stéroïdienne est sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire (**Hazard J et al., 1983**).

II-5- Régulation de la fonction ovarienne

La synthèse et la sécrétion des stéroïdes sexuels est sous l'étroite dépendance de l'axe hypothalamo-hypophysaire qui sécrète la gonadolibérine (GnRH) par l'hypothalamus qui à son tour agit sur l'hypophyse en stimulant la synthèse et la sécrétion des Gonadotrophines FSH et LH. La LH agit sur les cellules de la thèque interne en stimulant l'entrée des LDL ainsi que l'activation de la cascade enzymatique qui assure la transformation du cholestérol en prégnénone qui à son tour se transforme en progestérone puis en androgènes. Les androgènes ainsi synthétisés, pénètrent dans les cellules de granulosa pour subir l'aromatase par une enzyme qui est l'aromatase activée par la FSH pour libérer les œstrogènes.

Les œstrogènes à leur tour exercent un rétrocontrôle positif sur l'hypophyse en stimulant la sécrétion de la FSH. Cette boucle de rétroaction positive entre les œstrogènes et la FSH maintient la croissance folliculaire pour atteindre le stade préovulatoire. A un taux élevé, les œstrogènes exercent un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de la FSH et stimule la libération du pic préovulatoire de LH, Ce qui déclenche la maturation de l'ovocyte en passant de l'ovocyte I en ovocyte II ainsi que les processus de la rupture folliculaire pour la libération de l'ovocyte

Après ovulation, les cellules composant le follicule notamment les cellules de granulosa et les cellules de la thèque interne, subissent des remaniements pour se transformer en corps jaune qui se met à sécréter la progestérone qui est sous le contrôle de la LH. L'activité ovarienne n'est pas soumise uniquement au contrôle exercé par les gonadotropines mais elle dépend aussi d'autres hormones à savoir, la prolactine et les hormones thyroïdiennes. **(Tortora D., 2010)**

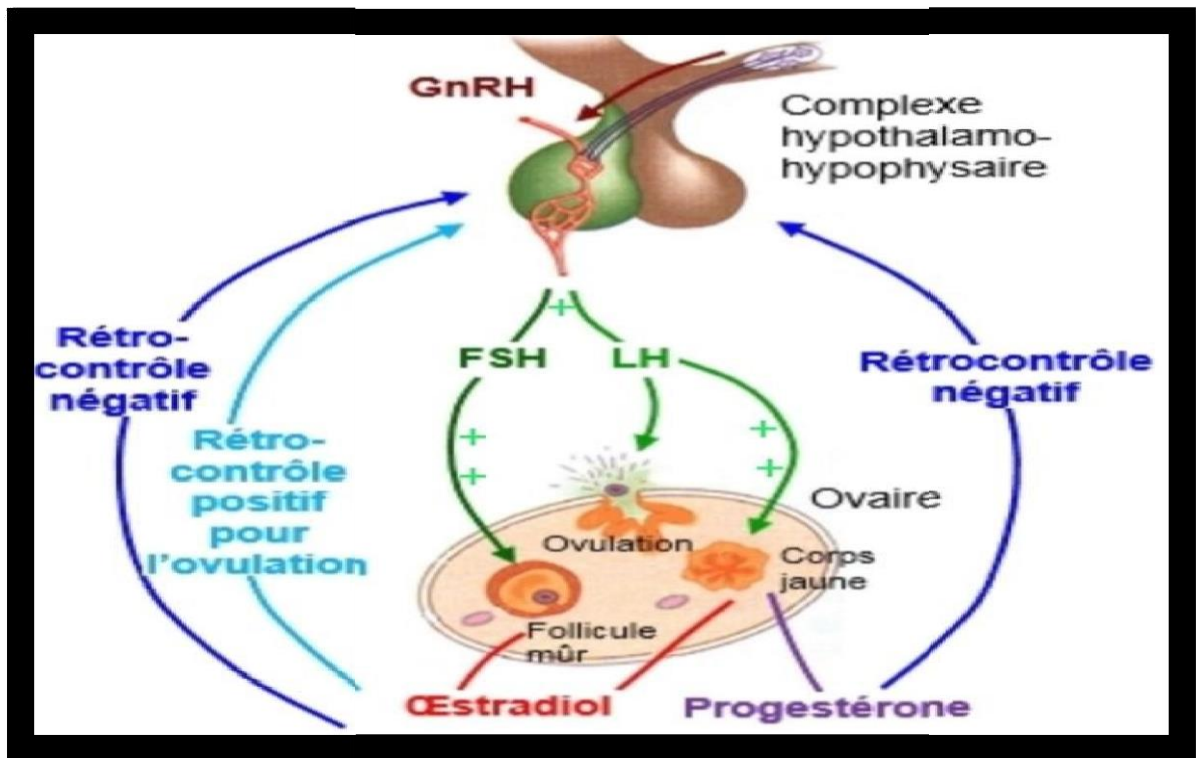


Figure 08 : La régulation de l'axe hypothalamo-hypophyse-ovaire. (Bio-top.net)

II-5-1-Régulation de la fonction ovarienne par la prolactine.

La prolactine est l'hormone de lactation, libérée par l'aire prolactinique de l'antéhypophyse. Elle joue un rôle primordial dans le déclenchement et le maintien de la lactation.

Son rôle ne se limite pas uniquement à la lactation mais elle intervient aussi dans la régulation de la fonction de reproduction notamment la fonction ovarienne.

Selon (Mc Natty et al 1975, Dunaif et al 1982), La prolactine possède des récepteurs sur les cellules de la granulosa et s'avère exercer un effet stimulateur sur l'aromatase, enzyme de conversion des androgènes en œstrogènes, par conséquent, elle stimule la croissance folliculaire.

En ce sens, (Rajkuma et al .,1985 , Jones et al .,1983) ont montré que la prolactine est impliquée aussi dans le maintien de l'activité du corps jaune et ce, par la stimulation de l'entrée du cholestérol qui constitue la molécule d'amorce des hormones stéroïdiennes

ainsi que la régulation des enzymes intervenant dans la conversion du cholestérol en progestérone.

De ce fait, en cas de perturbation des niveaux de synthèse et de sécrétion de la prolactine, cette dernière peut exercer un effet inverse qui génère des troubles de la croissance folliculaire ainsi que le maintien de l'activité du corps jaune.

II-5-2-Régulation de la fonction ovarienne par les hormones thyroïdiennes.

La fonction thyroïdienne, comme cela a été préalablement signalé, intervient dans la régulation de la plus part des fonctions de l'organisme entre autres, la fonction de reproduction qui en est étroitement dépendante. par conséquent, toute perturbation du fonctionnement de la thyroïde se répercute sur cette dernière.

La thyroïde peut agir directement ou indirectement sur la régulation de la fonction ovarienne.

II-5-3-Action indirecte par le biais de la prolactine.

La TRH, bien qu'elle est le régulateur principale de l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien par la stimulation de la sécrétion de la TSH hypophysaire, mais elle semble exercer aussi un effet stimulateur sur la sécrétion de la prolactine.

Les hormones thyroïdiennes T3 et T4 exercent un rétrocontrôle négatif sur les sécrétions de TRH/ TSH pour la modulation de la fonction thyroïdienne.

En effet, l'hypothyroïdie qui se caractérise par la baisse des niveaux de T3 et T4 s'accompagne de la levée de l'inhibition sur la TRH, ce qui entraîne l'élévation de ses niveaux dans le sang ainsi que la stimulation de la sécrétion de la prolactine.

Par conséquent, l'hypothyroïdie qui est caractérisée par la baisse des concentrations de la T3 et T4 s'accompagne de l'hyperprolactinémie qui elle aussi entraîne des troubles de la fonction ovarienne. (Hazard J et al., 1983)

II-5-4-Effet directe des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes peuvent agir aussi directement sur les différentes structures ovariennes modulant ainsi son fonctionnement.

(**Maruo et al 1987, Gerhad et al 1991 et Tomasi et al 1997**) ont rapporté que la T3, hormone biologiquement active, possède des récepteurs nucléaires sur les cellules de granulosa par le biais desquels elle potentialise l'effet de la FSH sur les processus de prolifération de ces dernières ainsi que la stimulation de la stéroïdogénèse.

En ce sens, chan et al 1995 ont montré que l'apport de la T3 chez les truies hypothyroïdiennes a entraîné l'augmentation du nombre de follicules en croissances accompagnées de l'élévation des niveaux de synthèse et de sécrétion des œstrogènes.

Parallèlement, les travaux de (**Maruo et al 1992, Feldman et al 1996**) ont mis en évidence l'effet stimulateur des HT sur le corps jaune. En effet, la T3 par le biais de ses récepteurs sur les cellules de granulosa, elle stimule les enzymes de la stéroïdogénèse, ce qui maintient l'activité du corps jaune.

En outre, la T3 stimule aussi la sécrétion de la HCG (HUMAN Chorionic Gonadotropin) ainsi que la HPL (Hormone Placentaire Lactogène) par le trophoblaste qui sont impliquées dans le maintien de l'embryon. (**Maruo et al., 1992**).

