

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Biologie
Option : Biochimie et biologie moléculaire

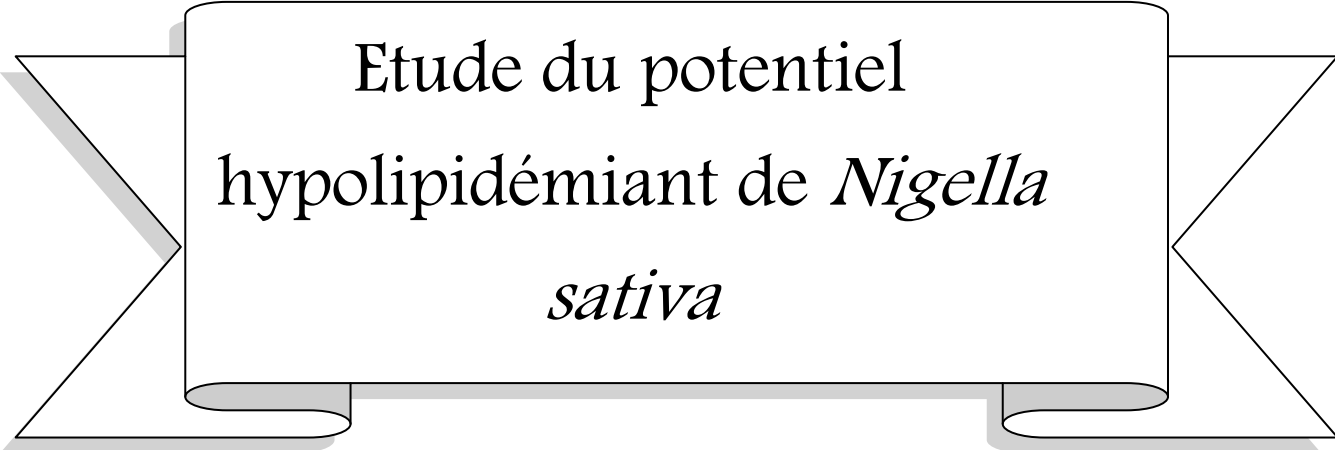


Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème



Etude du potentiel
hypolipidémiant de *Nigella*
sativa

Présenté par :

M^{elle} Mehada Chahira & M^{elle} Ouakli Cherifa

Soutenu le : **19 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M^{me} Atmani.D
M^{me} Boudria.S
M^r Ghidouche.A

Président
Encadreur
Examineur

Année universitaire : 2016 / 2017

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents qui ont été toujours présents à mes cotés par leurs amour, soutien et encouragement. Je leurs serai éternellement reconnaissante.

Mes chers frères : Mohand et Mouloud.

Mes chères sœurs : Dhawya, Louiza, Khoukha, Zaina, Djaouida, et leurs maris.

Mes adorables neveux et nièces : Yacine, Alia, Ismaïl, Rayan, Idris, Abdel, Tinhinan et Dihia.

Et en particulier Saïd qui m'a beaucoup encouragé, soutenu durant les moments difficiles pendant la réalisation de ce travail.

Ma chère binôme Chahra et sa famille.

Mes fidèles copines Leïla et Samira qui ont toujours été présentes dans les moments important de ma vie.

Toute la promotion biochimie et biologie moléculaire en 2017, je vous souhaite à toutes et à tous bonne continuation et beaucoup de réussite.

Cherifa

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à une personne très chère pour moi mais malheureusement elle nous a quitté, **ma grande mère** que dieu le tout puissant l'accueille dans ses vaste paradis, c'est vraiment une grande perte qu'elle n'est plus là.*

A mes deux chers parent,

***Mon père Abd el Majid et ma mère Sadjia**, merci sur de tout ce que vous m'avez donné et l'amitié que vous m'avez offrir.*

A mes frères et mes deux chères sœurs

*A **Yacine** qui m'a toujours aider pour réussir*

*A **Chams Eddine, Mahdi, Sifo, et Khaled nchalah** viendra le jour ou nous présenterons à ta soutenance.*

*A **Hakima** et son mari **Houssine**.*

*A **koko** et son mari **Fahim**.*

*A toutes mes amies **Sylia, Kati, Lily***

*A mes belles cousines **Nina, kenza, Nadjat, et Farah***

*A tous mes tontons et mes tantes surtout tante **Nadia**, tante **Assia**.*

*A la personne que je prends exemple puisque elle est parfaite pour moi grand merci pour tout l'aide que vous m'avez donné **A**.*

*A ma plus belle amie, ma binôme **Cherifa** et sa famille.*

Chahra

Remerciement

On tient part à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage et la persistance pour compléter ce modeste travail et de nous éclairer le chemin de la réussite « merci dieu ».

Nos plus vifs remerciements à Mme Boudria, merci de nous avoir offert l'opportunité et le privilège de travailler avec vous, ainsi pour vos conseils, orientation et encouragement.

On remercie également les honorables membres de jury qui ont accepté d'évaluer notre travail, le président M^{me} Atmani et l'examineur D^r Ghidouche ; nous voudrions qu'ils trouvent ici tous nos remerciement d'avoir bien voulu examiner notre travail.

Au membre de l'équipe de laboratoire d'analyse d'EPSP « Amirouchen Tahar » de Elkseur, merci, pour leur accueil et orientation.

Nos remerciements à tous nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir.

Liste d'abréviations

Acétyle CoA : Acétyle Coenzyme A.

AG : Acides Gras.

Apo : Apolipoprotéine.

HDL : High Density Lipoproteins.

HDLc : High Density Lipoproteins Cholesterol.

HMG-CoA : Hydroxy Méthyl Glutaryl CoA.

HSL : Lipases Hormonosensible.

HSP : Homosensible protein.

HVNS : Huile Végétale de Nigella Sative.

IDL : Intermediate Density Lipoproteins.

LCAT : Lécithine Cholestérol Acyl- Transférase.

LDL : Low Density Lipoproteins.

LDLc : Low Density Lipoprotein Cholesterol.

LH : Lipase Hépatique.

LPL : Lipoprotéine Lipase.

N. sativa : Nigella Sativa.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PFA : ParaFormolAldéhyde

RRG : Régime Riche en Graisse.

SREBP : Sterols Responce Elements Binding Proteins.

VLDL : Very Low Density Lipoproteins.

Listes des figures

Figure (1) : Structure et composition d'une lipoprotéine.

Figure (2) : Trafic et utilisation des lipides par l'intestin, le foie et le tissu adipeux **(D'après Desvergne . B et al .,1999)**.

Figure(3) : la fleur et la graine de *Nigella sativa*.

Figure (4): Répartition des lapins en lots.

Figure(5) : Préparation du RRG. **(A)** préparation de la graisse de mouton. **(B)** préparation du mélange graisse de mouton et jaune d'oeuf administré par gavage.

Figure(6) : Administration du supplément alimentaire riche en lipides par gavage.

Figure (7) : Les étapes d'extraction de l'huile végétale de *Nigella Sativa*.

Figure (8) : Anesthésie des lapins au chloroforme.

Figure (9) : Récupération du sérum sanguin après centrifugation.

Figure (10) : Etapes illustratives du sacrifice des lapins.

Figure (11) : Appareil de mesure spectrophotométriques « Mindray BA-88A ».

Figure (12) : Lapin présentant une alopecie dépressive.

Figure (13): Aspect cardiaque chez les lapins hyperlipidémique. **(A)** aspect d'une lésion du myocarde **(D'après Hemn et al., 2015)**. **(B)** Aspect macroscopique d'un coeur dont le péricarde est recouvert de gras **(Daprès Zhang et al., 2016)**.

Figure (14): Aspect du coeur chez les lots #1 (témoin), #2 (RRG) et #3 (HVNS).

Figure (15): Poids des coeurs de trois lots.

Figure (16) : Aspect de l'aorte chez les lapins témoins et hyperlipidémiques. **(a)** Dépôts de graisses à la surface de l'intima de l'aorte dde lapin hyperlipidémiques **(d'après Hemn et al., 2015)**. **(b)** Aspect de l'aorte chez les différents lots (lot#1 témoin, lot #2 RRG, lot #3 HVNS).

Figure (17) : Mise en évidence d'une stéatose lors d'une hyperlipidémie. **(a)** comparatif entre un foie de lapin normal (à gauche) et un foie à un stade avancé de stéatose non alcoolique (à droite) **(D'après Hemn et al., 2015)**. **(b)** comparatif entre les foies issues des 3 lots témoin (#1), RRG (#2) et HVNS (#3). Complétez cette figure avec la splénomégalie.

Figure (18) : Moyenne de poids du foie des trois lapins.

Figures (19) : Apparence de la rate chez les différents lots. Lot#1 (témoin), Lot#2 (RRG), Lot#3(HVNS).

Figure(20) : Moyenne des poids de la rate des trois lapins.

Figure (21) : Graisse abdominale chez le lot RRG (A), et le lot HVNS (B).

Figure (22) : Présentation du pourcentage de la graisse abdominale par rapport au poids corporel.

Figure (23) : Moyenne des triglycérides des trois lots.

Figure (24) : Moyenne du taux de cholestérol total des trois lots.

Figure (25) : Moyenne des taux de HDLc des trois lots.

Figure (26) : Moyennes des taux de LDL des trois lots.

SOMMAIRE

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. Hyperlipidémie	2
I.1. Métabolisme des lipides	2
I.1.1. Cholestérol	3
I.1.2. Triglycéride	4
I.2. Lipoprotéine	4
I.2.1. Métabolisme des lipoprotéines	5
I.3. Transport des lipides	6
I.3.1. Trafic des lipides exogènes	6
I.3.2. Trafic des lipides endogènes par les LDL, HDL et VLDL	7
I.3.3. Transport inverse du cholestérol	7
I.4. Classification de l'hyperlipidémie	7
I.4.1. Hyperlipidémies familiales	7
I.4.2. Dyslipidémie acquise	9
I.5. Cause, symptômes et facteurs de risques	10
I.6. Les complications	10
II. <i>Nigella sativa</i>	11
II.1. Description	11
II.2. Composition chimique et effet thérapeutique	11

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1. Digestion des animaux et confinement	13
2. Détails de l'expérience	13
3. Préparation du supplément alimentaire riche en graisse	15
4. Extraction de l'huile de Nigella sativa	16
5. Sacrifice des lapins et prélèvements	16
6. Prélèvements sanguins.....	17
7. Prélèvements d'organes	17
8. Etablissement du profil lipidique des lapins	18
8.1. Le cholestérol total	19
8.2. Les triglycérides	20
8.3. Le HDLc	21
8.4. LDLc	22

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Choix du model	23
2. Observation cliniques	23
3. Examen macroscopique des organes	25
4. Comparaison du rapport du poids du graisse abdominale /poids corporelle.....	29
5. Analyse du profil lipidique des lapins	31
5.1. Taux des triglycérides	31
5.2. Taux de cholestérol total.....	32
5.3. Taux de HDLc	33
5.4. Taux de LDLc.....	34
Conclusion et perspectives.....	35

Introduction

Introduction

La dyslipidémie est un problème de santé publique et un sujet de préoccupation de santé professionnelle (**Matos S L et al. 2005**). Elle représente la première cause de mortalité dans le monde étant la cause principale des maladies cardiovasculaires (**Park Y et al., 2015**). L'hyperlipidémie touche 2 à 5 % de la population mondiale, dont 10 millions de la population française. Elle est caractérisée par une augmentation des LDL et une diminution des HDL (**Goldberg. I J et al., 2011**).

