

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 22 Octobre 2021

Par M CHAYANI Mohamed

Caractérisation des effets pro-apoptotique et antiprolifératif de la thymoquinone (principe actif de *Nigella sativa*). Vers un nouveau traitement de la leucémie aiguë lymphoblastique ?

Membres du jury :

Président : Dr **KARROUT Youness**, Maître de conférences, Laboratoire de Pharmacotechnie Industrielle, Université de Lille

Directeur, conseiller de thèse : Dr **TAGZIRT Madjid**, Maître de conférences, Laboratoire d'Hématologie, Université de Lille

Membre extérieur : Dr **MALLET Alexandre**, Docteur en pharmacie, Pharmacie du Trichon à Roubaix



Faculté de Pharmacie
de Lille



3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-présidente formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-président stratégie et prospective	Régis BORDET
Vice-présidente ressources	Georgette DAL
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et Assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la Faculté :	Claire PINÇON
Assesseur à la pédagogie :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Victoire LONG

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	DEPREUX	Patrick	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques

Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique et application de RMN
Mme	DEPREZ	Rebecca	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DEPREZ	Benoît	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie industrielle
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Éric	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale
Mme	CHARTON	Julie	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	FLIPO	Marion	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique

Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences Végétales et Fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / service innovation pédagogique
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie

Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DHANANI	Alban	Législation et Déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et
M.	GILLOT	François	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

ATER

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	GHARBI	Zied	Biomathématiques
Mme	FLÉAU	Charlotte	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale
M.	RUEZ	Richard	Hématologie

M.	SAIED	Tarak	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
Mme	VAN MAELE	Laurye	Immunologie

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements:

Président de jury Monsieur Karrouit Youness : Merci d'avoir accepté d'être le président de mon jury, merci pour votre engagement et vos enseignements durant mon parcours universitaire. Veuillez accepter l'expression de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

Monsieur Tagzirt Madjid : Merci à vous d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse et de m'avoir accompagné dans l'écriture de celle-ci. Ma thèse a pu voir le jour grâce à vous et je vous en suis très reconnaissant. Merci pour vos précieux conseils.

Monsieur Mallet Alexandre : Merci Alexandre d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Merci pour tout ce que tu m'enseignes au sein de ton officine. Tu étais déjà le pharmacien de ma famille et maintenant mon collègue. C'est un honneur pour moi de travailler avec toi.

A ma mère : Merci pour tout ! Les mots ne suffisent pas pour t'exprimer mon amour et toute ma gratitude. Tu m'as tout donné et je suis là où j'en suis grâce à toi ! J'espère passer encore de long moment à tes côtés !

A mon père, tu n'es malheureusement pas présent pour la finalité de cette thèse, mais tu as pu en voir le commencement. Merci à toi pour tout ce que tu m'as appris, les valeurs que tu m'as enseigné. Je te dédicace cette thèse. Que l'Unique te fasse miséricorde, repose en paix Papa !

A ma famille, mes 6 sœurs et mon frère, vous m'avez vu grandir, vous m'avez toujours soutenu dans mes choix et projets personnels comme professionnels ! Je vous dois beaucoup, merci à vous ! Vous êtes merveilleux!

A mon épouse Hasnae, avec qui j'ai le bonheur de partager ma vie. Merci pour tout ce que tu m'apportes. Ton aide est très précieuse, merci pour ton soutien journalier ! Tu es exceptionnelle !

A mes amis, durant ces dernières années d'études, on a passé d'excellents moments et j'en garde d'excellents souvenirs. Merci à vous pour ce que vous apportez à ma vie. Vous êtes un grand soutien pour moi !

TABLES DES MATIERES

INTRODUCTION.....	20
1 PHYSIOLOGIE DU SANG ET DE LA LEUCEMIE AIGUË LYMPHOBLASTIQUE.....	22
1.1 ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DU SANG	22
1.1.1 <i>Généralité : les cellules sanguines</i>	22
1.1.1.1 La production des cellules sanguines.....	22
1.1.2 <i>L'hématopoïèse</i>	23
1.1.2.1 Les cellules souches hématopoïétiques (CSH).....	23
1.1.2.2 Les progéniteurs	23
1.1.2.3 Les précurseurs	24
1.1.3 <i>Les lymphocytes</i>	26
1.2 LA LEUCEMIE AIGUË LYMPHOBLASTIQUE (LAL).....	29
1.2.1 <i>Epidémiologie</i>	29
1.2.2 <i>Classification clinique des leucémies aiguës lymphoblastiques</i>	29
1.2.3 <i>Les causes et facteurs de risques de la LAL</i>	31
1.2.4 <i>Les signes cliniques de la LAL</i>	31
1.2.5 <i>Les signes biologiques</i>	32
1.2.6 <i>Les traitements actuels</i>	34
1.2.6.1 Les patients éligibles à une chimiothérapie longue et intensive : Sujet de moins de 60 ans	35
1.2.6.2 Patients non éligibles à une chimiothérapie intensive : Patient > 60 -65 ans avec comorbidités	36
1.2.7 <i>Les mesures associées</i>	36
1.2.7.1 Greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH).....	36
1.2.7.2 La radiothérapie.....	37
1.2.7.3 Thérapies ciblées	37
1.2.8 <i>Les effets indésirables et complications précoces des traitements</i>	38
2 LA GRAINE DE NIGELLE (NIGELLA SATIVA)	39
2.1 CLASSIFICATION ET DESCRIPTION DE <i>NIGELLA SATIVA</i>	39
2.1.1 <i>Classification</i>	39
2.1.2 <i>Description botanique de la plante Nigella sativa</i>	41
2.2 UTILISATION DE LA GRAINE DE NIGELLE AU COURS DE L'HISTOIRE	47
2.2.1 <i>Dans l'Antiquité</i>	47
2.2.2 <i>Au Moyen-âge</i>	47
2.2.3 <i>Epoque moderne</i>	48
2.3 FORMES NATURELLES ET GALENIQUES	50
2.3.1 <i>Graines</i>	50
2.3.2 <i>Poudre</i>	50
2.3.3 <i>Huile essentielle</i>	51
2.3.4 <i>Huile grasse</i>	51
2.3.5 <i>Gélules</i>	52

2.4	COMPOSITION DE LA GRAINE DE NIGELLE	52
2.4.1	<i>Composition générale</i>	52
2.4.2	<i>La thymoquinone</i>	54
3	ETUDE D'ARTICLES : EFFETS DE LA THYMOQUINONE DANS UN MODELE EXPERIMENTAL DE LEUCEMIE AIGÜ LYMPHOBLASTIQUE (LAL).	
	57	
3.1	ETUDE 1 : EFFET PRO-APOPTOTIQUE, DOSE ET TEMPS DEPENDANT DE LA THYMOQUINONE	59
3.1.1	<i>But de l'étude</i>	59
3.1.2	<i>Méthode expérimentale</i>	60
3.2	ETUDE 2 : EFFET ANTIPROLIFERATIF ET APOPTOTIQUE DE LA THYMOQUINONE SUR UNE LIGNEE CELLULAIRE LEUCEMIQUE	66
3.2.1	<i>Méthode expérimentale</i>	66
3.2.2	<i>Action sur le cycle cellulaire</i>	68
3.2.3	<i>Activation sur les voies caspases</i>	70
3.2.4	<i>Mécanisme d'action de la thymoquinone</i>	71
4	PARTIE 4: QUESTIONNAIRE	75
4.1	INTERPRETATION DES RESULTATS	78
4.1.1	<i>Objectifs</i>	78
4.1.2	<i>Pharmaciens et méthode</i>	78
4.1.3	<i>Le questionnaire pharmacien</i>	78
4.1.3.1	Connaissance et pertinence de l'échantillon	79
4.1.3.2	Utilisation de manière générale des plantes en officine.....	82
4.1.3.3	Utilisation de la graine de nigelle en officine	87
4.1.3.4	Connaissance de la LAL par les pharmaciens	88
4.1.3.5	Intérêt potentiel des pharmaciens sur l'utilisation de <i>Nigella sativa</i> sur la LAL	89
	CONCLUSION.....	91
5	BIBLIOGRAPHIE	92
6	ANNEXES	102

Table des illustrations

Figure 1 : Schémas du déroulement de l'hématopoïèse de la cellule souche aux cellules sanguines différenciées.....	25
Figure 2 : Image au microscope optique (x200) du petit lymphocyte.....	28
Figure 3 : Image au microscope optique (x200) du grand lymphocyte.....	28
Figure 4 : Anomalie chromosomique par translocation t (9 :22).....	30
Figure 5 : Blastos observé au microscope chez un enfant de 7 ans présentant une masse abdominale.....	31
Figure 6 : Image d'un frottis sanguin observé par microscope optique chez un enfant de 4 ans atteint leucémie Aiguë lymphoblastique.....	33
Figure 7 : Image d'un frottis sanguin observé par microscope optique chez une femme de 59 ans atteinte leucémie aiguë lymphoblastique (LAL).....	33
Figure 8 : Carte Mentale de la Classification de la graine de nigelle.....	40
Figure 9 : Carte mentale sur les différentes appellations de la graine de nigelle à travers le monde.....	42
Figure 10 : Représentation de la plante <i>Nigella sativa</i> (gauche) et <i>Nigella damascena</i> (droite).....	43
Figure 11 : Photo des feuilles de la plante <i>Nigella sativa</i>	44
Figure 12 : Photo d'une fleur de <i>Nigella sativa</i>	44
Figure 13 : Photo des fruits de <i>Nigella sativa</i>	45
Figure 14 : Carte mentale des caractéristiques botaniques de <i>Nigella sativa</i>	46
Figure 15 : Carte mentale sur l'utilisation à travers le temps de <i>Nigella sativa</i>	49
Figure 16 : Photo des graines de nigelles.....	50
Figure 17 : Photo d'huile de nigelle.....	51
Figure 18 : Photo de gélules de nigelle.....	52
Figure 19 : Structure chimique de la thymoquinone.....	54
Figure 20 : Synthèse de la graine de nigelle.....	55
Figure 21 : Carte mentale sur la composition de <i>Nigella sativa</i>	56

Figure 22 : Graphique représentant les effets de la DOX seule sur la viabilité des cellules Jurkat en fonction de la concentration et du temps.....	61
Figure 23 : Graphique représentant les effets de la thymoquinone sur la survie des cellules Jurkat.....	61
Figure 24 : Graphiques sur l'induction continue de l'apoptose dépendante de la concentration par la thymoquinone dans les cellules Jurkat.....	63
Figure 25 : Graphiques sur les effets de la concentration en thymoquinone sur le nombre de cellules apoptotiques dans les cellules Jurkat.....	63
Figure 26 : Graphique sur les effets de de la thymoquinone sur l'apoptose cellulaire à diverses concentrations après 24, 48 et 72 h.....	64
Figure 27: Graphiques représentant la survie cellulaire des cellules Jurkat traitées avec différentes concentrations de thymoquinone et de DOX.....	65
Figure 28 : Quantification de l'apoptose : Micrographies fluorescentes de cellules CEMss à double coloration à l'acridine d'orange et à l'iodure de propidium.....	66
Figure 29: Graphique représentant le pourcentage des cellules (VI: cellule viable, EA: apoptose précoce, LA: apoptose tardive, SN: nécrose secondaire) en fonction du temps	67
Figure 30 : Effets de la thymoquinone sur la fragmentation de l'ADN.....	68
Figure 31 : L'histogramme du cycle cellulaire par cytométrie en flux des cellules CEMss traitées avec de la thymoquinone (1,5 µg/mL).....	69
Figure 32 : Graphique sur l'analyse des caspases 3,8 et 9 par cytométrie en flux.....	70
Figure 33: Graphique sur les effets des espèces réactives de l'oxygène (ROS).....	71
Figure 34: Effet de la TQ sur les protéines régulatrices de l'apoptose: Bax, Bcl-2 et Hsp70 à 3, 6, 12 et 24 h.....	73

Tableaux

Tableau 1 : Les normes biologique des lymphocytes B, lymphocytes T, rapport CD4/CD8, cellules NK et grands lymphocytes granuleux (LGL) dans le sang.....	26
Tableau 2 : Les facteurs pronostiques dans la prise en charge de la leucémie aigue lymphoblastique.....	33
Tableau 3 : Classification de <i>Nigella sativa</i> APG III 2009.....	38
Tableau 4: Composition générale de la graine de nigelle.....	51
Tableau 5: Composition de la graine de nigelle en huile grasse et huile essentielle.....	52
Tableau 6: Composition de la graine de nigelle en protéines, alcaloïdes et autres	53
Tableau 7 : Pourcentage de cellules en apoptose précoce et tardive en fonction d'une concentration croissante en thymoquinone.....	63

Liste des abréviations

TQ : Thymoquinone
LAL : Leucémie aiguë lymphoblastique
LLC : Leucémie lymphoïde chronique
LAM : Leucémie aiguë myéloblastique
Nk : Cellule natural killer
CSH : Cellules souches hématopoïétique
PNN : Polynucléaire neutrophile
PNB : Polynucléaire basophile
PNE : Polynucléaire éosinophile
Ig : Immunoglobuline
MALT : Mucosa-Associated Lymphoid Tissue
OMS : Organisation mondiale de la santé
VEB : Virus d'Epstein-Barr
BPCO : Bronchopneumopathie chronique obstructive
ADN : Acide désoxyribonucléique
ARN : Acide ribonucléique
ARG : Arginine
LEU : Leucine
LYS : Lysine
MET: Méthionine
TYR : Tyrosine
PRO : Proline
THR : Thréonine
DOX : Doxorubicine
AO : L'acridine d'orange
PI : L'iodure de propidium
CI50 : Concentrations inhibitrices médianes

Introduction

Les hémopathies malignes sont des cancers qui se développent à partir des cellules d'origine hématopoïétique. Derrière cette expression très méconnue du grand public, les hémopathies malignes représentent près de 12% des nouveaux cas de cancers diagnostiqués chaque année en France. Elles touchent 45 000 nouvelles personnes chaque année. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le cancer est un terme général s'appliquant à un grand groupe de pathologies pouvant toucher différents tissus de l'organisme. L'une des caractéristiques est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent envahir d'autres organes, formant alors des métastases. Malgré les innovations thérapeutiques et une meilleure prise en charge des patients, la plus part des hémopathies sont incurables et se sont même chronicisées, c'est-à-dire que la maladie est d'évolution lente.

En France, deux tiers des cas d'hémopathies malignes sont des hémopathies lymphoïdes. Parmi les hémopathies les plus fréquentes, on retrouve le myélome multiple, le lymphome diffus à grandes cellules B, les syndromes myélodysplasiques, les leucémies aiguës myéloïdes et la leucémie lymphoïde chronique (LLC). D'évolution plus rapide, les leucémies aiguës (LA) sont caractérisées par l'expansion clonale dans la moelle osseuse de précurseurs des cellules sanguines bloqués à un stade précoce de leur différenciation, les blastes. Il s'agit d'une affection rare (4-5 cas /100 000ha/an, environ 3000 nouveaux cas par an en France). On distingue deux grands types de leucémies aiguës : les LA myéloïdes (LAM), dont la fréquence augmente avec l'âge (médiane autour de 65 ans) et les LA lymphoblastiques (LAL), surtout observées chez l'enfant, mais aussi chez l'adulte après 50-60 ans (la LAL représente 1/3 des cancers de l'enfant). Le diagnostic et le pronostic reposent sur l'examen morphologique des blastes du sang et de la moelle osseuse, l'immunophénotype et l'étude cytogénétique et moléculaire. Le traitement repose sur la polychimiothérapie et la greffe de cellules souches hématopoïétiques.

A l'heure actuelle, les facteurs étiologiques sont inconnus dans la majorité des cas. L'environnement et les prédispositions génétiques n'explique que partiellement l'origine de la LA. L'insuffisance médullaire et la prolifération des blastes (syndrome tumoral) sont responsables des principaux symptômes observés dans la LA. La LAL est considérée comme l'un des cancers infantiles les plus courants avec un taux élevé de mortalité et de morbidité accompagné d'un pronostic faible. Si elle n'est pas traitée, la LAL est mortelle. Près de 25%

des patients atteints de LAL infantile présentent une rechute dans les 5 ans suivant le traitement. Par conséquent, il existe une demande persistante pour trouver des médicaments anti-leucémiques plus efficaces et à faible toxicité. Le développement de nouvelles cibles thérapeutiques pour améliorer l'efficacité et la qualité de vie des patients atteints de LA est un enjeu majeur de santé publique.

Ainsi, au cours de ces dernières années, un intérêt particulier pour les composants naturels phytochimiques a émergé. En effet, 25 % des médicaments utilisés sont directement obtenus à partir de plantes et 25 % des autres traitements sont des produits naturels modifiés. L'espèce *Nigella sativa*, employée comme médicament traditionnel pendant plusieurs siècles, suscite un intérêt particulier en oncologie. Il a en effet été démontré que la thymoquinone, extraite des graines de *Nigella sativa*, présente une efficacité anti-tumorale via l'induction de l'apoptose de cellules cancéreuses.

Au cours de cette thèse, nous argumenterons de l'intérêt de *Nigella sativa* dans le traitement et la prise en charge des patients atteints de LAL.

Dans un premiers temps, nous ferons le point sur la physiopathologie de la LAL et les recommandations actuelles en matière de stratégies thérapeutiques dans la prise en charge de la maladie. Nous nous intéresserons ensuite à la plante *Nigella sativa* dans ces caractéristiques propres.

Dans une troisième partie, nous nous focaliserons sur la thymoquinone et nous discuterons de sa potentielle utilisation dans le traitement de la LAL à travers les résultats de plusieurs études. Enfin, nous analyserons un questionnaire à visée des pharmaciens d'officine concernant l'utilisation au comptoir de *Nigella sativa* et de ses effets thérapeutiques potentiels.

1 Physiologie du sang et de la leucémie aiguë lymphoblastique

1.1 Anatomie et physiologie du sang

1.1.1 Généralité : les cellules sanguines

Dès le 21^{ème} jour de l'embryogénèse, le sang apparaît. Après la naissance, c'est au niveau de la moelle osseuse exclusivement que se fait la formation du sang. Chez l'enfant, l'hématopoïèse se fait au niveau de l'ensemble des os ; contrairement à l'adulte où le tissu hématopoïétique se fait exclusivement au niveau des os plats tels que le bassin, le sternum et les vertèbres. Le sang est composé d'éléments figurés, les cellules sanguines et le plasma (liquide constitué d'eau, de sels minéraux et de molécules organiques). L'ensemble est contenu dans les vaisseaux sanguins avec un volume total de 5 litres chez l'adulte [1].

Le sang est composé de trois grandes classes cellulaires.

- Les globules rouges (ou hématies ou érythrocytes) responsables de la couleur rouge du sang. Leur rôle principal est de délivrer l'oxygène aux tissus périphériques.
- Les globules blancs ou leucocytes responsables de l'immunité dans le sang, comprennent les polynucléaires ou granulocytes neutrophiles (PNN), les polynucléaires éosinophiles (PNE) et les polynucléaires basophiles (PNB), les monocytes et enfin les lymphocytes (LT CD4 et LT CD8).
- Les plaquettes, fragments cellulaires impliqués dans l'hémostase.

1.1.1.1 La production des cellules sanguines

L'hématopoïèse est la production de toutes les cellules du sang (prolifération, différenciation et maturation). Elle a lieu dans la moelle osseuse chez l'adulte. Pour toutes les cellules sanguines, il existe un équilibre dynamique entre leur production et leur destruction. Lorsque cet équilibre n'est plus respecté, cela peut entraîner des pathologies avec un excès de cellules telles que des polyglobulies ou des cancers comme les leucémies. Au contraire, il peut y avoir des pathologies avec un taux de cellules inférieur à la normale, telles que des agranulocytoses par exemple. La lymphopoïèse est une sous partie de l'hématopoïèse qui comprend la production spécifique des précurseurs lymphoïdes. Elle se déroule au niveau de la moelle

osseuse et se termine par la maturation des lymphocytes dans le thymus pour les lymphocytes T et par leur prolifération dans les organes lymphoïdes secondaires. Chez un sujet sain, seuls les éléments matures passent dans le sang périphérique. Lorsque les cellules immatures (blastes) sont produites en quantité importante sans se différencier en cellules matures, et qu'elles se retrouvent dans le sang périphérique, on parlera alors de leucémie [2].

1.1.2 L'hématopoïèse

1.1.2.1 Les cellules souches hématopoïétiques (CSH)

Le compartiment des cellules souches hématopoïétiques est capable de générer l'ensemble des cellules du système hématopoïétique. La cellule souche possède des propriétés d'auto-renouveaulement, ce qui lui permet de maintenir un pool de cellules souches toujours identiques. Par division asymétrique, les cellules souches primitives vont donner naissance aux progéniteurs de la lignée myéloïdes et aux cellules de la lignée lymphoïde. La grande majorité des cellules souches primitives sont en phase de quiescence (phase G0), ce qui les protègent des agressions et en particulier des effets délétères des traitements antimitotiques (chimiothérapie). Le micro-environnement des cellules souches est un élément essentiel dans sa régulation. Il se compose d'un ensemble hétérogène de cellules stromales qui sécrètent les composants de la matrice extracellulaire, de macrophages, de fibroblastes, de cellules endothéliales et d'adipocytes.

1.1.2.2 Les progéniteurs

Les progéniteurs vont perdre de façon progressive leur capacité d'auto-renouveaulement au fur et à mesure qu'elles avancent dans leur différenciation. En revanche, elles possèdent une capacité importante de prolifération et vont s'engager dans une lignée spécifique.

Elles ne sont pas identifiables morphologiquement et seront définies grâce aux techniques de cultures clonogéniques. Les techniques immunophénotypique permettent de mettre en évidence les différentes colonies cellulaires. [1-2]. Il existe deux grandes voies de différenciations : les progéniteurs communs lymphoïdes (CFU-L), c'est une voie qui est à l'origine des lignées lymphocytaires (lymphocytes B, T4/T8 et cellules NK). L'autre voie,

celle des progéniteurs communs myéloïdes (CFU-GEMM), est à l'origine de l'ensemble de la lignée myéloïdes (hématies, polynucléaire (PNN, PNE, PNB), monocytes, plaquettes).

1.1.2.3 Les précurseurs

Les précurseurs dérivent des progéniteurs. Ils représentent près de 99% des cellules médullaires et sont identifiables morphologiquement. Les premiers précurseurs des lignées sanguines portent un suffixe en « *blaste* »: les lymphoblastes : précurseurs des lymphocytes ; les myéloblastes : précurseurs des polynucléaires ; les proérythroblastes : précurseurs des globules rouges ; les mégacaryoblastes : précurseurs des plaquettes et les monoblastes : précurseurs des monocytes qui se différencient en macrophages. Les précurseurs, une fois devenus des cellules différenciées, vont quitter le compartiment médullaire afin de rejoindre la circulation sanguine. Ceci est le cas pour les lymphocytes B et cellules NK. Cependant les lymphocytes T vont finir leur maturation au niveau du thymus et passer dans la circulation sanguine pour se loger au niveau des organes lymphoïdes secondaires avec les lymphocytes B et cellule NK. [1-2].

Une cascade de prolifération et de différenciation cellulaire permettra d'aboutir à la formation des cellules sanguines matures. Nous nous concentrerons spécifiquement sur la lignée des cellules lymphoïdes.

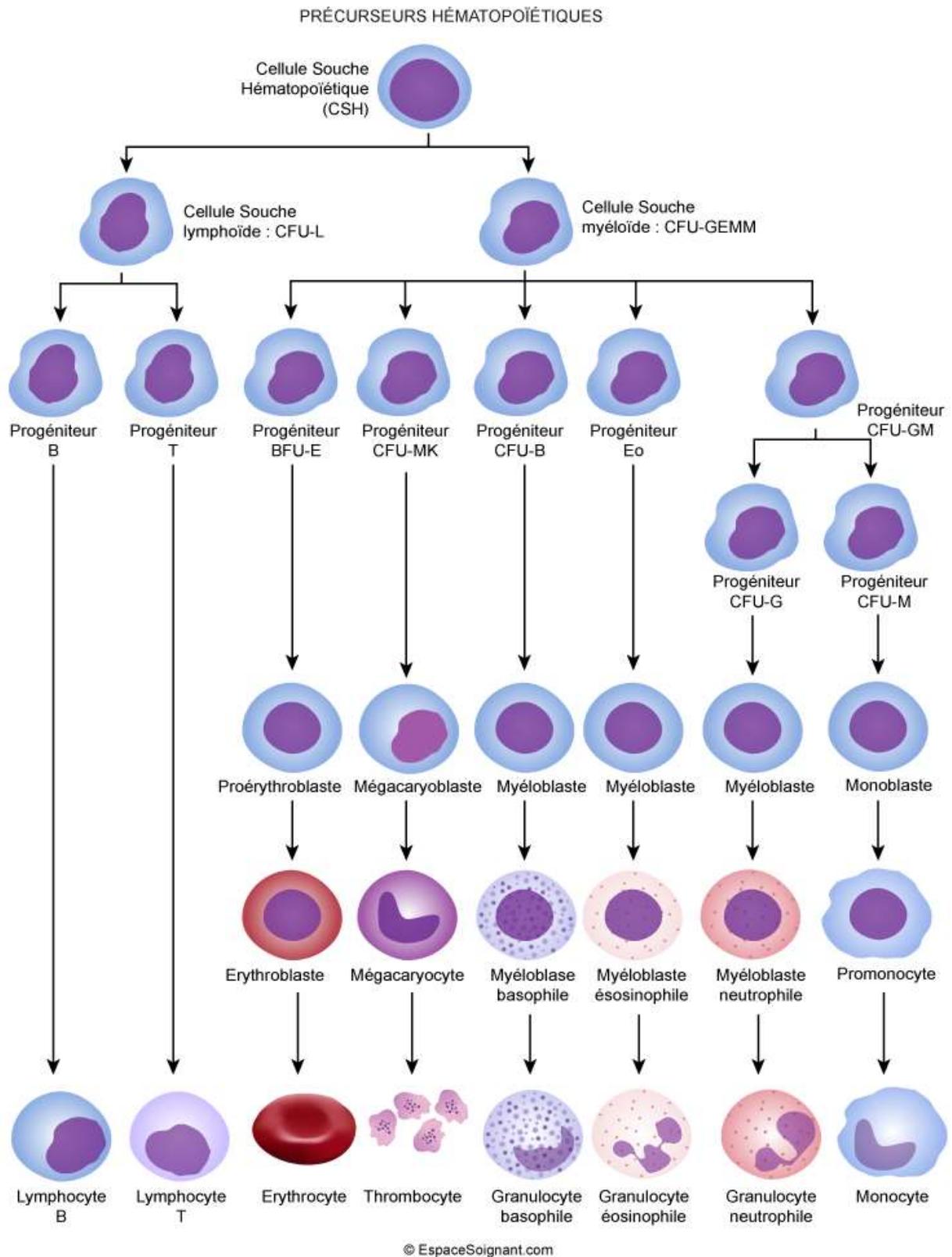


Figure 1 : Schémas du déroulement de l'hématopoïèse de la cellule souche aux cellules sanguines différenciées [3].

1.1.3 Les lymphocytes

Les lymphocytes sont des cellules essentielles de l'immunité. Ils représentent un ensemble de cellules différenciées qui comprend les lymphocytes B, responsable de la production d'anticorps (immunité humorale) ; les lymphocytes impliqués dans l'immunité à médiation cellulaire : les lymphocytes T4 /T8, les cellules natural killer (NK) et les grands lymphocytes granuleux.