D'après l'étroite interaction qui existe entre la fonction ovarienne et la fonction thyroïdienne, tout dysfonctionnement thyroïdien se retentit sur la fonction ovarienne qui s'exprime le plus souvent par des troubles de fertilité.

Pour cela, à travers notre étude, nous essayons de corriger l'hypothyroïdie induite expérimentalement chez des rats par un extrait de plante médicinale Costus indien et de vérifier les résultats sur la fonction ovarienne

MATERIELS
ET
METHODES

Lieu expérimental :

Cette étude s'est déroulée au niveau du :

- Laboratoire pédagogique de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Mohamed El Bachir el Ibrahimi de Bordj Bou Arreridj
- Service d'Anatomie pathologique de l'Établissement Public Hospitalier Lakhder Bouzidi de Bordj Bou Arreridj.

I Matériels et Méthode

1.1. Matériels :

Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail, consiste aux racines de costus indien (*Saussurea lappa*) séchées rendues en poudre .Nous les avons acheté chez un herboriste (photo 8 et 9.les racines ont été, nettoyées, séchées à l'air libre puis broyées en poudre fine.



Figure 09 : La poudre de costus indien
(Photographie originale, 2022)

Figure 10: Les racines de costus indien
(Photographie originale, 2022)

Matériel animal :

Notre étude a été réalisée sur des rats Wistar, issus de l'Institut Pasteur d'Alger. Ils sont élevés dans des conditions ambiantes, température 22°C, humidité 50-60%, éclairage 12/24h, alimentés à volonté par un aliment granulé issu de l'unité de fabrication d'aliment de Bejaia.

Produits utilisés:

- Thiocyanate de potassium (KSCN⁻) est un antithyroïdien de synthèse, utilisé pour l'induction de l'hypothyroïdie.
- Solution de *costus indien* utilisée pour le traitement de l'hypothyroïdie.
- Folin ciocathion.
- Carbonate de potassium 7.5%.
- Chlorure d'aluminium (AlCl₃).
- Acide gallique
- Acide ascorbique .
- Molybdate d'ammonium.
- DPPH 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

Méthodes

Préparation de l'Extrait aqueux brute

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant et une agitation, à température ambiante ou à une température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la solubilisation des composés bioactifs dans un solvant d'extraction. Les solvants les plus utilisés sont l'éthanol, le méthanol, l'acétone et l'eau (Singh et al., 2008). La méthode d'extraction des polyphénols correspond à une macération suivie d'une évaporation (Abdelrazag, 2013)

□ Mode opératoires

10 g de poudre de la plante a été laissée macérée dans 150 ml d'eau distillée pendant 3 h avec agitation. Le mélange a été filtré à travers le papier filtre WATTMAN. Une deuxième extraction a été réalisée dans les mêmes conditions. Les deux extraits ont été mélangés puis filtrés. L'extrait a été soumis à une évaporation sous vide à 40°C. L'extrait brut a été récupéré dans une boîte de pétri en verre puis séché à l'étuve jusqu'à l'évaporation totale du solvant. (Tag et al, 2015) :

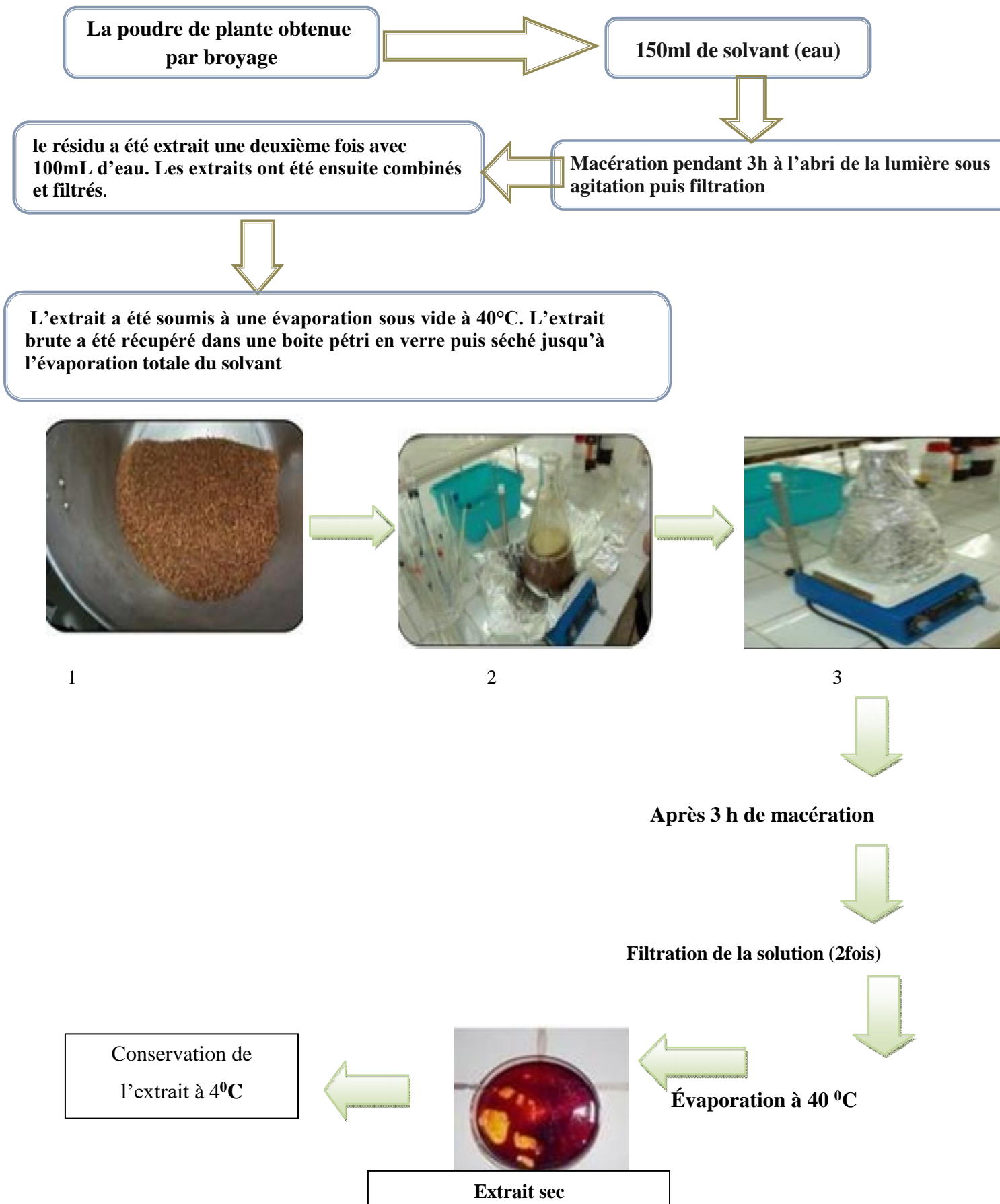


Figure11 : préparation de l'extrait brut de racine de *Saussurea costus* par macération**1.2.2. Calcul du rendement de l'extraction**

Le calcul du rendement en polyphénols est obtenu selon la formule suivant :

$$R \% = (M / M_T) \times 100$$

R% : taux de la matière extraite ;

M : masse du ballon taré avec l'extrait ;

M_T : masse végétale totale utilisée dans l'extraction.

➤ 1.2.3. Calcul du taux d'humidité

L'humidité de la poudre a été déterminée par la méthode de séchage à l'étuve après tamisage de ces dernier à une tamiseur de 200µm .une quantité de 1g de la poudre est mis sur un creusent préalablement taré. Le creusent est ensuite placé dans une étuve à 105C° pendant 24h. Après refroidissement dans un dessiccateur refermant un desséchant, le creuset est pesé(Hernandez et al.,1995).

Le pourcentage d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$H \% = [(M - M') / M] \times 100\%$$

M : masse de l'échantillon avant séchage

M': masse de l'échantillon après séchage

H% : le taux d'humidité

Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux est effectué par la méthode de Folin-Ciocalteu afin de quantifier la teneur en polyphénols totaux et qui sont déterminées par spectrophotométrie.