Les lipides ont un rôle indispensable dans l'organisme, (comme la synthèse des hormones stéroïdiennes et la production d'énergie). Les troubles du métabolisme qui aboutissent à une dérégulation du taux de lipides dans l'organisme sont appelés « dyslipidémies ». Les lipides de l'organisme sont essentiellement représentés par le cholestérol et les triglycérides, donc une dyslipidémie peut être le plus souvent une hypercholestérolémie ou hypertriglycéridémie. (**Jain S K et al., 2007**).

L'hyperlipidémie est une perturbation biochimique fait partie des troubles asymptomatiques. Elle est caractérisée par l'accumulation de cholestérol et de triglycérides dans le sang induisant ainsi certains problèmes, notamment, l'athérosclérose, hypertension et d'autres maladies coronaires. (**Zhang G et al., 2015**).

Pour être transporté dans les différents compartiments de l'organisme, les lipides se fixent à des transporteurs dits « lipoprotéines ». Ces dernières assurent le transport de cholestérol, des cellules vers le foie (HDL) ou dans le sens inverse (LDL) (**Palm W et al., 2012**). De nombreux facteurs peuvent entraîner une hyperlipidémie, on cite ; le surpoids, l'âge et le diabète. (**Zhang L et al., 2016**). Il convient aussi de noter qu'il existe une forme familiale d'hyperlipidémie due à un déficit lipoprotéinique causé par des facteurs génétiques (**Harikumr. K et al., 2013**).

L'ingestion continue de grandes quantités de graisses semble être directement liée à une hyperlipidémie chez l'Homme. Par conséquent, il serait intéressant de mettre au point des modèles animaux d'hyperlipidémie induite (les lapins) qui permettraient de mieux comprendre les troubles du métabolisme lipidique et de tester, éventuellement, des substances à potentiel thérapeutique (**Matos S L et al., 2005**). Notamment, *Nigella sativa* qui a une activité hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant (**Zaoui et al., 2002**) ; par la richesse de son huile en acides oléique et linoléique (**Chen et al., 2016**).

Chapitre I :

Synthèse

Bibliographique

I. Hyperlipidémie

L'hyperlipidémie désigne une augmentation du taux de lipides dans le sang, que ce soit le cholestérol (plus de 159 mg /dl de cholestérol) (**Chan J et al., 2015**), les triglycérides ou les deux. Elle peut survenir seule ou accompagnée d'une hyperlipoprotéïnémie (**Nelson. R., 2013**). Cette élévation du taux de lipides peut être causée par un diabète sucré non contrôlé, l'obésité ou des habitudes sédentaires (**Zhang L et al., 2016**). L'hyperlipidémie est un facteur de risque de nombreuses maladies notamment l'athérosclérose et les maladies cardiovasculaires (**De Winter .C.F et al, 2012**). On parle d'une dyslipidémie si le taux :

- HDL-cholestérol est inférieur à 0,4 (g /l)
- LDL-cholestérol est supérieur à 1,6 (g/l)
- Les triglycérides est supérieur à 1,5 (g/l).

Pour être transporté dans les cellules de l'organisme, les lipides doivent être portés par un transporteur sous forme d'une lipoprotéine et dont les plus connus sont les LDL (qualifié de bon cholestérol) et HDL (qualifié de mauvais cholestérol), (**Ducobu. J et al., 2004**). Les personnes hyperlipidémiques sont caractérisées par une élévation des LDL et une diminution de HDL (**Danke et al, 1993**).

I.1. Métabolisme des lipides :

Les lipides sont les principaux constituants des membranes de toutes nos cellules ainsi que des organites intracellulaires. Ils sont essentiellement représentés par le cholestérol, les triglycérides et les acides gras qui donnent leurs caractères hydrophiles ou hydrophobes aux phospholipides (composantes de structure). Les lipides sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants non polaires. Ils sont transportés spécifiquement par des lipoprotéines, dont toutes perturbations peuvent se traduire par une hyperlipidémie que se soit par un phénomène d'absorption, de synthèse des lipides ou de lipoprotéines, de la capture des récepteurs, de formation de la bile ou de transport du cholestérol (**Wang .T et al., 2013**).

Les acides gras constituent l'unité de base des lipides, ils proviennent de la lipogenèse des huiles végétales ou des graisses animales. (**Wang .T et al., 2013**). Ils sont

synthétisés majoritairement au niveau des hépatocytes, à partir de l'acetyl-CoA carboxylase, qui est stimulé par l'insuline et inhibé par le glucagon, l'adrénaline et l'acylCoA. Ils sont dégradés au niveau de la mitochondrie au cours d'un processus nommé la beta-oxydation, qui s'effectue par quatre étapes : déshydrogénation, hydratation, une deuxième déshydrogénation, clivage de la molécule et libération de l'acyl et l'acetyl CoA (**Moussard Ch ., 2006**).

L'absorption des lipides s'effectue au niveau de l'intestin grêle, cette absorption nécessite des sels biliaires et des micelles. Les sels bélières sont, à l'origine, issues d'une synthèse hépatique et ils arrivent aux intestins grêles grâce à la bile (**Wang. T et al., 2013**).

I. .1.1. Le cholestérol

Le cholestérol est un élément indispensable à la vie, c'est un constituant de plusieurs hormones et d'une composante majeure des membranes de toutes nos cellules. Il appartient à la famille des stérols, il joue un rôle essentiel dans de nombreuses activités biologiques (**Chan J et al., 2015**). Le dépôt de cette substance grasseuse et son accumulation dans les artères induit la formation de plaques d'athérome, conduisant à une athérosclérose. Il est transporté par les chylomicrons et son absorption s'effectue par la voie de chylomicrons et de HDL (**Hussain M .,2014**).

Il peut être synthétisé par toutes les cellules, cependant, la majeure partie de la synthèse est assurée par les cellules hépatiques et intestinales, créant un cholestérol dit endogène qui contribue à la concentration du cholestérol total (**Neffati S et al., 2009**). Ces cellules ont la capacité de produire 1 (g/jour) de cholestérol à partir des molécules précurseurs suivantes : l'acétyle-CoA, l'enzyme 3-hydroxy-3- methylglutaryl, et le HMG-CoA réductase (**Ducobu. J et al., 2004**). La fraction restante de cholestérol provient de l'alimentation (comme les viandes blanches, les produits laitiers et les œufs) et est appelée le cholestérol exogène (**Jeusette .I et al ., 2004**).

I.I.2. Les triglycérides

Réserve énergétique principale de l'organisme. Ils sont constitués de cholestérol estérifié et de trois acides gras. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse en mono-glycérides, di-glycérides et en acides gras libres par des enzymes pancréatiques, appelées « Lipases hormonosensibles » (HSL). Les HSL sont activés par l'adrénaline et inhibés par l'insuline (**Ducobu. J et al., 2004**). Elles se combinent au cholestérol, phospholipides et sels biliaires pour former des micelles mixtes, ces dernières vont libérer les mono glycérides, diglycérides, les acides gras dans la lumière intestinale qui seront incorporés aux chylomicrons avec les ester de cholestérol, le cholestérol libre, les protéines, et les phospholipides pour être libérés dans le sang par la lymphe et le canal thoracique (**Hussain M., 2014**).

I.2. Lipoprotéines

Les lipoprotéines sont des complexes macromoléculaires. Elle permettant le transport des lipides de leur lieu de synthèse vers le lieu de stockage. Elles sont constituées de cholestérol, Triglycérides, phospholipides, et de protéines appelées aussi apolipoprotéines (ApoA , apoE, ApoC ...) (**Palm W et al., 2012**).

Les lipoprotéines peuvent être séparées par diverses méthodes : ultracentrifugation, électrophorèse, chromatographie. Elles sont classées en fonction de leur densité, composition, profil d'apolipoprotéines, caractéristiques métaboliques ou signification biologique en cinq classes (les chylomicrons, les VLDL, les IDL, les LDL et les HDL). (**B. Lwis., 1971**).

- **Les chylomicrons**

Lipoprotéine d'origine digestive, transportant les triglycérides et le cholestérol alimentaire.

- **VLDL (Very Low Density Lipoproteins)**

Lipoprotéines d'origine hépatique, transportant les triglycérides.

- **IDL (Intermediate Density Lipoproteins)**

Intermédiaire entre VLDL et LDL.

- **LDL (Low Density Lipoprotéine)**

Transportent le cholestérol du foie vers les tissus périphériques.

- **HDL (High Density Lipoproteins)**

Riche en cholestérol, jouent un rôle essentiel dans le transport inverse, (vers le foie). (Ducobu *et al.*, 2004).

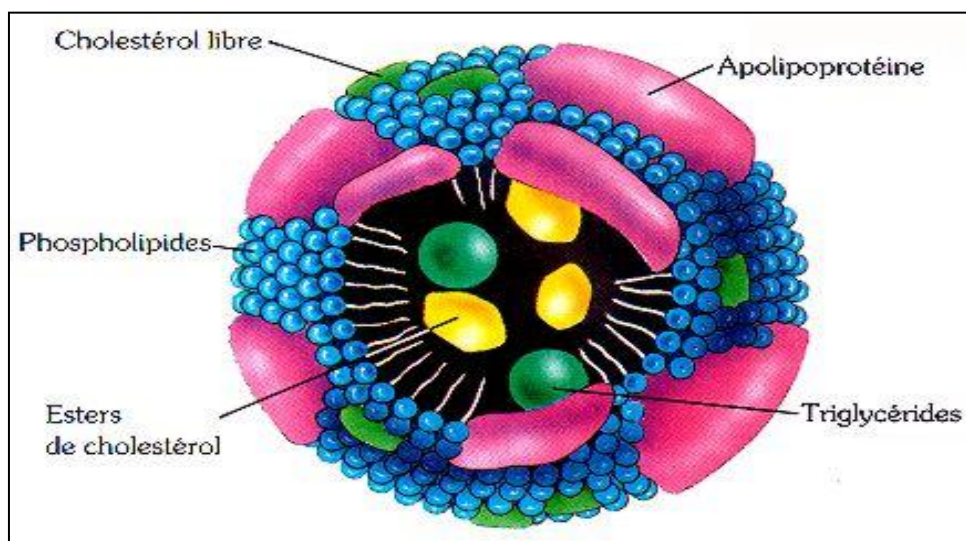


Figure (1) : Structure et composition d'une lipoprotéine

I.2.1. Métabolisme des lipoprotéines

L'hydrolyse des lipoprotéines peut être plasmatique ou hépatique.