La maturation des lymphocytes B se fait dans la moelle osseuse (« Bone marrow »). Les progéniteurs prolifèrent intensément et acquièrent progressivement divers antigènes en se différenciant. Les cellules pro-B (CD34+ CD19+ CD10+) → cellules pré-B (CD19+ CD10+ avec une chaîne μ intracytoplasmique) → cellules B immatures (CD19+ CD20+ avec une IgM de surface) → et cellules B matures (CD19+ CD20+ avec IgM et IgD de surface). Ces lymphocytes qui n'ont jamais été en contact avec un antigène sont appelés « lymphocytes naïfs ». Lorsqu'ils quittent la moelle pour le sang périphérique, ils circulent dans l'ensemble des tissus à la recherche de contacts avec un antigène. Le contact de lymphocyte B naïfs avec un antigène provoque une phase de prolifération. Les lymphocytes B vont modifier leurs gènes puis vont devenir soit un lymphocyte mémoire pouvant répondre plus rapidement à une nouvelle stimulation immune ; soit un plasmocyte qui sécrètera des anticorps spécifiques de l'antigène en cause (exemples les IgG pour la lutte antibactérienne, IgA sécrétoires, IgE pour la lutte antiparasitaire ou allergiques).

La maturation des lymphocytes T se fait dans le thymus, c'est l'un des deux organes lymphoïdes centraux avec la moelle osseuse. Le thymus est composé de lobules riche en thymocytes immatures et d'une zone médullaire dans laquelle les thymocytes subissent leurs maturation et deviennent lymphocytes. Elles présentent aussi divers stades successifs de différenciation : prothymocytes (CD2+ CD7+ CD4- CD8-) → thymocytes corticaux (CD4 CD8) → thymocytes médullaires (CD3+ CD4) ou (CD3+ CD8). Ils expriment tous le récepteur T (TCR).

Les thymocytes médullaires quittent ensuite le thymus via une zone corticale par voie sanguine pour migrer vers les organes lymphoïdes périphériques ou secondaires. Ils permettent l'activation des lymphocytes T naïfs. Ils comprennent des organes bien structurés : Les ganglions lymphatiques, la rate, les amygdales, le système lymphoïde cutané et des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT, Mucosa-Associated Lymphoid Tissue).

Les lymphocytes T recherchent aussi le contact avec tout élément étranger. Le rôle des lymphocytes T est majeur dans la modulation et la réponse immunitaire. Généralement, les lymphocytes T CD4+ coopèrent avec les cellules B pour la synthèse d'anticorps, tandis que les cellules CD8+ sont cytotoxiques [4].

Tableau 1 : Les normes biologique des lymphocytes B, lymphocytes T, rapport CD4/CD8, cellules Nk et grands lymphocytes granuleux (LGL) dans le sang [4].

Les différents types de lymphocytes	Normes (Giga/L de sang)	Pourcentage dans le sang du total des lymphocytes
Lymphocytes B	0.1 – 0.4	10 -20 %
Lymphocytes T	1.0 – 3.5	70 % du total des Lymphocytes
Rapport CD 4 / CD8	1.2 – 3.0	
Cellules NK	0.1 – 0.4	10 % du total des Lymphocytes
Grands lymphocytes granuleux (LGL)	< 0.5	10 – 20 % des lymphocytes

Le nombre total de lymphocyte circulant dans le sang est compris entre 1 et 4 G/L. Les lymphocytes T4/T8 représentent 70% des lymphocytes circulant, 10-20% sont des lymphocytes B, et de 10 % de cellules NK.

Morphologie

Une analyse sanguine par microscope permet de visualiser la morphologie des lymphocytes. Cette observation nous montre de petites cellules avec un noyau arrondi. Ces cellules présentent une quantité variable de cytoplasme. Les lymphocytes B et T sont très ressemblants au microscope. La distinction se fera par immunophénotypage.

Le petit lymphocyte est une cellule arrondie, d'une taille de 8 à 12 µm de diamètre, avec rapport noyau/cellule (N/C) qui peut atteindre 0.9. Le noyau est très dense, rouge violet foncé, arrondi, avec parfois une petite dépression. Le cytoplasme est discret, basophile (souvent visible au niveau de la dépression nucléaire) [4].

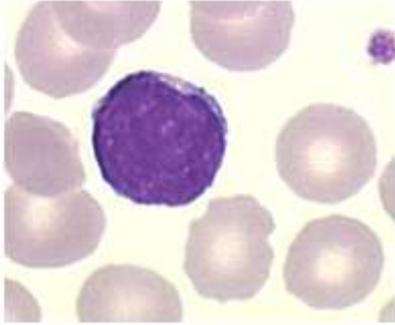


Figure 2 : Image au microscope optique (x200) du petit lymphocyte [4].

La taille du grand lymphocyte est de 12 - 15 μm de diamètre avec un rapport N/C de 0.6 – 0.8. Il présente un noyau ovalaire ou quadrangulaire, avec une chromatine dense d'aspect plus ou moins laquée et quelques craquelures ou marbrures. Le cytoplasme est translucide, parfois discrètement bleuté [4].

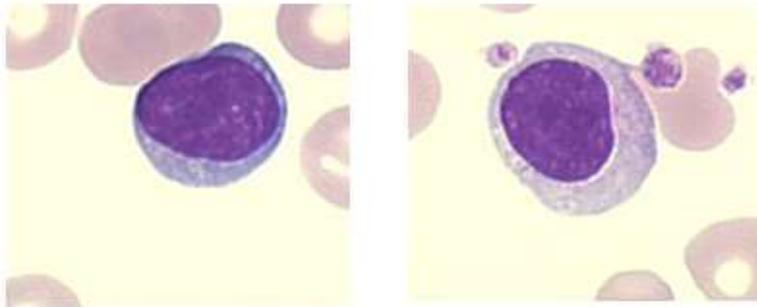


Figure 3 : Image au microscope optique (x200) du grand lymphocyte [4].

L'analyse morphologique des cellules au microscope est une étape essentielle. Le biologiste sera attentif à toute anomalie et notamment à la présence de nucléoles dans le noyau, signe d'une immaturité cellulaire, observée par exemple dans la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL).

1.2 La leucémie aiguë lymphoblastique (LAL)

La LAL est une prolifération maligne des cellules lymphoïdes qui ont perdu leur capacité de différenciation au sein de la moelle osseuse [5]. Elle peut être due à une ou plusieurs anomalies du génome au cours de la lymphopoïèse. Le clone tumoral appelé « blaste » se développe d'abord au sein de la moelle osseuse, s'accumule et occupe progressivement l'espace médullaire, inhibant assez l'hématopoïèse normale. Par conséquent, la production des cellules différenciées normales est insuffisante : c'est l'insuffisance médullaire. Lorsque les clones atteignent un nombre de 10^{11} cellules, la maladie se manifeste avec une possibilité pour le clone de se disséminer dans le sang et de se localiser dans divers tissus (ganglions, rate, peau...).

Les signes cliniques de l'insuffisance médullaire arrivent brutalement, ce qui explique la définition de la leucémie « aiguë ». Le patient peut présenter des troubles cardiorespiratoires secondaires à l'anémie (diminution du taux hémoglobine en dessous des valeurs normales de référence), des infections par manque de leucocytes (leucopénie) ou un tableau hémorragique par défaut de plaquettes sanguines (thrombopénie). La LAL est une urgence diagnostique et thérapeutique, sa prise en charge doit se faire rapidement. Le diagnostic et le pronostic reposent sur l'examen morphologique des blastes du sang et de la moelle osseuse, l'immunophénotype et l'étude cytogénétique et moléculaire [5].

1.2.1 Epidémiologie

La LAL est un cancer à prédominance masculine. C'est le 1^{er} cancer chez l'enfant, soit un tiers des cancers chez l'enfant et l'adolescent de 2 à 10 ans. Elle peut aussi apparaître chez les personnes âgées de 50-60 ans. C'est une maladie rare chez l'adulte avec environ 1000 nouveaux cas / an en France.

1.2.2 Classification clinique des leucémies aiguës lymphoblastiques

La LAL proviennent dans 85 % des cas des lymphocytes B et dans 15 % des cas des lymphocytes T. La classification de l'OMS est basée sur l'immunophénotype des cellules leucémiques. Le collège nationale d'hématologie classe les LAL sous deux formes cliniques :

la LAL à chromosome « philadelphie » et la LAL de type Burkitt. [1]. La LAL à chromosome « philadelphie » proviennent de la lignée des lymphocytes B. Elle se caractérise par la présence d'une anomalie chromosomique par translocation t(9:22). Un segment des chromosomes 9 et 22 s'interchangent et prennent la place l'un de l'autre ; ce qui engendre le gène de fusion BCR-ABL.

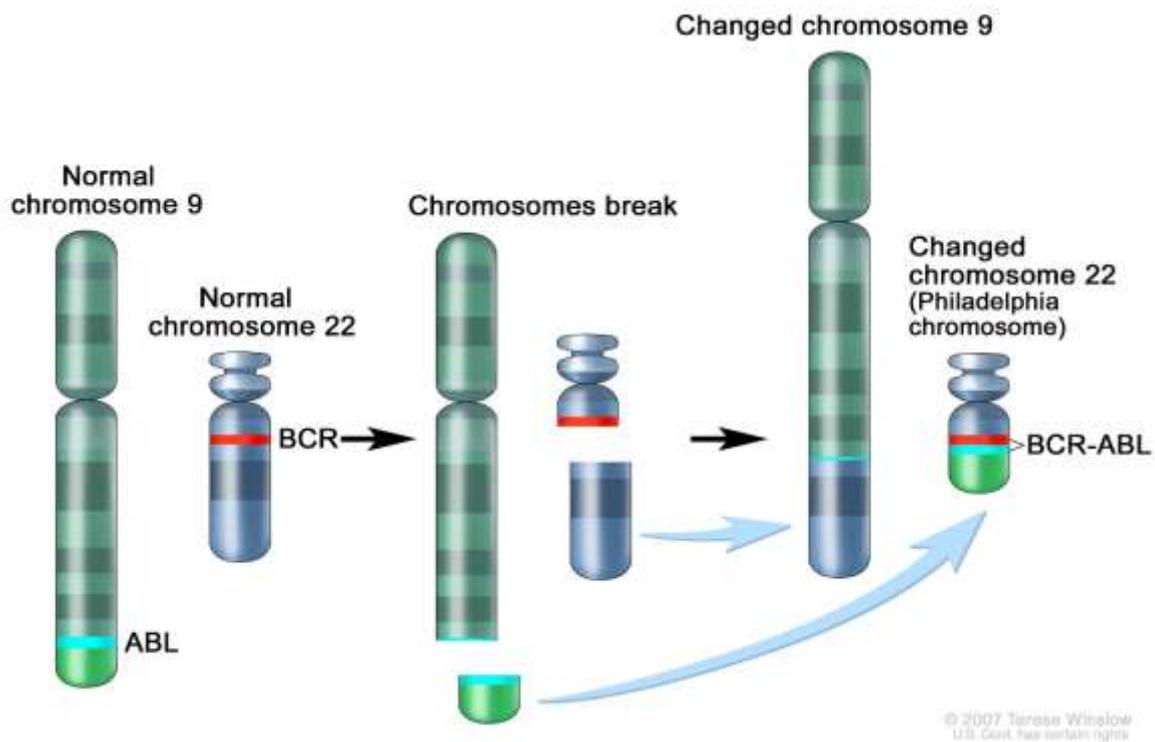


Figure 4 : Anomalie chromosomique par translocation t (9 :22) [2].

C'est un tiers des LAL de l'adulte et moins de 5% des LAL chez l'enfant. Les cellules leucémiques qui sont porteuse du chromosome Philadelphie sont dites Ph+. Lorsque le chromosome Philadelphie n'est pas présent elles sont dites Ph-.

La LAL de type Burkitt quant à elle, peut être déclenché par le virus d'Epstein-Barr (VEB). Elle évolue très rapidement et a tendance à apparaître dans des organes ou des tissus autres que les ganglions lymphatiques. Elle se propage souvent à l'encéphale ou à la moelle épinière. La LAL de type Burkitt apparaît le plus souvent chez les enfants ou les jeunes adultes et rarement chez les adultes plus âgés. Elle est associée à un syndrome de lyse tumorale majeure qui peut apparaître lors de l'administration d'une chimiothérapie. Les cellules cancéreuses meurent rapidement, ne permettant pas aux reins d'évacuer assez vite les substances libérées par les cellules sanguines. Cela induira un décès en quelques heures s'il n'est pas traité.

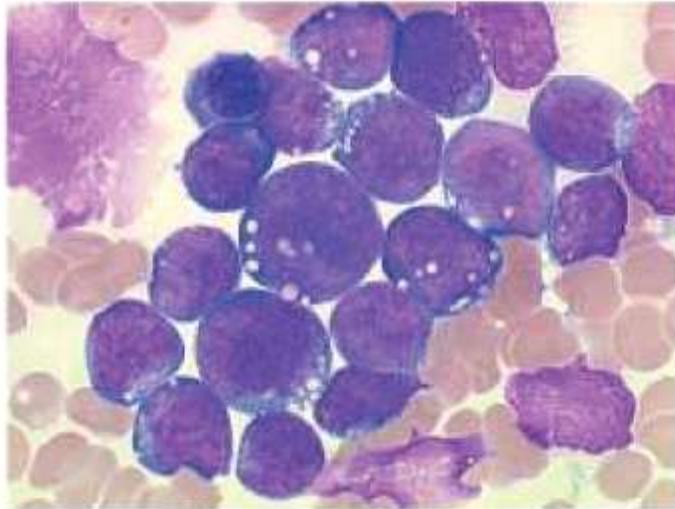


Figure 5 : Blastés observés au microscope optique (x200) chez un enfant de 7 ans présentant une masse abdominale [4].

Lors d'une LAL de type Burkitt, le myélogramme est envahi de grands blastés dont le cytoplasme très basophile contient des vacuoles claires [4].

1.2.3 Les causes et facteurs de risques de la LAL

Certaines chimiothérapies anticancéreuses sont des facteurs de risque de la LAL. Elles peuvent déclencher une LAL chez les patients déjà cancéreux. Chez les patients ayant une anomalie génétique telle que la trisomie 21, il y a un facteur de risque. La cytogénétique conventionnelle et l'hybridation in situ permet d'observer une anomalie du caryotype dans 50 à 60% des cas. Cela permet de classer de façon plus précise les LA. Les personnes qui se sont exposées aux radiations ionisantes ainsi que certains produits toxiques tels que les hydrocarbures benzéniques, sont des facteurs de risques. Des maladies hématologiques préexistantes telles qu'un syndrome myélodysplasique ou une néoplasie myéloproliférative peuvent favoriser l'apparition d'une LAL.

1.2.4 Les signes cliniques de la LAL

La LAL est une maladie qui ne présente pas de signes spécifiques. Le diagnostic va être posé lors d'une complication clinique, d'une diminution quantitative des cellules sanguines

(cytopénies) ou biologiquement lorsque l'hémogramme nous montre une atteinte médullaire (blastose, pancytopenie...). Les signes cliniques sont la conséquence de l'insuffisance médullaire et de la prolifération des blastes.

Suite à l'insuffisance médullaire, le patient présente un syndrome anémique : une fatigue (asthénie), une pâleur et une carence en fer. L'insuffisance médullaire induit également un syndrome infectieux suite à une neutropénie : fièvre, angine ulcéro-nécrotiques. Le patient présente également une thrombopénie ou syndrome hémorragique qui se traduit par des hématomes spontanés, un purpura épistaxis, des gingivorragies ou encore des hémorragies rétiniennes au fond d'œil [5-6].

Le syndrome tumoral correspond à la dissémination des blastes. Le patient atteint présente un gonflement des ganglions lymphatiques (adénopathies disséminées) et une augmentation des volumes du foie et de la rate (hépatosplénomégalie). Dans de rares cas, nous pouvons observer : une atteinte osseuse avec des douleurs des extrémités proximales, surtout chez l'enfant. Une infiltration cutanée, plus fréquent dans les LAL B que les LAL T. Une méningite blastique, un envahissement testiculaire ou une masse médiastinale responsable de compression (syndrome cave supérieure, compression trachéale, épanchement pleural) dans un tiers des LAL T [6].

1.2.5 Les signes biologiques

L'hémogramme d'un patient présentant une leucémie aiguë anormale présentera les caractéristiques suivantes : une anémie normocytaire, normochrome, non régénérative (anémie ferriprive), associée à une thrombopénie avec des taux de plaquettes parfois inférieurs à 10 G/L ; une leucocytose variable : soit une leucopénie ou une hyperleucocytose (syndrome de leucostase, se traduisant par une détresse respiratoire ou un trouble de la conscience dans les formes très hyperleucocytaire). Une neutropénie fréquente avec un nombre de polynucléaires neutrophiles inférieur à 4.5 G/L ou agranulocytose d'emblée est à noter. Un frottis sanguin sera réalisé dans le but de rechercher des blastes circulants.

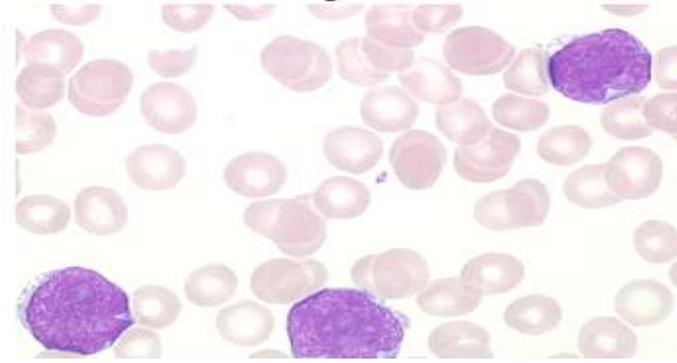


Figure 6 : Image d'un frottis sanguin observé par microscope optique (x200) chez un enfant de 4 ans atteint d'une LAL [4].

Le frottis sanguin met en évidence des blastes de taille moyenne, un noyau de contour irrégulier avec une chromatine claire et un cytoplasme de taille réduite. La ponction médullaire permet d'effectuer un myélogramme qui est l'examen clé du diagnostic. C'est lors du myélogramme que nous pouvons affirmer et typer le diagnostic. La moelle osseuse d'un patient atteint d'une LAL sera riche en cellules et pauvre en mégacaryocytes. Elle va contenir au moins 25% de blastes (pouvant aller jusqu'à 100%). Les caractéristiques morphologiques d'une LAL sur frottis médullaire sont les suivantes: des blastes de petite ou de moyenne taille, avec un cytoplasme peu abondant.

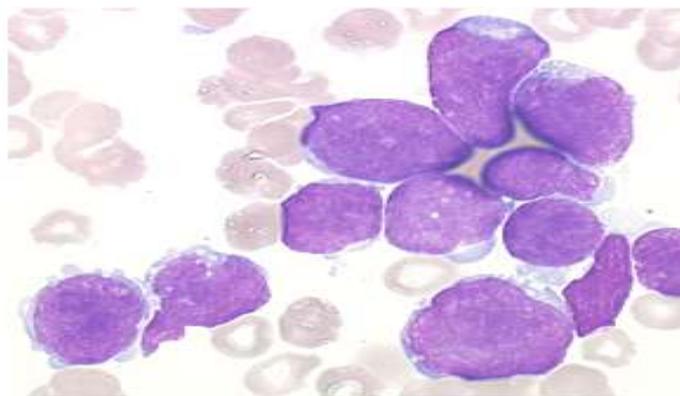


Figure 7 : Image d'un frottis sanguin observé par microscope optique (x200) chez une femme de 59 ans atteinte leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) [4].

Nous observons sur ce frottis une moelle envahie de blastes présentant une taille variable, un noyau de contour souvent irrégulier avec une chromatine claire et un cytoplasme réduit sans granulations visibles.

1.2.6 Les traitements actuels

Un bilan pré-thérapeutique sera établi pour permettre d'identifier les comorbidités et les complications présentes chez les patients atteints de LAL. Le bilan sert également à évaluer la faisabilité des différentes options de traitements. Il comprend un bilan clinique, un bilan biologique, la réalisation de différentes imageries médicale. La préservation des gamètes est également un axe qui entre dans la stratégie thérapeutique.

La LAL fait partie des urgences thérapeutiques, les patients doivent être mis au courant des bénéfices liés aux chimiothérapies ainsi que des effets indésirables potentiels et de l'intérêt de participer à des études cliniques.

Tableau 2 : Les facteurs pronostiques dans la prise en charge de la leucémie aiguë lymphoblastique [7].

Les facteurs pronostiques initiaux	Les facteurs liés à la réponse aux traitements
Age supérieur à 60 ans	Corticorésistance
Cytogénétique défavorable	Chimiorésistance
Atteinte méningée	Absence d'obtention de la rémission complète en une cure
Score de performance OMS>2	Maladie résiduelle persistante en biologie moléculaire dans certaines formes
Comorbidités préexistantes : diabète, maladie coronarienne, BPCO	
Hyperleucocytose initiale (LAL B)	

En fonction des facteurs, les patients seront réparties en deux groupes : ceux qui sont éligibles à une chimiothérapie longue et intensive et ceux qui ne sont pas éligibles.

1.2.6.1 Les patients éligibles à une chimiothérapie longue et intensive : Sujet de moins de 60 ans

Chez ces patients, le traitement a pour objectif de détruire la totalité des blastes. La chimiothérapie est intensive, elle repose sur une phase de 6 mois. Le protocole prévoit différentes phases : une phase d'induction, une phase de consolidation dans un second temps et enfin une chimiothérapie d'entretien ambulatoire de 2 ans. Pour certains patients, une allogreffe de cellule souche hématopoïétique sera nécessaire [5].

Le traitement d'induction a pour objectif d'éliminer toutes les cellules cancéreuses. Le traitement est réalisé lors d'une hospitalisation d'au minimum un mois. Ce traitement comporte une ou deux cures de chimiothérapie et se déroule en 4 phases :

- Première phase → La réduction blastique
- Deuxième phase → L'aplasie liée au traitement (4 à 6 semaines)
- Troisième phase → La régénération cellulaire
- Quatrième phase → La rémission.

Les molécules utilisées dans le traitement d'induction sont : Les cyclophosphamides, la vincristine, l'anthracycline (Daunorubicine ou Idarubicine), la L-Asparaginase et des corticoïdes. Pour certains patients présentant des atteintes méningées liées à la LAL, un traitement supplémentaire sera mis en place. Les patients présentant une LAL à philadelphie (Ph1+), se verront ajouter une thérapie ciblée, par l'ajout d'un inhibiteur de la tyrosine kinase : imatinib (Glivec).

Lors de la phase d'induction, les patients guérissent dans 90% des cas. Parmi eux, 30 à 60 % des patients ne survivent pas plus de 5 ans. Cependant, il se peut qu'il y ait un échec de traitement. Dans ce cas-là, le patient subit une cure de rattrapage qui pourra lui permettre une rémission complète et bénéficier d'un traitement de consolidation. En cas de second échec, un traitement symptomatique ou bien une demande d'adhésion à une étude clinique sera mis en place [6-7].

Le traitement de consolidation est un traitement en plusieurs cures de chimiothérapies mis en place après un traitement à induction. Il permet de prévenir une rechute chez les patients qui ont eu une rémission complète grâce au traitement d'induction. Les molécules utilisées dans le traitement de consolidation sont les suivantes : la cytarabine, la L-asparaginase, le méthotrexate à forte dose et la cyclophosphamide. De même que durant le traitement

d'induction, les patients présentant une LAL à Philadelphie (Ph1+), se verront ajouter un inhibiteur de la tyrosine kinase. Pour les patients présentant un haut risque ou la présence d'une maladie résiduelle, une allogreffe de cellules souches peut être mise en place. Si l'allogreffe ne peut se mettre en place, le traitement est poursuivi mais en arrêtant la L-asparaginase [7].

Le traitement d'entretien est mis en place pour une durée de 2 ans en ambulatoire après le traitement de consolidation. Les molécules utilisées seront les suivantes : la vincristine, la 6-mercaptopurine et le méthotrexate. Les patients auront un suivi clinique et biologique régulier dont le dépistage des rechutes et des complications liées au traitement [5-6-7].

1.2.6.2 Patients non éligibles à une chimiothérapie intensive : Patient > 60 - 65 ans avec comorbidités

Pour les patients plus fragiles, non éligible à une chimiothérapie intensive, les molécules utilisées seront : la cyclophosphamide, la vincristine, l'anthracycline (daunorubicine ou idarubicine), la L-asparaginase, la 6-Mercaptopurine et les corticoïdes. Contrairement aux patients éligibles à une chimiothérapie intensive, le traitement consistera aux mêmes molécules mais les doses seront réduites.

Une exception pour la LAL de type Burkitt. Sa prise en charge relève d'un traitement différent des autres LAL, avec une chimiothérapie initiale progressive afin d'éviter le syndrome de lyse tumorale. Par la suite, c'est une chimiothérapie séquentielle intensive et prolongée qui est mise en place.

1.2.7 Les mesures associées

1.2.7.1 Greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH)

Nous pouvons différencier deux types de greffe de cellules souches hématopoïétiques. L'allogreffe et l'autogreffe. Lors d'une allogreffe, les greffes de cellules souches hématopoïétiques sont réalisées avec un membre de la fratrie ou un donneur volontaire. L'allogreffe permet de réaliser une préparation de la chimiothérapie, mais elle a également un effet curatif. Par contre, elle est responsable d'une mortalité toxique autour de 15 % et ne peut pas être proposée aux sujets âgés. Un « conditionnement » préalable pour une chimiothérapie très intensive sera mis en place, suivi de l'injection des cellules souches du donneur. Ce conditionnement peut induire une stérilité définitive. De ce fait une méthode de préservation

des gamètes pourra être proposée aux patients. Cependant des complications liées à la greffe peuvent survenir telle qu'une réaction du greffon contre l'hôte (GVHD) [7-8].

L'autogreffe est le prélèvement des cellules chez le malade en rémission. Dans ce cas, on ne bénéficie pas d'effet immunitaire anti-leucémique et le seul intérêt de l'autogreffe est de pouvoir réaliser une préparation chimio/radiothérapie intensive [8].

1.2.7.2 La radiothérapie.

Elle peut être utilisée en prophylaxie ou à but curative chez l'adulte. Elle permet l'irradiation des localisations neuroméningées des blastes et l'irradiation corporelle totale utilisée en préparation aux greffes de cellules souches hématopoïétiques, ou la thérapie ciblée.

1.2.7.3 Thérapies ciblées

Parmi les patients atteints de LAL, certaines personnes présentant une LAL à Philadelphie (Ph1+), se verront ajouter une thérapie ciblée. Ce sont des médicaments qui vont cibler spécifiquement des molécules qui jouent un rôle dans la croissance et la multiplication des cellules cancéreuses, tout en épargnant les cellules non cancéreuses. Une thérapie ciblée pourrait être ajoutée au protocole chimiothérapique chez des patients atteints d'une LAL à Philadelphie (Ph+) lors de récurrence.

Le médicament ciblé auquel on a le plus souvent recours est un inhibiteur de la tyrosine kinase : l'imatinib (Glivec). C'est un médicament qui bloque l'action de la tyrosine kinase, c'est une enzyme qui participe au processus de signalisation qui se déroule dans les cellules une fois que les facteurs de croissance se sont fixés aux récepteurs présents sur les cellules. C'est un traitement par inhibition de la croissance des cellules tumorales.

D'autres inhibiteurs de tyrosine kinase peuvent être utilisés lors de récurrence, d'effets indésirables graves ou lorsque la maladie résiste au traitement: le dasatinib (Sprycel), le nilotinib (Tasigna), le bosutinib (Bosulif), le ponatinib (Iclusig), le blinatumomab (Blincyto) et l'inotuzumab ozogamicin (Besponsa).