A-Mode opératoire

1 ml de folin-ciocalteu 5 fois dilué ajouté à 200µl de l'extrait la solution est mélangée et incubée pendant 5 minutes. On rajoute 800µl de la solution de carbonates de sodium NaCO₃ à 20%. Le

mélange final est agité, puis incubé pendant 5 minutes à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance de l'extrait est mesurée à 760 nm (voir figure 12)

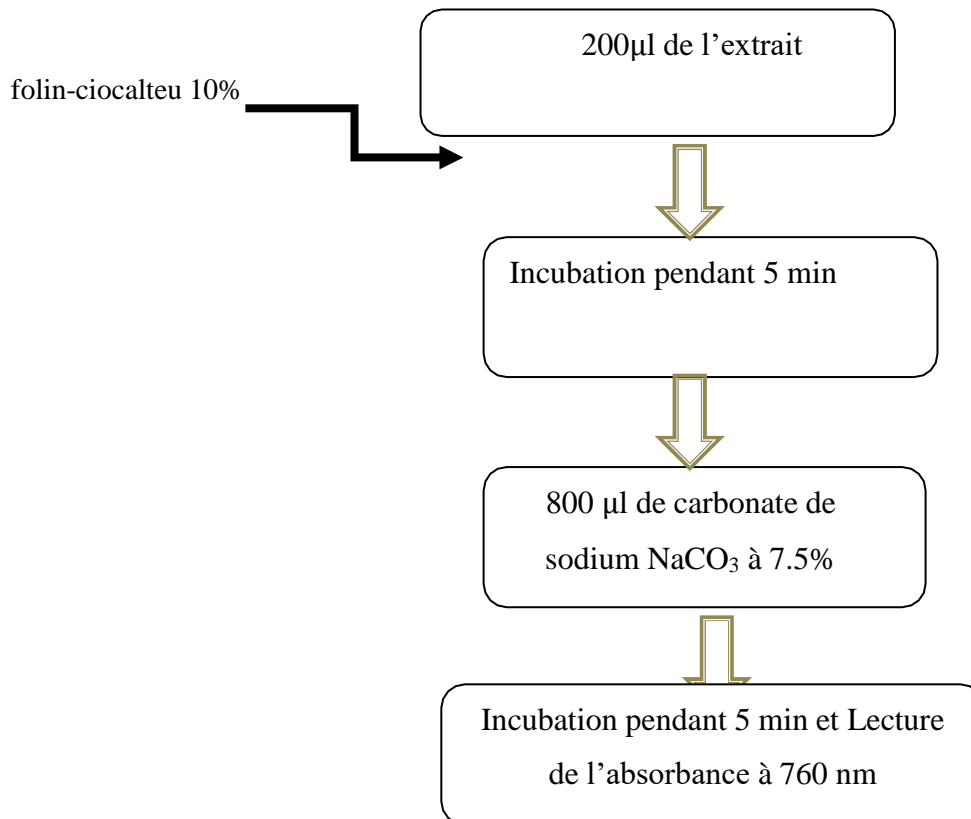


Figure 12. Protocole de dosage des polyphénols

A-1- préparation de l'extrait:

-on prépare un solution de concentration 2mg/ml en prenant la masse de 4,1mg et le volume d'eau distillée 2,1ml pour obtenir la concentration 2mg/ml dans le relation $C = m/v$

2-Préparation d'un solution de folin ciocathion 10%:

- Nous prenons 1 ml de folin ciocathion et ajoutons 9ml de H₂O pour obtenir une solution de folin ciocathion à 10 %.

A-2-Préparation d'un solution de carbonate de sodium 7,5%:

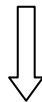
dans 7,5gil ya 100ml d'eau ,en prenant 25ml d'eau on trouve 1,875g comme

$$\begin{array}{lcl}
 \text{suit: } 7,5\text{g} & 100\text{ml} \longrightarrow & \\
 X \text{ g} & \longrightarrow & 25\text{ml}
 \end{array}
 \quad \Longrightarrow \quad
 \begin{array}{l}
 X = 25 \times 7,5/100 \\
 X = 1,875\text{g}
 \end{array}$$

prendre 200 μ l de l'extrait + 1ml solution folin ciocathion et puis on ajoute 800 μ l de carbonate de sodium



On attend quatre minutes



Incubation pendant 2 heures

et puis on lis l'absorbance à $\lambda = 760\text{nm}$

on prépare 3 répétitions d'extrait et un blanc (200 μ l H₂O)

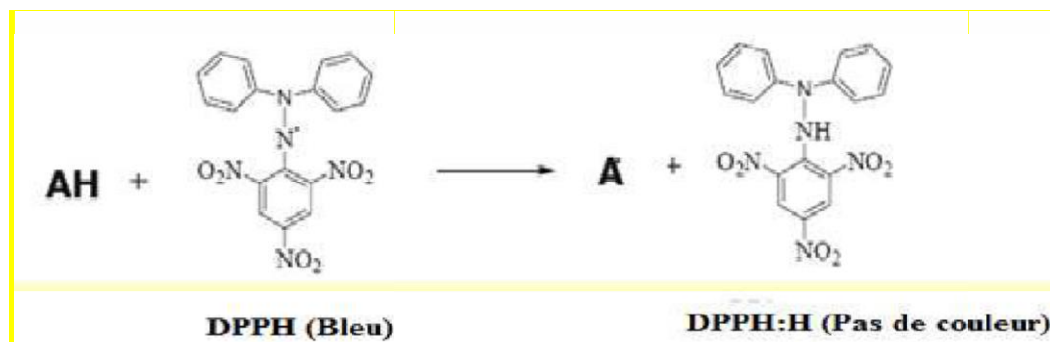
Étude de l'activité anti oxydante *in vitro* des polyphénols

Le test du pouvoir réducteur consiste à évaluer l'aptitude d'un échantillon à donner un électron convertissant le fer de la forme Fe³⁺ à la forme Fe²⁺ qui peut être quantifiée par la mesure de la formation de la couleur bleu (bleu de Prusse) du ferricyanide de potassium à 700 nm (Gholivand *et al.*, 2010).

❖ Méthode de DPPH

La réaction est illustrée par la figure suivante

Où : AH est un composé capable de donner un H⁺ au radical DPPH.



AH= l'antioxydant DPPH• = 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl

Figure. 13: La présentation chimique d'essai de piégeage des radicaux DPPH• *in vitro* (Batool et al., 2010).

➤ mode opératoire

Dans un tube sec et stérile, on introduit 25µl de la solution de l'extrait de costus indien, on ajoute 975µl de la solution de DPPH. Après agitation, le tube est placé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. Le test est répété trois fois. La lecture de l'absorbance a été effectuée par un spectrophotomètre à 720 nm.(Figure 18).L'activité anti-radicalaire ou le pouvoir antioxydant est estimée selon la formule suivant :

$$A\% = (A0 - AT) \times 100 / A0$$

A% : Pourcentage de l'activité anti- radicalaire ;

A0 : Absorbance du contrôle négatif (DPPH dans le méthanol) ;

AT : Absorbance de l'échantillon.

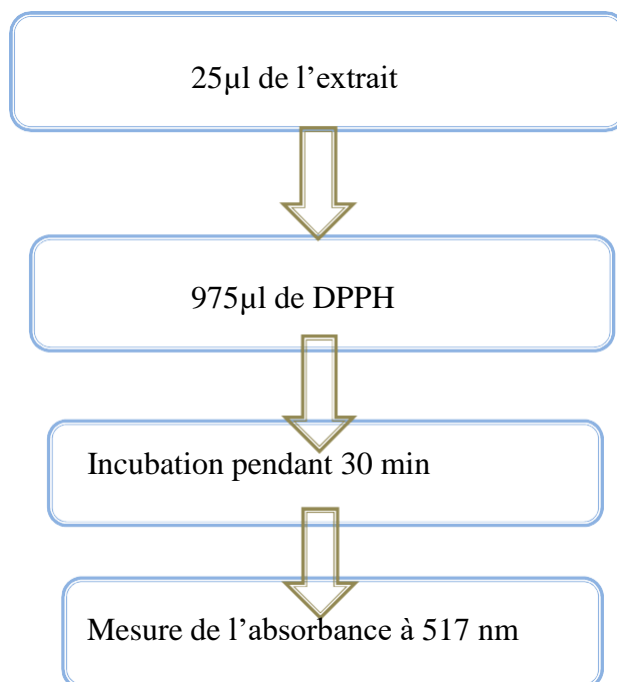


Figure 14: protocole de la méthode de DPPH

Mode opératoire:

pour effectuer un dosage **DPPH** nous prenons cinq concentrations de l'extrait comme suit (10,8,6,4,2mg), en 10 mg nous ajoutons 1ml d'eau distillée et calculons le reste des concentration selon la loi d'extension $C1.V1=C2.V2$, nous obtenons ce qui suit:

Tableau3: Les dilutions des extraits

Extrait	H2O
10 mg	1 ml
8 mg	0,8 ml
6 mg	0,6 ml
4 mg	0,4 ml
2 mg	0,2 ml

ensuite, nous prenons 100 μ l de chaque extrait et y ajoutons 2,5 de solvant méthanolique de 0,98nm à $\lambda=517$ nm, pour le contrôle 100 ml de méthanol y ajouter 2,5mg de dpph et en ce qui concerne le blanc 100 μ l H2O Y ajouter 2,5 de solvant méthanolique, nous lisons dans le spectrophotomètre lorsque la longueur d'onde $\lambda=517$ nm.

I.2.Méthodes**1.2.1 Traitements des animaux**

10 rats wistar, dont 8 femelles et 2 mâles, d'un poids moyen de 300g ont fait l'objet de notre étude.