Dans le plasma la lipoprotéine lipase (LPL) permet l'hydrolyse des triglycérides, des chylomicrons, et des VLDL. Dans le foie une autre lipase dite triglycérides lipase hépatique hydrolyse les glycérides, les LDL et HDL (De Sanctis J *et al.*, 1994).

Il existe une autre enzyme plasmatique dite Lécithine Cholestérol Acyl-Transférase (LCAT), elle hydrolyse les lécithine des lipoprotéines plasmatiques et produit des esters de cholestérol, les produit finaux de cette enzymes sont les HDL2 riches en ester des cholestérol et conduit le cholestérol vers le foie pour être excrète dans la bile. (Raisonnier. A., 2003- 2004).

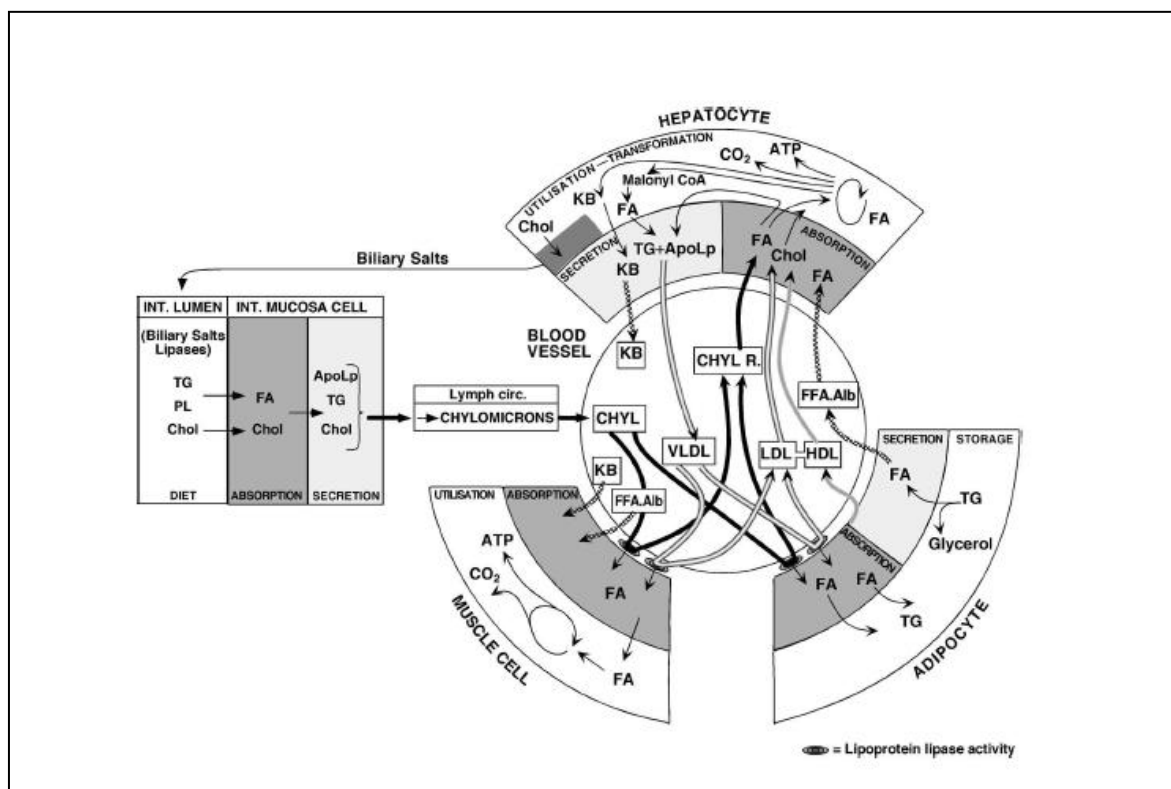


Figure (2) : Trafic et utilisation des lipides par l'intestin, le foie et le tissu adipeux (D'après Desvergne . B *et al* .,1999).

I.3. Transport des lipides

I.3.1. Trafic des lipides exogènes

Le transport des triglycérides et du cholestérol alimentaires vers les tissus périphériques est assuré par les chylomicrons et les VLDL (Murray.R., 2006). Durant la période post prandiale l'intestin secrète des chylomicrons immatures qui récupèrent des ApoE et ApoC issue des HDL pour former des chylomicrons matures riches en triglycérides. Ces derniers libèrent des acides gras et des monoacylglycérol après une hydrolyse par la LPL pour être captées par les tissus périphériques.

Une fois les chylomicrons sont transférées en acides gras leur ApoC sont retransformés a des HDL, ce qui permet la formation de résidu de chylomicrons reconnu par le récepteur ApoB48 et ApoE du foie (Sultan.F *et al* ., 1995) ces résidus entre dans les hépatocytes par le mécanisme d'endocytose pour être hydrolysé par les lysosomes ce qui libèrent des acides aminées et du cholestérol libre (Grassi G *et al.*, 2016).

I.3.2. Trafic des lipides endogènes par les LDL, HDL, et VLDL

Le foie et l'intestin synthétisent des VLDL à partir des chylomicrons captés par l'alimentation ou, neosynthétisent, d'ApoA1 et d'ApoB100 (**Glickman RM., 1997**). Dans la circulation, ces VLDL vont s'enrichir d'ApoE et ApoC et entre en contact avec les HDL pour former des VLDL matures. La présence de l'ApoC2 permet de libérer des acides gras sous l'effet de la LPL (**Zechner.R.,1997**). La densité des VLDL augmente ce qui les transforme en IDL puis en LDL, ces dernières transfèrent leur ApoC, ApoE, triglycérides, et phospholipides au HDL en échange d'ester de cholestérol. Les LDL ainsi formés transportent le cholestérol (**Pibot P et al.,2006**).

I.3.3. Transport inverse du cholestérol

Le transport inverse du cholestérol vers le foie ou le bon cholestérol est assuré par les HDL, ces lipoprotéines sont synthétisées dans le foie à partir d'ApoA, d'ApoE et d'ApoC2 puis libérées dans le sang. Les HDL s'enrichissent en cholestérol à partir du cholestérol libre présent sur les membranes des cellules des tissus qu'elle traversent (**Pibot P et al.,2006**), ces lipoprotéines retournent dans le foie qui les absorbe par endocytose, les esters de cholestérol sont alors hydrolysés, ce qui libère du cholestérol utilisé par le foie pour la synthèse d'hormones (comme les hormones stéroïdiennes) et d'autres lipoprotéines (**Grassi G et al., 2016**).

I.4. Classification de l'hyperlipidémie

L'hyperlipidémie peut être classée en hyperlipidémie familiale (dite primaire), causée par des facteurs génétiques spécifiques, et hyperlipidémie acquise (également appelée secondaire), due à des troubles sous-jacents au cours du métabolisme des lipides et des lipoprotéines plasmatiques, ou encore idiopathique (**Harikumar.K. K et al., 2013**).

I.4.1. Hyperlipidémie familiale

Ce sont des maladies génétiques sous l'effet des mutations chromosomiques due à un ou plusieurs déficits, notamment celles qui touchent le gène codant pour la protéine

ABCB4 qui altèrent la sécrétion de cholestérol biliaire. Une mutation ABCB4 affecte la sécrétion de lipoprotéines riches en phospholipides. Les études métaboliques suggèrent que ces maladies sont caractérisées par une augmentation du taux de production des Lipoprotéines riches en triglycérides (VLDL) (Cabré A *et al.*, 2010).

Elles peuvent être :

- **Monogénique** sous forme d'une hypercholestérolémie ; liée à un déficit des récepteur LDL. Ou une hypochylomicronémie liée à un déficit en (LPL) (Chan J *et al.*, 2015).
- **Polygénique** Sous formes d'hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie, hypoHDLmie ; due au polymorphisme de l'Apo E.

L'Hyperlipidémie familiale est subdivisée en cinq classes essentielles, en se basant sur l'exemple d'électrophorèse ou d'ultracentrifugation, adoptée plus tard par l'OMS (Lwis.B., 1971). Cette classification est basée sur le taux, le déficit ou le nom des lipoprotéines ainsi que l'apparence du sérum (Harikumar.K *et al.*, 2014).

Selon les altérations des lipides

- **Hyperlipidémie de type 1** caractérisé par un taux élevé de cholestérol et des triglycérides.
- **Hyperlipidémie de type 2** Caractérisé par un taux normal de triglycérides et élevé de cholestérol.
- **Hyperlipidémie de type 3** Caractérisé par l'augmentation de cholestérol, et des triglycérides.
- **Hyperlipidémie de type 4** ainsi caractérisé par l'augmentation de triglycérides, d'athérome et d'acide urique.
- **Hyperlipidémie de type 5** augmentation des triglycéridémie.

Selon les altérations des lipoprotéines plasmatiques

- **Hyperlipoprotéinémie de type 1**

Dite hypochylomicronémie. Elle existe sous trois formes essentielles, qui sont très répandues chez les enfants

- **Type Ia** : Due a un déficit de la lipoprotéine lipase LPL ou altération de l'ApoC2 , cela induit l'élévation des chylomicrons.
- **Type Ib** : elle est marquée par une déficience de l'Apo CII, condition due à un manque ou un changement de la lipoprotéine lipase.
- **Type Ic** : c'est une chylomicronémie, due à l'inhibition de la circulation de l'apoprotéine lipase.

- **Hyperliporotéinémie de type 2**

Synonymes d'une hypercholestérolémie familiale, existe selon deux formes qui dépends de l'augmentation des LDL suite a un déficit.

- **Type IIa** : hypercholestérolémie pure issue d'un taux élevé on LDL, due à des mutations polygéniques des récepteurs et de gènes d'Apo B.
- **Type IIb** : hypercholestérolémie mixte, c'est.-à-dire, augmentation de LDL et de VLDL. Due a la surproduction de triglycérides, l'acétyle CoA et ApoB-100. Mais elle peut être causée par une diminution des LDL.

- **Hyperliporotéinémie de type 3**

Caractérisée par l'augmentation d'IDL, reconnu par la forme Beta large ou dysbetalipoproteinémie, causé par l'augmentation des β - VLDL.