1.2.8 Les effets indésirables et complications précoces des traitements

La chimiothérapie induit plusieurs effets indésirables. Les patients se plaignent de nausées, de vomissements, de diarrhées. Ils peuvent également faire face à une fatigue intense liée à l'anémie, à des saignements sous forme de gingivorragies et des épistaxis liée aux thrombopénies. Etant plus fragiles à cause de la neutropénie, les patients sont plus enclins à présenter des infections. Une perte de cheveux survient également très souvent ainsi qu'une mucite. Ces complications altèrent la qualité de vie des patients et relèvent d'une prise en charge en milieu spécialisé.

Face au pronostic et la survie des patients ainsi qu'aux nombreux effets indésirables de la chimiothérapie, beaucoup d'études font l'objet de recherche dans le domaine de la cancérologie. La phytothérapie en cancérologie est la science qui s'intéresse de près aux effets des plantes sur le cancer. Dans leur majorité, les plantes ne peuvent guérir du cancer, elles sont utilisées pour améliorer le quotidien des patients. C'est ce qu'on appelle une médecine complémentaire. Cependant, certaines plantes reconnues comme « l'if commun », *Taxus baccata*, présente une molécule qui est extraite et utilisée comme médicament contre le cancer du sein. D'autres plantes font l'objet de recherche, notamment une plante connue depuis la nuit des temps : la graine de nigelle.

2 La graine de Nigelle (*Nigella sativa*)

2.1 Classification et description de *Nigella sativa*

2.1.1 Classification

La classification phylogénétique APG III (2009), classe la nigelle en trois espèces : *Nigella sativa*, *Nigella damascena* et *Nigella arvensis* (Nigelle des champs). De ces trois espèces, seule *Nigella sativa* est reconnue pour ses multiples vertus [9].

Tableau 3 : Classification de *Nigella sativa* APG III 2009 [9].

Classification de <i>Nigella sativa</i> APG III 2009
-Règne des plantes
--Sous règne des Cormophyte,
---Supra embranchement des Rhizophyte,
----Embranchement des Spermatophytes,
-----Sous embranchement des Angiospermes,
-----Classe des Eudicotylédones,
-----Sous classe des Audicots archaïque,
-----Ordre des Ranunculales,
-----Famille des Ranunculaceae,
-----Sous famille des Helléboréess,
-----Genre <i>Nigella</i> ,
-----Espèces <i>Nigella sativa</i> / <i>Nigella damascena</i> / <i>Nigella arvensis</i> (Nigelle des champs).

Nigella sativa est une plante à graine (spermatophyte). Ses organes reproducteurs sont soudés en une fleur et les graines sont enfermées dans un fruit (angiosperme). Elle présente deux feuilles primordiales constitutives de la graine (eudicotylédones). *Nigella sativa* présente des pétales indépendantes (audicots archaïque). Enfin elle appartient à la sous famille des Helléborées, de la famille des Ranunculaceae. Elles présentent des carpelles capsulaires, bilabiés ou nectarifères, polyspermes, avec une estivation du calice et de la corolle imbricatrice [48].

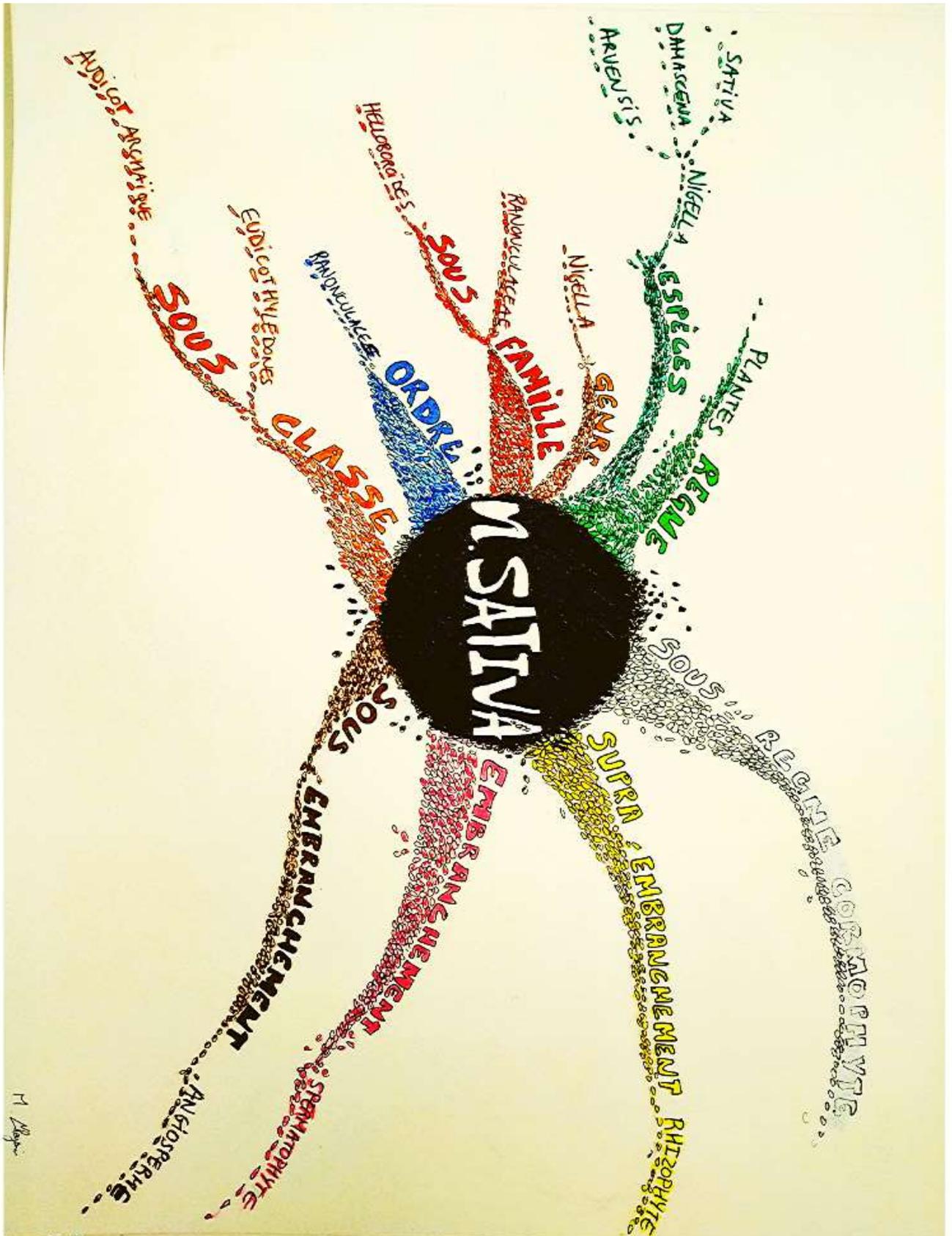


Figure 8 : Carte Mentale : Classification de la graine de nigelle.

La nigelle ou « cumin noir », du nom latin « *Nigella sativa* » à différentes appellations en fonction du pays [9]. Elle est appelée « Kalonji » en Inde; « Suniz » en Iran. En Egypte, elle se fait appelée « Habat Al-Baraka » (La graine de la bénédiction) et « Al bashma » en Syrie. En Algérie : « Al Sanudj ». Au Yemen : « Al-Kammun al Aswad » (Le Cumin Noir) ou « Al Qahta ». Le prophète de l'islam Mohammed (que le salut et la bénédiction soit sur lui, sws) l'a nommée : « Al Habba Al Sawda » [13].

Les anglais l'appelle « black cumun » ou « black seed ». En France on l'appelle « Nigelle » ou « cumin noir ».

2.1.2 Description botanique de la plante *Nigella sativa*

Nigella sativa est une plante très caractéristique, cependant elle peut être confondue avec d'autres plantes, notamment les autres espèces du genre *Nigella* (*figure 10*). *Nigella sativa*, présente une taille moyenne de 60 cm de hauteur avec des tiges dressées, suffisamment robustes pour pouvoir pousser à la verticale. Elle présente des angles (anguleuses), et ses tiges sont ramifiées (rameuses) et côtelées [14- 47-49].

Les feuilles sont des éléments qui vont permettre de faire la distinction avec les autres espèces de nigelle. Elles sont dites en « *patte d'araignée* » ou de « *fenouil* » très caractéristiques (*figure 11*). Les extrémités des feuilles (limbe) peuvent être divisées en deux (bi-pennatiséquées) ou en trois (tri-pennatiséquées). Elles sont composées de segments oblongs : plus longs que larges et de formes ovales. La partie de la feuille qui rejoint le limbe à la tige est « le pétiole », chez *Nigella sativa*, il est dit pubescent, c'est-à-dire présentant un duvet. [47-48]

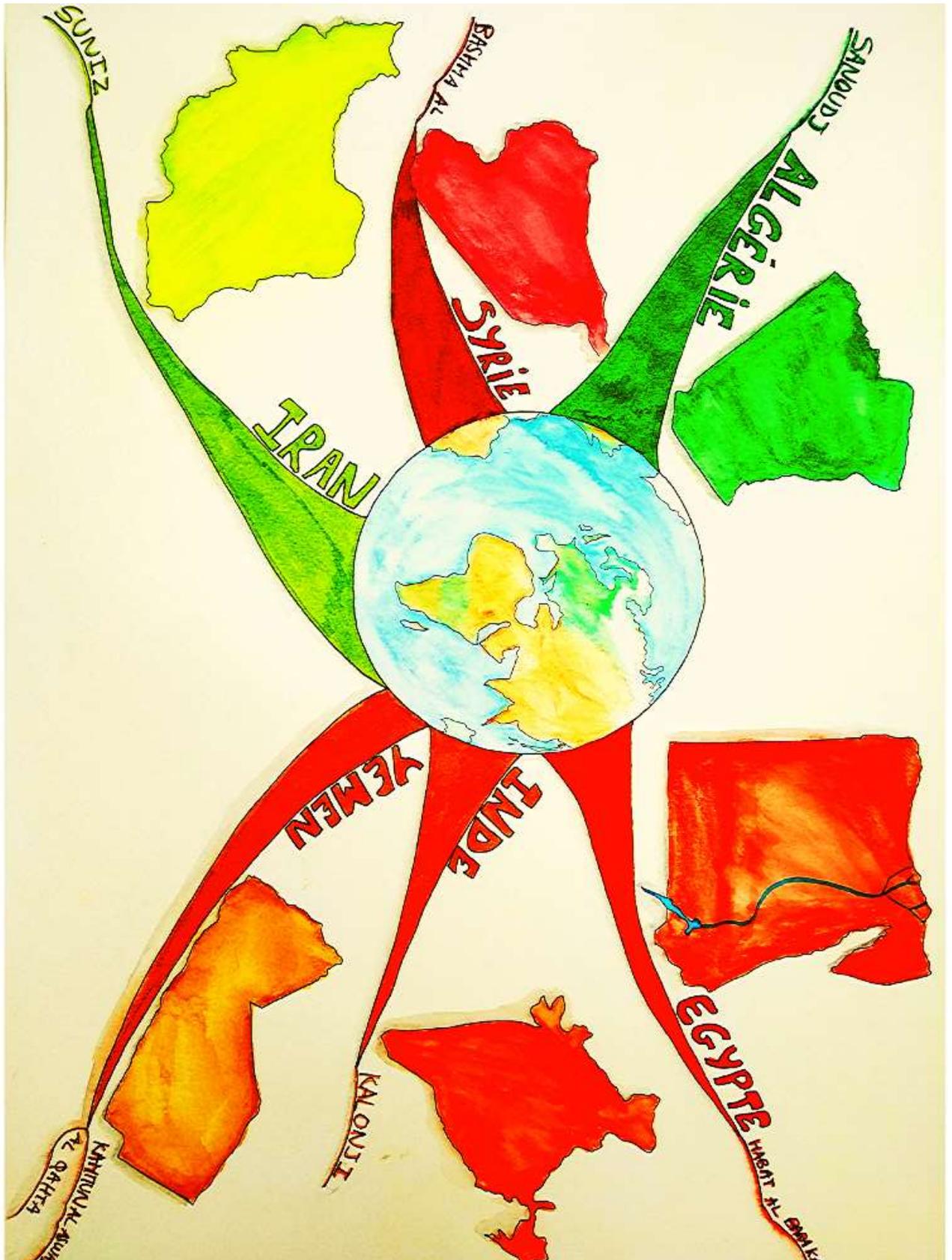


Figure 9 : Carte mentale des différentes appellations de la graine de nigelle à travers le monde.



Figure 10 : Représentation de la plante *Nigella sativa* (gauche) et *Nigella damascena* (droite) [47].



Figure 11 : Photo des feuilles de la plante *Nigella arvensis* [48].



Figure 12 : Photo d'une fleur de *Nigella arvensis* [50].

Les fleurs sont de type solitaire, axillaire, terminal et bisexué. Les calices présentent 5 sépales pétaloïdes, de couleurs blanches à bleu pâle. C'est une plante hermaphrodite, c'est-à-dire qu'elle se reproduit par elle-même et de façon autonome. [47-48-50]. Quant aux corolles, elles contiennent 5 pétales de taille inférieure aux sépales, ils ont la forme d'un cornet bilabié.

Un pétale possède deux petits renflements jaune verdâtre à son sommet. Et chaque fleur possède huit cornées nectarifères.



Figure 13 : Photo des fruits de *Nigella sativa* [50].

Le fruit est issu d'un ensemble de follicules soudés. Une capsule est constituée de cavités contenant chacune d'elles des graines triangulaires blanchâtres, qui une fois à maturité deviennent noires [47-48]. En effet, lors de l'ouverture de la capsule, les graines au contact de l'air ambiant, changent de couleur pour passer d'une couleur blanche à une couleur noir. Cette couleur noire est caractéristique des graines de nigelle. Ces fruits s'épanouissent entre avril et juin. La récolte se fait avant maturité complète pour conserver les graines qui sont à l'intérieur. La graine de nigelle est principalement cultivée dans les régions méditerranéennes, en Asie occidentale, en Arabie saoudite, au Soudan et en Éthiopie [9].

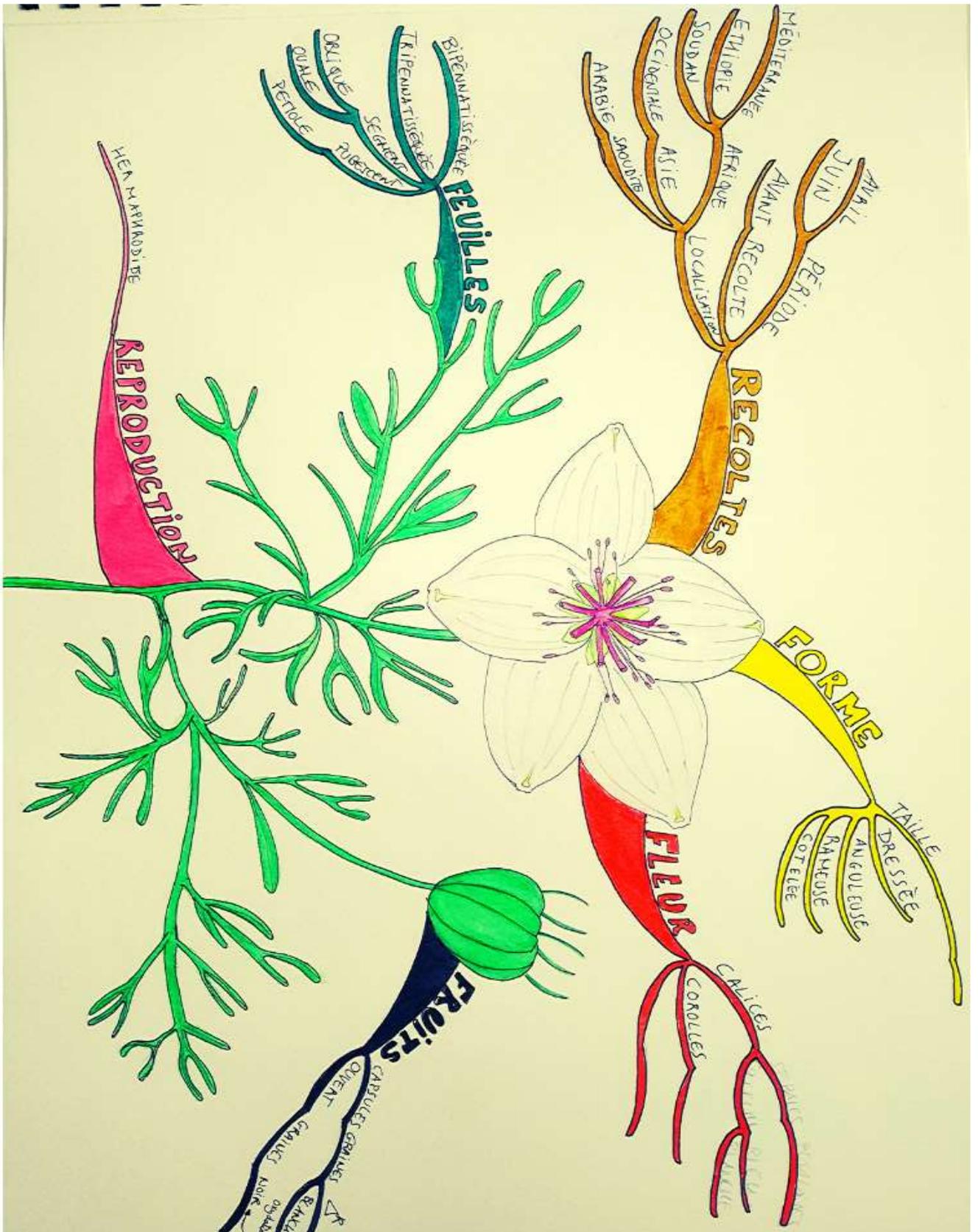


Figure 14 : Carte mentale des caractéristiques botaniques de *Nigella sativa*.

2.2 Utilisation de la graine de nigelle au cours de l'histoire

2.2.1 Dans l'Antiquité

La graine de nigelle peut être utilisée sous différentes formes galéniques (poudre, huile, huile essentielle, gélule). Les vertus de cette huile ont été rapportées depuis l'Antiquité. L'huile de nigelle aurait été utilisée par les Egyptiens, la véritable « huile des pharaons » est obtenue par pression à froid de la graine de nigelle. Une fiole de cette huile précieuse a été retrouvée dans la tombe de Toutankhamon. La médecine chinoise l'employait comme antibiotique naturel, tout comme les Indous, les Grecs et les Romains. Depuis 3000 ans, elle est connue comme étant une plante médicinale majeure. Au début de l'ère chrétienne, les éminents médecins grecs Dioskorides (Discoride) et Galénos (Galien) avaient noté plusieurs de ses bienfaits et préconisé plusieurs recettes à base de cette graine [46].

2.2.2 Au Moyen-âge

Selon l'imam Qadi Iyyad (décédé en 1149) :

-« Les médecins attribuent à la graine noire beaucoup de vertus, des propriétés étonnantes qui confirment les propos du prophète Mohamed (sws) à son égard. Galien dit qu'elle dissipe le ballonnement et élimine les vers parasites de l'intestin, soit lorsqu'on la mange ou lorsqu'on l'applique sur le ventre ; elle guérit le rhume (ou la grippe) lorsqu'on la fait frire puis qu'on la met dans une serviette et qu'on la sent ; elle guérit l'affection qui engendre des croûtes sur la peau (impetigo) et enlève les verrues et les taches noires ; elle libère les menstrues lorsqu'elles sont bloquées ; elle soulage du mal de tête lorsqu'on l'applique sur le front ; elle enlève les pustules et la gale ; elle guérit les tumeurs pituitaires lorsqu'on la mélange au vinaigre ; elle est efficace contre l'eau qui atteint l'œil (cataracte) lorsqu'on l'écrase, qu'on la mélange à l'huile d'ers puis qu'on la sent. Elle remédie à la gêne respiratoire (asthme). On l'utilise en bain de bouche lorsqu'on a mal aux dents. Elle favorise l'écoulement de l'urine et du lait de la nourrice. Elle est efficace contre la morsure des tarentules et chasse les insectes lorsqu'on en fait des exhalations» [9].

Durant le Moyen Age, les savants comptant parmi les plus remarquables du monde islamique en parlent dans leurs ouvrages. C'est le cas d'Abu 'Ali al-Husayn Ibn Sina (Avicenne) (décédé en 1037), grand intellectuel du monde médiéval, appelé par les auteurs musulmans *al-*

Shaykh al-Ra'īs (l'éminent érudit). Dans son ouvrage *al-Qānūn fī al-ṭibb* (*Canon de la médecine*) [10] traduit en latin au 7ème siècle, livre enseigné aux étudiants en médecine jusqu'à la fin du 17ème siècle, Avicenne traite de la graine de nigelle pour de multiples pathologies. Il l'a prescrit pour « la gêne respiratoire », pour « déboucher » l'appareil nasal. Il préconise également la graine de nigelle pour guérir la fièvre, ainsi que de nombreuses autres maladies telles que l'ascaridose, le prurigo et la gale [10].

Ibn Baytâr (décédé en 1248) est scientifique, botaniste, pharmacien et médecin arabe andalou. Il est l'auteur de l'encyclopédie pharmaceutique *Kitab Al-jami li-mufradat al-adwiya wa al-aghddhiya* (Le livre des termes médicaux et nutritionnels). Il y référence des descriptions détaillées de plus de 1 400 plantes médicinales, aliments et médicaments, et expose leurs valeurs thérapeutiques et leurs usages médicaux. Il décrit la graine de nigelle comme ayant des indications pour les ballonnements, pour les calculs de la vessie et des reins. Il l'a préconise pour guérir la fièvre ainsi que pour traiter la grippe [11].

Dawūd al –Antākī (décédé en 1600) un médecin et pharmacien musulman égyptien auteur de *Tadhkiratu ili al-albâb*. Il consacre tout un chapitre à la graine de nigelle. Il préconise de l'utiliser contre la bronchite et la toux, la cataracte, la chute de cheveux, les douleurs articulaires, la faiblesse sexuelle, ainsi que d'autres pathologies telles que la grippe et le vitiligo [12].

2.2.3 Epoque moderne

Aujourd'hui, l'intérêt de la graine de nigelle ne fait que s'intensifier. De nombreuses recherches aux Etats unis, en Arabie saoudite, au Pakistan et en Inde sont mises en place afin de s'intéresser de près aux multiples vertus de cette plante. Les chercheurs ont prouvé l'effet anti-inflammatoire de la graine de nigelle [15], son action bénéfique sur le système cardio vasculaire [16], l'effet anti-hyperlipidémiant [17], son effet hypoglycémiant [19-20], son action anti nociceptive [21], son potentiel anti-ocytocique [22]. Les chercheurs se sont aussi penchés sur l'effet gastro-protecteur de la graine de nigelle [23-24], son action neuro-protectrice [25], néphroprotectrice [26-27], antiparasitaire [28-29], son effet anxiolytique [30], ainsi que l'effet qui nous intéresse plus particulièrement : l'effet anticancéreux.

2.3 Formes naturelles et galéniques

2.3.1 Graines

Les graines sont de couleur noire, elles mesurent 2 à 3 mm de long, de forme triangulaire. Elles se conservent au sec, à l'abri de la chaleur et de la lumière. Les graines peuvent être utilisées entières ou pilées. Elles ont un goût très caractéristique : fruitées et légèrement piquantes [45].

Une vigilance spéciale doit alerter notre attention : c'est la falsification ! Certaines graines d'oignon et des graines d'autres espèces de nigelle peuvent être confondues ou falsifiées.

La graine peut être prise directement sous cette forme ou modifiée afin de donner les différentes formes galéniques. Les graines prises directement peuvent faire l'objet de recommandations médicales comme nous l'avons vu précédemment mais peuvent aussi être utilisées comme ingrédient, comme épice, que nous pouvons retrouver dans plusieurs plats traditionnels.



Figure 16 : Photo des graines de nigelles [102].

2.3.2 Poudre

La poudre de nigelle est obtenue par le broyage des graines de nigelles. Elle peut être administrée telle quelle par voie orale ou prise sous forme de gélules.

2.3.3 Huile essentielle

L'huile essentielle est de couleur jaune pâle avec une odeur caractéristique. Elle est obtenue par distillation à la vapeur d'eau des graines broyées de *Nigella sativa*. Elle est ensuite récupérée dans l'éther éthylique qui sera ensuite évaporé [45].

2.3.4 Huile grasse

L'extraction de l'huile se fait après broyage des graines par pression à froid ou à l'aide d'un solvant organique (*n*-hexane ou un mélange chloroforme/méthanol). L'huile obtenue par pression à froid est de couleur jaune doré, alors que celle extraite par solvant est jaune brunâtre, ceci serait dû à la capacité du solvant à extraire les pigments liposolubles et les oléorésines présentes dans les graines de nigelle [45]. L'extraction est faite avant la maturation, afin de conserver les graines d'un noir intense. L'huile se conserve au sec, à l'abri de la chaleur et de la lumière. C'est une huile fortement aromatique qui de ce fait, pourra être mélangée à d'autres huiles.



Figure 17 : Photo d'huile de Nigelle [103].

2.3.5 Gélules

Les gélules contiennent 100 à 500mg en teneur, en prévention comme « booster de l'immunité ». Il est recommandé de consommer 500 à 750 mg par jour. Il peut exister un surdosage si la prise de gélule est excessive ou si elle se fait durant une période prolongée. *N.sativa* pourra donner une légère toxicité avec des signes d'allergie, ou même une réaction anaphylactique chez certains patients [46].



Figure 18 : Photo de gélules de nigelle [104].

2.4 Composition de la graine de nigelle

2.4.1 Composition générale

Tableau 4: Composition générale de la graine de nigelle [45-51].

Composition	Teneur en pourcentage
Eau	6.4 %
Lipides	32.0 à 40%
Protéines	16 à 19 %
Fibres	6.6 %
Glucides	33,9%

Les graines de *Nigella sativa* étant très utilisées dans l'alimentation, ces données permettent de les qualifier comme ayant une bonne valeur nutritive. L'huile grasse représente 32 à 40 % de la composition de la graine de *N.sativa*, il y a la présence d'acides gras saturés et d'acides gras insaturés [31]. Les acides gras saturés sont essentiellement l'acide palmitique à 12.5%, l'acide stéarique et l'acide myristique à 30%. Les acides gras insaturés sont : l'acide arachidonique à 3%, l'acide linoléique à 50-60%, l'acide linoléique à 20 % et l'acide

palmitoléique (alpha sitostérol et beta sitostérol) à 44-54 %. De plus, quatre fractions de stérols sont représentées dans les proportions suivantes : stérols libres (36,7 %), stérols glycosylés et acétylés (29,3 %), stérols glycosylés (23 %) et les stérols estérifiés (11 %) [32-52].

L'huile essentielle représente 0,4 à 0,45% de la composition des graines de nigelle. C'est dans l'huile essentielle que nous retrouvons le principe actif de la graine de nigelle : la thymoquinone représente 30-48% de la composition de l'huile essentielle. D'autres molécules ayant des effets thérapeutiques sont présentes dans l'huile essentielle: la thymolhydroquinone, thymol, carvacrol alpha et bêta pinène, D-limonene, D citronello, P-Cymène [33].

La graine de nigelle contient aussi des protéines. La teneur en protéine est de 16 à 19.9%. Les principaux acides aminés que nous retrouvons sont les suivants : l'arginine (ARG), l'acide glutamique, la leucine (LEU), la lysine (LYS), la méthionine (MET), la tyrosine (TYR), la proline (PRO) et la thréonine (THR) [33].