L'expérience s'est déroulée en deux étapes :

- ✓ La première consiste en l'induction de l'hypothyroïdie par l'utilisation d'un antithyroïdien de synthèse (KSCN)
- ✓ La deuxième consiste au traitement de l'hypothyroïdie par la plante costus indien. Nous avons 10rates (8 femelles et 2 males) nous isolons séparément 6 femelles et un male(exposés au KSCN) et 2 femelles et un male (témoin) pendant mois et demi.et puis les rats accouchent comme suit:

les témoins:

-la date de mis bas:26/05/2022

-le nombre: 10 rattus

-le poids totale: 85,91 g

les traités:

-la date de mis bas: 28/05/2022

-le nombre: 7 rattus

-le poids totale: 60,87 g

-Nous ajoutons 10 jours pour traiter les rattus avec KSCN et après l'arrêt de traitement nous prenons 6 rattus (3 témoins et 3 traiter) et les pesons comme suit:

Tableau4: Les poids des rattus traité et témoins

Rattus	Témoins	Traités
	21,53	17,75
Poids(g)	19,15	19,90
	20,05	18,81

Induction de l'hypothyroïdie :

Les animaux ont été répartis en deux lot ;

un lot témoin (T) ayant reçu l'eau de robinet et un lot traité (TR) ayant reçu le thiocyanate de potassium (KSCN⁻) dans l'eau de boisson à raison de 1g/l pendant deux mois. Les femelles ont été maintenues dans des cages avec les mâles pour une éventuelle reproduction. Après deux mois (à la fin de la première étape), nous avons eu des ratons chez les deux lots. Les petits ratons âgés d'un mois de chaque lot témoin et traité ont été répartis en deux groupes. Un groupe de chaque lot est sacrifié afin d'étudier l'effet du KSCN sur les structures histologiques des ovaires. Les ratons restants de chaque lot ont fait l'objet de la suite de l'expérience qui consiste au traitement de l'hypothyroïdie par l'extrait de la plante.

traitement de l'hypothyroïdie par *costus indien*.

Les ratons du lot témoins ont servi toujours comme témoins et ont reçu l'eau de robinet.

Une semaine après l'arrêt du traitement des ratons du lot traité par le KSCN⁻, nous avons procédé au traitement par l'extrait de la plante *costus indien* pendant une durée de trois semaines.

L'extrait aqueux de *costus indien* a été dilué dans l'eau distillée à raison de 1g/l.

Les ratons ont reçu (µl) chaque jour excepté les vendredis, pendant trois semaines.

A la fin de période du traitement, nous avons procédé aux prélèvements d'organes.

Prélèvement d'organes

A la fin de chaque étape de l'expérience, nous avons effectué le prélèvement d'organes sur les animaux du lot témoin, le lot traité au KSCN^- et le lot traité par l'extrait de la plante.

Nous avons procédé comme suit : Les animaux ont été décapités, puis une dissection de la cavité abdomino-pelvienne a été pratiquée afin de récupérer les ovaires.

Les organes prélevés sont aussitôt plongés dans le formol à 10% pour la fixation. La durée de fixation est d'au moins 48h.

Ces organes ont servi pour l'étude histologique. Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du service hospitalier Lakhdar Bouzidi de Bordj Bou Arreridj.

Techniques histologiques

La technique histologique comporte plusieurs étapes qui sont les suivantes ; Après un séjour de 48h dans le formol, les échantillons sont mis dans des cassettes, étiquetés puis rincés à l'eau de robinet pour éliminer toute trace du fixateur.

Déshydratation

La déshydratation consiste à faire chasser toute l'eau qui se trouve dans le compartiment cytoplasmique et nucléaire afin de drainer la paraffine qui est une substance hydrophobe et solide, ce qui facilite la réalisation des coupes fines. Elle se fait progressivement par passage successif dans des bains d'alcool de concentrations croissantes 70 °, 90 °, 96 ° et l'alcool absolu 100 °. Les échantillons séjournent 2 heures dans chaque bac.

Imprégnation et inclusion à la paraffine

Après la déshydratation, les échantillons sont placés dans le xylène (3 bains successifs) qui est un solvant de la paraffine pour faciliter son drainage vers le milieu intracellulaire, puis suivis de deux bains de paraffine liquide.

Enrobage ou confection de blocs

Après un séjour de deux heures dans le dernier bac de paraffine liquide, on passe à la confection des blocs comme suit : les échantillons sont mis dans des moules sur lesquels est versée une goutte de paraffine liquide pour le maintenir puis on recouvre avec la cassette étiquetée et on rajoute de la paraffine puis on dépose sur une plaque réfrigérante pour le

refroidissement. Une fois refroidie, on démoule et le bloc est prêt à la coupe.

Réalisation de coupes histologiques

A l'aide d'un microtome, on réalise des coupes fines de 2µm d'épaisseur. Le ruban contenant les coupes est récupéré sur des lames portes objets, puis étiquetées. Après un passage bref à l'étuve réglée à 50°C pendant 15 minutes pour l'adhésion de la coupe et le déparaffinage, on procède à la coloration.

Coloration

Les coupes subissent une coloration bichromatique à l'hématoxyline /éosine .Elle se réalise comme suit :

La coloration est réalisée dans une batterie de coloration constituée de plusieurs bacs -Avant la coloration, on réalise tout d'abord un déparaffinage en faisant passer les échantillons dans 4 bacs de xylène successifs pour éliminer toute trace de paraffine qui empêche la pénétration des colorants

-La réhydratation : les échantillons qui étaient déshydratés doivent être réhydratés pour faciliter la pénétration des colorants.la réhydrations se fait par passage des échantillons dans des bains successifs d'alcools décroissants (100°, 96° 90°,70 °)

- Rinçages à l'eau de robinet pour éliminer les traces d'alcools

- La coloration est bi chromatique, ou deux colorants sont utilisés qui sont l'hémalum de Harris et l'éosine. Les échantillons sont colorés à l'hémalum de Harris qui est un colorant basique qui colore les structures acides (noyaux) en violet.

-Puis un rinçage à l'eau de robinet est effectué pour éliminer les traces du premier colorant.

-Les échantillons sont mis dans le deuxième colorant, l'éosine qui est un colorant acide qui colore les structures cytoplasmiques basiques en rose.

-Les échantillons sont rincés à l'eau de robinet puis passent dans des bains d'alcools croissant pour une éventuelle déshydratation.L'éclaircissement dans deux bains de xylène est la dernière étape pour obtenir des coupes claires.

-A la fin de la coloration, on réalise le montage des lames pour une meilleure conservation des échantillons. On dépose une goutte d'Eukkit sur la lame puis on la recouvre avec une lamelle, on appuis légèrement pour que la lamelle adhère et on laisse les lames sécher à l'air libre.

-

Une fois sèches, nos lames sont prêtes à l'observation microscopique et la prise de photos à différents grossissements (100 et 400Gx). La figure ci-dessous montre la batterie de coloration.



Figure15: Batterie de coloration

RÉSULTATS

ET

DISCUSSIONS

II Résultats et discussion

Les résultats du présent travail qui a porté sur l'étude de l'impact de l'extrait de *costus indien* sur la fonction ovarienne des rats rendus hypothyroïdiens par le thiocyanate de potassium sont présentés en deux parties

- La première partie concerne les résultats de l'analyse biochimique de l'extrait de *Saussurea Costus*
- La deuxième concerne les résultats du test in vivo de cet extrait sur des rats ayant reçu un antithyroïdien de synthèse « KSCN ».

Analyses phytochimiques quantitatives de *Costus indien*

Calcul de rendement d'extraction

Le rendement a été calculé selon l'équation suivante :

$$R (\%) = [M1 / M0] \times 100$$

R % : Rendement en extraits exprimée en g /100g de matière sèche.

M1 : quantité d'extrait récupérée exprimée en (g).

M0 : quantité de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en (g).

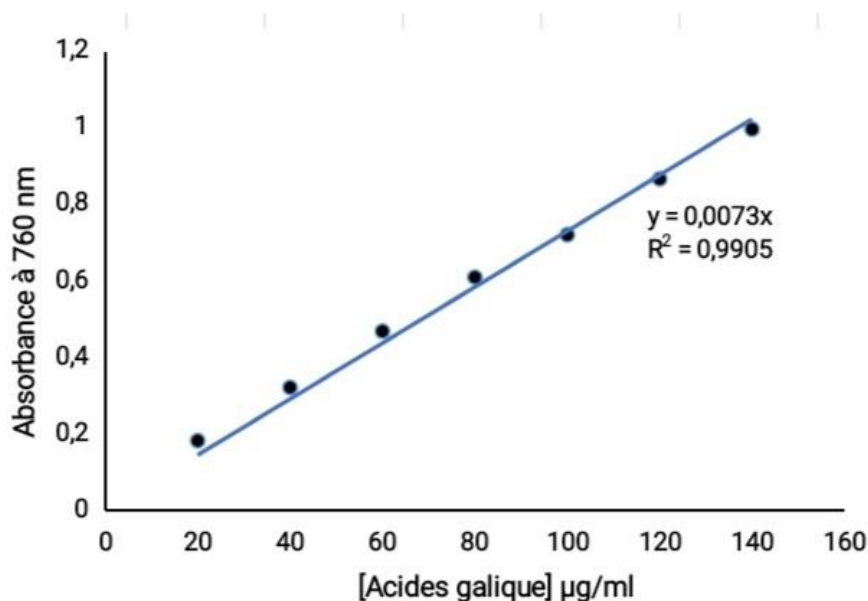
	Masse de la poudre de <i>Costus indien</i> en (g)	Masse de l'extrait récupéré (g)	Le rendement en %
Extrait	10g	2.82g	28 .2%

Les résultats obtenus montrent que l'extrait brut possède un rendement très élevé avec un pourcentage de 28.2% comparativement aux résultats obtenus par (**Hocini, 2019**) dans son étude qui a porté sur l'analyse biochimique de *costus indien* dont le rendement n'est que de 14%. Cette différence pourrait s'expliquer par le choix du procédé d'extraction, notamment la nature des solvants utilisés ou encore, la composition de la plante elle même qui varie en fonction de certains facteurs. En effet, la région, le climat et la nature du sol constituent des facteurs de variation en certains composés ainsi que l'âge de la plante aussi. (**Tag et al., 2016**)

Détermination de taux de polyphénols

L'analyse quantitative des phénols totaux, est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en mg équivalent d'acide gallique.