- **Hyperliporotéinémie de type 4** c'est une Hypertriglycerédémie endogène à cause de l'augmentation des VLDL.
- **Hyperliporotéinémie de type 5**

Très rare, c'est une combinaison entre le type 1 et le type 4 (endogène et exogène) caractérisé par une élévation des VLDL et des chylomicrons. Cette forme est associée à une intolérance au glucose et une hyperurécémie (**Harikumar. K et al., 2013**).

I.4.2. Dyslipidémie acquise

Dite dyslipoprotéinémie secondaire, elle peut avoir les même formes et conséquences que l'hyperlipidémie primaire (l'athérosclérose, la pancréatite ...etc). Cette forme peut être due à des facteurs exogènes, ou a la présence d'autres complications comme le diabète, la thyroïde, une insuffisance rénale, les troubles métaboliques et

endocriniens, ainsi sous l'effet de certains médicaments, l'alcool, les drogues (**Nilson .R.,2013**).

En pratique clinique une dyslipidémie peut avoir trois phénotypes :

- Hypercholestérolémie pure.
- Hypertriglycéridémie pure.
- Hyperlipidémie mixte.

I.5. Cause, symptômes et facteurs de risques

L'hyperlipidémie ne cause pas de symptômes c'est par conséquent on dit que c'est une pathologie silencieuse, et elle ne peut être reconnue qu'après une athérosclérose ou des atteintes cardiovasculaires (**Bhatnagar D et al., 2008**). Mais elle est plus fréquente chez certains individus que d'autres, notamment ceux ayant un taux élevé en cholestérol, un surpoids, un diabète, une hypertension artérielle, et elle augmente surtout avec l'âge (**Chan J., et al 2015**).

I.6. Les complications

L'hyperlipidémie provoque des complications brutales graves, car l'excès de lipides dans le sang permet leur dépôt sur les parois des artères de l'organisme (du cœur, cerveau, et des jambes). L'hyperlipidémie est un facteur de risque des maladies cardiovasculaires et d'athérosclérose (**Matos S L et al., 2005**).

L'athérosclérose est une maladie inflammatoire et un phénomène artériel chronique. Il s'agit de la perte de l'élasticité des artères due à la sclérose, elle peut être due à une surcharges des LDLc au niveau de la tunique interne des artères (intima), ce dépôt peut aller de la lumière de l'artère (sténose) ou profondément (thrombose) (**Bruckbauer A et al.,2017**). Cela augmente le risque d'infarctus du myocarde et les accidents vasculaires cérébraux (**Subbotin V., 2012**).

L'hypercholestérolémie provoque ces lésions à travers un stress oxydatif en produisant des espèces réactives d'oxygènes (**Zhang G et al., 2015**).

) au niveau de l'aorte et du cerveau et induisant ainsi la démence, ou même la maladie d'Alzheimer (**Zhang G et al., 2015**).

II. *Nigella sativa*

II.1. Description

Nigella Sativa, communément appelée « nigelle » ou « cumin noire », est une plante et un condiment populaire. Son nom est dérivé du latin qui signifie noire, c'est l'une des plantes médicinales les plus connues depuis plus de 2000 ans, la nigelle est originaire d'Asie occidentale mais elle se trouve un peu partout. Elle appartient à la famille des renonculacées qui comprend 30 genres et 1200 espèces, elle appartient à la classe des dicotylédones. Elle fleurit au mois d'aout et donne des graines au mois de juillet. Son champ d'utilisation est très élargi, surtout chez les arabes et les disciples du prophète Mohamed (Ghedira.K 2006).

Cette plante est utilisée pour guérir plusieurs maladies en médecine traditionnelle. Dans ce cadre de nombreuses études ont montrées que la nigelle a une activité hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant (Zaoui *et al.*, 2002), une activité antidiabétique (Benhaddou-Andaloussi A *et al.*, 2008), mais aussi une activité cardiovasculaire (Khattab et Nagi., 2007) et anti-inflammatoire (Akram khan.M *et al.*, 2016).

II.2. Composition chimique et effet thérapeutique

L'étude des échantillons de *N. sativa* montre toute une série de substances naturelles regroupant , les terpénoïdes , les flavonoïdes , les alcaloïdes , les saponines , les protéines , et des sels minéraux (sodium, calcium, potassium , magnésium , phosphore ,) des vitamines (Akram khan.M *et al.*, 2016 ; Assi M *et al.* , 2016).

Les grains de *N. sativa* se composent de 0,45% d'huile essentielle, 30% d'huiles fixes, 38% de lipides totaux et d'acides gras totaux, et presque 75% essentiellement l'acide oléique et linoléique .Il contient ainsi des huiles dont 64,6 d'acide linoléique et 20,4 d'acide palmitique. L'huile de cette plante contient approximativement 46% de monoterpènes, 25% de composés carbonyles (Gharby S *et al.*, 2013).



Figure(3) : la fleur (A),et la graine (B) de *Nigella sativa* .

Des études montrent que l'extrait aqueux des grains de *N. sativa* a une activité hypoglycémiant et hypotriglycéridémiant chez les rats de sable. Effectivement, il diminue le cholestérol chez les rats *wistar* d'autres études ont montré que les huiles fixes de grains de *N. sativa* inhibent la production des leucotriènes B-4 et des thromboxanes B-2, inhibe la peroxydation des lipides et augmente la perméabilité des leucocytes (**Zaoui et al. 2002**).

Chapitre II :

Matériels

et

Méthodes

Nos expériences ont duré 70 jours, du 22 mars jusqu'au 02 juin de l'année 2017, au niveau de l'animalerie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia et le laboratoire d'analyse de l'établissement de proximité de santé publique Amirouchen Taher, commune d'Al kseur de la même wilaya.

L'objectif de notre étude était double. D'une part, nous avons réalisé un modèle animal d'une pathologie humaine, l'hyperlipidémie, et d'autre part, nous avons testé le pouvoir hypolipidémiant d'une huile à potentiel thérapeutique, L'huile végétale de *Nigella sativa*.

1. Gestion des animaux et confinement

L'expérience a été effectuée sur des lapins mâles néozélandais albinos (*Oryctolagus cuniculus*) provenant d'un éleveur indépendant de la région de Fenaia Ilmaten. Nos lapins étaient âgés de 30 à 45 jours, ayant un poids variant entre 0,9 à 1,3 kg. Les animaux avaient libre accès à une portion journalière fixe de nourriture représentée par 100g/animal ainsi qu'à l'eau. L'élevage des animaux s'est fait en animalerie conventionnelle, où les animaux étaient maintenus à température ambiante, dans une pièce ventilée. L'éclairage correspondait à 12h de période diurne et 12h de période nocturne.

Après un séjour de 5 jours d'acclimatation, nous avons entamé la procédure expérimentale.

2. Détails de l'expérience

Un total de 9 lapins a été répartis sur 3 lots égaux, composés chacun de 3 lapins avec une moyenne de poids homogène. Les lapins ont été confinés dans des cages métalliques munies d'une mangeoire et d'un abreuvoir en plastique.

➤ Lot #1 (Témoin):

Est un lot témoin dont les lapins reçoivent, chacun, une portion alimentaire journalière composée de 100g de régime alimentaire standard pour rongeurs (Maïs, tourteaux de Soja, calcaire, phosphates, sel, acides aminés, oligo-éléments, polyvitamines, antioxydant). Les lapins sont placés sous ce régime pendant 60 jours.

➤ **Lot #2 (RRG) :**

Est un lot sous régime alimentaire riche en graisses (RRG) afin d'induire une hyperlipidémie. De ce fait, chaque lapin reçoit une portion alimentaire journalière de 100g dont 90% est constitué de régime alimentaire standard pour rongeurs et 10% de graisses d'origine animale (5% de graisses et 5% de jaune d'œuf). Les lapins sont placés sous ce régime pendant 60 jours.

➤ **Lot #3 (HVNS) :**

Est un lot sous régime alimentaire riche en graisses afin d'induire une hyperlipidémie. Chaque lapin reçoit une portion alimentaire journalière de 100g dont 90% est constitué de régime alimentaire standard pour rongeurs et 10% de graisses d'origine animale (5% de graisses et 5% de jaune d'œuf). Les lapins sont placés sous ce régime pendant 60 jours.

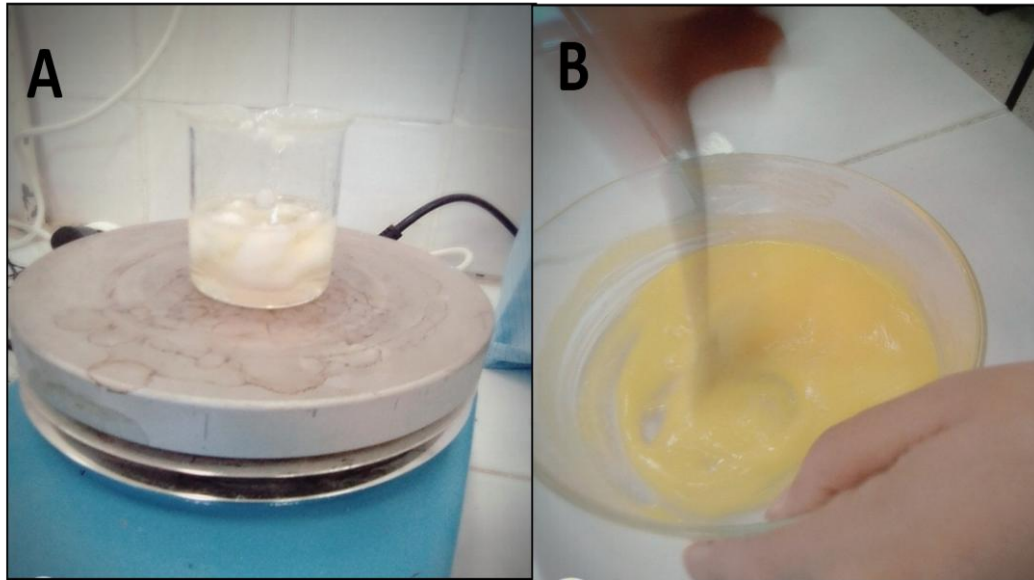
Au bout des 45 premiers jours, les lapins reçoivent en supplément alimentaire, l'huile végétale de *Nigella sativa* (HVNS) à raison de 1 ml/jour pour chaque lapin en administration orale postprandiale, et ce jusqu'à la fin de l'expérience au 60^{ème} jour.



Figure (4): Répartition des lapins en lots.

3. Préparation du supplément alimentaire riche en lipide

Après avoir séparés la viande et la graisse, cette dernière est placée est fondue à 80°C afin de ne pas la bruler et altérer la nature de ses constituants. Elle est ensuite filtrée afin d'éliminer les amas graisseux de la phase graisseuse liquide. La graisse obtenue est conservée à 4°C.



Figure(5) : Préparation du RRG. (A) préparation de la graisse de mouton. (B) préparation du mélange graisse de mouton et jaune d'œuf administré par gavage.