Les alcaloïdes y sont aussi présents. Ce sont des molécules que nous retrouvons chez les Angiospermes et dans la famille des Ranunculaceae. La composition en alcaloïdes de la graine de nigelle est un mélange complexe : Nigellimine, Negellidine, Nigellimine-N-Oxyde [17]. Il y a la présence concomitante d'alcaloïdes de structures de bases différentes, ce qui est plutôt rarement observé chez une plante [45]. D'autres composants tels que : les coumarines, des saponosides, des minéraux (Cu, P, Zn, Fe...), des carbohydrates à 33.9%, des fibres et de l'eau font partie de la composition de la graine de nigelle [33-17].

Tableau 5: Composition de la graine de nigelle en huile grasse et huile essentielle [33].

Groups	Concentration	Subgroups	Components	Reference
Fixed Oil	32-40%	Saturated fatty acids	Palmitic acid (12.5%), Stearic and Myristic acid (30%).	(Tembhurne <i>et al.</i> , 2014)
		Unsaturated Fatty Acids	Arachidonic, Eicosadienoic acid (3%), Linoleic (50-60%), Linolenic, Oleic Acid (20%), Almitoleic acid, β -Sitosterol, α -Sitosterols (44-54%), Cycloeucaenol, Cycloartenol, Sterol Esters and Sterol Glucosides	(Tembhurne <i>et al.</i> , 2014).
Volatile Oil	0.4-0.45%	-	Nigellone, Thymoquinone (30-48%), Thymohydroquinone, Dithymoquinone, Thymol, Carvacrol, α & β -Pinene, D-limonene, D-citronello, P-cymene (7-15%) and 2-(2-Methoxypropyl)-5-Methyl-1,4-Benzenediol	(Tembhurne <i>et al.</i> , 2014)

Tableau 6: Composition de la graine de nigelle en protéines, alcaloïdes et autres [33].

Proteins	16-19.9%	Amino Acids	Arginine, Glutamic acid, Leucine, Lysine, Methionine, Tyrosine, Proline And Threonine	(Tembhurne <i>et al.</i> , 2014)
Alkaloids		Isoquinoline Alkaloids	Nigellicimine, Nigellidine, Nigellimine-N-oxide	(Ahmad <i>et al.</i> , 2013)
		Pyrazole Alkaloids	Nigellidine Nigellicine	(Benkaci <i>et al.</i> , 2007).
Coumarins			6-Methoxy-Coumarin, 7-Hydroxy-Coumarin, 7-Oxy-Coumarin	(Ahmad <i>et al.</i> , 2013)
Saponins		Triterpenes and Steroidals	α -Hedrin, Steryl-glucosides, Acetyl-steryl-glucoside	(Ahmad <i>et al.</i> , 2013)
Minerals	1.79-3.74		Cu, P, Zn, Fe Etc	(Ahmad <i>et al.</i> , 2013).
Carbohydrates	33.9%			(Tembhurne <i>et al.</i> , 2014)
Fiber	5.5%			(Ahmad <i>et al.</i> , 2013)
Water	6%			(Ahmad <i>et al.</i> , 2013)

2.4.2 La thymoquinone

La première extraction de la thymoquinone, principe actif de la graine de nigelle, a été réalisée via une méthode de chromatographie sur couche mince avec gel de silice [34]. La formule de la thymoquinone est : 2 isopropyl-5 méthyl-1,4 benzoquinone. La formule chimique est : C₁₀ H₁₂ O₂.

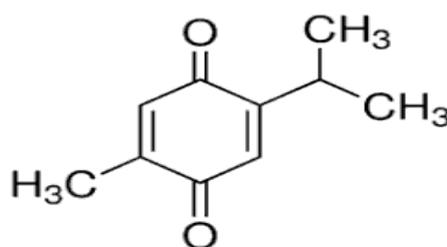


Figure 19 : La thymoquinone [106].

C'est une molécule cristalline de couleurs jaune, ayant une masse moléculaire de 164,2 g/mol [35-36-37]. Elle présente une bonne solubilité pour les solvants organiques (chloroforme, éthanol ou éther), elle présente cependant une faible solubilité pour les solutions aqueuses comme l'eau. Son point de fusion est de 46 degrés Celsius [38]. La thymoquinone représente 30 à 48% des composants présents dans l'huile essentielle de la graine de nigelle [17]. La thymoquinone agit sur plusieurs processus de transfert d'électrons grâce à sa structure,

notamment via la benzoquinone, car il est bon accepteur d'électrons et subira facilement des réactions d'oxydo-réduction [39].

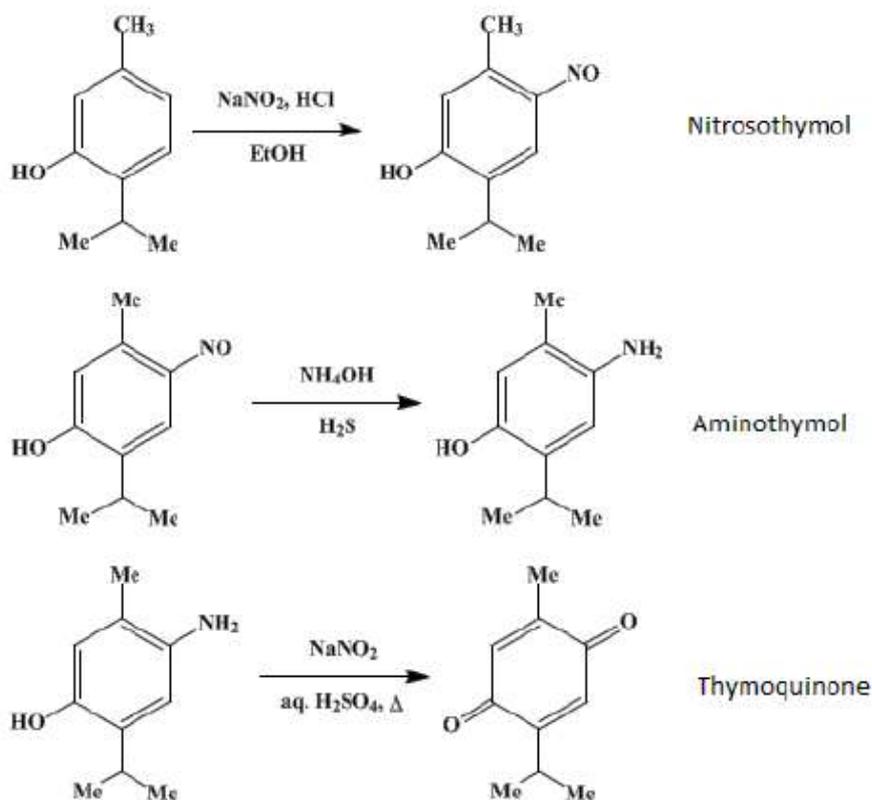


Figure 20 : Synthèse de la thymoquinone [107].

La thymoquinone est responsable des principaux effets de la graine de nigelle. Des études récentes ont démontré une activité antibactérienne [40-41], une activité antifongique, une activité néphroprotectrice [17], une activité gastro protectrice [42-43] et une activité pneumoprotectrice [44] de la thymoquinone. Deux études ont évalué l'action de la thymoquinone et son activité anticancéreuse dans la LAL.

3 Etude d'articles : Effets de la thymoquinone dans un modèle expérimental de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL).

Comme nous avons pu le voir dans la deuxième partie, la thymoquinone a suscité un grand intérêt dans de nombreuses pathologies. La LAL n'y échappe pas, elle a fait l'objet de différentes études scientifiques. L'objectif de ces recherches était de démontrer l'efficacité de la thymoquinone sur des cellules cancéreuses selon un mécanisme d'induction de l'apoptose.

L'apoptose ou mort cellulaire programmée est une mort cellulaire physiologique. Elle est l'une des clés pour réguler l'homéostasie et la morphogenèse des cellules de l'organisme. Son dérèglement est lié à plusieurs maladies, dont le cancer [53].

L'apoptose est caractérisée par différentes phases :

- 1) Une translocation la phosphatidylsérine membranaire (passage dans le volet externe de la cellule)
- 2) Un rétrécissement cellulaire
- 3) Une condensation de chromatine
- 4) Une fragmentation de l'ADN
- 5) Une élimination de la cellule apoptotique par phagocytose [54]

L'apoptose est déclenchée par une famille d'enzymes appelées caspases. Elles résident comme précurseurs latents dans la plupart des cellules du corps [55]. Il y a trois caspases (caspase-3, -6 et -7) qui ont un rôle majeur lors de la phase d'exécution de l'apoptose, en clivant plusieurs protéines structurales et réparatrices [56].

Les voies d'activation de la caspase-3 ont été identifiées, dépendantes ou indépendantes de la libération du cytochrome C mitochondrial et de la fonction de la caspase-9. La caspase-3 est nécessaire pour les caractéristiques de l'apoptose, et est indispensable pour la condensation apoptotique de la chromatine et la fragmentation de l'ADN. Ainsi, la caspase-3 est essentielle pour certains processus associés au démantèlement de la cellule et à la formation de corps apoptotiques [57]. La caspase-8 est une protéase à cystéine, associée à la cascade de signalisation apoptotique médiée par le TNF [58].

L'apoptose est de plus en plus reconnue comme une protection innée des tissus contre les agents cancérigènes. Ce processus inhibe la survie cellulaire et contrôle la croissance des populations de cellules précancéreuses et de cellules cancéreuses à différents stades. Compte tenu de ces connaissances, le mécanisme d'action de nombreux agents anticancéreux utilisés actuellement agissent sur l'apoptose.

Les composés phytochimiques qui agissent sur le cycle cellulaire sont de plus en plus étudiés car ils induisent l'apoptose et l'inhibition du cycle cellulaire. Celui-ci comporte quatre phases séquentielles (G0- G1, S, G2 et M). On peut soutenir que les phases les plus importantes sont la phase S : lorsqu'il y a la réplication de l'ADN et la phase M (mitotique) : lorsque la cellule se divise en deux cellules filles.

L'analyse de la réplication de l'ADN et des protéines impliquées dans la mitose, ont conduit à identifier de nouveaux biomarqueurs. Ces thérapies ciblées sont dirigées contre le cycle cellulaire [59].

Par conséquent plusieurs études ont prouvé l'efficacité de la thymoquinone à cibler des protéines pro-apoptiques et antiprolifératives. Différents chercheurs ont étudié le mécanisme d'action de la thymoquinone ainsi que son aptitude à induire l'apoptose et à inhiber la croissance tumorale [60-61-62-63]. À ce jour, le potentiel chimiothérapeutique de la thymoquinone en clinique a été prouvé *in vitro* [64]. D'autres études ont également montré ses effets anticancéreux prometteurs sur des modèles animaux [65].

3.1 Etude 1 : effet pro-apoptotique, dose et temps dépendant de la thymoquinone

3.1.1 But de l'étude

Une étude menée en 2016 a mis en place une expérience in vitro [66]. Le but étant de démontrer l'efficacité de la thymoquinone (TQ) seule et en association avec la doxorubicine (DOX). L'étude a porté sur l'effet antiprolifératif des cellules cancéreuses et l'induction de la mort cellulaire programmée par apoptose sur une lignée cellulaire de leucémie lymphoblastique Jurkat. Les cellules Jurkat sont des cellules d'une lignée cellulaire immortalisée de lymphocytes T humaines. Elles sont utilisées pour déterminer la sensibilité des cellules cancéreuses aux médicaments anticancéreux et aux radiations. Ce sont des cellules simples à observer : morphologie arrondie et taille uniforme.

La DOX fait partie de la famille des anthracyclines. C'est un antibiotique cytotoxique obtenu à partir de *Streptomyces peucetius var. caesius*. Elle peut exercer ses effets anticancéreux et toxiques selon plusieurs mécanismes tels que :

- L'inhibition de la topo-isomérase II
- L'intercalation avec les polymérase de l'ADN (acide désoxyribonucléique) et de l'ARN (acide ribonucléique)
- La formation de radicaux libres
- Et la fixation sur les membranes.

Le mécanisme exact de l'activité antitumorale de la DOX n'est pas connu. On pense généralement que c'est l'inhibition de l'ADN, de l'ARN et de la synthèse protéique qui est responsable du principal effet cytotoxique. C'est probablement le résultat de l'intercalation de l'anthracycline entre les paires de bases de l'ADN dans la double hélice, intercalation qui empêche son déroulement en vue de sa réplication.

La DOX a des effets indésirables très importants tels que la toxicité cardiaque qui nécessite un suivi au long court. Un des objectifs de cette étude est de diminuer la concentration minimale inhibitrice en DOX et de trouver une synergie avec la thymoquinone. Par ailleurs, la DOX est souvent utilisée en association avec d'autres médicaments pour traiter des cancers en chimiothérapie [67].

3.1.2 Méthode expérimentale

Des cellules Jurkat ont été mises en présence d'une concentration croissante de thymoquinone. La lignée cellulaire Jurkat a été cultivée en condition standard en présence de concentrations croissantes de thymoquinone (0µM – 30 µM) et DOX pendant 24h, 48h et 72h. L'induction de l'apoptose par la thymoquinone a été évaluée par le marquage de l'annexine V-FITC / PI et par analyse cytométrique.

L'effet de synergie est l'effet qui se produit lorsque nous avons une efficacité supérieure à la somme des deux entités. Les données de l'effet synergique ont été exprimées comme les sommes des concentrations inhibitrices médianes (CI50). C'est la concentration nécessaire d'un composé pour réduire de 50% la croissance in vitro d'une population d'organismes. C'est le principe d'effet de Chou et Talalay [66] utilisant la formule suivante:

$$CI = CA,50 / CI50,A + CB, 50/ CI50,B$$

La CI50 de A et la CI50 de B sont les concentrations d'agents individuels pour atteindre un effet médicamenteux de 50%. La concentration inhibitrice médiane (CI) est une méthode de représentation mathématique et quantitative d'une interaction pharmacologique à deux médicaments.

Une CI égale à 1 indique un effet additif entre les deux agents.

Une CI inférieur à 1 indique un effet synergique

Une CI supérieur à 1 indique un effet antagoniste.

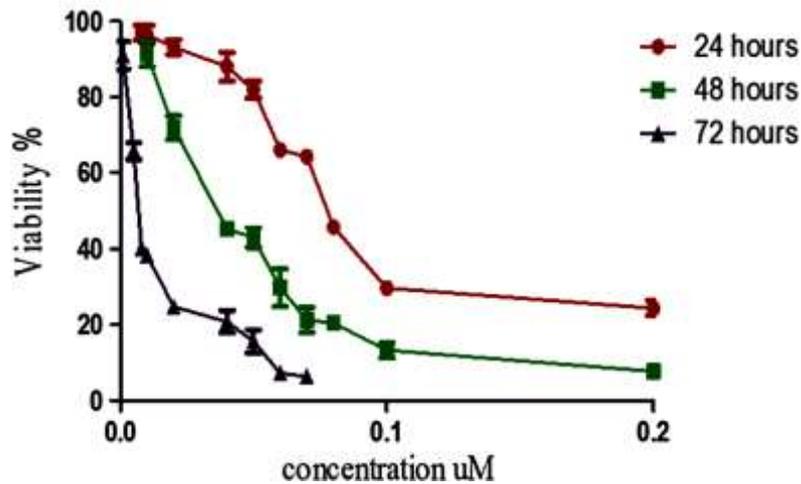


Figure 22 : Graphique représentant les effets de la DOX seule sur la viabilité des cellules Jurkat en fonction de la concentration et du temps [66].

Les cellules Jurkat ont été incubées pendant 24, 48 et 72 h en présence de différentes concentrations de DOX.

La CI50 était de :

- 0,075 $\mu\text{M} \pm 0,0124 \mu\text{M}$ en 24h
- 0,028 $\mu\text{M} \pm 0,007 \mu\text{M}$ en 48h
- 0,007 $\mu\text{M} \pm 0,001 \mu\text{M}$ en 72 h

La réduction de la survie des cellules en présence de la DOX est dose et temps dépendant.

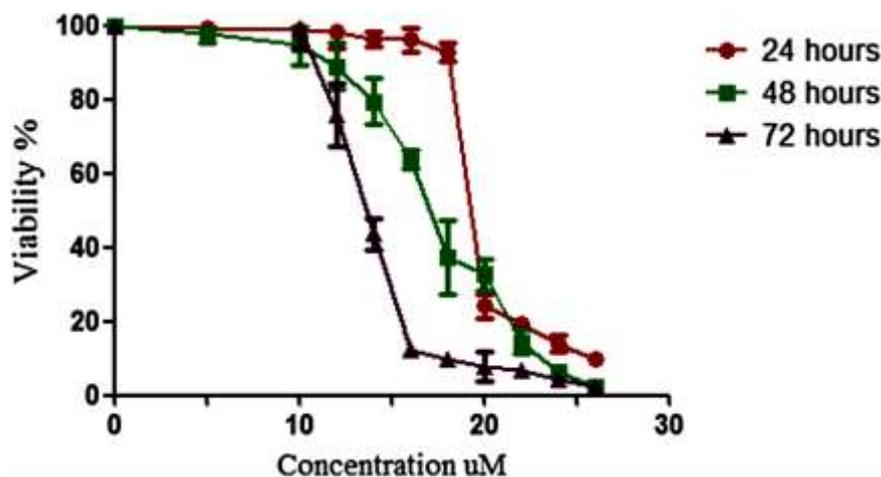


Figure 23 : Graphique représentant les effets de la thymoquinone sur la survie des cellules Jurkat [66].

La figure 23 montre la réduction de la survie cellulaire en fonction de concentration croissante en thymoquinone. Une réduction significative de la survie des cellules Jurkat est également observée de manière dépendante du temps à une concentration spécifique.

La CI50 est de :

-19,461 $\mu\text{M} \pm 1,141 \mu\text{M}$ en 24h

-17,342 $\mu\text{M} \pm 1,949 \mu\text{M}$ en 48h

-14,123 $\mu\text{M} \pm 1,874 \mu\text{M}$ en 72 h

On constate une diminution de la CI50 en fonction du temps des cellules Jurkat en présence thymoquinone. L'action de la thymoquinone dépend de la concentration et du temps.

Une autre expérience permet de confirmer l'effet pro-apoptotique de la thymoquinone sur les cellules Jurkat. Les cellules ont été incubées pendant 48 h à différentes concentrations de thymoquinone (4, 8, 12, 16 et 20 μM). Les cellules positives au marqueur annexine-V uniquement sont considérées comme des cellules apoptotiques précoces. Tandis que les cellules positives à la fois à l'annexine-V et au marqueur PI sont dites apoptotiques tardives. Comme le montre la *figure 24*: la quantité de cellules apoptotiques est croissante lors de l'augmentation en concentration de thymoquinone.

Le graphique A de la *figure 24*, représente pour chaque histogramme le niveau de fluorescence FITC. Et pour le graphique B, les courbes de fluorescence obtenues pour les cellules non traitées et traitées par la thymoquinone à 16 μM . La *figure 24* montre le processus continu d'apoptose. L'effet dose dépendant de la thymoquinone est vérifié. Plus la concentration en thymoquinone est élevée et plus le pourcentage de cellules en apoptose augmente.

Les cellules ont été exposées à différentes concentrations de thymoquinone (4, 8, 12, 16 et 20 μM) pendant 48 h (*figure 25*). Le tracé de points montre les résultats d'un test d'apoptose.

- Les cellules dans le quadrant inférieur gauche sont viables (Q4)
- Les cellules du quadrant inférieur droit sont en apoptose précoce (Q3)
- Les cellules du coin supérieur gauche sont en nécrose (Q1)
- Les cellules en haut à droite sont en apoptose tardive (Q2)

Dans la *figure 25*, nous observons un déplacement des cellules viable du quadrant inférieur gauche (Q4) vers le quadrant supérieur droite (Q2) qui représente les cellules en apoptose tardive.

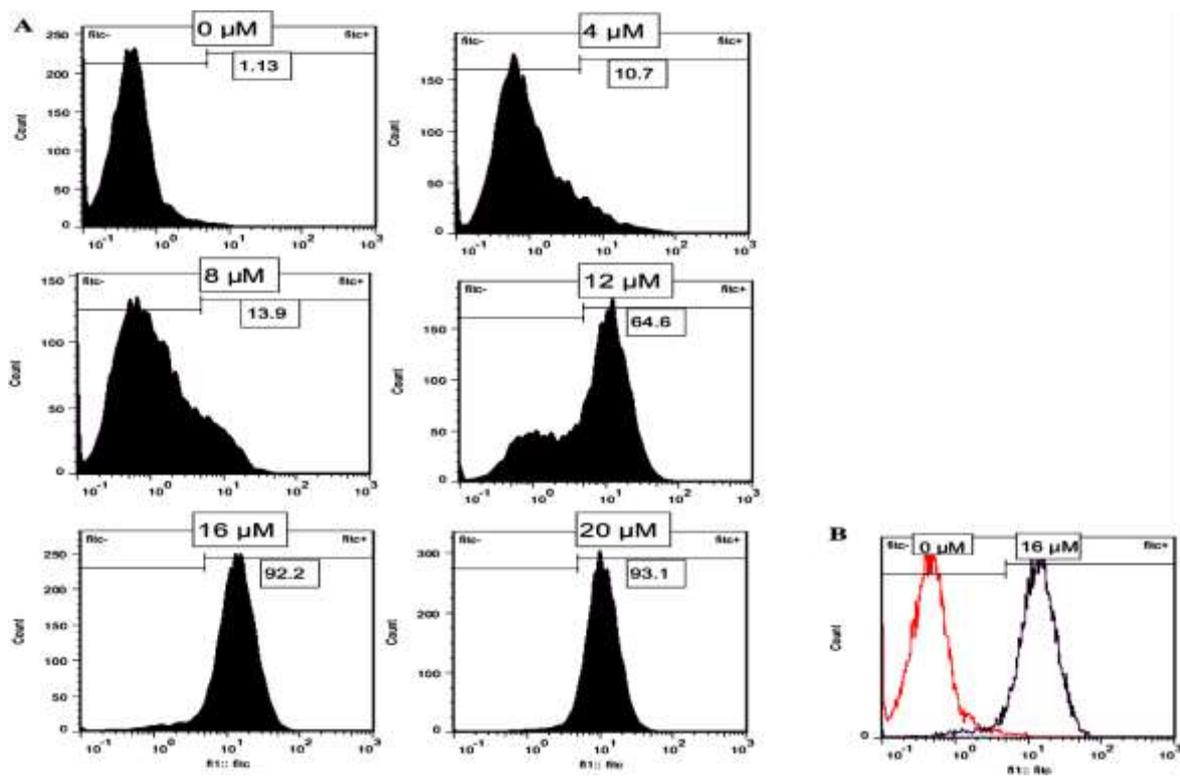


Figure 24 : Graphiques représentant l'induction continue de l'apoptose, dépendante de la concentration en thymoquinone sur les cellules Jurkat [66].

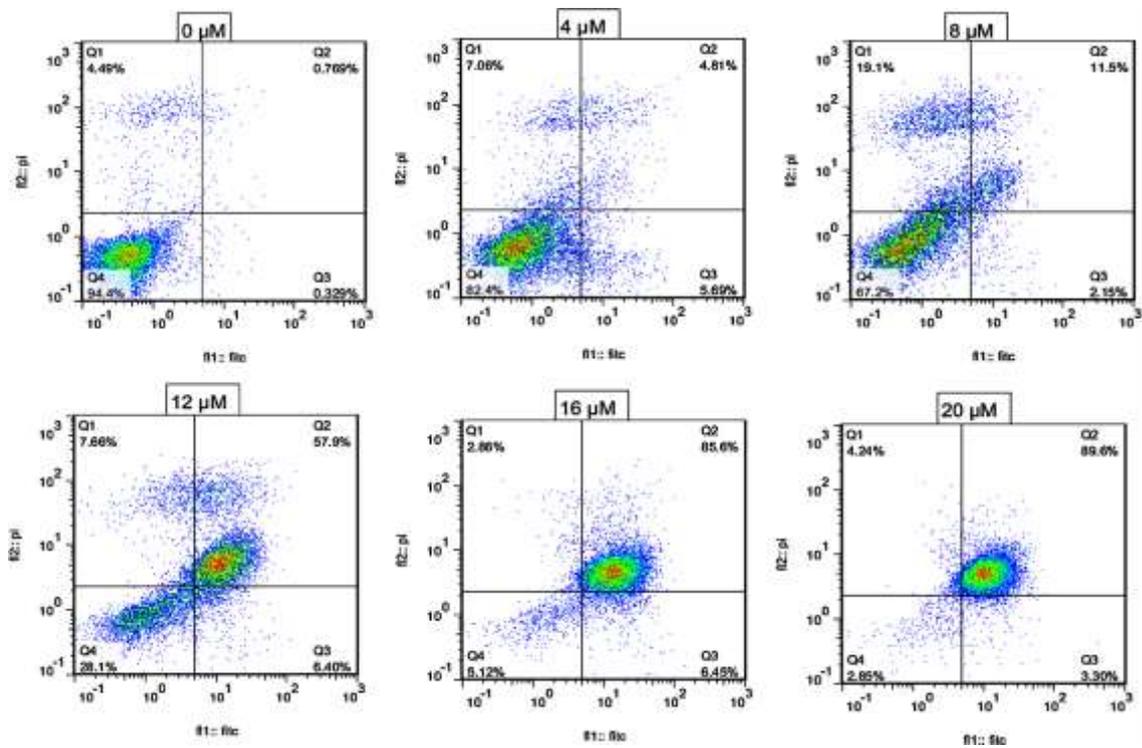


Figure 25 : Graphiques sur les effets de la concentration en thymoquinone sur le nombre de cellules apoptotiques dans les cellules Jurkat [66].

Tableau 7: Pourcentage de cellules en apoptose précoce et tardive en fonction d'une concentration croissante en thymoquinone.

Concentration en thymoquinone (en μM)	4 μM	8 μM	12 μM	16 μM	20 μM
Cellules en apoptose précoce	5,6 %	2,15%	6,45%	6,4%	3,3%
Cellules en apoptose tardive	4,81%	11,5%	57,9%	85,6%	89,6%

Les analyses statistiques ont révélé que la thymoquinone induisait une augmentation du nombre de cellules apoptotiques avec une différence significative. Pour chaque temps, différentes concentrations ont été comparées les unes aux autres, et les différences étaient significatives à : 4 μM et 16 μM ($P < 0,05$), 4 μM et 20 μM ($P < 0,01$), 8 μM et 20 μM ($P < 0,05$) pendant 24, 48 et 72 h, respectivement.