Avant de passer à la détermination de la teneur en composés phénoliques nous avons établi une courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique comme composé de référence (**figure III.1**).



❖ Teneur en polyphénols:

Tableau5: L'absorbance des polyphénols de l'extrait et le blanc

Extraits			Blanc
1	2	3	0,094nm
0,507nm	0,535nm	0,504nm	

L'analyse quantitative des phénols totaux est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de poudre végétale ($y=0,0073x$) Nos résultats montrent que la teneur en polyphénols a été enregistrée avec l'extrait aqueux (28,85+- 1,17mg EAG/G d'ES)L

L'activité antioxydante:

❖ Piégeage du radical libre DPPH:

Les résultats présentés dans la figure des IC50 de l'extrait aqueux pour inhiber le radical libre, montre que l'extrait testés possèdent une activité antiradicalaire importante avec l'IC50 ($6,46 \pm 0,26$ mg/ml) pour trouver L'IC50 doit mètre $y=50$

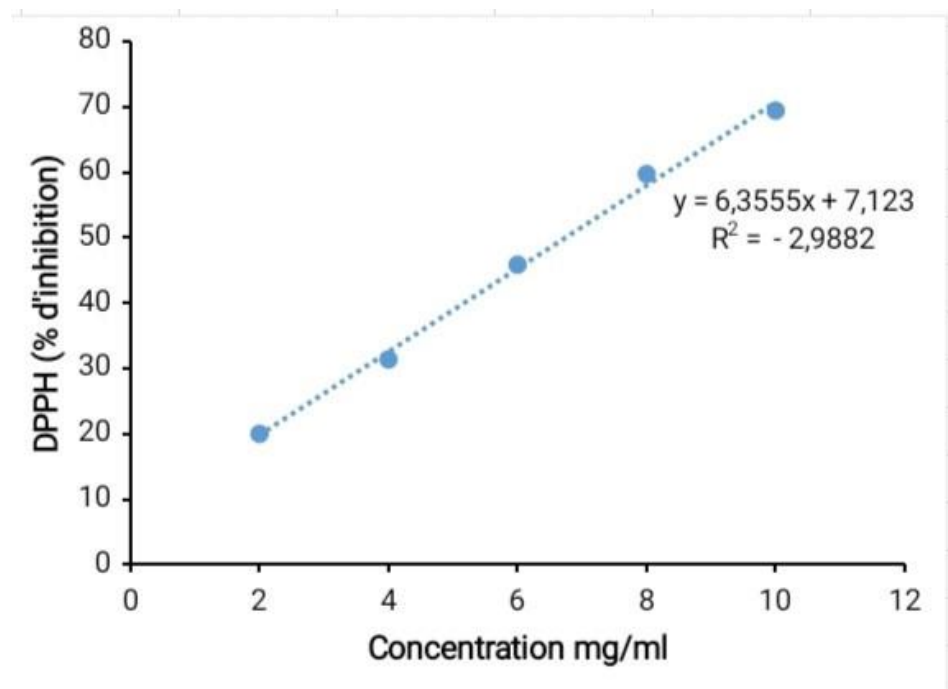
$$y=6,3555x+7,123$$

$$IC50= 50=6,3555x+7,123$$

$$x=6,74$$

$$\text{Moyenne écartype}=0,261024$$

$$IC50= 6,46\pm 0,26 \text{ mg/ml}$$



Les résultats du test de l'activité antiradicalaire réalisée par le piégeage du DPPH, ont montré que la plante que nous avons utilisé possède une activité antioxydante jugée très intéressante qui est de l'ordre de 3 fois et dix fois plus élevée par rapport aux résultats obtenus par (Hocini 2019., Zioui et Benbetka 2020) $6,46\text{mg/ml}$ vs $2,42\text{mg/ml}$ et $0,681\text{mg/ml}$ respectivement.

II -1-4.Détermination de l'humidité des racines de *Saussurea Costus*

L'espèce *Saussurea Costus* a révélé un taux de 80%, ce qui signifie que le taux de matière sèche ayant servi réellement à l'extraction des polyphénols est de 20%

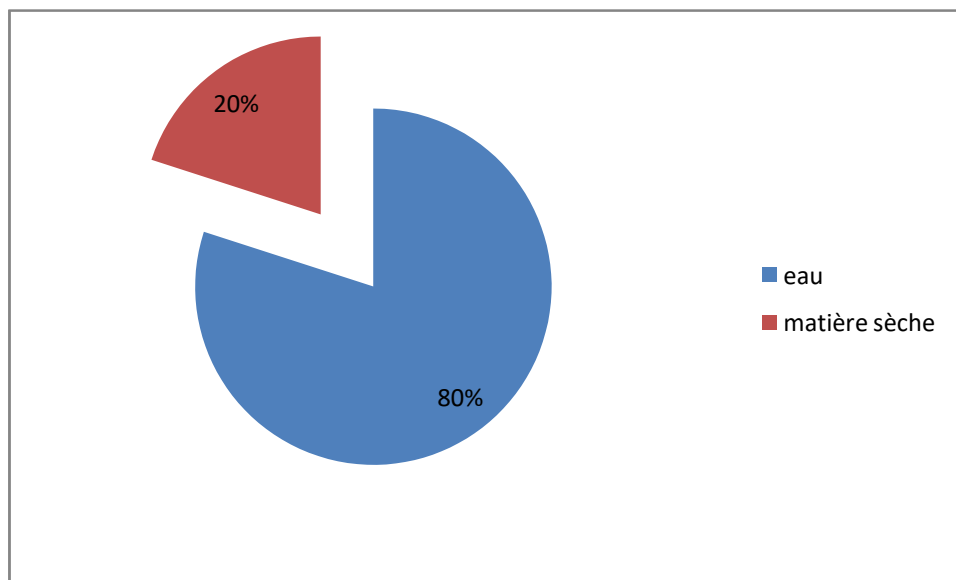


Figure 18 : Taux d'humidité de *Saussurea Costus*

M : La masse de l'échantillon avant séchage (g)	M' masse de l'échantillon après séchage (g)	H% Taux d'humidité
1g	0.2g	80%

II- 2-Résultats du test *in vivo*

Les résultats de cette étude sont présentés en deux partie

II-2-1-Impact du thiocyanates de potassium sur l'histologie de l'ovaire.

Les résultats de l'étude histologiques réalisée chez des petits rats femelles issus des deux lots témoin et traité par le KSCN sont illustrés par les planches I et II ci-dessous aux grossissements Gx100 et Gx400 respectivement

Témoin

Traité au KSCN

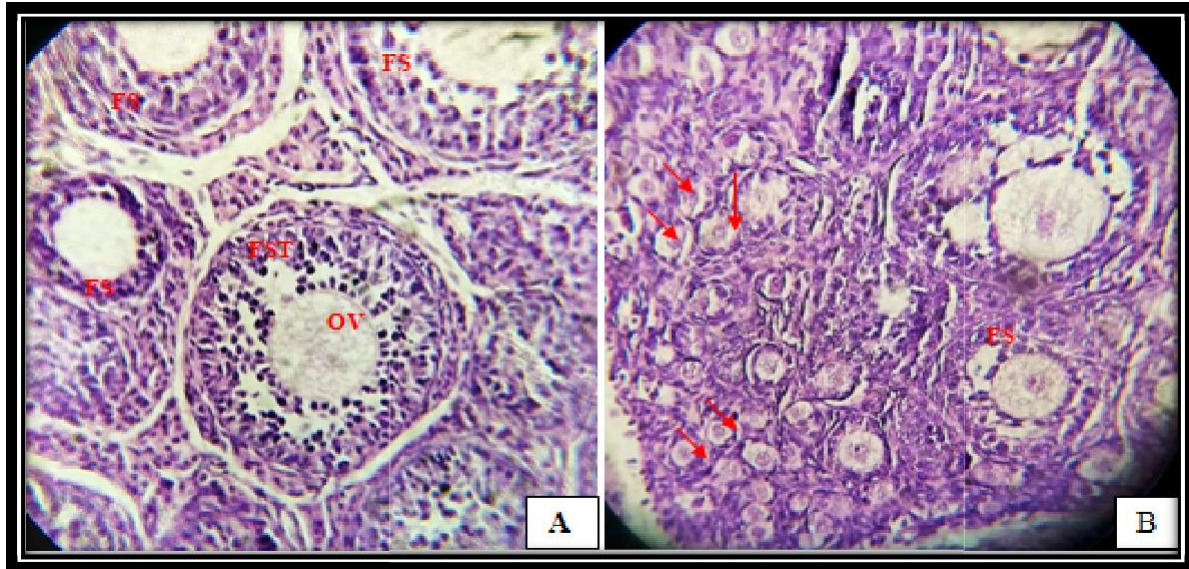


Planche 1 : photomicrographie de coupes histologiques des ovaires de rates témoins traitées au KSCN observées sous microscope optique Gx100 (H/E)