Figure(6) : Administration du supplément alimentaire riche en lipides par gavage.

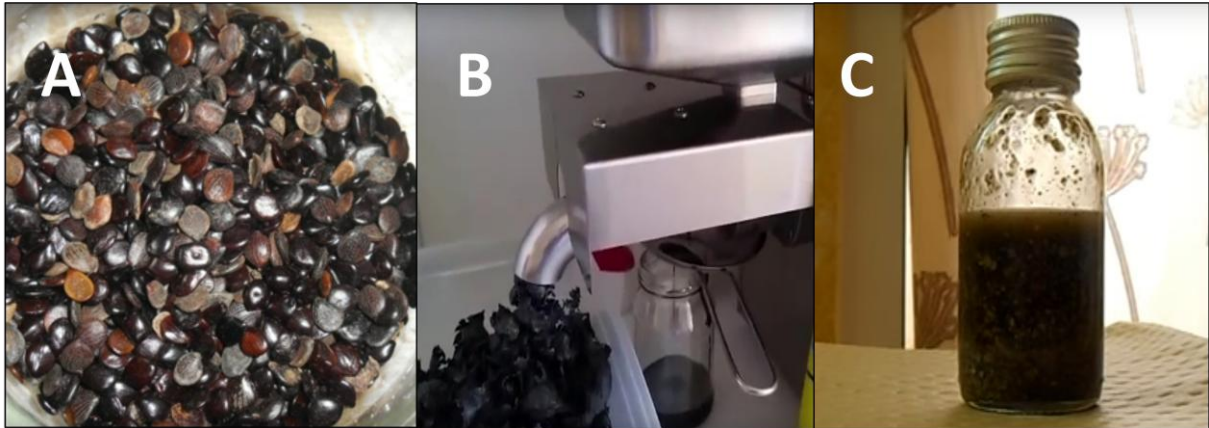
4. Extraction de l'huile de *Nigella Sativa*

Figure (7) : Les étapes d'extraction de l'huile végétale de *Nigella Sativa*.

L'huile de *N. Sativa* a été obtenue après pression de la graine sur une presse hydraulique Moringa achetée chez zhengzhou sinoder indutechmachinery co., Ltd. Chez un producteur d'huile indépendant de la région d'Arris à Batna en Algérie. Le rendement en huile de la plante, après extraction sur cette presse, a été estimé à environ 45%.

5. Sacrifice des lapins et prélèvements

Au bout des 60 jours prévus pour notre expérience, les 3 lots de lapins ont été sacrifiés et le sang et certains organes prélevés. Les lapins ont été, préalablement, mis à jeun pendant les 12h précédant le sacrifice. Ensuite, ils ont été placés dans un dessiccateur avec un coton imbibé de chloroforme afin de réaliser une anesthésie relativement lourde.



Figure (8) : Anesthésie des lapins au chloroforme.

6. Prélèvements sanguins

Ce n'est qu'une fois anesthésiés que les lapins ont été sortis du dessiccateur pour subir, très rapidement et tout en évitant le réveil, une ponction cardiaque qui nous a permis de récupérer environ 10 ml de sang pour chaque lapin. Les échantillons sanguins ont été placés, immédiatement, dans des tubes héparinés et conservés à 4°C jusqu'à la fin de l'échantillonnage.

Une fois ces étapes effectuées, le sang récupéré a été centrifugé à 2000 rpm pendant 20 min, puis les surnageants de plasma ont été récupérés et placés sur la glace afin de les acheminer jusqu'à l'EPSP d'Al Kseur pour effectuer des dosages des taux de cholestérol total, de triglycérides, de LDL et de HDL.



Figure (9) : Récupération du sérum sanguin après centrifugation.

7. Prélèvements d'organes

La ponction cardiaque ayant provoqué les décès des animaux, ils ont par la suite été disséqués dans le but d'effectuer un prélèvement d'organes.

Les lapins morts ont été placés sur une large plaque de polystyrène puis épinglés sur celle-ci à l'aide d'épingles. Par la suite, la peau recouvrant la cavité abdomino-thoracique a

été découpée afin de nous permettre d'observer l'ampleur de l'accumulation des graisses au niveau du péritoine. La graisse péritonéal a été minutieusement récupérée puis pesée.

Ensuite, le foie, la rate, le cœur et l'aorte ont été prélevés et soigneusement pesés. Un examen macroscopique a été effectué, puis les organes ont été rincés à l'eau physiologique et une portion de cœur et de foie a été conservée par congélation à -20°C et par fixation dans du PFA 10%.

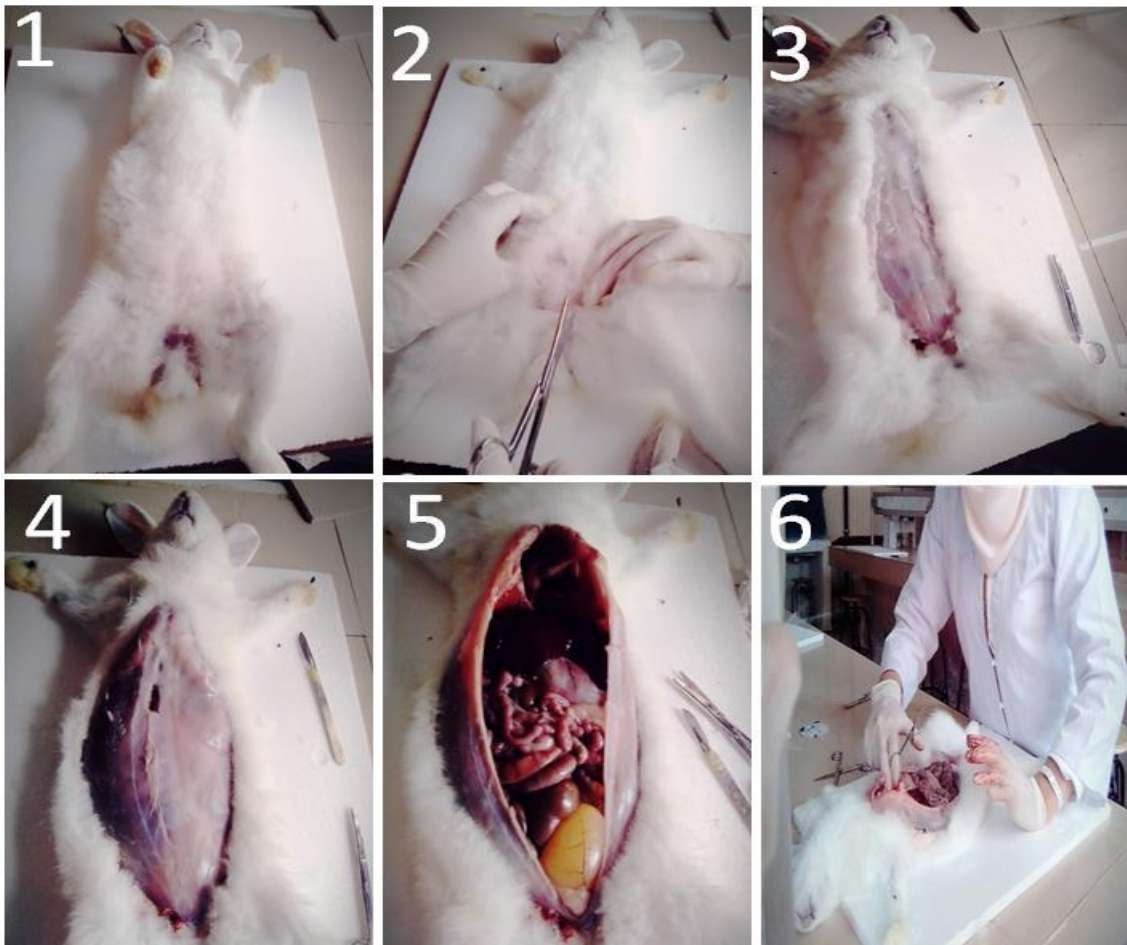


Figure (10) : Etapes illustratives du sacrifice des lapins.

8. Etablissement du profil lipidique des lapins

Les différents dosages ont été effectués sur du sérum récupéré après centrifugation et en évitant toute contamination. Il est important de noter qu'un dosage du cholestérol total a également été réalisé sur les déchets fécaux. En effet, un échantillon d'excréments a été

prélevé pour chaque lot, puis dilué dans 5 ml d'eau physiologique. Une centrifugation a été réalisée à 2000 rpm pendant 20 min et les surnageants ont été récupérés.

La détection d'une dyslipidémie s'effectue grâce au dosage des différents constituants des lipides. Le principe de ces différents dosages repose sur une méthode colorimétrique (par l'ajout d'un chromogène à l'échantillon). La quantification du taux du métabolite d'intérêt se fait par la mesure de l'absorbance de l'échantillon comparativement à celle d'un blanc grâce à un spectrophotomètre. Cela permet de définir la concentration des métabolites sanguins.

Le bilan lipidique associe l'étude de l'aspect du sérum à jeun et les dosages respectif du cholestérol total et des triglycérides ce qui nous permet de déduire par un calcul simple le taux de LDLc.

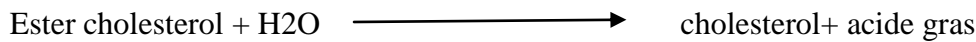
Dans toutes nos expériences, les concentrations ont été obtenues à l'aide d'un appareil de mesure spectrophotométriques (*mindray BA-88A*), qui permet de convertir directement les DO en concentrations pour les dosages de cholestérol total, HDL, et triglycérides.



Figure (11) : Appareil de mesure spectrophotométriques « Mindray BA-88A ».

8.1. Le cholestérol total

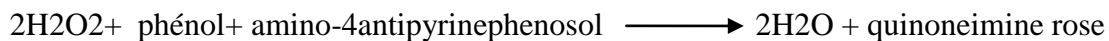
Le cholestérol est un alcool gras polycyclique appartient au groupe des stérols, existe sous formes estérifiée ou libre dans le plasma, les ester de cholestérol sont hydrolysé et oxydé en présence de peroxydase, et de phénol pour former la quinoneimine selon les réactions suivantes :



(Cholesterol esterase)



(cholestrol oxydase)



(Peroxydase)

Le dosage a été réalisé grâce à un kit acheté chez Biomaghreb (ref : 20111)

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10 μ l	-
Echantillon	-	-	10 μ l
Réactif	1ml	1ml	1ml

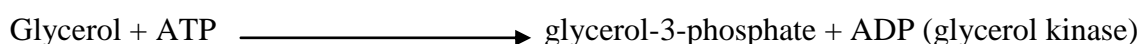
Après incubation dans un bain marie à une température de 37°C pendant 5min, La lecture se fait au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505 nm. La détection s'effectue grâce à la formation de la quinoneimine sous l'effet de la peroxydase.