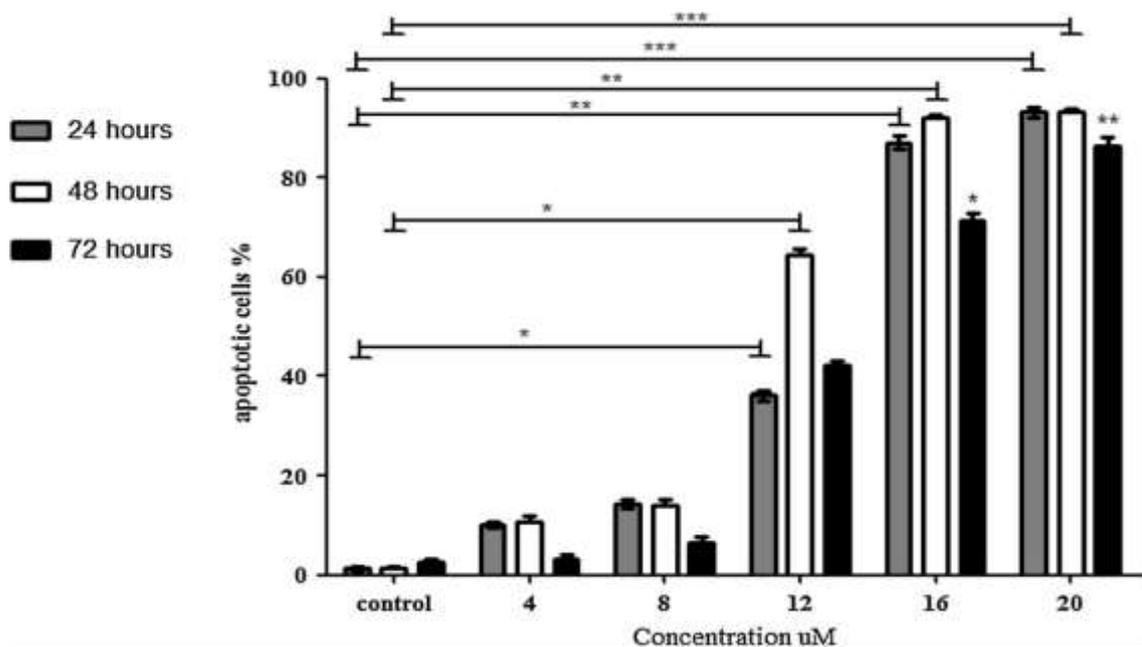


Figure 26 : Graphique sur les effets de la thymoquinone sur l'apoptose cellulaire à diverses concentrations après 24, 48 et 72 h [66].

L'effet de synergie de la thymoquinone et de la DOX a été évalué.

La viabilité cellulaire est mesurée à 24 h (A), 48h (B) et 72h (C) à différentes concentrations. Les graphiques de la *figure 27* mettent en évidence des concentrations basse en thymoquinone seule (6 ; 7 ; 8 et 9 μM). Les résultats nous indiquent qu'il n'y a pas de diminution significative de la viabilité cellulaire lorsque la thymoquinone est faiblement dosé (<12 μM). Par contre avec une combinaison de thymoquinone aux mêmes concentrations mais associé à

la DOX engendre une réduction significative de la survie cellulaire par rapport à chaque traitement seul. C'est entre 24h et 48h que la réduction est la plus importante. Ces résultats nous montrent qu'une cytotoxicité plus forte est observée à toutes les combinaisons utilisées par rapport à chaque médicament seul.

Au total, cette étude démontre l'effet pro-apoptotique induits par la thymoquinone en combinaison avec la DOX sur une lignée cellulaire de leucémie lymphoblastique Jurkat. Cette étude encourageante ouvre des voies de recherche de la thymoquinone sur un traitement de la LAL.

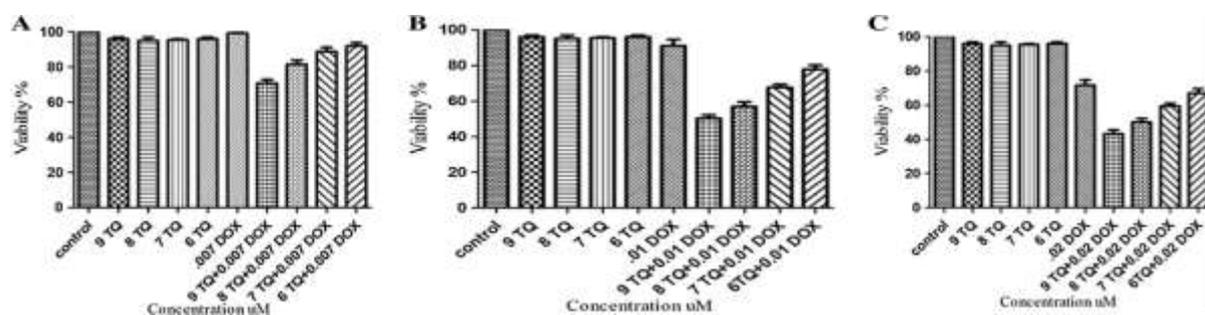


Figure 27 : Survie cellulaire des cellules Jurkat traitées avec différentes concentrations de TQ et de DOX [66].

3.2 Etude 2 : Effet antiprolifératif et apoptotique de la thymoquinone sur une lignée cellulaire leucémique

Une deuxième étude a démontré les effets de la thymoquinone sur une lignée cellulaire leucémique CEMss (lignée cellulaire de cellules lymphoblastique T4 humaine) [75]. Le but de l'expérience était de mettre en évidence l'effet apoptotique et antiprolifératif de la thymoquinone sur les cellules CEMss, ainsi que son mécanisme d'action.

3.2.1 Méthode expérimentale

Les cellules CEMss ont été mises en présence de deux colorants : L'acridine d'orange (AO) et l'iodure de propidium (PI). Ce sont des colorants fluorescents qui sont parmi les plus utilisés pour analyser la prolifération cellulaires et les caractéristiques morphologiques *in vitro*. Un test à l'annexine V a été réalisé, afin de détecter spécifiquement la perte d'asymétrie de la membrane plasmique [98].

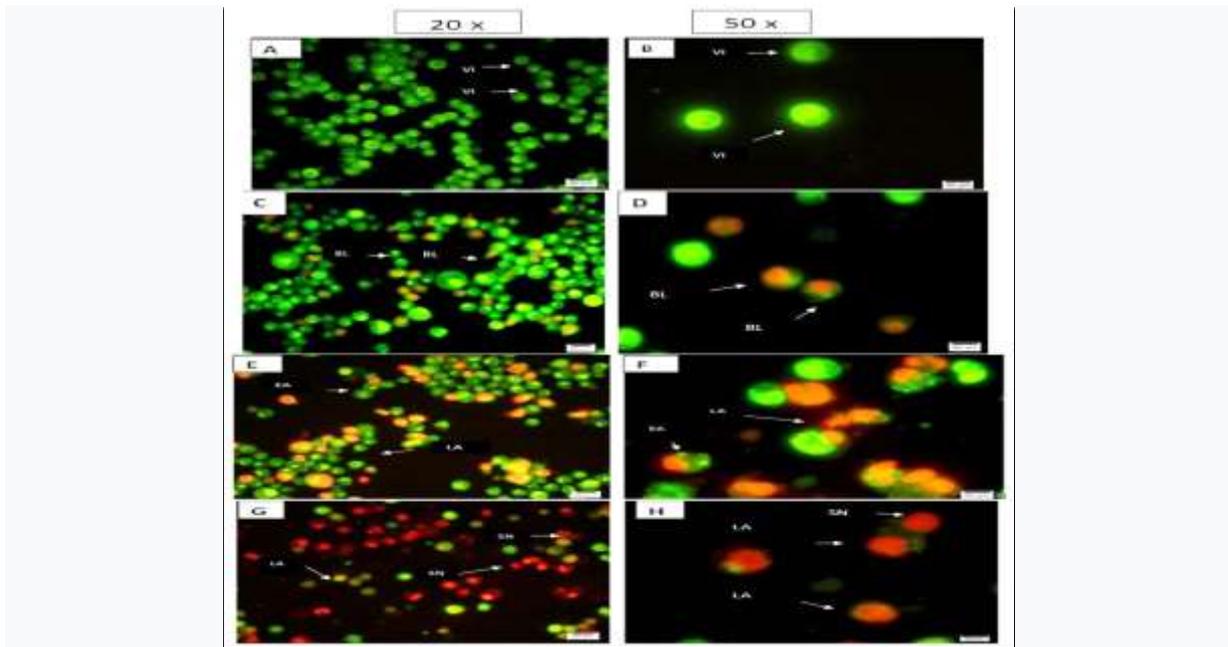


Figure 28 : Quantification de l'apoptose : Micrographies fluorescentes de cellules CEMss à double coloration à l'acridine d'orange et à l'iodure de propidium [75] (VI : cellules viables ; BL : perte d'asymétrie de la membrane cellulaire ; LA : apoptose tardive ; SN : nécrose secondaire).

Dans les figures (A et B), les cellules ne sont pas traitées par la thymoquinone, elles ont une structure normale sans apoptose ni nécrose (condition contrôle). Les parties (C et D) montrent des caractéristiques de l'apoptose précoce à 24h. Une perte d'asymétrie de la membrane cellulaire est visualisée (BL) ainsi qu'une fragmentation de l'ADN (représentée par l'intercalation de l'acridine d'orange). Dans les figures (E et F), la couleur orange représente la marque d'une l'apoptose tardive. Enfin les figures (G et H) mettent en évidence une nécrose secondaire de couleur rouge vif visible après 72 h.

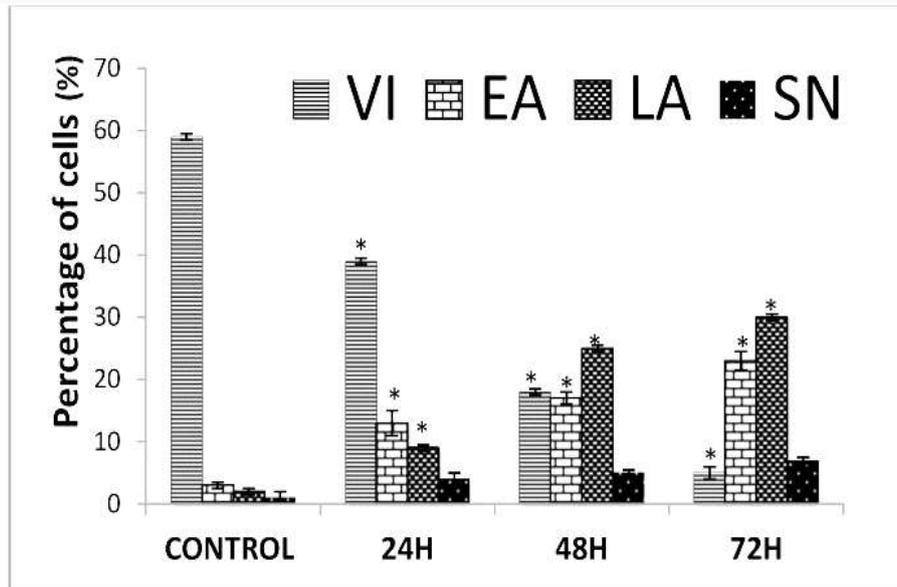


Figure 29: Nombre de cellules en fonction du stade apoptotique (VI: cellule viable, EA: apoptose précoce, LA: apoptose tardive, SN: nécrose secondaire) en fonction du temps [75].

La mort des cellules CEMss via l'apoptose a augmenté significativement (* $p < 0,05$) d'une manière dépendante du temps. Cependant, aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée dans le nombre de cellules de nécrose. Cette analyse des cellules CEMss au microscope à fluorescence permet de montrer une fois de plus que la thymoquinone déclenche l'apoptose de manière temps-dépendant.

L'étude de la fragmentation de la molécule d'ADN par électrophorèse en gel d'agarose, a permis d'identifier ce clivage lors de l'analyse des cellules CEMss traité par la thymoquinone [77]. Ce test a été utilisé de nombreuses fois pour détecter l'apoptose dans les lignées cellulaires de leucémie [78, 79].

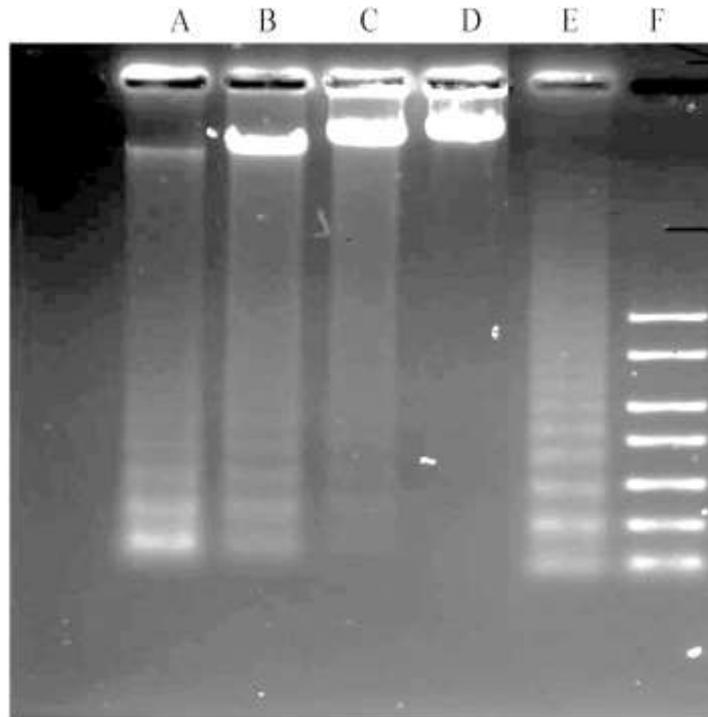


Figure 30 : Effet de la thymoquinone sur la fragmentation de l'ADN [75].

Le contrôle positif (F) sur la *figure 30* montre la migration de l'ADN en barreau d'échelle tandis que le contrôle négatif (D) montre l'ADN non dénaturé. Les dépôts d'ADN dans les puits (A), (B), (C) et (E) sont de l'ADN traité par de la thymoquinone. Nous observons une fragmentation internucléosomale de l'ADN dans les cellules traitées par la thymoquinone. La formation d'ADN en barreau d'échelle a augmenté en fonction du temps.

3.2.2 Action sur le cycle cellulaire

Le cadran (A) de la *figure 31* met en évidence un arrêt de la phase S du cycle cellulaire des cellules CEMss. La thymoquinone induit un épuisement des cellules en phase G0 et une augmentation de l'apoptose à 3, 6, 12, 24, 48 et 72 h de traitement. Dans le cadran (B), les sigles "*" indique une différence significative $p < 0,05$.

Ces résultats suggèrent que la thymoquinone induit un arrêt du cycle cellulaire en phase S suivi d'une apoptose dans les cellules leucémique CEMss [80-81].

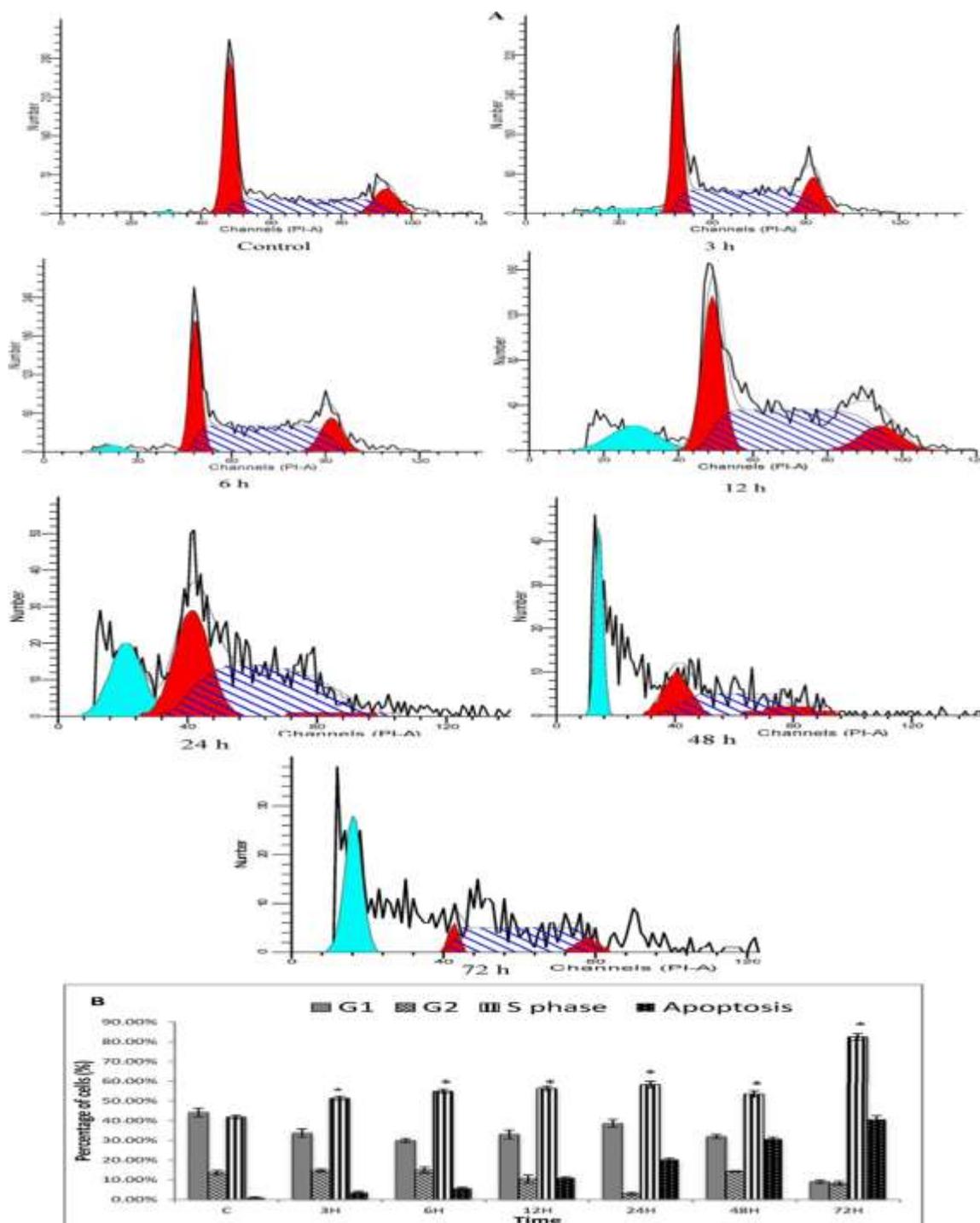


Figure 31 : L'histogramme du cycle cellulaire par cytométrie en flux des cellules CEMss traitées avec de la thymoquinone (1,5 µg/mL) [75].

3.2.3 Activation sur les voies caspases

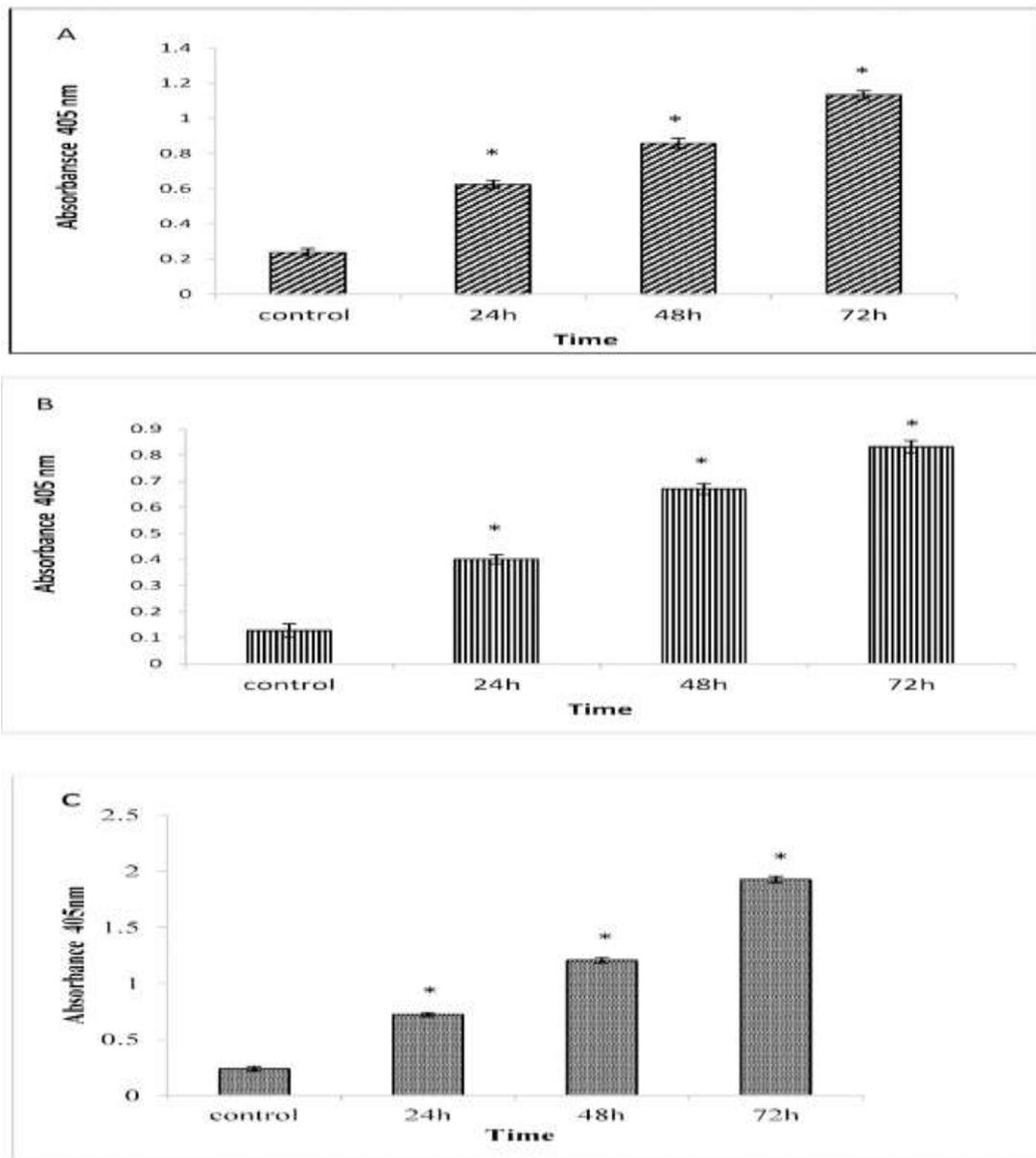


Figure 32: Graphiques sur l'analyse des caspases 3, 8 et 9 par cytométrie en flux [75].

L'activité des enzymes caspases 3 (cadrant A), 8 (cadrant B) et 9 (cadrant C) a été mesurée au sein des cellules CEMss traitées par tymoquinone. Les résultats obtenus ont montré une augmentation des activités enzymatiques en fonction du temps de manière significative $p < 0,05$ [59-79]. De ce fait, il a été déduit que la thymoquinone induisait l'apoptose par la voie des caspases.

3.2.4 Mécanisme d'action de la thymoquinone

Le mécanisme d'action de la thymoquinone est expliqué par une étude menée par Yu S.-M (et,al 2013). Ils ont démontré que la thymoquinone induisait l'apoptose via la génération de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) [82]. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont une variété de molécules et de radicaux libres dérivés de l'oxygène moléculaire qui sont constamment générés et éliminés dans le système biologique. Les ROS jouent un rôle important dans les fonctions biochimiques normales et lors de pathologies. Des quantités excessives de ROS peuvent causer des dommages oxydatifs aux lipides, aux protéines et à l'ADN, entraînant des tumeurs ou une mort cellulaire. Le corps humain possède des systèmes de défense antioxydants qui limitent leur production. La génération d'un stress oxydatif en réponse à une agression externe est impliquée dans l'activation de facteurs de transcription et du déclenchement de l'apoptose. De nombreuses études soutiennent que l'augmentation de la génération de ROS contribue au traitement des cellules cancéreuses [83]. En accord avec l'étude menée par Yu S.-M (et al, 2013), l'étude constate que la thymoquinone est un puissant inducteur de l'apoptose dans les cellules lymphoïdes CEMss via la libération de ROS.

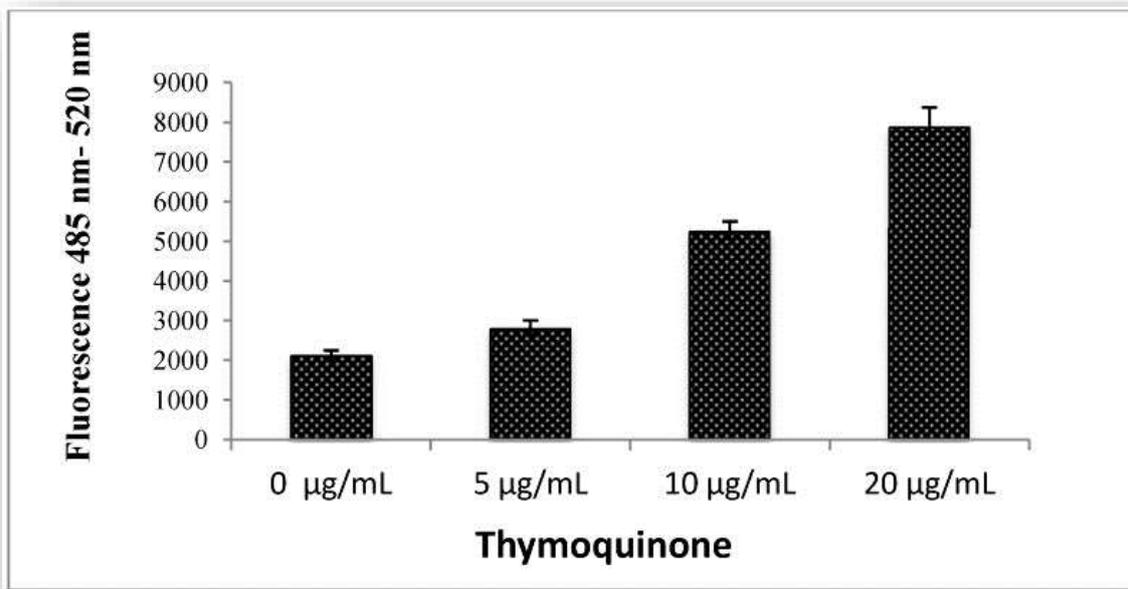


Figure 33 : Graphique sur les effets des espèces réactives de l'oxygène (ROS) [75].

Sur le graphique de la *figure 33*, nous observons une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) par fluorescence en fonction de l'augmentation en concentration de la thymoquinone : 0 ; 5 ; 10 et 20 g/mL, Nous pouvons ainsi dire qu'il y a une augmentation croissante de production de ROS sur les lignées cellulaires lymphoïdes CEMss, d'une manière dépendante de la concentration en thymoquinone [84].

La génération de ROS est étroitement associée aux protéines mitochondriales telles que Bcl-2 et Bax. Ces protéines sont liées à la membrane et leur capacité à subir à la fois une homodimérisation et une hétérodimérisation afin de réguler l'apoptose [85]. Les protéines de la famille Bcl-2 sont des régulateurs clés de l'apoptose. Elles comprennent à la fois des protéines anti- et pro-apoptotiques et une légère modification de l'équilibre dynamique de ces protéines, peut entraîner une inhibition ou une promotion de la mort cellulaire [86]. Cependant, il existe des composants intracellulaires qui empêchent l'endommagement cellulaire engendrée par la génération de ROS : ce sont des facteurs de protection. Parmi eux, HSP70 est largement étudié pour sa fonction de protection. C'est une molécule chaperon qui s'accumule dans les cellules après de nombreux stress différents et favorise la survie cellulaire. Contrairement aux cellules normales, la plupart des cellules cancéreuses expriment richement HSP70 au niveau basal pour résister à diverses agressions et pendant le traitement anticancéreux [87]. Il a été constaté que la thymoquinone provoquait une baisse significative de Bcl2 et HSP70 et une augmentation de Bax d'une manière temps-dépendante.