FS : Follicule secondaire, OV : ovocyte , FST : follicule secondaire tardif, follicules primordiaux

Témoin

Traité au KSCN

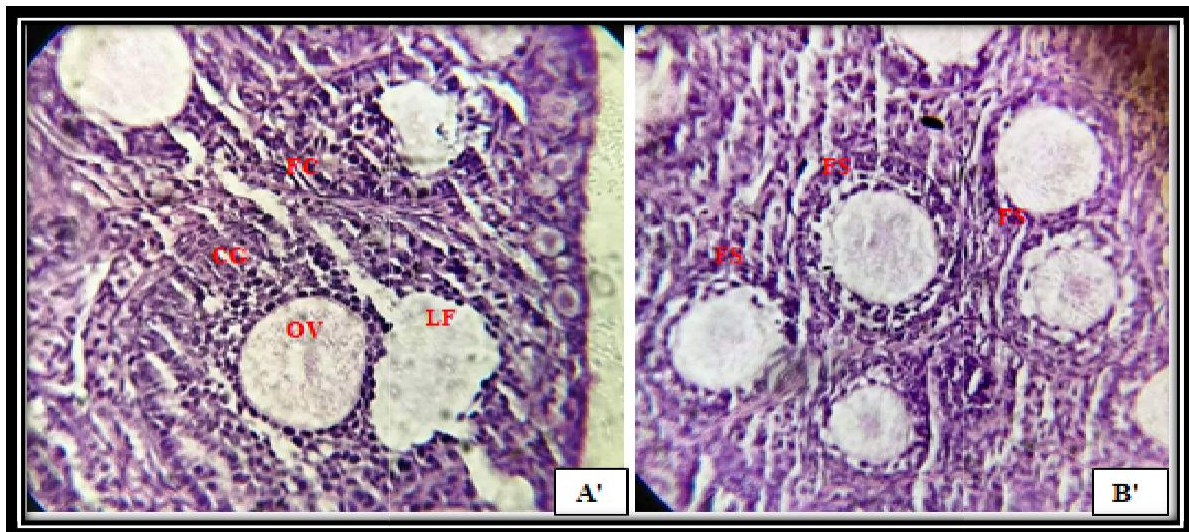


Planche 2 : photomicrographie de coupes histologiques des ovaires de rates témoins et traitées au KSCN observées sous microscope optique Gx400 (H/E)

FS : follicule secondaire ; FC : follicule cavitaire, OV : ovocyte , LF : liquide folliculaire

Les photomicrographies des planches I et II qui représentent la structure histologique des ovaires des petites rattes issus des lots témoin et traité par le thiocyanates de potassium, révèlent des différences structurales marquées notamment par un décalage du degré de croissance des follicules.

En effet sur la coupe A et A' qui représentent les témoins, on observe des follicules secondaires à différents stades évolutifs allant du secondaire précoce vers le secondaire tardif ou préantral ainsi que des follicules cavitaires avec une cavité antrale plus au moins évoluée, tandis que sur la coupe B et B' qui représentent la structure des ovaires des rattes issus du lot traité, nous enregistrons l'abondance de follicules primordiaux avec quelques follicules primaires et secondaires précoces.

Ces différences structurales obtenues pourraient s'expliquer par un blocage du processus de la croissance folliculaire chez les traitées par le KSCN à des stades précoces d'où l'abondance des follicules primordiaux.

Bien que le traitement utilisé n'est pas spécifique pour l'induction des troubles de la fonction ovarienne, mais ce retard de croissance est probablement dû à une éventuelle hypothyroïdie survenue suite à la consommation de cet antithyroïdien. Donc c'est un effet indirect qui met en évidence l'étroite interaction entre ces deux fonctions thyroïdienne et ovarienne.

En ce sens, (**Chan et al .,1995**) ; ont montré dans leurs études menée sur des souris, que le traitement par un antithyroïdien, entraîne l'atrophie ovarienne avec un arrêt de croissance folliculaire.

En outre, (**Ortega et al., 1990**) ont rapporté qu'une thyroïdectomie pratiquée sur des rattes prépubères, entraîne un retard du développement ovarien et utérin, accompagné par un retard de la maturité sexuelle.

II-2-2- Impact de l'extrait de *costus indien* sur l'histologie de l'ovaire.

Les résultats de la deuxième étape de l'expérience qui consiste à la correction de l'hypothyroïdie par *costus indiens* sont illustrés par les planches III et IV aux

grossissements Gx100 et Gx400 respectivement.

Planche 3: photomicrographie de coupes histologiques des ovaires de rates traitées au KSCN et les traitées par l'extrait de *costus indien* observées sous microscope optique Gx100 (H/E)

FS : follicule secondaire, FC : follicule cavitaire,
Follicule primaire

follicule primordial

Traitées par KSCN

Traitées par *Saussurea Costus*

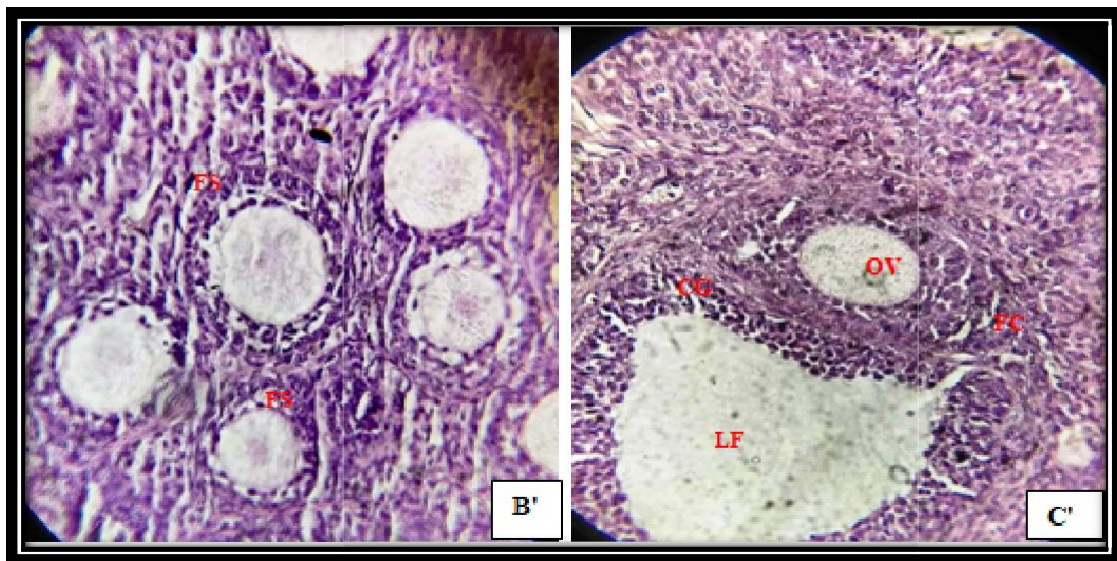


Planche 4 : photomicrographie de coupes histologiques des ovaires de rates traitées au KSCN et les traitées par l'extrait de *Costus indien* observées sous microscope optique Gx400 (H/E)

FS : Follicule secondaire, Ov : ovocyte, CG, cellules de Granulosa, LF : liquide folliculaire

Durant la deuxième étape de la présente étude, nous avons tenté corriger l'hypothyroïdie induite par l'ingestion du thiocyanates de potassium par l'extrait brute de *costus indien* et de vérifier les répercussions sur la structure histologiques des ovaires. Les résultats obtenus sont présentés par la planche III et IV. Les photomicrographies B et C de la planche III et B' et C' de la planche IV mettent en évidence une nette différence structurale en terme de croissance folliculaire.

En effet, sur la coupe C qui représente les jeunes rates soumises au traitement par *costus indien*, on observe quelques follicules primordiaux qui ne sont pas du même degré d'abondance que chez les traitées par KSCN, avec apparition des follicules à différent stades évolutifs, à savoir le primaire, le secondaire et surtout les follicules cavitaires.