8.2. Les triglycérides

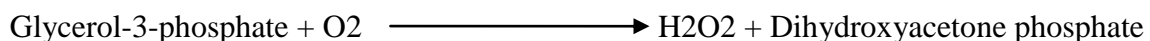
Les esters de glycérol et de triglycérides, comme le cholestérol sont dosés après une hydrolyse enzymatique par les lipases.



(Lipoprotéine lipase)



(Glecerokinase, Mg^{++})



(Glycerol-3-phosphate oxydase)

Glycérol-3-Phosphate + amino-4-antipyrine + chloro-4-phenol \longrightarrow Quinine + H₂O

Glycerol3phosphate + O₂ \longrightarrow dihydroxy-acetone-P + H₂O₂ (glycerol beta oxydase)

H₂O₂ + amino-4-antipyrine + cholestero-4-phenol \longrightarrow quinoniemine rose + H₂O

Pour le dosage des triglycérides, nous avons utilisés un kit de dosage acheté chez Biomaghreb (ref : 20132) dont les réactifs principaux sont :

- Tampon pipes pH(7,2), 50 (mmol/l)
- Lipoprotéines lipases 150000 (u/l)
- Standard glycérol (200mg/dl)

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard		10µl	
Echantillon			10µl
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

Mélanger les réactifs, puis incuber la mixture pendant 5 min à 37°C.

La lecture de l'absorbance se fait avec un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505 nm, en ajustant le zéro de l'appareil sur le blanc réactif.

8. 3. Le HDLc

Les chylomicrons, les lipoprotéines VLDL, et LDL contenus dans l'échantillon sont précipités par addition d'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium. Le surnagent obtenu après centrifugation contient les lipoprotéines HDL dont le cholestérol est dosé par le réactif cholestérol enzymatique acheté chez Biomaghreb (ref : 20111 ou 20112).

La concentration de HDL est obtenue en appliquant l'équation suivante :

$$\text{Concentration} = (\text{DO échantillon} / \text{DO étalon}).n$$

Sachant que n= 2(g/l)

Le dosage des HDLc se fait en deux étapes à l'aide d'un kit de dosage acheté chez Biomaghreb (ref :20113)

	Blanc réactif	Etalon	Dosage
Eau distillé	10µl	-	-
Etalon			
Cholestérol 2g/l	-	10µl	-
Surnageant	-	-	10µl
Réactif cholestérol enzymatique	1ml	1ml	1ml

- **Etape 1 :** est une étape de précipitation, dont le but est d'isoler HDLc. Pour cela il faut précipiter toute les lipoprotéines de basse à très basse densité. La précipitation des LDLc et VLDLc est rendue possible par l'ajout de 25 µl d'un réactif précipitant (acide phosphotungstique et magnésium) à 250 µl d'échantillon de sérum. La mixture a été mélangée au vortex puis incubé 10 min à température ambiante. Puis la mixture a été centrifugée à 5000 rpm pendant 15 min.
- **Etape 2 :** Dans cette étape, nous récupérons le surnageant issu de la centrifugation au cours de l'étape précédente et qui ne contient plus que les HDLc. Le taux cholestérol présent dans l'échantillon est représentatif que de la fraction de HDLc. La mesure de ce cholestérol nous permet de déterminer le taux de HDL, et a été effectuée selon les mêmes étapes précédemment décrites pour le dosage du cholestérol.
- Après incubation dans un bain marie à une température de 37°C pendant 5min, La lecture se fait au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 500 nm.

8.4. LDLc

La concentration de LDLc est déduite mathématiquement par la loi de **Freidenwald :**

$$\text{LDLc} = \text{cholesterol total} - (\text{triglycerides} / 5 + \text{HDLc})$$

Chapitre III :

Résultats et discussion

1. Choix du model

Cette étude est réalisée *in vivo* sur des lapins néozélandais albinos. En effet, le lapin semble être le meilleur model pour une hyperlipidémie induite car il présente une hypercholestérolémie après quelque jours de régime alimentaire riche en cholestérol, il est très sensible à l'incitation des lésions athéromateuses. Ce model est utilisé pour tester l'efficacité des médicaments en raison de des similitudes l'humain en termes de formation de plaque d'athérome (Yanni. A E ., 2004).

2. Observations cliniques

Pendant toute la durée de l'expérience, un suivi clinique a été effectué sur les lapins. Au bout des 15 premiers jours, des signes de dépression ont été observés chez certains lapins étant sous régime alimentaire riche en lipides. Cette dépression se manifestait principalement par une alopecie (figure 12) sévère, signe clinique d'une lipotoxicité aigüe. Cette alopecie a été accompagnée par une brève période d'anorexie (2 jours) qui fut suivi par une augmentation de l'appétit chez les lapins placés sous régime alimentaire riche en lipides. Ces observations sont similaires à ceux d'autres études faites sur des lapins nourris avec un régime alimentaire riche engraisse (Hemn H et al., 2015).



Figure (12) : Lapin présentant une alopecie dépressive.

3. Examen macroscopique des organes

Dans le but d'observer d'éventuels signes de toxicité due à l'hyperlipidémie, nous avons prélevé le cœur, l'aorte, le foie et la rate, puis nous les avons examinés.

a. Le cœur

Il est bien connu, chez l'Homme, qu'un régime alimentaire riche en lipides peut conduire à l'apparition de lésions cardiaques de différents degrés de gravité. Chez les lapins, il a été décrit qu'un régime alimentaire riche en lipides pouvait induire l'apparition de lésions indicatives d'une insuffisance cardiaque congestive. Ces lésions sont notamment représentées par des atteintes au niveau du myocarde qui se manifestent par l'apparition de zones nécrotiques de couleur pâle (**Hemn et al., 2015**). Il faut, également, noter que les animaux atteints d'hyperlipidémie présentent très souvent un cœur enveloppé d'une couche de gras relativement épaisse due à l'accumulation de dépôts graisseux sur le péricarde (**Zhang et al., 2016**).

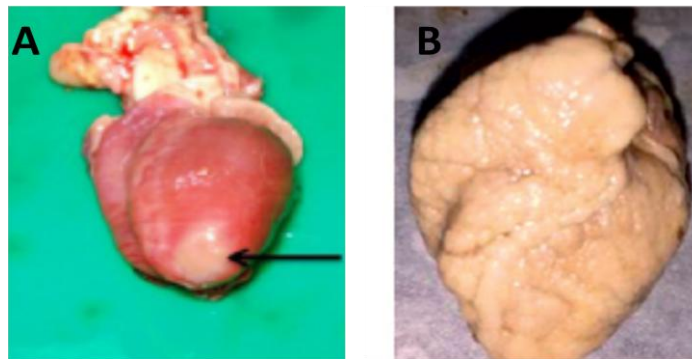


Figure (13): Aspect cardiaque chez les lapins hyperlipidémiques. (A) aspect d'une lésion du myocarde (D'après **Hemn et al., 2015**). (B) Aspect macroscopique d'un cœur dont le péricarde est recouvert de gras (D'après **Zhang et al., 2016**).

Nous avons, donc effectué un examen macroscopique du cœur chez les lapins des trois lots (témoin, RRG et HVNS) à la recherche d'éventuelles lésions. Cet examen n'a montré aucune différence notable entre les trois lots en termes d'aspect du cœur ou de coloration, cependant, les cœurs du lot RRG étaient plus volumineux et avaient des poids plus importants.



Figure (14): Aspect du cœur chez les lots #1 (témoin), #2 (RRG) et #3 (HVNS)

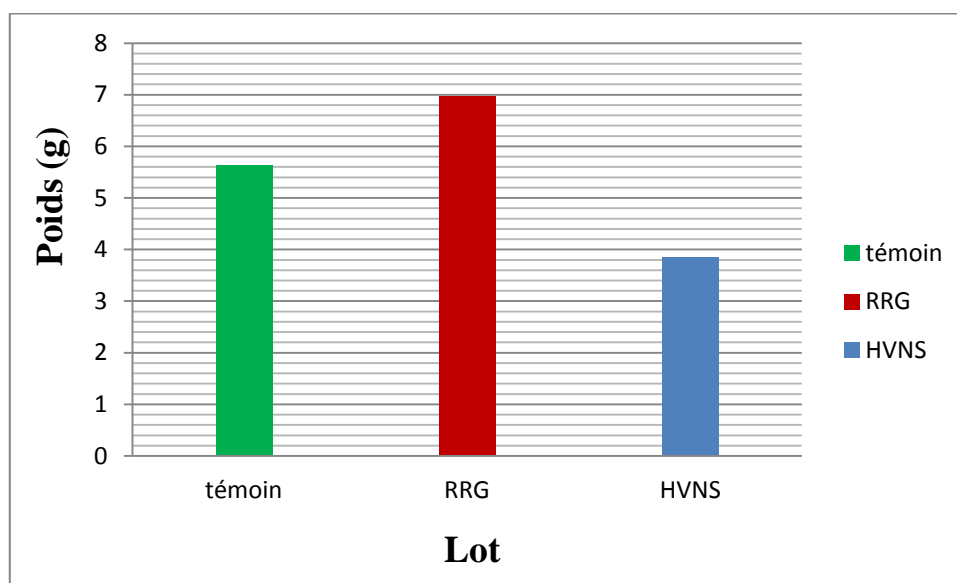


Figure (15): Poids des cœurs de trois lots.

Cette cardiomégalie chez les lapins du lot RRG pourrait être expliquée par une insuffisance cardiaque. Des examens supplémentaires seraient nécessaires afin de déterminer les raisons exactes de l'augmentation du volume cardiaque. Cependant, étant donné que les lapins chez qui nous avons observés ce phénomène étaient sous régime alimentaire riche en lipides, nous soupçonnons fortement que l'hyperlipidémie pourrait être derrière ce phénomène.

b. L'aorte

Il a été démontré qu'un régime alimentaire riche en graisse pouvait être à l'origine de l'apparition de plaques athérosclérotiques dues aux dépôts de graisses dans l'aorte. Ces

dépôt de graisses sont généralement plus important sur l'arche de l'aorte que ce soit au niveau de la partie interne ou externe de celle-ci (Kita et al., 1987 ; Hemn et al., 2015).