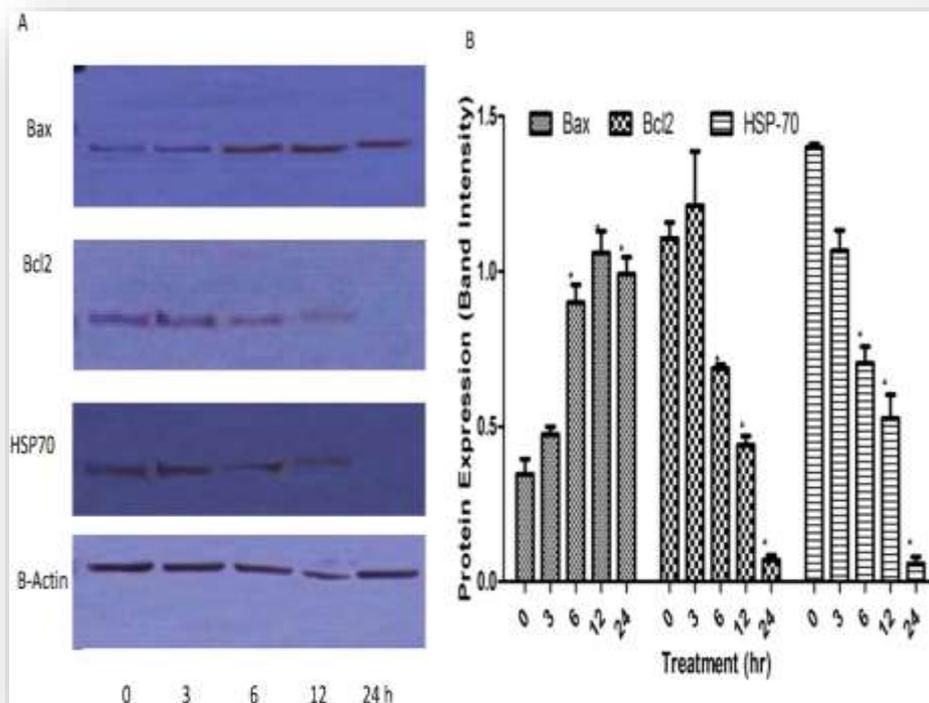


Figure 34: Effet de la thymoquinone sur les protéines régulatrices de l'apoptose: Bax, Bcl-2 et Hsp70 à 3, 6, 12 et 24 h. [75]. La β -Actine est le témoin. '*' Indique statistiquement significatif à $p < 0,05$.

L'expression de Bcl-2 et Hsp70 a diminué de manière significative tandis que le niveau de protéine Bax a augmenté remarquablement d'une manière dose-dépendante. Le rapport Bax/Bcl-2 Hsp70 a également augmenté considérablement en fonction du temps [88]. La thymoquinone augmente la production de ROS et Bax d'une part et diminue la production de molécule de protection telles que HSP70 et Bcl-2 d'autre part. Cette double combinaison dans son mécanisme d'action permet de faire de la thymoquinone une molécule candidate potentielle pour une éventuelle étude clinique contre la leucémie aigue lymphoblastique.

En effet la thymoquinone à l'avantage d'un effet cytotoxique puissant ciblé sur les cellules cancéreuses. En revanche, elle induit un faible effet sur les cellules normales, non cancéreuses, y compris :

- Les fibroblastes de souris [63] et les fibroblastes des poumons [90]
- Les cellules épithéliales de la prostate [69]
- Les cellules intestinales normales chez patient [89]

Cependant la thymoquinone aurait des conséquences cytotoxiques importantes sur certaines cellules non tumorales uniquement à forte concentration [71].

Tout comme l'induction de l'apoptose par thymoquinone peut différer en fonction de type de cancer. Elle peut être caspases dépendante [75-91-92], ou indépendante comme dans la lignée cellulaire du cancer de la prostate [93].

Les résultats de l'étude 1 [66] et l'étude 2 [75] sont concordants, les expériences menées ont prouvé l'effet antiprolifératif de la thymoquinone dans diverses lignées cellulaires cancéreuses [68-69-74] y compris des lignées cellulaires résistantes aux médicaments [68-70]. L'étude de Abdelfadil et coll. a montré que la thymoquinone diminue la survie des cellules cancéreuse de façon dose dépendante [71]. Ce qui ressort également des études 1 et 2.

D'autres travaux ont montré l'induction de l'apoptose par la thymoquinone dans d'autres lignées cellulaires impliquées dans des pathologies telles que le neuroblastome [70], la leucémie myéloblastique humaine [94], le carcinome du sein humain [70, 95] le cancer du côlon humain [96], le cancer hépatique [97] l'ostéosarcome [98]. Hussain et coll. [99] ont rapporté que l'effet de l'apoptose induit par la thymoquinone dans plusieurs lymphomes primitifs d'épanchement était faite d'une façon dose-dépendante.

L'effet de synergie de la thymoquinone a aussi été évalué avec d'autres médicaments que la DOX. Une étude a évalué l'effet de la thymoquinone avec Gemcitabine et Oxaliplatine sur les cellules cancéreuses du pancréas. Les résultats ont montré 2 voire 3 fois plus d'effets cytotoxiques en combinant ces médicaments avec la thymoquinone qu'avec n'importe quel autre traitement [72].

De telles combinaisons peuvent être utilisées pour améliorer l'efficacité des agents de chimiothérapie dans le traitement du cancer. Elles permettent d'augmenter l'effet cytotoxique et minimiser les effets secondaires des médicaments utilisés en chimiothérapie [73]. La thymoquinone représente donc un bon candidat pour être utilisé en association avec d'autres chimiothérapies anticancéreuses.

4 Partie 4: Questionnaire

Dans le cadre de cette thèse, un questionnaire a été mis en place afin de sensibiliser les pharmaciens d'officine sur la LAL et sur la potentielle utilisation de *Nigella sativa*, en complément des thérapies anticancéreuses. Ce questionnaire a été partagé sur la plateforme Google forms. Des pharmaciens de toute la France métropolitaine et de l'île de la réunion ont été sollicités.

L'utilisation de la graine de nigelle en pharmacie d'officine :

Question 1 : Etes-vous ?

- Un homme
- Une femme

Question 2 : Etes-vous ?

- Pharmacien titulaire
- Pharmacien adjoint

Question 3 : Avez-vous entre ?

- 23-33 ans
- 33-43 ans
- 43-53 ans
- 53-63 ans
- 63 ans et plus

Question 4 : Indiquez votre département

.....

Question 5 : Délivrez-vous des plantes médicinales à la demande du patient ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

Question 6 : Délivrez-vous des plantes médicinales de votre propre conseil ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

Question 7 : Délivrez-vous des plantes médicinales sur prescription ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent
-

Question 8 : Quel est le profil des patients qui utilisent la phytothérapie ?

- Homme âgé de 0-15 ans
- Homme âgé de 16-40 ans
- Homme âgé de 41-65 ans
- Homme âgé de 66 ans et plus
- Femme âgée de 0-15 ans
- Femme âgée de 16-40 ans
- Femme âgée de 41-65 ans
- Femme âgée de 66 ans et plus

Question 9 : Pour quelles indications thérapeutiques êtes-vous amené à conseiller la phytothérapie ?

.....
.....
.....

Question 10 : Des effets indésirables liés à la prise de phytothérapie vous ont-ils été rapportés ? Quelles a été votre attitude ?

.....
.....
.....

Question 11 : Connaissez-vous des interactions entre la phytothérapie et des spécialités pharmaceutiques qui seraient susceptibles de vous alerter ?

.....
.....
.....
.....

Question 12 : Connaissez-vous la graine de nigelle (*Nigella sativa*) ?

- Oui
- Non

Question 13 : Commercialisez-vous des produits à base de Nigelle ?

- Graines en sachet
- Poudre
- Huile grasse
- Huile essentielle
- Aucun

Question 14 : Avez-vous déjà eu des demandes ou même des conseils sur l'utilisation de *Nigella sativa* au comptoir ? Si oui pour quelles indications ?

.....
.....
.....

Question 15 : Connaissez-vous les principaux signes cliniques et biologiques révélateurs d'une leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) ?

.....
.....
.....

Question 16 : Connaissez-vous les traitements disponibles de la leucémie aiguë lymphoblastique ?

.....
.....
.....

Question 17 : Dans le cas où la graine de nigelle serait inscrite à la pharmacopée française seriez-vous susceptible de la conseiller en complément des traitements actuels pour les patients atteint de LAL?

- Oui
- Non

4.1 Interprétation des résultats

4.1.1 Objectifs

- ✓ Évaluer les connaissances des pharmaciens d'officine vis à vis de *Nigella sativa* et connaître son utilisation en pharmacie.
- ✓ Évaluer les connaissances des pharmaciens d'officine sur la LAL, la pathologie et sa prise en charge thérapeutique.
- ✓ Évaluer l'intérêt et la vigilance du pharmacien d'officine quant à l'utilisation possible de la thymoquinone dans la prise en charge de la LAL.

4.1.2 Pharmaciens et méthode

Le questionnaire a été établi sur la plateforme en ligne Google Forms, il a été partagé durant le mois d'Octobre 2020 via notre entourage et nos connaissances dans un premier temps et aussi partagé au sein des réseaux sociaux de groupe de pharmaciens français. Une adresse mail est demandée afin d'authentifier la personne qui répond au questionnaire. Seuls les pharmaciens adjoints et titulaires d'officine métropolitaine et d'outre-mer ont été invités à répondre au questionnaire.

4.1.3 Le questionnaire pharmacien

Le questionnaire comprend 5 volets principaux :

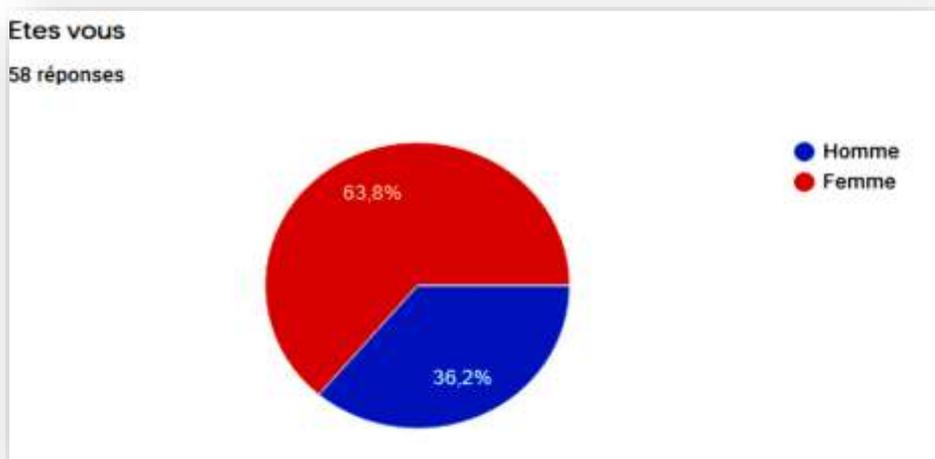
- 1) Connaissance et pertinence de l'échantillon : questions 1 à question 4
- 2) Utilisation de manière générale des plantes en officine : questions 5 à 11
- 3) Utilisation de la graine de nigelle en officine : questions 12 à 14
- 4) Connaissance de la LAL par les pharmaciens : questions 15 et 16
- 5) Intérêt potentiel des pharmaciens sur l'utilisation de *Nigella sativa* sur la LAL : question 17

4.1.3.1 Connaissance et pertinence de l'échantillon

Le but de ces questions est de connaître au mieux notre échantillon et faire l'avatar du pharmacien qui répond aux questions, connaître : le sexe, l'âge, la provenance et le statut : adjoint ou titulaire d'officine. L'échantillon doit être le plus représentatif possible des pharmaciens d'officine. Ainsi nous aurons des résultats plus pertinents. Plus l'échantillon est grand et très hétérogène et meilleure sera la représentativité de notre échantillon des pharmaciens de manière globale. Ceci a pu être réalisé via le partage du questionnaire sur les réseaux de pharmaciens en ligne.

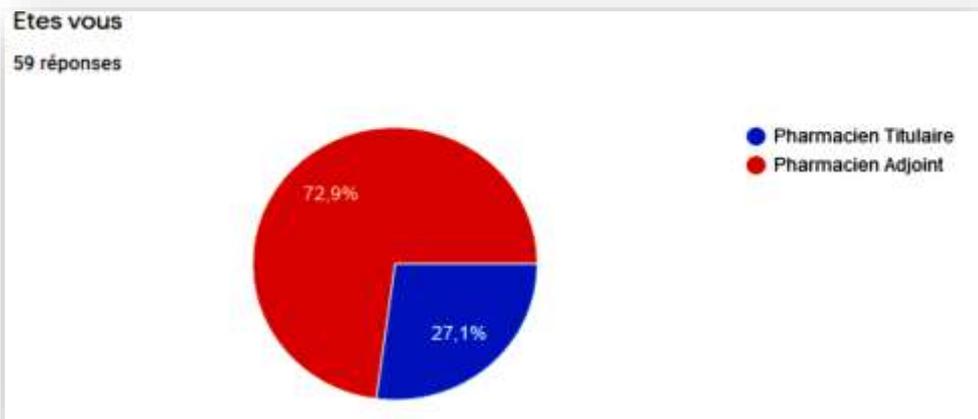
- Question 1

La majorité de l'échantillon sont des femmes, ce qui est assez représentatif aux chiffres nationaux, où les femmes représentent 66% des pharmaciens [102].



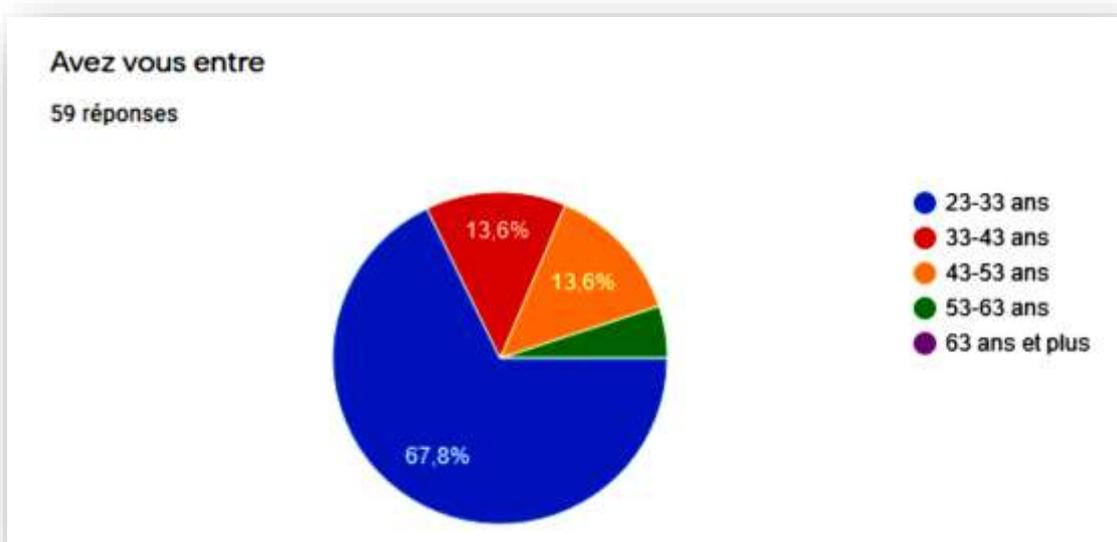
- Question 2

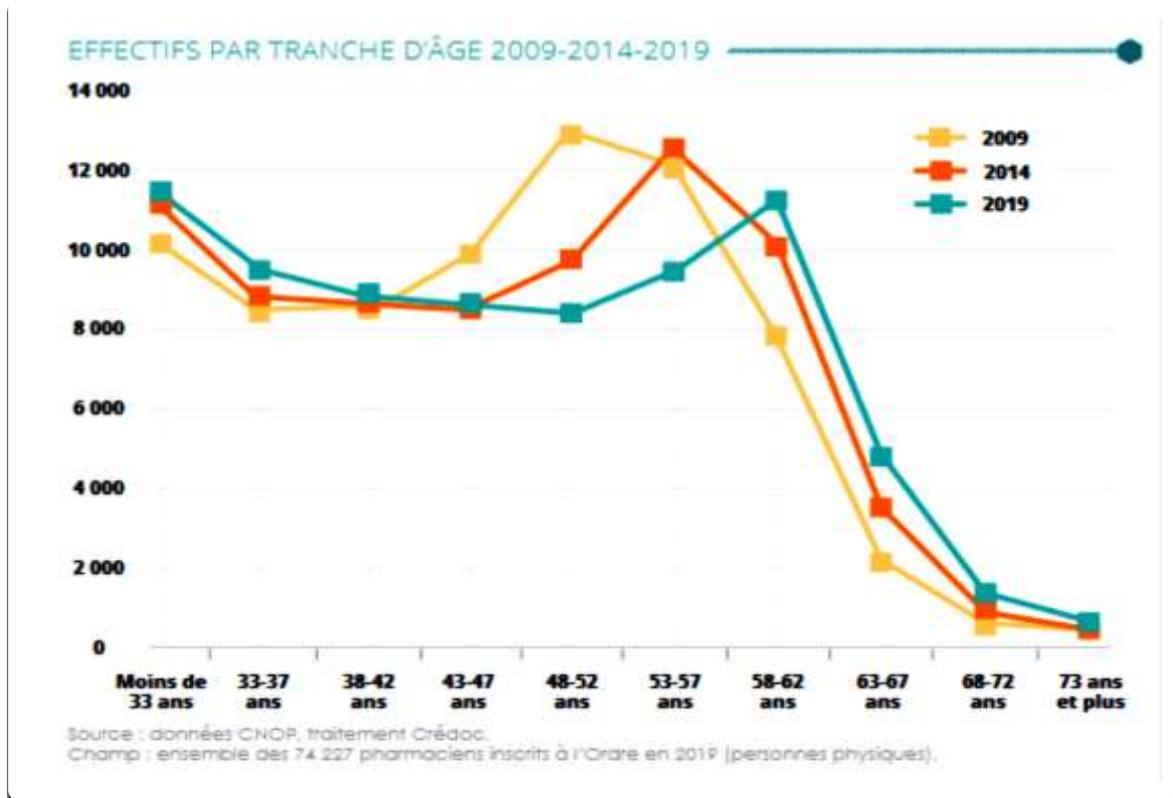
Les pharmaciens titulaires sont minoritaires dans notre échantillon (27,1%), comparé aux chiffres nationaux au 1er janvier 2020 où les titulaires représentent 47,4% des pharmaciens d'officine [102]. Ceci s'explique par la participation active des jeunes pharmaciens aux questionnaires.



- Question 3

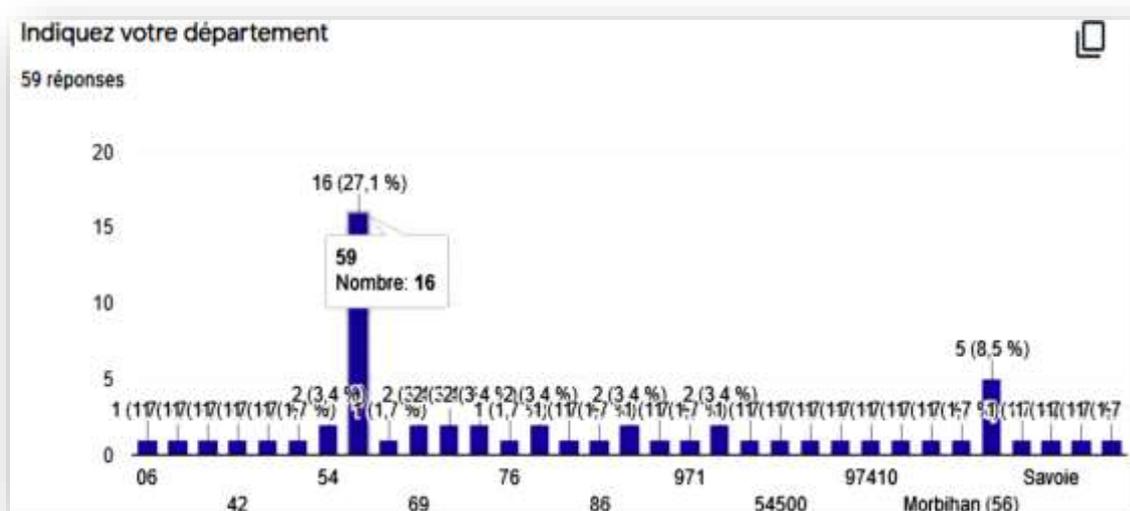
L'âge moyen de l'échantillon est de 33,6 ans comparé à 47,6 ans au niveau national [102]. Nous avons une grande majorité (67,8%) de jeunes pharmaciens qui sont dans la tranche des 23-33 ans.





Ces chiffres coïncident avec l'augmentation d'une population jeune en pharmacie d'officine depuis ces dix dernières années. De plus, le partage de ce questionnaire via des réseaux comme Google forms a permis de cibler une population relativement jeune qui a l'habitude de surfer sur les plateformes internet.

- Question 4



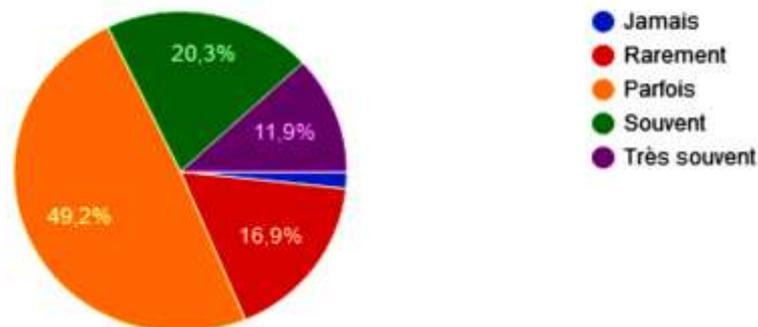
Nous avons une majorité de pharmaciens qui viennent du département 59 (37,2%) Cela s'explique du fait de notre lieu d'exercice, cependant notre échantillon reste tout de même hétérogène. Nous avons des pharmaciens de Paris (13,55%), île de la réunion (10,16%), du sud de la France, de la Suisse etc...

4.1.3.2 Utilisation de manière générale des plantes en officine

Nous avons souhaité grâce à ces questions avoir un point de vue sur l'utilisation des plantes en officine. Aussi bien du point de vue des patients, du pharmacien que des médecins prescripteurs. Aussi, faire un état des lieux de leurs utilisations ou non, leurs indications, les demandes de patients et l'attitude du pharmacien au quotidien face à ces demandes. Les comptes rendus de ces questionnaires nous permettant d'introduire ensuite l'utilisation spécifique de la graine de nigelle.

Délivrez-vous des plantes médicinales à la demande du patient ?

59 réponses



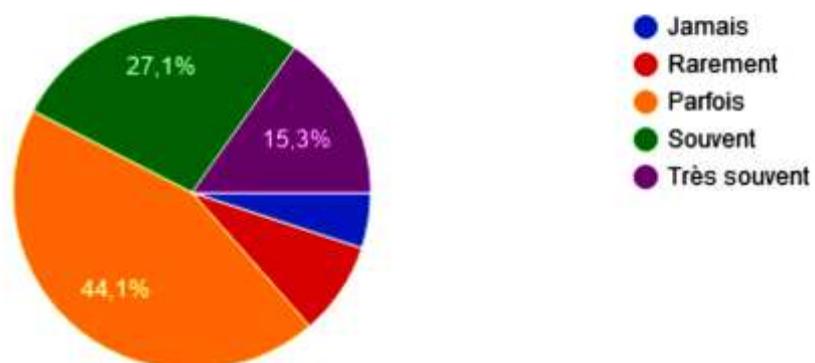
- Question 5

Nous avons moins de 20 % de l'échantillon (18,6%) des pharmaciens qui n'ont jamais ou rarement eu de demandes de patients pour des plantes médicinales. Plus de 32,2% des pharmaciens ont souvent voire très souvent des demandes aux comptoirs. Une grande majorité (49,2%) ont parfois des demandes au comptoir.

- Question 6

Delivrez-vous des plantes medicinale de votre propre conseil?

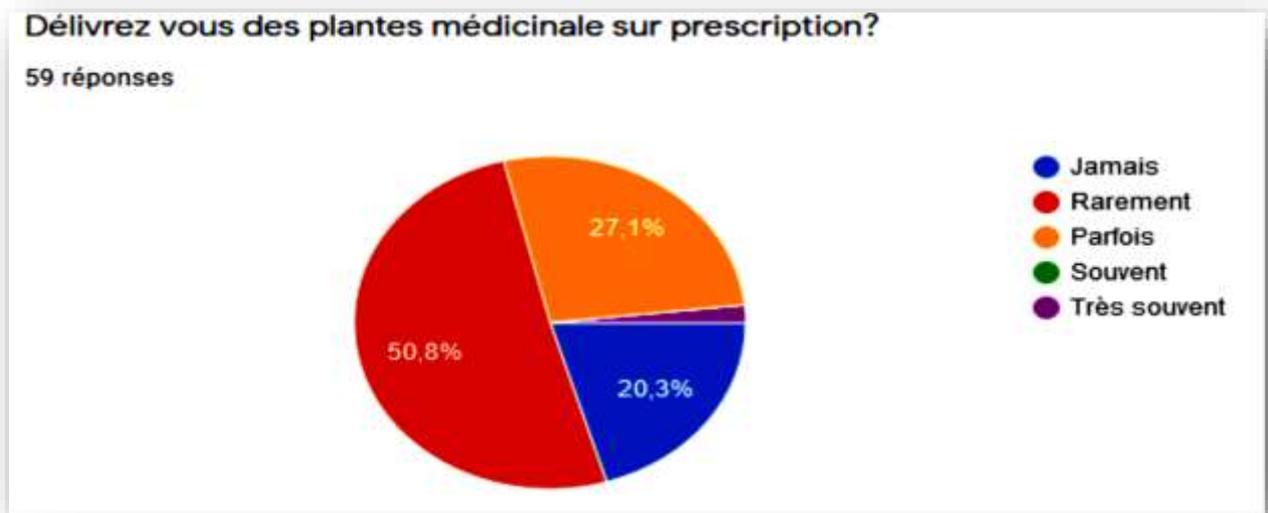
59 réponses



Nous constatons une légère augmentation de pharmaciens qui ont répondu avoir souvent voire très souvent proposé de leur propre chef des plantes au comptoir (42,4% à eux deux)

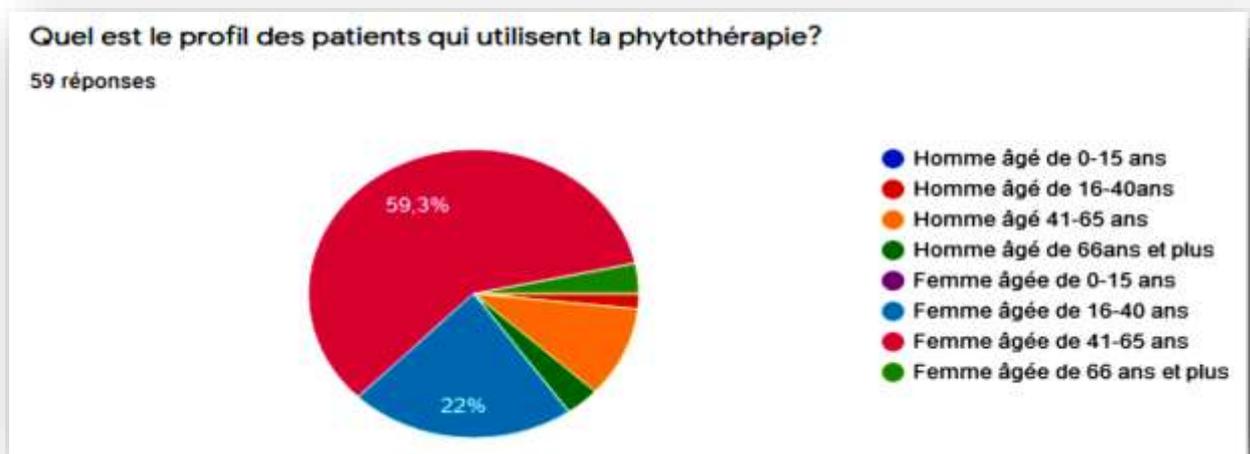
comparée aux demandes spontanées des patients au comptoir. Cependant les pharmaciens déclarent les conseiller parfois (44,1%), très peu de pharmaciens les conseillent rarement (8,5%) ou jamais (5,1%).