Sur la coupe C' qui représente toujours les traitées par *costus i dien* observée au

grossissement Gx400, on constate la présence de follicules cavitaire à un stade très avancé proche du stade de De-Graaf, comparativement aux traitées par le KSCN représentées sur la coupe B', nous n'observons que des follicules secondaires à un stade précoce.

Ces différences de croissance folliculaires constatées sur les structures des ovaires des traitées par le KSCN et les traitées par *costus indien* pourraient être attribuées aux effets des deux traitements administrés.

Contrairement aux effets néfastes induits par le KSCN et qui consistent à un blocage de la croissance folliculaire, l'extrait de *costus indien* semble avoir un effet inverse, il a permis la reprise de l'activité ovarienne, notamment l'activité stéroïdogène qui reflète la présence de follicules à différents stades évolutifs.

Les études antérieures réalisées sur les vertus de *costus indien*, n'ont pas rapportés d'effets directs sur la fonction ovarienne, néanmoins, (Mujammami et al 2020), dans leur étude, ont montré que l'extrait de *costus* a un effet protecteur sur le tissu testiculaire contre les effets toxiques de l'éthéphon, en améliorant la qualité du sperme, protégeant l'ADN comme il stimule aussi l'expression de P53.

Ces effets pourraient être attribués à ses composés phénoliques qui possèdent un haut niveau d'activité antiradicalaire

Discussion.

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative. Elle est influencée par la méthode d'extraction choisie en fonction des composés phytochimiques à étudier. D'autres facteurs, comme la nature du solvant d'extraction, la température et les étapes d'extractions individuelles jouent également un rôle important dans cette procédure. Les études précédentes montrent que le méthanol est le solvant le plus utilisé pour une haute récupération de composés phénolique. Toutefois dans notre essai, nous avons utilisé l'eau distillée comme solvant Selon le protocole de d'après les résultats d'(Omer et al .,2019).

La présente étude a été menée pour évaluer l'effet de l'extrait de *costus indien* sur la fonction ovarienne des rattes ayant étaient soumises préalablement à un traitement antithyroïdien. Elle vise la mise en évidence des étroites interactions entre les deux fonctions thyroïdienne et ovarienne et l'étude des répercussions de la correction de l'hypothyroïdie sur la fonction ovarienne.

En effet? l'administration du KSCN à une dose de 1g/l dans l'eau de boisson pendant deux mois a entraîné un blocage ou plus exactement un retard de croissance folliculaire. Ceci est

confirmé par la structure histologique qui montre que la majorité des follicules étaient restés bloqués au stade primordial.

Ceci pourrait s'expliquer par l'effet indirect de cette molécule sur l'activité de l'ovaire tout en ayant induit une hypothyroïdie qui en était la cause principale.

Les travaux de (**Mruo et al .,1987**), (**Gerhad et al .,1991**) et (**Tomasi et al., 1997**) ont mis en évidence la présence des récepteurs de la T3 sur les cellules de la granulosa, ils ont montré que la T3 est un puissant stimulateur de la stéroïdogénèse et activateur de la FSH.

Parallèlement, (**Stuber et al .,1989**) et (**Fitko et al.,1996**) à travers leur étude menée sur les truies hypothyroïdiennes, ont montré que la baisse des niveaux de T3 et T4 entraîne des troubles stéroïdogène qui se traduisent par un retard de croissance folliculaire.

En ce sens, (**Chan et al .,1995**) ont montré que l'administration de la T3 à des femelles hypothyroïdiennes restaure l'activité stéroïdogène et augmente le nombre de follicules en croissance.

Les résultats de ces études antérieurs confirment l'effet néfaste du KSCN qui a du induire une hypothyroïdie et qui s'est répercuté sur la fonction ovarienne. L'administration de l'extrait de costus indien à une dose de 150mg/kg de poids vif a permis d'avoir un effet inverse du KSCN, il permet de relancer la croissance folliculaire qui se traduit par la présence des follicules à différents stades évolutifs, notamment le stade cavitaire qui est le plus abondant.

Bien que l'effet direct n'a pas été établi, mais les travaux (**Mujammami et al .,2020**) qui ont montré un effet stimulateur de l'extrait de costus sur l'activité testiculaire pourrait nous donner une idée pareil sur la fonction ovarienne. Le fait que l'amorce de l'activité stéroïdogène ainsi que ses stimulateurs gonadotropes par la FSH et LH sont les mêmes, ce ci pourrait nous renseigner sur son effet similaire sur l'ovaire.

En outre, les études précédentes de (**Ashwini et al 2017** et **Mujammami et al 2020**), réalisés sur l'effet costus indien sur la restauration des niveaux des hormones thyroïdiennes chez des rats wistar rendus hypothyroïdiens par le propylthiouracil PTU, ont montré que la richesse de cet extrait en composés phénoliques dotés d'une haute activité antiradicalaire a permis de mener à la hausse les niveaux de T3 et T4 et de baisser en contre partie les niveaux de TSH.

De ce fait, nous pouvons dire que l'extrait de costus indien a pu améliorer l'activité ovarienne en améliorant préalablement la fonction thyroïdienne.

Conclusion

ET

Perspectives

Conclusion et perspectives

Au terme de ce travail qui a porté sur l'étude de l'effet de l'extrait de *Costus indien* sur la fonction ovarienne chez des rates rendues hypothyroïdiennes par le thiocyanate de potassium, nous avons obtenu des résultats encourageants tant sur l'ovaire que sur la thyroïde qui a fait l'objet d'une étude qui s'est déroulée en parallèle. En effet, l'effet de l'antithyroïdien qui a induit une hypothyroïdie et un retard de croissance folliculaire a pu être corrigé par l'extrait de la plante et ce probablement de part sa richesse en substances bioactives notamment les polyphénols qui contrecarrent l'effet du KSCN sur la thyroïde et qui s'est répercuté sur la fonction ovarienne. Pour cela, nous pouvons conclure que cette plante pourrait être utilisée du moins, comme adjuvant thérapeutique dans le traitement des troubles du fonctionnement thyroïdien ainsi que les troubles de fertilité. Bien que les données de cette plante dont nous nous disposons jusque-là, ne sont pas satisfaisantes notamment dans le domaine endocrinien, les résultats auxquels nous avons abouti peuvent nous renseigner sur le mode d'action de cette plante qui agit plutôt au niveau thyroïdien dont dépend la fonction testiculaire. Cela est confirmé par les résultats d'une étude parallèle menée la glande thyroïde. Les résultats préliminaires de cette étude méritent d'être étayés, par d'autres tests, à savoir, le dosage des hormones thyroïdiennes, la TSH, utilisation de marqueurs biochimiques et immunohistochimiques

Perspectives

Ces résultats semblent être prometteurs pour encourager l'utilisation de *Costus indien* comme traitement substitutif dans le cas d'hypothyroïdie, toute fois, la méconnaissance de tous les effets secondaires sur les autres systèmes, demande de la prudence pour éviter tout effet néfaste. Cette plante *Saussurea costus*, comme toutes autres plantes médicinales qui restent jusque-là d'usage traditionnel, méritent d'être étudiées dans la pluridisciplinarité pour pouvoir bénéficier de leurs vertus. En guise de conclusion, nous pouvons dire que cette espèce «*Saussurea costus*», bien qu'elle a fait l'objet de plusieurs travaux mais elle reste encore un domaine vierge à exploiter, vu que les résultats que nous avons obtenus restent encore préliminaires, il est souhaitable de réaliser des analyses hormonales et établir des études plus approfondies et plus larges pour déterminer les molécules cibles et leurs mécanismes d'action pour une éventuelle efficacité du traitement.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Alain R., Sylvie T.(2007). Anatomie et physiologie. Elsevier Masson, Paris, 234.
2. Alain R.,Sylvie Théron. (2007). Anatomie et physiologie. Elsevier Masson, Paris, 234.
3. B. Lefèvre. (2010). L'atrésie folliculaire : ses facteurs régulateurs peuvent-ils être marqueurs de la qualité de l'ovocyte en AMP? Quinzièmes Journées nationales de la Fédération française d'étude de la reproduction. Paris. P59.
4. B. Lefèvre.(2010). L'atrésie folliculaire : ses facteurs régulateurs peuvent-ils être marqueurs de la qualité de l'ovocyte en AMP? Quinzièmes Journées nationales de la Fédération française d'étude de la reproduction. Paris. 59.
5. Bapalal G., Nighantu A. (1998). vol. I. Chaukhambha Bharti Academy, Varanasi, 744–745.
6. Bhogaonkar P., Devarkar V., Lande S., Physical characterization of *Costus speciosus* (Koenig Ex Retzi). Smith-A well Known Ayurvedic Drug plant
7. BremerK.(1994). Asteraceae-Ladistic and Classification. Timber Press, Port-land, Oregon, U.S.A.
8. Breme K.(1994). Asteraceae-Ladistic and Classification. Timber Press, Port-land, Oregon, U.S.A.
9. Chopra R., Nayar L., Chopra, I.C.(1956). Glossary of Indian Medicinal Plants. Publication and Information Directorate, CSIR, New Delhi, India
10. Dhar H., Virjee, P., Kachroo, P and Buth M.(1984). Ethnobotany of Kashmir—I. Sind valley. Journal of Economic and Taxonomic Botany 5, 668–675.
11. Dunaif A., Zimmermann E., Friesen HG and Frantz AG.(1982). Intracellular localization of prolactin receptor and prolactin in the rat ovary by immunocytochemistry. Endocrinology110, 1465-1471.
12. Gronier H., Sonigo C., Jacquesson L. (2015). Impact du fonctionnement thyroïdien sur la fertilité du couple. Elsevier Masson SAS.
13. Hazard L., Perlemuter A.(1983). Endocrinologie. 2^e édition. Masson, Paris.
14. Jain S.(1984). Ethnobotany of Morni and Kalesar (Ambala, Haryana).