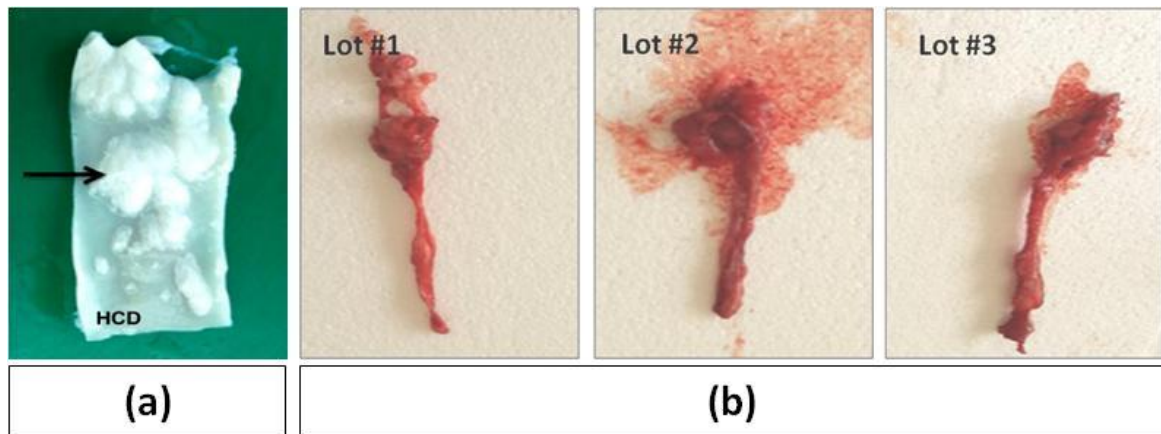


Figure (16) : Aspect de l'aorte chez les lapins témoins et hyperlipidémiques. (a) Dépôts de graisses à la surface de l'intima de l'aorte dde lapin hyperlipidémiques (d'après Hemn et al., 2015). (b) Aspect de l'aorte chez les différents lots (lot#1 témoin, lot #2 RRG, lot #3 HVNS).

Un examen de l'intima de l'aorte a également été effectué sur les lapins des trois lots. Cet examen macroscopique n'a pas révélé de différences notables concernant les dépôts lipidiques à la surface interne de l'aorte. Il est fort probable que des plaques athérosclérotiques existent mais qu'elles ne soient pas visibles lors d'un simple examen macroscopique, un test de sudanophilie qui permet de colorer les plaques d'athérome est à préconiser afin de mieux détecter les dépôts graisseux.

c. Le foie

Un régime alimentaire riche en gras aboutit, généralement, à une atteinte de la fonction hépatique. Cette atteinte, qui est caractérisée par un foie jaunâtre, gonflé et graisseux, est appelée stéatose (Fig. 17-a). Dans ce genre de syndrome, la pâleur de l'organe est indicatrice de la gravité de l'atteinte.

L'examen hépatique effectué chez les 3 lots de lapins que comprends notre expérience a démontré un début de stéatose dans les lapins des lots RRG et HVNS caractérisée par une couleur rosâtre du foie. Il faut noter que la pâleur de cet organe était plus marquée chez les lapins du lot #3(HVNS), et qu'elle était accompagné ou non d'une

hépatomégalie (fig.17-b). Cela est très probablement dû au fait que ces lapins démontraient des signes de lipotoxicité (alopécie dépressive) plus importants que ceux observés dans le lot RRG, et ce bien avant que le supplément d'huile de Nigelle ne commence à être administré.

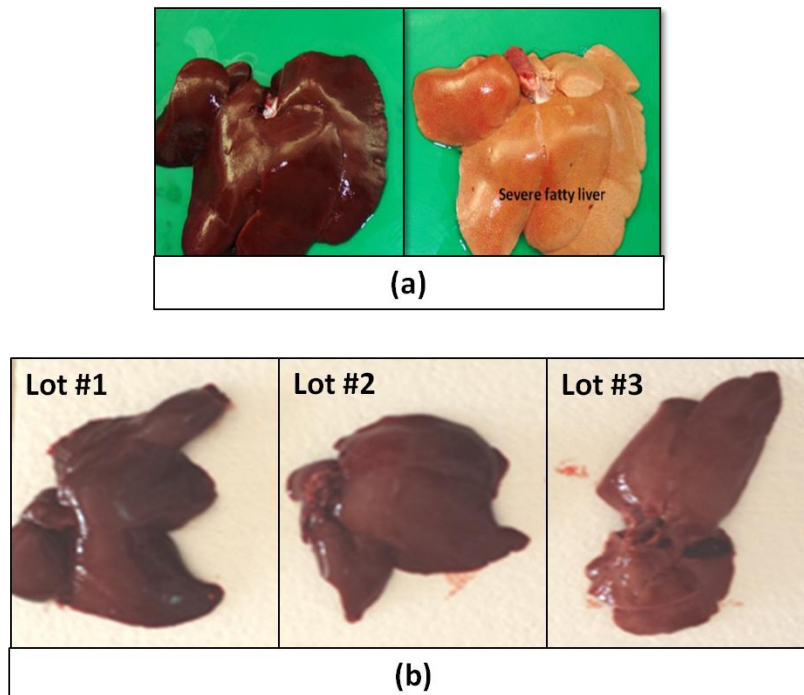


Figure (17) : Mise en évidence d'une stéatose lors d'une hyperlipidémie. (a) comparatif entre un foie de lapin normal (à gauche) et un foie à un stade avancé de stéatose non alcoolique (à droite) (D'après Hemn et al., 2015). (b) comparatif entre les foies issues des 3 lots témoin (#1), RRG (#2) et HVNS (#3).

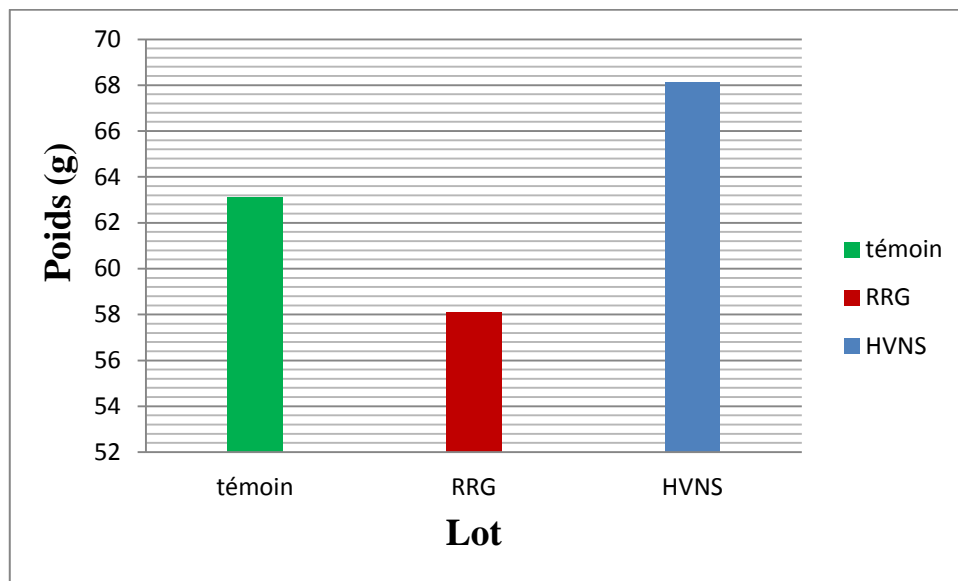


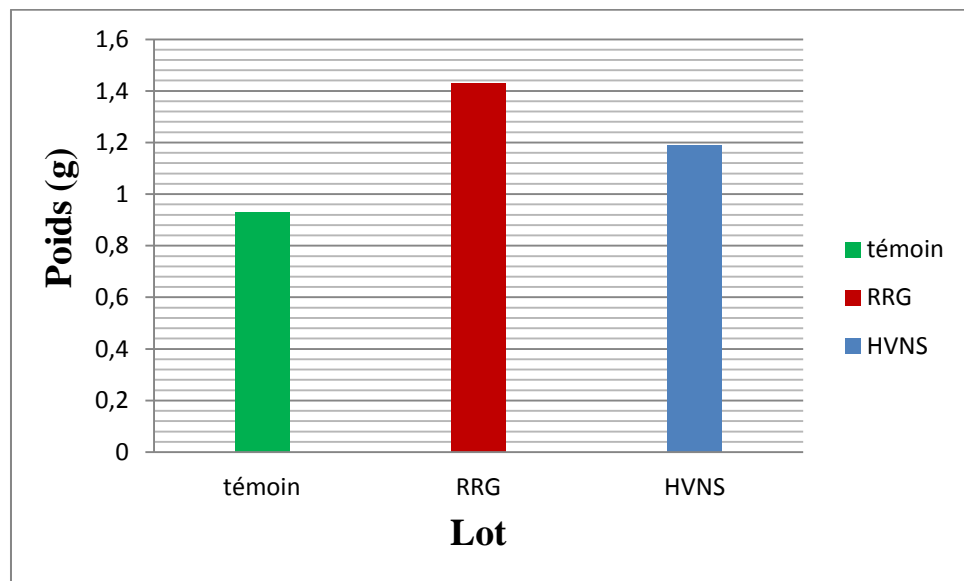
Figure (18) : Moyenne de poids du foie des trois lapins.

d. La rate

Des atteintes de la rate ont été observées dans des modèles de lapins hyperlipidémiques. Tout comme pour le foie, ces atteintes sont caractérisées par une pâleur de l'organe splénique dont la couleur peut parfois virer vers le gris ou le noir indiquant la présence de zones nécrotiques (Hemn et al., 2015). Contrairement à ce qui a été cité, une splénomégalie a été observée chez les lapins hyperlipidémiques du lot RRG. Cette splénomégalie, lorsqu'elle s'accompagne d'une hépatomégalie constitue un autre signe clinique en faveur d'une stéatose hépatique. L'apparition de splénomégalie chez les lapins sous régime alimentaire riche en graisse plaide en faveur d'une hypertriglycéridémie majeure chez ces individus (CFCRAC., 1997).



Figures (19) : apparence de la rate chez les différents lots. Lot#1 (témoin), Lot#2 (RRG), Lot#3(HVNS)



Figure(20) : Moyenne des poids de la rate des trois lapins.

4. Comparaison du rapport poids des graisses abdominale / poids corporel

Tableau (I) : Tableau présentant les pourcentage de la graisse abdominale par rapport au poids corporel.