- Question 7



Nous constatons que la grande majorité des médecins prescrivent rarement (50,8%) ou jamais (20,3%) d'ordonnances à base de plantes.

- Question 8



59,3% des pharmaciens interrogés ont répondu que les patients qui utilisent la phytothérapie sont des femmes âgées de 41 à 65 ans. Nous avons une écrasante majorité de femmes au comptoir qui utilisent la phytothérapie (84,7%).

- Question 9

« *Pour quelles indications thérapeutiques êtes-vous amené à conseiller la phytothérapie?* »

Les principales indications qui reviennent sont : le sommeil, les problèmes de circulation, arthrose, digestion, de stress, minceur et de booster d'immunité.



Voici les « tags » représentant la fréquence des indications écrites par les pharmaciens proportionnellement à la taille et la police de l'écriture.

- Question 10

« Des effets indésirables liés à la prise de phytothérapie vous ont-ils été rapportés ? Quelle a été votre attitude ? »

La grande majorité des pharmaciens (95,2%) ont répondu qu'ils n'ont jamais eu de retour d'effets indésirables liés à la prise de plantes médicinales. Certains notifient simplement des aigreurs stomacales et des douleurs à l'estomac. L'attitude qui doit prédominer au comptoir reste la vigilance et la prévention sur les prescriptions : interactions médicamenteuses et automédication des patients.

- Question 11

« Connaissez-vous des interactions entre la phytothérapie et des spécialités pharmaceutiques qui seraient susceptibles de vous alerter ? »

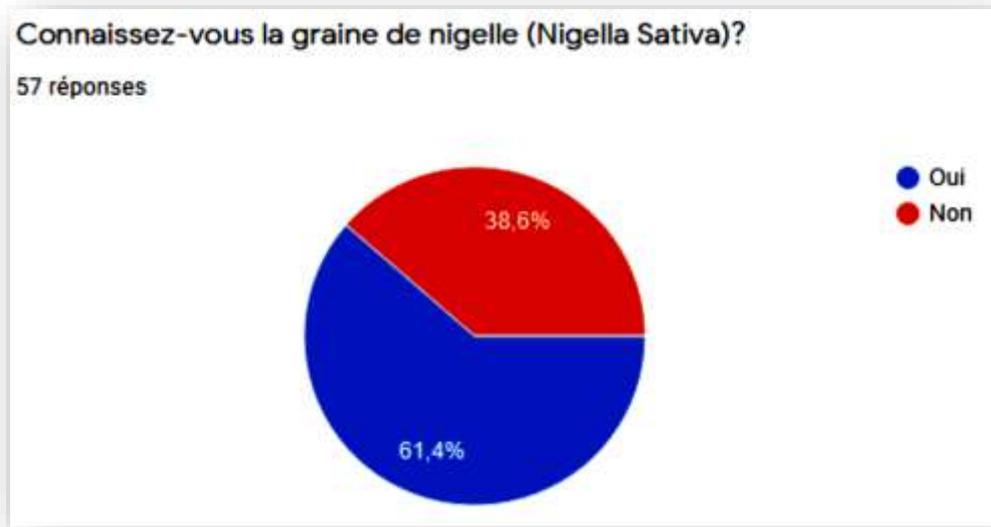
La quasi-totalité des pharmaciens (91,33%) ont répondu connaître des interactions entre la phytothérapie et des spécialités pharmaceutiques :

- ✓ Les interactions entre les inhibiteurs et inducteurs enzymatiques de manière générale
- ✓ Le millepertuis et ses interactions (AVK, antidépresseur, Levothyrox...)
reviennent très souvent
- ✓ L'interaction entre la levure de riz rouge et les statines.

- ✓ D'autres : jus de pamplemousse, sauge et antécédents cancers hormono-dépendant, soja ou le houblon à éviter avec une hormonothérapie.

Ceci reste bien connu des pharmaciens !

- Question 12



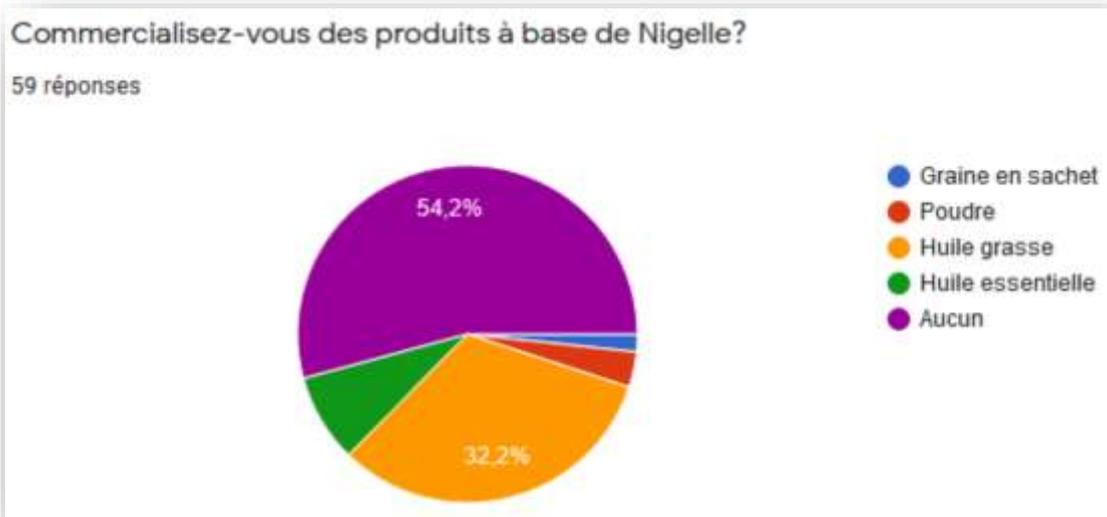
La grande majorité des pharmaciens de l'échantillon, connaissent la graine de nigelle à 61,4% soit 35 réponses positives, contre 24 personnes qui ne la connaissent pas (dont 2 personnes qui ne se sont pas prononcées).

4.1.3.3 Utilisation de la graine de nigelle en officine

Nous sommes curieux de connaître le niveau de connaissances de cette plante chez les pharmaciens, via ces questions. Nous voulons aussi connaître son utilisation au quotidien, sa présence ou non dans les officines et sous quelles formes galéniques celle-ci est la plus répandue.

- Question 13

Nous constatons qu'une petite majorité de pharmaciens ne commercialisent pas de produits à base de Nigelle (54,2%). Lorsqu'elle est commercialisée, l'huile grasse est majoritaire et représente 70,30 % de toutes les formes.



- Question 14

« Avez-vous déjà eu des demandes ou même des conseils sur l'utilisation de *Nigella sativa* au comptoir? Si oui pour quelles indications? »

39 % des pharmaciens ont des demandes ou des conseils sur l'utilisation de *Nigella sativa* au comptoir contre 61% qui n'ont pas eu de demandes ou de conseils sur l'utilisation de *Nigella sativa* au comptoir.

L'utilisation en dermo-cosmétologie reste majoritaire : pour des problèmes de dermatites topiques, pousse de cheveux, allergies, acnés, peaux grasses, eczéma, psoriasis...

Demande pour booster l'immunité, chez des patients cancéreux : beaucoup d'entre eux ont recours à des médecines complémentaires et préventives.

D'autres utilisations ont été évoquées : asthme, BPCO, rhume des foins, douleurs articulaires et musculaires...

4.1.3.4 Connaissance de la LAL par les pharmaciens

L'objectif de ces questions est d'évaluer les connaissances des pharmaciens d'officine sur la physiopathologie de la LAL, aussi bien sur le plan clinique que dans sa prise en charge.

- Question 15

Connaissez-vous les principaux signes cliniques et biologiques révélateurs d'une leucémie aiguë lymphoblastique (LAL)?

Les pharmaciens d'officine pour la majorité connaissent les principaux signes cliniques et biologiques de la LAL tels que les signes liés à l'insuffisance médullaires et les signes liés au syndrome tumoral.

- Question 16

« Connaissez-vous les traitements disponibles de la leucémie aiguë lymphoblastique? »

Cependant, la majorité des pharmaciens n'ont pas connaissance des traitements disponibles de la LAL, ou très vaguement. Seuls quelques pharmaciens ont pu les citer. Cela peut s'expliquer par la prise en charge hospitalière de la pathologie et l'absence de traitement en officine.

4.1.3.5 Intérêt potentiel des pharmaciens sur l'utilisation de Nigella sativa sur la LAL

- Question 17

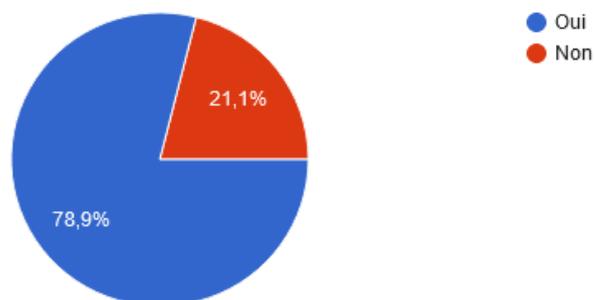
L'ultime question et peut-être l'une des plus intéressantes de notre point de vue était de savoir si les pharmaciens étaient susceptibles de proposer la graine de nigelle si celle-ci était inscrite à la pharmacopée française.

Seriez-vous susceptible de la conseiller en complément des traitements actuels pour les patients atteints de LAL?

Nous avons une majorité de pharmaciens qui ont répondu par l'affirmatif (78,9% soit 45 réponses positives).

Dans le cas où la graine de nigelle serait inscrite à la pharmacopée française seriez-vous susceptible de la conseiller en complément des traitements actuels pour les patients atteint de LAL?

57 réponses



Par ailleurs, c'est en nous inspirant des travaux de notre confrère, le Dr Claude Marondon, pharmacien titulaire exerçant à l'île de la réunion que notre ambition de voir la *Nigella sativa* comme un médicament à part entière, nous a poussé à faire des recherches approfondies sur les bienfaits de cette plante.

En effet, le Dr Claude Marondon, après de longues années de recherches et de travail, a pu inscrire 13 plantes locales (Plante Pei) dans la pharmacopée française.

Conclusion

La thymoquinone présente donc une action pro-apoptotique est antiproliférative sur les lignées lymphoïdes (Jurkat et CEMss) *in vitro*. La thymoquinone active l'apoptose de façon dose et temps-dépendante en activant la voie des caspases, elle entraîne la production de ROS de manière dose dépendante.

Vers un nouveau traitement de la LAL?

Jusqu'à présent, aucune étude clinique utilisant la thymoquinone sur la LAL n'a vu le jour. Cependant des études cliniques sur d'autres cancers ont été mise en place. Elles montrent l'efficacité de *Nigella sativa* sur la diminution des effets indésirables liées aux traitements anticancéreux.

Une étude menée chez des patientes atteintes de cancer du sein a conclu que la thymoquinone aurait une efficacité sur les radiations et retarde l'apparition d'effets indésirables [100]. Une autre étude clinique a permis d'évaluer l'effet de l'administration de la graine de nigelle sur la neutropénie fébrile survenant lors de prise en charge des enfants atteints de tumeurs cérébrales [101]. Ils en ont concluent que les graines de *Nigella sativa* diminuent l'incidence de la neutropénie fébrile et donc une amélioration de la qualité de vie. Ces études peu connues, sont encourageantes et montrent que *Nigella sativa* pourrait faire l'objet d'une alternative thérapeutique complémentaire afin de diminuer les effets indésirables liés aux traitements anticancéreux. Nous ne pouvons qu'encourager la recherche d'éventuelles études cliniques pour la LAL.

Actuellement, la graine de nigelle est de plus en plus connue par les pharmaciens d'officine où la demande des patients au comptoir est croissante. Les indications majoritaires restent en dermo-cosmétique et en tant que booster d'immunité. La grande majorité des pharmaciens d'officine se dit susceptible de la conseiller en complément des traitements actuels pour les patients atteint de LAL, si celle-ci était inscrite à la pharmacopée européenne.

5 BIBLIOGRAPHIE

[1] Société française d'hématologie, Collège des enseignants d'hématologie, Edition Elsevier Masson, Introduction à l'hématologie, p.3, 2018.

[2] N.Casadevall, Laboratoire d'hématologie, hôpital Saint-Antoine, Paris, Biochimie, Hématologie, Tome2, Chapitre Hématopoïèse et cellules souches, Collection Moniteur internat, p.754-59, 2018.

[3] Pitte, M, schéma du déroulement de l'hématopoïèse de la cellule souche aux cellules sanguines différenciées [Site web]: <https://www.soins-infirmiers.com/ifsi/ue-2.2-cycles-de-la-vie-et-grandes-fonctions/physiologie-hematopoiese>, consulté le 30/09/2021.

[4] Laboratoire d'hématologie du CHU d'Angers [Site web]: <https://www.hematocell.fr/index.php/les-cellules-du-sang/apprendre-a-identifier-les-diverses-cellules-du-sang-normal/10-enseignements/49-morphologie-des-leucocytes-du-sang-normal>, 17/24, et 19/24, consulté le 25/03/2020.

[5] Haute Autorité de Santé, Institut National du Cancer, Affection de Longue Durée, Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique et hématopoïétique, Leucémie Aiguë Lymphoblastique, p.13-20, 2011.

[6] https://evidal.vidal.fr/recos/details/4055/leucemies_aigues_de_1_adulte/prise_en_charge consulté le 15/04/2020.

[7] Nicolas Duployez, Hématologie, réussir l'internat en pharmacie, 2ème édition, édition Deboeck supérieur, Chapitre Leucémie aiguës, p.66-70, 2018.

[8] Bacigalupo A, Lamparelli T, Gualandi F, Occhini D, Bregante S, Raiola AM et al. Allogeneic hemopoietic stem cell transplants for patients with relapsed acute leukemia: long-term outcome, Bone Marrow Transplantation, *Neurochem. Res*, 39(6), p 341-6, 2007.

[9] Equipe éditoriale Orientica : Guérir de la graine noire : « Synthèse de la médecine moderne et ancienne », p.16-19, 2015.

[10] Avicenne, « *Canon de la Médecine* ». [Site web] : <https://dl.wdl.org/9718/service/9718.pdf>, consulté le 30/09/2021

[11] Ibn Baytâr, « *Al djâmi'li mufradât al adwiya wal aghdiya* » Le livre des termes médicaux et nutritionnels), [Site web] : <https://dl.wdl.org/7466/service/7466.pdf>, consulté le 30/09/2021

- [12] Dawûd al-Antâkî, « *Tadhkiratu îli al-albâb* », [Site web] : <https://archivesetmanuscrits.bnf.fr/ark:/12148/cc32803t/ca59837655196192>, consulté le 30/09/2021
- [13] Hashim,F et El-Kiey,M, *Nigella sativa* seeds of Egypt, *J Pharm Sci*, (3), p 121-133, 1982
- [14] Abdel-aal,E, et Attia, R, Characterization of Black cumin (*Nigella sativa*) seeds, *Alexandria Sci Exch*,(14), p.497-482, 1993.
- [15] Chehl N, Chipitsyna G, Gong Q, Yeo CJ et Arafat HA, Anti-inflammatory effects of the *Nigella sativa* seed extract, thymoquinone, in pancreatic cancer cells, *HPB*, 11(5), p 373-381, 2009.
- [16] Demir H, Kanter M, Coskun O, Uz YH, Koc A et Yildiz A. Effect of black cumin (*Nigella sativa*) on heart rate, some hematological values, and pancreatic β -cell damage in cadmium-treated rats, *Biol. Trace. Elem. Res.*, 110(2), p.151-162; 2006.
- [17] Ahmad A, Husain A, Mujeeb, M Khan, Najmi, Siddique et Anwar, A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb, *Asian. Pac. J. Trop. Med.*, 3(5), p.337-352, 2013.
- [18] Kanter M, *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. *Neurochem. Res.*, 33(3), p.579-588, 2008.
- [19] Al-Hader A, Aqel M et Hasan Z, Hypoglycemic effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds, *Pharm. Bio.*, 31(2), p.96-100, 1993.
- [20] Kaleem M, Kirmani D, Asif M, Ahmed Q et Bano B, Biochemical effects of *Nigella sativa* L seeds in diabetic rats. *Indian J. Exp. Biol.*, 44(9), p.745, 2006.
- [21] Aboul-Ela EI, Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. *Mutat. Res. Genet Tox*, 516(1), p.11-17, 2002.
- [22] Aqel M et Shaheen R, Effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on the uterine smooth muscle of rat and guinea pig. *J. Ethnopharmacol*, 52(1), p.23-26, 1996.
- [23] Abdel-Sater KA, Gastro protective effects of *Nigella sativa* oil on the formation of stress gastritis in hypothyroidal rats. *Int. J. Physio. patho and Pharmacoly.*, 1(2), p143-147, 2009.
- [24] Rajkapoor B, Anandan R et Jayakar B, Antiulcer effect of *Nigella sativa* Linn against gastric ulcers in rats, *Curr. Sci. India*, 82(2), p.177-178, 2002.

- [25] Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S et Iraz M, Antiepileptogenic and antioxidant effects of *Nigella sativa* oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. *Neuropharmacol.*, 49(4), p.456-464, 2005.
- [26] Yaman İ and Balikci E, Protective effects of *Nigella sativa* against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Exp, Toxicol. Pathol.*, 62(2), p.183-190, 2010.
- [27] Yildiz F, Coban S, Terzi A, Savas M, Bitiren M, Celik H and Aksoy N. Protective effects of *Nigella sativa* against ischemia-reperfusion injury of kidneys. *Renal Failure*, 32(1), p.126-131, 2010.
- [28] Aboul-Ela EI, Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. *Mutat. Res. Genet Tox.*, 516(1), p.11-17, 2002.
- [29] Shenawy EL, Nahla S, Soliman MF et Reyad SI, The effect of antioxidant properties of aqueous garlic extract and *Nigella sativa* as anti-schistosomiasis agents in mice, *J. Instit. Trop. Med.*, 50(1), p 29-36, 2008.
- [30] Perveen T, Haider S, Kanwal S et Haleem DJ, Repeated administration of *Nigella sativa* decreases 5- HT turnover and produces anxiolytic effects in rats. *Pak. J. Pharm Sci.*, 22(2), p.143-149, 2009.
- [31] Hamrouni-sellami.I, Kchouk.M et Marrzouk, B, Lipid and aroma composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds from Tunisia. *J Food Biochem*,32, p.335-352, 2008
- [32] MM, M.H., S.M. El-Shami, et M.H. El-Mallah, *Investigation of lipids profiles of Nigella, lupin and artichoke seed oils to be used as healthy oils.* *J Oleo Sci*, 60(3), p.99-107, 2011.
- [33] *Pak. J. Pharm. Sci.*, 30(1), p.229-234, 2017
- [34] El-Dakhkhany, M, Studies on the chemical constitution of Egyptian *N. sativa* L. seeds, *Planta Med*, 11, p.465–470, 1963.
- [35] Woo, C. C., Kumar, A. P., Sethi, G., and Tan, K. H. B, Thymoquinone: Potential cure for inflammatory disorders and cancer, *Biochem. Pharmacol*, 83, p.443–451, 2012.
- [36] AbuKhader, M. M., Thymoquinone in the clinical treatment of cancer: Fact or fiction? *Pharmacogn. Rev*, 7, p.117–120, 2013.
- [37] Schneider-Stock, R., Fakhoury, I. H., Zaki, A. M., El-Baba, C. O., et GaliMuhtasib, H. U., Thymoquinone: Fifty years of success in the battle against cancer models. *Drug Discov. Today*, 19, p.18–30, 2014.

- [38] Akram khan.M, Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology* , 7 (1), p.15-35, 1999.
- [39] Mahfouz.M et El Dakhakhny.M, Chemical and pharmacological properties of the new antiasthmatic drug, nigellone. *Egyptian Pharmaceutical Bulletin*, 42, p.411-424, 1960.
- [40] Salem EM, Yar T, Bamosa AO, Al-Quorain A, Yasawy MI, Alsulaiman RM et Randhawa MA, Comparative study of *Nigella sativa* and triple therapy in eradication of Helicobacter Pylori in patients with non-ulcer dyspepsia. *Saudi J. Gastroentology*, 16(3),p.12-18, 2010.
- [41] Kanter M, *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats, *Neurochem. Res*, 33(3), p.579-588, 2008.
- [42] Al Mofleh IA, Alhaider, Mossa, Al-Sohaibani, Al-Yahya, Rafatullah S et Shaik SA, Gastro protective effect of an aqueous suspension of black cumin *Nigella sativa* on necrotizing agents-induced gastric injury in experimental animals. *Saudi. J. Gastroenterology*, 14(3), p.147-155, 2008.
- [43] Terzi A, Coban S, Yildiz F, Ates M, Bitiren M, Taskin A et Aksoy N. Protective effects of *Nigella sativa* on intestinal ischemia-reperfusion injury in rats, *J. Invest. Surg.*, 23(1), p.21-27, 2010.
- [44] Boskabady MH, Mohsenpoor N et Takaloo L, Antiasthmatic effect of *Nigella sativa* in airways of asthmatic patients, *Phytomedicine*, 17(10): 707-713, 2010.
- [45] Orsi-Llinares, F., *La nigelle, une épice d'intérêt médicinal*,Grenoble, [Site web] : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00782093/document>, p.33, 2006.
- [46] Dr, Bassima.Sadi, La graine de Nigelle « Remède sacré ou sacré remède ? », Edition La ruche, p.80-83, 2010.
- [47] Bonnier G, Douin.RLa grande flore en couleur, Belin, Paris, Tome 3 ; 1993.
- [48] Coste L'Abbé H, Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes. Tome 1, Librairies Scientifiques et Techniques Albert Blanchard, Paris, 1985.
- [49] Slimane S. *Nigella sativa* L., *Nigella damascena* L. ; études botaniques, chimique et pharmacologique. Propriétés des huiles essentielles. Thèse de Docteur en pharmacie, n°25-01-33, Besa nçon, 2001.

- [50] Quezel P. ; Santa,S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1, Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1962.
- [51] Nergiz C. ; Ünal K. Effect of the method of extraction on the total polyphenol and 1,2-diphenol content and stability of virgin olive oil. J. Sci. Food Agric, 56,p.79-84, 1991.
- [52] Menounos P. ; Staphylakis K. ; Gegiou D. The sterols of *Nigella sativa* seed oil. Phytochemistry, 25, p.761-3, 1986.
- [53] Goldsworthy T.L., Conolly R.B., Fransson-Steen R. Apoptosis and cancer risk assessment. Mutat. Res-Rev. Genet. Toxicol ; 365, p.71–90, 1996.
- [54] Taraphdar A.K., Roy M., Bhattacharya R. Natural products as inducers of apoptosis: Implication for cancer therapy and prevention. Curr. Sci ;80, p.1387–1396, 2001.
- [55] Holmgren A. Biochemistry: SNO removal. Science; 320, p.1019–1020, 2008.
- [56] Williams G.H., Stoeber K. The cell cycle and cancer. J. Pathol ;226, p.352–364, 2012.
- [57] Hsuuw Y.D., Chang C.K., Chan W.H., Yu J.S. Curcumin prevents methylglyoxal-induced oxidative stress and apoptosis in mouse embryonic stem cells and blastocysts. J. Cell. Physiol. ;205, p.379–386, 2005.
- [58] Kruidering M., Evan G.I. Caspase–8 in Apoptosis: The Beginning of “The End”? Iubmb Life, 50, p.85–90, 2000.
- [59] Lin S.-S., Huang H.-P., Yang J.-S., Wu J.-Y., Hsai T.-C., Lin C.-C., Lin C.-W., Kuo C.-L., Gibson Wood W., Chung J.-G. DNA damage and endoplasmic reticulum stress mediated curcumin-induced cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A-549 cells through the activation caspases cascade-and mitochondrial-dependent pathway. Cancer Lett.;272, p.77–90, 2008.
- [60] 16. Gali-Muhtasib H., Kuester D., Mawrin C., Bajbouj K., Diestel A., Ocker M., Habold C., Foltzer-Jourdainne C., Schoenfeld P., Peters B. Thymoquinone triggers inactivation of the stress response pathway sensor CHEK1 and contributes to apoptosis in colorectal cancer cells. Cancer Res, 68, p.5609–5618, 2008.
- [61] Yi T., Cho S.-G., Yi Z., Pang X., Rodriguez M., Wang Y., Sethi G., Aggarwal B.B., Liu M. Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. Mol. Cancer Ther. ; 7, p.1789–1796, 2008.
- [62] Al-Johar D., Shinwari N., Arif J., Al-Sanea N., Jabbar A.A., El-Sayed R.A., Mashhour A., Billedo G., El-Doush I., Al-Saleh I. Role of *Nigella sativa* and a number of its antioxidant

constituents towards azoxymethane-induced genotoxic effects and colon cancer in rats. *Phytother. Res*;22, p.1311–1323, 2008.

[63] Ivankovic S, Stojkovic R, Jukic M, Milos M, Milos M, Jurin M, The antitumor activity of thymoquinone and thymohydroquinone in vitro and in vivo. *Exp Oncol* 28(3) ; p.220–224 ; 2006.

[64] Rooney S, Ryan M Modes of action of alpha-hederin and thymoquinone, active constituents of *Nigella sativa*, against Hep- 2 cancer cells. *Anticancer Res* ; 25(6B), p.4255–4259, 2005.

[65] Van Engeland M., Nieland L.J., Ramaekers F.C., Schutte B., Reutelingsperger C.P. Annexin V-affinity assay: A Review on an apoptosis detection system based on phosphatidylserine exposure. *Cytometry* ;31, p.1–9, 1998.

[66] Amin Soltani, et,al, Antiproliferative and Apoptosis-Inducing Activities of Thymoquinone in Lymphoblastic Leukemia Cell Line, 33(4), p.516-524, 2016.

[67] Keizer H, Pinedo H, Schuurhuis G, Joenje H Doxorubicin (adriamycin): a critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity. *Pharmacol Ther*, 47(2), p.219–231, 1990.

[68] Effenberger-Neidnicht K, Schobert R Combinatorial effects of thymoquinone on the anti-cancer activity of doxorubicin. *Cancer Chemother Pharmacol* 67(4), p.867–874, 2011.

[69] Li Q, Yu D, Liu G, Ke N, McKelvy J, Wong-Staal F, Selective anticancer strategies via intervention of the death pathways relevant to cell transformation. *Cell Death Differ*, 15(8), p.1197–1210, 2008.

[70] Woo CC, Loo SY, Gee V, Yap CW, Sethi G, Kumar AP et al Anticancer activity of thymoquinone in breast cancer cells: possible involvement of PPAR-c pathway. *Biochem Pharmacol*, 82(5), p.464–475, 2011.

[71] Abdelfadil E, Cheng Y-H, Bau D-T, Ting W-J, Chen L-M, Hsu H-H et al, Thymoquinone induces apoptosis in oral cancer cells through p38b inhibition. *Am J Chin Med*, 41(03), p.683–696, 2013.