Journal of Economic and Taxonomic Botany 5, 809–813.

15. Jiang J. , Sønderby I., Halkier B and Jander G.(2009). Nonvolatile intact indole glucosinolates are host recognition cues for ovipositing *Plutella xylostella*. *J. Chem. Ecol* 358 ,1427- 1436
16. Kala C., Manjekar.,N.(1999). Ethnomedicobotany of Indian Trans Himalaya. A case study from Spiti. *Journal of Economic and Taxonomic Botany* 23, 177p–183p.
17. Kapoor L., (2001). *Handbook of Ayurvedic Medicinal Plants*. CRC Press, Washington 299–300.
18. Kirtikar K., Basu.,D. *Indian Medicinal Plants*. Internat. Book Distributors, Dehra Dun, (1987) 2444-2449.
19. Kirtikar R., (1987) *Indian medicinal plants In: Compositae, 2nd Vol. International book distributors, Dehradun* 1420–1423
20. Kumar N., Kumar., A.(1989). Durlabh hoti chamatkaric aushadhi-Kuth. *Sachitra Ayurveda* 25–29.
21. Kuniyal P., et al. (2019). "Is cultivation of *Saussurea costus* (Asterales: Asteraceae) sustaining its conservation?" *Journal of Threatened Taxa*13, 14745-14752
22. Madhuri K., Elango, K., & Ponnusankar S. (2011). *Saussurea lappa* (Kuth root): review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 12(1), 1p-9p.
23. McNatty KP., Hunter WN., McNeilly AS., Sawers RS.(1975). Changes in the concentration of pituitary and steroid hormones in the follicular fluid of human graafian follicles throughout the menstrual cycle. *J. Endocrinol* 64, 555p-571p
24. Michel L(2015). *L'ABEEGE d'anatomie et de physiologie humaines*. 7^e édition. Lamarre. Paris,
25. Muhammad S, Bashir S, Muhammad N and Malik R.(2013). Cardiotoxic activity of methanolic extract of *Saussurealappa* Linn roots. *Pakistan Journal of PharmceuticalSciences*26,1197-1201.
26. Multigner L., Rouget F., Costet N., Monfort C., Blanchet P andCordier S.(

- 2018).Chlordécone : un perturbateur endocrinien emblématique affectant les Antilles Françaises . Bulletin épidémiologique Hebdomadaire 22,23-85
27. Nautiyal, S., Maikuri, R.K., Rao, K.S., Saxena, K.G and (2003). Ethnobotany of the Tolcha Bhotia tribe of the buffer zone villages in Nanda Devi Biosphere Reserve India. *Journal of Economic and Taxonomic Botany* 27, 119–142.
 28. Rajender K., Shanti S. (2014) . *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 1, 92–97.
 29. Rajkumar K., Kirkwood., N and Thacker.,A. (1993). Effects of growth hormone on FSH' insulin and triiodothyronine-mediated estradiol production by granulosa cells from prepubertal gilts in vitro. *Can. J. Anim. Sci* 73, 443-447.
 30. Rao R., Raju S., Babu S. (2013) Vadaparthi PRR. HPLC determination of costunolide as a marker of *Saussurea lappa* and its herbal formulations. *Int J Biochem* 3, 99-107.
 31. Rao R., Chawdhery J., Hajra P., Kumar S., and Mathur R.(1988). *Flora Indica Enumeratio-Asteraceae*. BSI, Calcutta.
 32. Shah N.(1982). Herbal folk medicines in northern India. *Journal of Ethnopharmacology* 6, 293–301.
 33. Sherwood.(2006). *Physiologie Humaine*. 2^e édition. Nouveau horizons de boeck, Bruxelles.
 34. Singiressu S.,Chahal,K., Singla N.(2017). Chemical composition and pharmacological activities of *Saussurea lappa*: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1298-1308.
 35. Srivastava S.,Singh P.,Mishra G., and Khosa L. (2011).*Costus speciosus* (Keukand) : A review .Pelagia Research Library, ISSN09,76-88.
 36. Tortora D. (2010). *Principes d'anatomie et de physiologie*. 4^e edition de boeck. Canada 678-681.
 37. Tsarong T.(1994). *Tibetan Medicinal Plants*. Tibetan Medical Publications, India.
 38. Warriar K.,Nambiar V and Ramankutty C. (1994) .*Indian Medicinal Plants* ,1-5. Orient Longman Ltd., Madras

39. Zahara K., Tabassum S., Sabir, S., Arshad M., Qureshi R., Amjad S and Chaudhari K. (2014). A review of therapeutic potential of Saussurea lappa-An endangered plant from Himalaya, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*.
40. Zygmunt M., Maria B. (2019) .Potassium thiocyanate. Disponible sur <https://www.science direct.com>.

Résumé

Nous avons essayé à travers la présente étude d'utiliser l'extrait d'une plante médicinale *Costus indien*, « *Saussurea Costus* » dans la correction de l'hypothyroïdie induite chez des rats par le thiocyanates de potassium KSCN et de vérifier les répercussions sur la fonction ovarienne. Des rats wistar ont été rendus hypothyroïdiens par ingestion du Thiocyanates de potassium à raison de 1g/l dans l'eau de boisson pendant deux mois. Puis un traitement par l'extrait de *Costus indien* à raison de 150mg/kg de poids vif à été réalisé par gavage pendant un mois. Les résultats de l'étude histologique réalisée sur les ovaires des femelles témoins, les traitées par KSCN et les traitées par *Costus indien* ont révélé un retard de croissance folliculaire chez les traitées par le KSCN qui s'exprime par l'abondance des follicules primordiaux, tandis que le traitement par *Costus indien* a permis la reprise de l'activité marqué par la présence des follicules à différents stades évolutifs, notamment les follicules secondaire tardifs et les follicules cavitaires.

Mots clés : *Costus indien*, ovaire, thyroïde, thiocyanate de potassium .

Abstract

In the present study, we have tried to use the extract of a medicinal plant *Costus indiana* "Saussurea Costus" in the correction of hypothyroidism induced in rats by potassium thiocyanates KSCN and to check the repercussion on the ovarian function. Wistar rats were made hypothyroid by ingestion of potassium thiocyanate at a rate of 1g/l in the drinking water for two months. Then a treatment with Indian Costus extract at a rate of 150mg/kg of body weight was performed by gavage for one month. The results of the histological study carried out on the ovaries of the control females, the KSCN treated females and the Indian Costus treated females revealed a delay in follicular growth in the KSCN treated females which is expressed by the abundance of primordial follicles, while the Indian Costus treatment allowed the resumption of the activity marked by the presence of follicles at different evolutionary stages, in particular the late secondary follicles and the cavity follicles .

Key words: Indian Costus, ovary, thyroid, potassium thiocyanate.

ملخص

حاولنا من خلال هذه الدراسة استخدام مستخلص نبات طبي "القسط الهندي" في تصحيح قصور الغدة الدرقية الناجم عن الفئران بواسطة ثيوسيانات البوتاسيوم وللتحقق من تداعيات ذلك على وظيفة المبيض. أصيب فئران ويستار بقصور الغدة الدرقية عن طريق تناول ثيوسيانات البوتاسيوم بمعدل 1 جم / لتر في مياه الشرب لمدة شهرين. ثم تمت المعالجة بمستخلص القسط الهندي بمعدل 150 مجم / كجم من وزن الجسم بالتغذية القسرية لمدة شهر. أظهرت نتائج الدراسة النسيجية التي أجريت على مبايض الإناث الضابطة والمعالجة بالقسط الهندي تأخيراً في نمو الجريب في المعاملة بوالذي يعبر عنه بكثرة الجريبات البدائية، بينما القسط الهندي سمح العلاج باستئناف النشاط المميز بوجود البصيلات في مراحل تطورية مختلفة، ولا سيما البصيلات الثانوية المتأخرة وجريبات التجويف. وفقاً للنتائج التي حصلنا عليها، يبدو أن مستخلص القسط الهندي كان قادراً على استعادة نمو الجريبات الذي تباطأ جزئياً بسبب ثيوسيانات البوتاسيوم بينما كان له تأثير محفز سابقاً على وظيفة الغدة الدرقية التي يعتمد عليها نشاط المبيض.

الكلمات المفتاحية : القسط الهندي، المبيض، الغدة الدرقية، ثيوسيانات البوتاسيوم.