- [72] Dirican A, Atmaca H, Bozkurt E, Erten C, Karaca B, Uslu R Novel combination of docetaxel and thymoquinone induces synergistic cytotoxicity and apoptosis in DU-145 human prostate cancer cells by modulating PI3K-AKT pathway. *Clin Transl Oncol*, 17(2), p.145–151, 2015.
- [73] Naus PJ, Henson R, Bleeker G, Wehbe H, Meng F, Patel T Tannic acid synergizes the cytotoxicity of chemotherapeutic drugs in human cholangiocarcinoma by modulating drug efflux pathways. *J Hepatol* 46(2), 222–229, 2007.
- [74] Woo CC, Kumar AP, Sethi G, Tan KHB Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochem Pharmacol* 83(4), p.443–451, 2012.
- [75] Landa Zeenalabdin Alim Salim, Syham Mohan, Rozana Othman, Siddig Ibrahim Abdelwahab, Thymoquinone Induces Mitochondria-Mediated Apoptosis in Acute Lymphoblastic Leukaemia *in Vitro*, *Molecules*, 18, p.11219-11240, 2013.
- [76] Nagata S. Apoptotic DNA fragmentation. *Exp. Cell. Res*, 256, p.12–18, 2000.
- [77] Faheina-Martins G.V., Silveira A.L.D., Cavalcanti B.C., Ramos M.V., Moraes M.O., Pessoa C., M Araújo D.A. Antiproliferative effects of lectins from *Canavalia ensiformis* and *Canavalia brasiliensis* in human leukemia cell lines. *Toxicol. Vitro* ; 26, p.1161–1169, 2012.
- [78] Sari N.K. DNA Fragmentation on HCT-116 Colon Cancer Cell in the Presence of Short Chain Fatty Acid (SCFA), *Biology*, 2012.
- [79] . Kizhakkayil J., Thayyullathil F., Chathoth S., Hago A., Patel M., Galadari S. Modulation of curcumin-induced Akt phosphorylation and apoptosis by PI3K inhibitor in MCF-7 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 394, p.476–481, 2010.
- [80] Chen H.W., Huang H.C. Effect of curcumin on cell cycle progression and apoptosis in vascular smooth muscle cells. *Brit. J. Pharmacol.*, 124, p.1029–1040, 1998.
- [81] Motaghd M., Al-Hassan F., Hamid S. Cellular responses with thymoquinone treatment in human breast cancer cell line MCF-7. *Pharmacog. Res*, 5, 200–206, 2013.
- [82] Yu S.-M., Kim S.-J. Thymoquinone-induced reactive oxygen species causes apoptosis of chondrocytes via PI3K/Akt and p38kinase pathway. *Exp Biol Med (Maywood)*, 238(7), p.811-20, 2013.
- [83] Goloudina A.R., Demidov O.N., Garrido C. Inhibition of HSP70: A challenging anti-cancer strategy. *Cancer Lett*; 325, p.117–124, 2012.

- [84] Jia N., Xiong Y.L., Kong B., Liu Q., Xia X. Radical scavenging activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract and its inhibitory effect on gastric cancer cell proliferation via induction of apoptosis. *J. Funct. Foods*;4, p.382–390, 2012.
- [85] Salvesen G.S., Riedl S.J. Programmed cell death in cancer progression and therapy. Springer; La Jolla, CA, USA, 2007. Caspase mechanisms; p. 13–23.
- [86] Slee E.A., Adrain C., Martin S.J. Executioner caspase-3,-6, and-7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis. *J. Biol. Chem*; 276, p.7320–7326, 2001.
- [87] Porter A.G., Jänicke R.U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death Differentiation*, 6, p.99–104, 1999.
- [88] Ye M., Liu J.-K., Lu Z.-X., Zhao Y., Liu S.-F., Li L.-L., Tan M., Weng X.-X., Li W., Cao Y. Grifolin, a potential antitumor natural product from the mushroom *Albatrellus confluens*, inhibits tumor cell growth by inducing apoptosis *in vitro*. *Febs. Lett*,579, p.3437–3443, 2005
- [89] El-Najjar N, Chatila M, Moukadem H, Vuorela H, Ocker M, Gandesiri M et al Reactive oxygen species mediate thymoquinone- induced apoptosis and activate ERK and JNK signaling. *Apoptosis*, 15(2), p.183–195, 2010.
- [90] Gurung RL, Lim SN, Khaw AK, Soon JFF, Shenoy K, Ali SM et al, Thymoquinone induces telomere shortening, DNA damage and apoptosis in human glioblastoma cells. *PloSONE*, 5 (8), p.121–124, 2010.
- [91] Sakalar C, Yuruk M, Kaya T, Aytakin M, Kuk S, Canatan H, Pronounced transcriptional regulation of apoptotic and TNF-NF-kappa-B signaling genes during the course of thymoquinone mediated, 383(1-2), p.243-51, 2013.
- [92] El-Mahdy MA, Zhu Q, Wang QE, Wani G, Wani AA, Thymoquinone induces apoptosis through activation of caspase-8 and mitochondrial events in p53-null myeloblastic leukemia HL-60 cells. *Int J Cancer*, 117(3), p.409–417 ; 2005.
- [93] Koka PS, Mondal D, Schultz M, Abdel-Mageed AB, Agrawal KC, Studies on molecular mechanisms of growth inhibitory effects of thymoquinone against prostate cancer cells: role of reactive oxygen species. *Exp Biol Med*, 235(6), p.751–760 ; 2010.

- [94]. El-Mahdy MA, Zhu Q, Wang QE, Wani G, Wani AA, Thymoquinone induces apoptosis through activation of caspase-8 and mitochondrial events in p53-null myeloblastic leukemia HL-60 cells. *Int J Cancer*, 117(3), p.409–417 ; 2005.
- [95] Richards L, Jones P, Hughes J, Benghuzzi H, Tucci M (2005) The physiological effect of conventional treatment with epigallocatechin-3-gallate, thymoquinone, and tannic acid on the LNCaP cell line. *Biomed Sci Instrum*, 42, p.357–362 ; 2005.
- [96] Arafa E-SA, Zhu Q, Shah ZI, Wani G, Barakat BM, Racoma I et al (2011) Thymoquinone up-regulates PTEN expression and induces apoptosis in doxorubicin-resistant human breast cancer cells. *Mutat Res Fundam Mol Mech Mutagen*,706(1), p.28–35 ; 2011.
- [97] El-Najjar N, Chatila M, Moukadem H, Vuorela H, Ocker M, Gandesiri M et al, Reactive oxygen species mediate thymoquinone-induced apoptosis and activate ERK and JNK signaling. *Apoptosis*,15(2), p.183–195 ; 2010.
- [98] Roepke M, Diestel A, Bajbouj K, Walluscheck D, Schonfeld P, Roessner A et al, Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells. *Cancer Biol Ther*, 6(2), p.160–169 ; 2007.
- [99] Hussain AR, Ahmed M, Ahmed S, Manogaran P, Plataniias LC, Alvi SN et al, Thymoquinone suppresses growth and induces apoptosis via generation of reactive oxygen species in primary effusion lymphoma. *Free Radic Biol Med*, 50(8), p.978 987, 2011.
- [100] Rafati M, Ghasemi A, Saeedi M, Habibi E, Salehifar E, Mosazadeh M, Maham M., *Nigella sativa* L. for prevention of acute radiation dermatitis in breast cancer: A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial, *Complement Ter Med*, 4, 10205, 2019.
- [101] Mousa HFM, Abd-El-Fatah NK, Darwish OA, Shehata SF, Fadel SH, Effect of *Nigella sativa* seed administration on prevention of febrile neutropenia during chemotherapy among children with brain tumors, *Child Nerv Syst*, 33(5), p.793-800, 2017.
- [102] Ordre des pharmaciens, Effectifs par tranches d'age 2014-2019 [Site web] :<http://www.ordre.pharmacien.fr/content/download/506717/2312917/version/2/file/LA-DEMOGRAPHIE-2020-d%C3%A9pliant-+maquette.pdf> consulté le 06/12/2020
- [103] Photo d'huile de Nigelle [Site web]: https://nigellepur.com/huile/21-3-huile-de-nigelle.html#/28-huile_de_nigelle-500_ml, consulté le 16/09/2021.

[104] Photo de gellule de Nigelle [Site web] : <https://nigellepur.com/capsules/25-gelules-de-nigelle.html>, consulté le 16/09/2021.

[105] Photo de graines de Nigelle [Site web] : <https://www.1001pharmacies.com/sante-dorient-graines-de-nigelle-100-g-p226638>, consulté le 02/10/2021.

[106] Botnick, et al. Distribution of Primary and specialised Metabolites in *Nigella sativa* Seeds, a Spice with Vast Traditional and Historical Uses, *Molecules*, 17(9), p.10159-77, 2012.

[107] Kremers, E., Wakelan, N., et Hixon, R Thymoquinone, *Organic Syntheses*, 1, 1941.

6 Annexes

Annexe 1 : Les différentes indications de la graine de nigelle au Moyen Age

Asthme : Selon Avicenne la graine noire est prescrite pour guérir la maladie que l'on nomme « la gêne respiratoire ». Par voie orale en solution mélangée avec du natron [10].

Bronchite et toux : Dawûd al Antâki avait démontré que l'utilisation de la graine noire se fera pour « les maladies dues au froid et à l'humidité » [12]. De plus il l'indique aussi pour les douleurs de la poitrine et la toux [12].

Rhume : Les recommandations pour « déboucher » l'appareil nasal serait de laisser les graines macérer dans du vinaigre pendant toute une nuit puis de les broyer le lendemain, ensuite les utiliser sous forme « d'électuaire à priser » (Médicament d'usage interne à consistance de pâte molle, constitué d'un mélange de poudres fines avec du sirop, du miel ou des résines liquides) [10].

Ballonnement : Ibn Baythar l'utilisait en usage interne, car il avait constaté qu'elle dissipe les ballonnements [11].

Calcul de la vessie et des reins : La graine noire mélangée au miel et bue avec de l'eau chaude dissout les « concrétions » et facilite l'évacuation de l'urine [11].

Cataracte : Huile de nigelle mélangée à « l'huile d'ers » et utilisée sous forme « d'électuaire à priser » guérit la « chute d'eau dans l'œil » [12].

Chute de cheveux : Les graines sont brûlées et mélangées avec de la cire fondue dans l'huile d'iris (sawsan) ou l'huile de henné puis elle est appliquée sur le cuir chevelu [12].

Douleurs articulaires : Ibn Baythar l'applique sur l'emplacement enflé de la peau pour pallier aux douleurs des articulations [12].

Intoxication alimentaire : Les graines sont bénéfiques pour soigner « le mal » dû aux intoxications alimentaires [12].

Faiblesse sexuelle : Pour Ibn Baythar(4) lorsque l'huile de nigelle est mélangée à de l'encens (Kandar) ceci a un effet aphrodisiaque. Dawud Al Ankatari avait, lui, remarqué lors de ses études sur la graine de nigelle, que celle-ci favorise également l'éjaculation [12].

Fièvre et température : Avicenne et Ibn Baythar avaient tous les deux conclu que la graine de nigelle avait des vertus pour guérir la fièvre due à la lymphe et « l'humeur noire » (la bile) et de tuer les vers intestinaux [10; 11] Leur protocole de préparation était de les broyer et de les faire absorber avec du « Skanjbin » (potion à base de miel et de vinaigre) afin de remédier à la fièvre.

Gale et acariose : Si on la broie et on la pétrit avec la graisse de la rose et du vinaigre, elle guérit toutes les variétés de gales [10]. Dans ses tableaux, Avicenne l'a citée parmi les remèdes qui traitent l'acariose, le pririgo et la gale.

Grippe et rhume : Ibn Baythar préconise de frire les graines de nigelle et de les mettre dans une serviette afin de permettre aux malades de l'inhaler. -Lorsqu'on la fait frire, qu'on l'écrase, puis qu'on la laisse macérer dans l'huile, trois ou quatre gouttes de cette huile dans le nez, traitent la grippe qui est accompagnée de fréquents éternuements. Si on l'applique sur le front, elle arrête les écoulements du nez [11]. Dawud Al Ankatari l'indiquait afin de favoriser l'évacuation des glaires. Le protocole était le suivant : laisser les graines macérer dans du vinaigre et l'utiliser sous forme d'électuaire à priser : ceci afin de guérir le mal de tête, la migraine, la grippe et l'éternuement [12]. Avicenne, dans ses travaux de recherche, la préconise aussi sous forme d'inhalation.

Hémiplégie, tétanie et paralysie faciale : Selon Avicenne, la graine noire est un excellent remède pour « réchauffer les nerfs » et remédier aux atteintes névralgiques dues au froid. Elle est tout aussi bénéfique sous forme d'infusion à absorber, d'électuaire à priser ou d'onguent à appliquer. Si on laisse les graines macérer dans du vinaigre pendant toute une nuit puis qu'on les broie le lendemain et qu'on les donne au malade sous forme d'électuaire à priser, elles guérissent le mal de tête chronique et la paralysie faciale [10]. Et si on utilise sa matière oléagineuse comme électuaire à priser, elle remédie à l'hémiplégie, aux convulsions tétaniques et à la paralysie faciale.

Ictère : Le protocole pour l'ictère est le suivant : Prendre sept graines, les laisser macérer pendant une heure dans le lait (de la nourrice) puis les donner sous forme d'électuaire à priser au malade atteint de jaunisse.

Impétigo : Selon Galien, elle guérit l'affection qui engendre « des croûtes sur la peau ».

Infarctus : Parmi ses propriétés particulières : elle débouche l'obstruction des artères.

Lèpre et vitiligo : Lorsque les graines sont broyées et qu'on les a mélangées à du vinaigre, puis étalées sur les parties atteintes, elles guérissent la lèpre, le vitiligo noir ainsi que les grosses pellicules (squames) [12].

Surdité : Dawud Al Ankatari préconise de frire les graines dans de l'huile et de préférence l'huile des grains verts (du térébinthe) avec une posologie de quelques gouttes dans l'oreille atteinte [12]. Ibn Baythar avait aussi conclu que lorsque la graine est broyée et qu'on la mélange à un peu d'huile de grains verts puis qu'on met trois gouttes dans l'oreille, elle la guérit de l'atteinte due au froid, au vent ou à l'obstruction (de l'artère qui assure son irrigation) [11].

Vers intestinaux : Les travaux d'Avicenne nous renseignent sur le fait que la graine de nigelle est utilisée pour l'élimination des vers parasites, soit par prise orale des graines, ou par voie locale en application sur le ventre. Elle peut aussi être utilisée en la mélangeant avec de l'eau et appliquée « en pansement » sur le nombril, elle fait sortir les longs vers [10].

La graine chauffée, mélangée avec du vinaigre et étalée sur le ventre, tue les plathelminthes. Selon Ibn Baythar et Ibn al-Qayyim si la graine est broyée, pétrie avec de l'eau, de la coloquinte et on l'applique en pansement sur le nombril, son effet sur les vers est plus fort.

Annexe 2 : Les différentes indications de la graine de nigelle à l'époque moderne

Effet anti-inflammatoire : Selon Chehl.N et al (2009), l'activité anti-inflammatoire est attribuée à l'inhibition des cytokines pro-inflammatoires, de la production d'eicosanoïdes et par la peroxydation des lipides en inhibant la voie de la cyclooxygénase et de la 5-lipoxygénase du métabolisme de l'acide arachidonique. De plus, les réponses immunitaires par les cellules T et les cellules tueuses naturelles (NK) sont également responsables de son activité immunomodulatrice [15].

Action sur le système cardio vasculaire : Demir H et al (2006) ont mis en évidence les effets de la graine de nigelle sur la diminution de la pression artérielle. Selon l'étude, l'huile essentielle de la graine de nigelle induirait une hypotension par activation du système parasympathique au niveau central. L'activation se ferait par des mécanismes indirects et directs, qui impliqueraient à la fois les mécanismes 5-hydroxytryptaminergiques et muscariniques. Le mécanisme direct est induit par une molécule présente dans l'huile essentielle, la Thymoquinone (TQ), elle est également l'une des molécules présente dans la graine de nigelle, qui a un potentiel antihypertenseur puissant [16].

Anti-hyperlipidémie : Ahmad et al (2013) ont étudié l'effet anti-hyperlipidémique de *Nigella sativa*. L'étude montre une réduction significative de l'activité hépatique de la HMG-COA réductase. En outre, cet effet est attribué à deux mécanismes : Premièrement, au blocage de diène conjugué et de malondialdéhyde (MDA) basale. Deuxièmement à l'allongement des temps de latence des lipoprotéines suivantes : La lipoprotéine de très basse densité (VLDL), La lipoprotéine de basse densité (LDL), La lipoprotéine de haute densité (HDL) [17]. Cependant, selon une étude de comparaison menée par Kander et al en 2008, un extrait méthanolique contenant de l'acide linoléique (ω -6) et de l'acide palmitique serait un extrait ayant une action anti-hyperlipidémique supérieure à un extrait volatil contenant des composés antioxydants à base de thymol et phénol-isothymol. La Thymoquinone (TQ) a une activité anti-hyperlipidémique ainsi qu'une activité antioxydante [18].

Effet hypoglycémiant : L'étude menée par Al Hader et al, (1993) [19] démontre l'activité hypoglycémiant de *Nigella Sativa* via un mécanisme non insulino-dépendant. L'huile essentielle exerce aussi une action insulino-sensibilisante via les récepteurs hormonaux, en

renforçant l'activité des deux principales voies de transduction du signal intracellulaire [19-20].

Effet Anti-Nociceptif : Aboul Ela (2002) s'est intéressé aux effets anti-nociceptifs de l'huile de *N. sativa* et de la thymoquinone. L'étude découvre qu'ils sont liés à l'activation indirecte des récepteurs opioïdes, de sous types $\mu 1$ et κ supraspinaux [21].

Potentiel Anti-ocytocique : L'huile essentielle des graines de *Nigella Sativa* inhibe les contractions musculaires spontanées des muscles lisses utérines, induites par la stimulation à l'ocytocine. Ces effets sont en concentration dépendants et réversibles. C'est ce que nous apprend l'étude menée par Aqel M et al (1996) [22].

Effets gastro-protecteurs : Via les études de Abdel-Sater et. al. (2009) et Raj Kapoor B et al. (2002), il a été prouvé que *N. Sativa* provoque une réduction significative de l'acidité et du niveau du glutathion. Cependant il entraîne aussi une augmentation significative de la teneur en histamine dans les muqueuses gastriques [23-24].

Action Neuro-protectrice : L'action neuro-protectrice de *N.Sativa* a été l'objet de l'étude menée par Ilhan Ah et.al. (2005). Il est indiqué que l'huile de *N.Sativa* est corrélée à sa capacité à inhiber non seulement la formation excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), mais également la régulation des crises convulsives [25].

Action Néphroprotectrice : Yaman et. Al (2010) et Yildiz F et.al (2010) se sont intéressés aux capacités néphroprotectrices de l'huile de *N.Sativa*. Elle agit dans le rein comme un puissant piègeur de radicaux libres [26-27].

Antiparasitaire : La thymoquinone (TQ) a été considéré comme un agent de protection contre les anomalies chromosomales induites à la suite d'une schistosomiase. D'après les études respectives de Aboul-Ela EI (2002) et Shenawy EL (2008) [28-29].

Effet Anxiolytique L'huile de *N. Sativa* augmente les niveaux de sérotonine 5-HT dans le cerveau mais diminue les niveaux de 5-HIAA dans le cerveau de manière significative. L'étude de Perveen T et al (2009) en a fait l'expérience et a conclu que les concentrations en tryptophane dans le cerveau et dans le plasma ont également augmenté de manière significative après l'administration répétée par voie orale d'huile de *N.sativa*. Sur cette base, il peut être suggéré que l'huile de *N.Sativa* est un choix utile pour le traitement de l'anxiété [30].

Annexe 3 : Etudes de l'activité spécifique de la thymoquinone.

Activité antibactérienne

Une étude menée par Salem et al (2010) s'est concentrée sur les effets de la graine de nigelle sur une pathologie en particulier : l'ulcère bactérien dû à H.Pylori. La graine de *Nigella sativa* a une bonne activité antimicrobienne contre H. Pylori en comparaison à la trithérapie (Clarithromycine, Amoxicilline, Oméprazole). L'éradication de H. pylori était de 82,6 ; 47,6 ; 66,7 et 47,8% avec trithérapie et l'ajout respectif de 1, 2 et 3 g de *N.Sativa*.

Le taux d'éradication avec 2 g de *N.sativa* et de Trithérapie étaient statistiquement pas différents l'un de l'autre, alors que l'éradication d' H. pylori avec d'autres doses était beaucoup moins que l'éradication avec Trithérapie ($P < 0,05$). L'azithromycine a été utilisée comme contrôle positif [40-41]. La thymoquinone présente donc une activité antibactérienne mais qui reste inférieur à la trithérapie actuelle. Elle peut être une bonne molécule candidate pour une augmentation de l'efficacité du traitement.

Activité antifongique

Ahmad et al (2013) ont démontré les effets de la thymoquinone sur : Anti-dermatophyte, candidose vaginale Une crème contenant différentes concentrations de Thymoquinone (TQ) (de 1 à 10%) a été utilisée pour traiter les souris infectées et l'efficacité a été comparée à celle traitée avec du nitrate de miconazole (2%). Il a été fortement recommandé d'utiliser la thymoquinone pour le traitement de la candidose vaginale. La griséofulvine et le miconazole ont été utilisés comme contrôle positif [17].

Activité Gastroprotectrice

Les effets de la thymoquinone sur l'acidité gastrique ont été menés dans une étude par Al Mofleh et. al. (2008) et Terzi et. al (2010), le protocole a été le suivant :

Des rats mâles ont reçu une injection d'huile de *Nigella sativa* (NSO) (2,5-5 mL / Kg) ou de Thymoquinone (TQ) (5, 20, 50, 100 mg / kg p.o). Les résultats ont montré que la thymoquinone et le NSO sont tous deux efficaces dans le traitement de l'ulcère et

ont une bonne activité gastro-protectrice. L'oméprazole a été utilisé comme contrôle positif [42-43].

Activité Néphroprotectrice

L'huile de *N.sativa* montre une réduction significative des taux sanguins de l'urée et la créatinine. La gentamicine a été utilisée comme contrôle positif. Ce sont les résultats montrés par Ahmad et al (2013) [17].

Activité Pneumoprotectrice

Les effets broncho-dilatatoires de *N. sativa* ont fait l'objet d'une étude menée par Boskabady MH et al. (2010). L'étude compare la *N.sativa* (dose de : 50 et 100mg/ kg) à la théophylline (dose : 6mg/kg). L'étude était composée de 15 patients asthmatiques. L'extrait a provoqué une augmentation significative de tous les tests de fonction pulmonaire mesurés (PFT), dans la plupart des intervalles de temps ($p < 0,05$ à $p < 0,001$). La théophylline a été utilisée comme contrôle positif. [44]. Nous verrons par la suite plus en détail les mécanismes d'action impliquant la thymoquinone au niveau des effets anticancéreux, notamment pour la leucémie lymphoblastique.

Annexe 4 : Le questionnaire Google forms

Lien du questionnaire :

https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSdudtDwL6MdKd2HCnbF2iFhKFv8TFkfFG96GOh9f-Ehlc65xQ/viewform?usp=sf_link

Questionnaire: Thèse d'exercice en Pharmacie

Madame, Monsieur,

Je suis étudiant en pharmacie filière officine à l'Université de Lille et dans le cadre de ma thèse d'exercice, je réalise une enquête sur l'utilisation de la graine de nigelle comme plante médicinale, la prise en charge et le suivi des patients atteints de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL).

La graine de Nigelle (*Nigella Sativa* L.) est une plante médicinale très utilisée à travers l'Orient et le Maghreb depuis des siècles, et encore aujourd'hui, pour traiter de nombreuses maladies (l'effet anti-tumoral est attribuée à son principe actif: la Thymoquinone). Même si cette plante fait partie de nombreuses préparations médicinales, *Nigella Sativa* reste assez méconnue en France et en Occident.

Adresse e-mail *

Adresse e-mail valide

Ce formulaire collecte les adresses e-mail. [Modifier les paramètres](#)

Etes vous

- Homme
- Femme

Etes vous

- Pharmacien Titulaire
- Pharmacien Adjoint

Avez vous entre

- 23-33 ans
- 33-43 ans
- 43-53 ans
- 53-63 ans
- 63 ans et plus

Indiquez votre département

Réponse courte
.....

Délivrez-vous des plantes médicinales à la demande du patient ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

Delivrez-vous des plantes medicinale de votre propre conseil?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

Délivrez vous des plantes médicinale sur prescription?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

Quel est le profil des patients qui utilisent la phytothérapie?

- Homme âgé de 0-15 ans
- Homme âgé de 16-40ans
- Homme âgé 41-65 ans
- Homme âgé de 66ans et plus
- Femme âgée de 0-15 ans
- Femme âgée de 16-40 ans
- Femme âgée de 41-65 ans
- Femme âgée de 66 ans et plus

Pour quelles indications thérapeutiques êtes vous amené à conseiller la phytothérapie?

Réponse longue

Des effets indésirables liés à la prise de phytothérapie vous ont-ils été rapportés ? Quelle a été votre attitude ?

Réponse longue

Connaissez-vous des interactions entre la phytothérapie et des spécialités pharmaceutiques qui seraient susceptibles de vous alerter ?

Réponse longue

Connaissez-vous la graine de nigelle (Nigella Sativa)?

- Oui
- Non

Commercialisez-vous des produits à base de Nigelle?

- Graine en sachet
- Poudre
- Huile grasse
- Huile essentielle
- Aucun

Avez vous déjà eu des demandes ou même des conseils sur l'utilisation de Nigella Sativa au comptoir? Si oui pour quelles indications?

Réponse longue

Connaissez-vous les principaux signes cliniques et biologiques révélateurs d'une leucémie aiguë lymphoblastique (LAL)?

Réponse longue

Connaissez-vous les traitements disponibles de la leucémie aiguë lymphoblastique?

Réponse longue

Dans le cas où la graine de nigelle serait inscrite à la pharmacopée française seriez-vous susceptible de la conseiller en complément des traitements actuels pour les patients atteint de LAL?

Oui

Non

Université de Lille

Faculté de Pharmacie de Lille

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Année Universitaire 2020/2021

Nom : CHAYANI

Prénom : MOHAMED

Titre de la thèse : Caractérisation des effets pro-apoptotique et antiprolifératif de la thymoquinone (principe actif de *Nigella sativa*). Vers un nouveau traitement de la leucémie aiguë lymphoblastique ?

Mots-clés : Thymoquinone, graine de nigelle, *Nigella sativa*, leucémie aiguë lymphoblastique.

Résumé :

La leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) est le type de leucémie le plus souvent diagnostiqué chez les jeunes enfants. Le développement de nouvelles cibles thérapeutiques pour améliorer l'efficacité et la qualité de vie des patients atteints de LAL est un enjeu majeur de santé publique. L'espèce *Nigella sativa*, employée comme médicament traditionnel pendant plusieurs siècles, suscite un intérêt particulier en oncologie. Il a en effet été démontré que la thymoquinone, extraite des graines de *Nigella sativa*, présente une efficacité anti-tumorale *in vitro* via l'induction de l'apoptose de cellules cancéreuses. Au cours de cette thèse, l'intérêt de *Nigella sativa* dans le traitement et la prise en charge des patients atteints de LAL a été argumenté. Un questionnaire sur l'utilisation au comptoir de *Nigella sativa* a également été analysé.

Membres du jury :

Président : Dr **KARROUT Youness**, Maître de conférences, Laboratoire de pharmacotechnie industrielle, Université de Lille

Directeur, conseiller de thèse: Dr **TAGZIRT Madjid**, Maître de conférences, Laboratoire d'hématologie, Université de Lille

Membre extérieur : Dr **MALLET Alexandre**, Docteur en pharmacie, Pharmacie du Trichon à Roubaix