	1 ^{er} lot	2 ^{eme} lot	3 ^{eme} lot
Poids de la graisse abdominale (g)	3,26	21,18	3,2
Poids corporel (g)	1343	967	825
%(G abdominale / poids corporel)	0,24	2,1	0,38

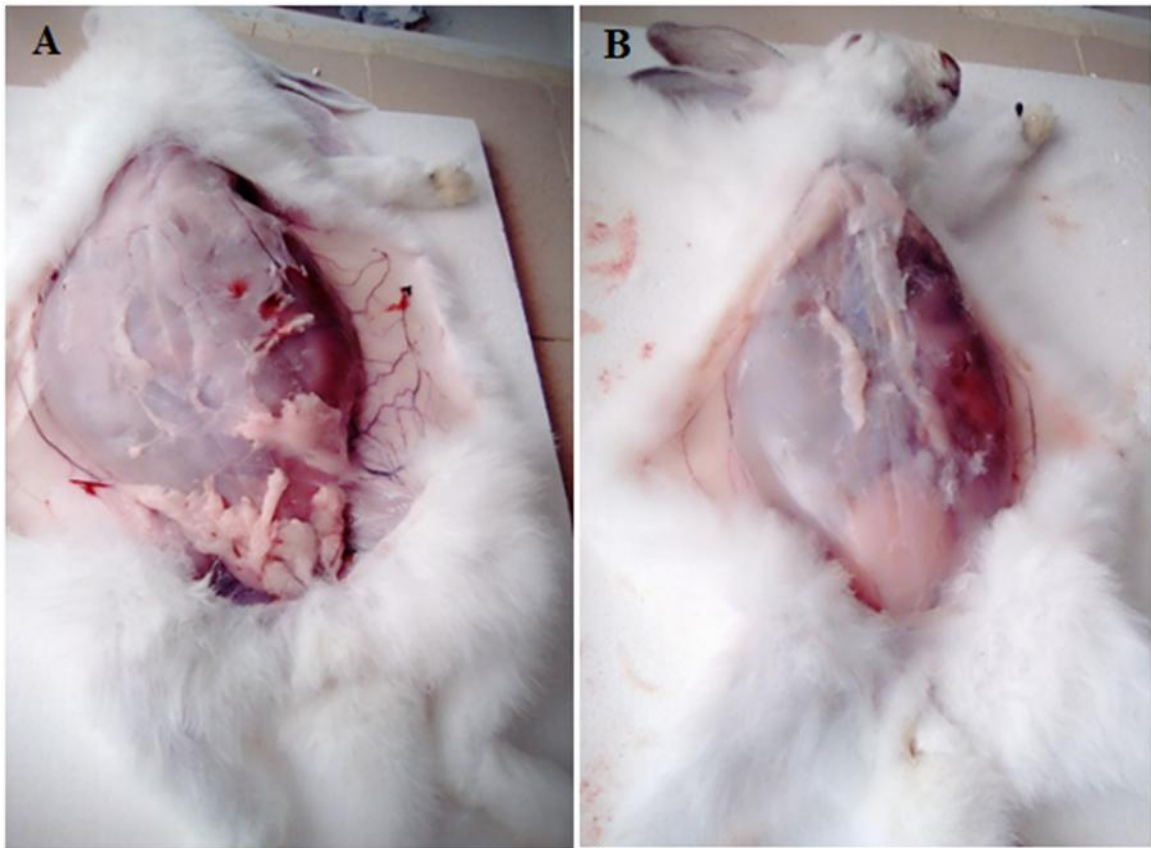


Figure (21) : Graisse abdominale chez le lot RRG (A), et le lot HVNS (B).

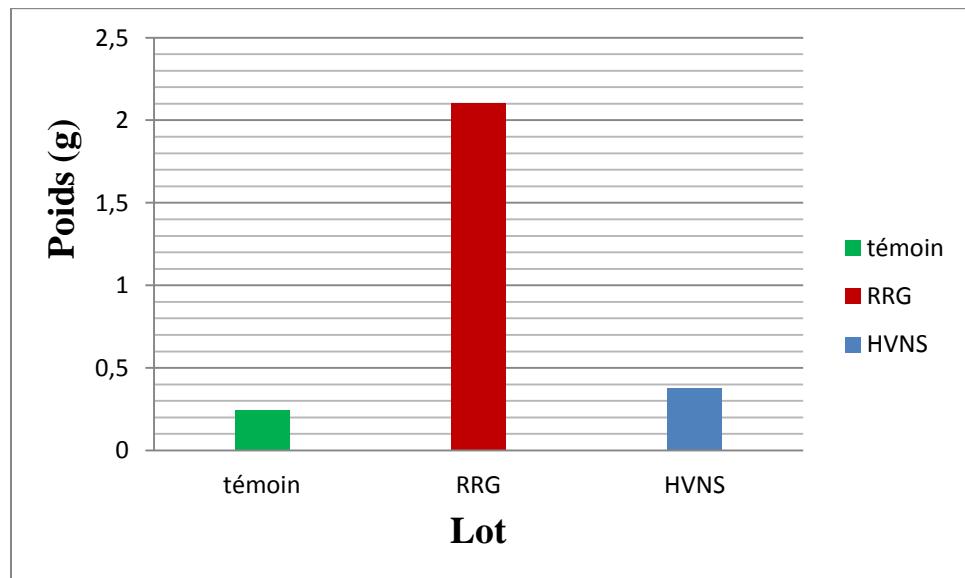


Figure (22) : Présentation du pourcentage de la graisse abdominale par rapport au poids corporel.

L'augmentation du taux de graisses abdominales par rapport au poids corporel du lot RRG est très élevée par rapport aux taux observés chez les lots témoin et HVNS dont les graisses abdominales dépassent, pas respectivement, les 0,24% et 0,38 % du poids corporel alors qu'elle atteint jusqu'à 2,1 % du poids corporel chez le lot RRG.

5. Analyse du profil lipidémique des lapins

Afin de s'assurer de la réussite du model animal d'hyperlipidémie que nous avons induit ainsi que de l'efficacité supposée de l'huile de *Nigella sativa* pour le traitement de cette pathologie, nous avons procédé à des analyses visant à établir un profil lipidémique pour chaque lot de lapins. Ces analyses comprennent la mesure du taux de triglycérides, de cholestérol total, de LDLc et de HDLc.

5.1. Taux de triglycérides

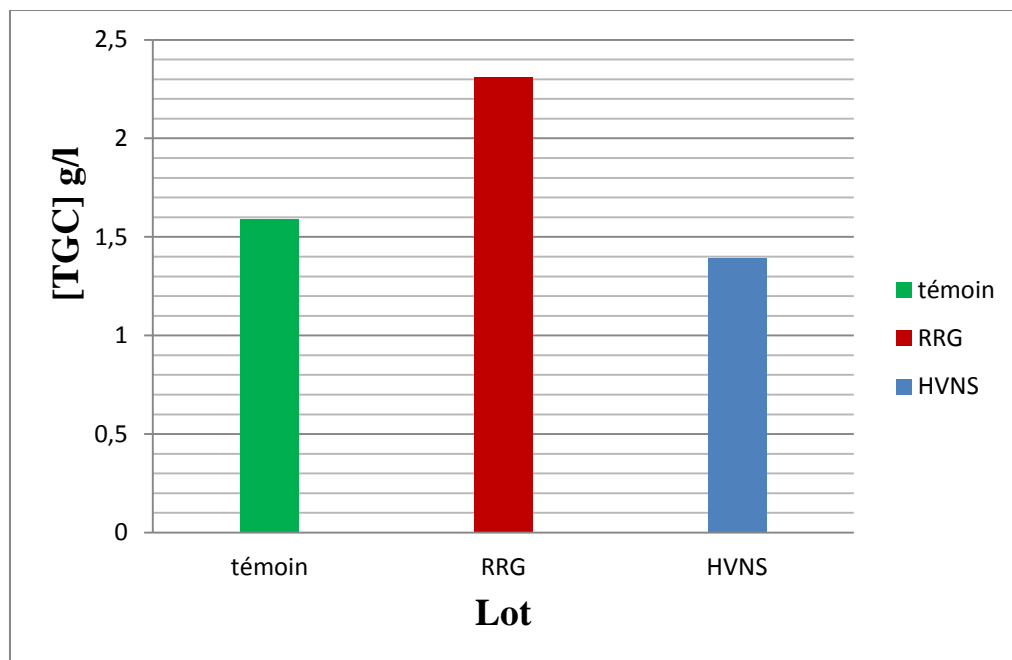


Figure (23) : Moyenne des triglycérides des trois lots.

Une augmentation du taux des triglycérides (TG) est observée dans le lot RRG (2.31 g/l), soit des niveaux, environ, deux fois supérieurs à ceux observés chez les lapins du lot témoin (1,59g/l). Ces résultats sont en accords avec nos observations décrites, précédemment, et qui faisaient état d'une hépatomégalie et d'une splénomégalie chez le lot RRG indiquant une triglycéridémie sévère.

De manière intéressante, le taux de TG dans le lot HVNS diminue jusqu'à atteindre des valeurs proches de celles observées dans le lot témoin (1,39g/l). ce qui pourrait signifier que l'huile de *N. sativa* possède un effet hypotriglycéridémiant. Ces résultats sont en accords avec ceux de Abdoullah et ses collègues qui démontrent que l'administration quotidienne de 2g de *Nigella Sativa* pendant 2 semaines diminue le taux de cholestérol et de triglycérides dans la circulation sanguine (Abdoullah et al., 1997)

5.2. Taux de cholestérol total

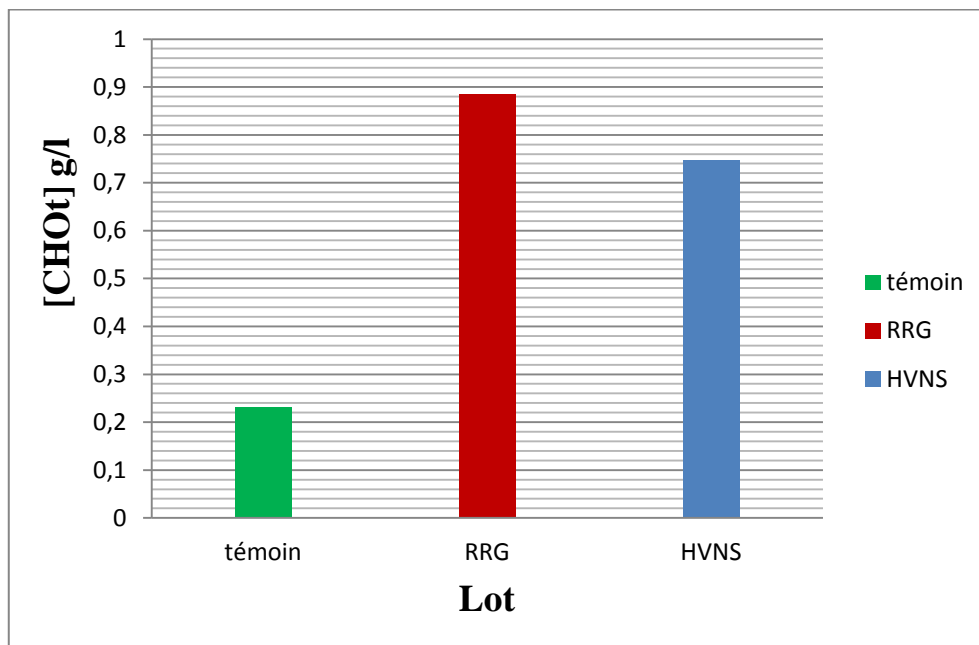


Figure (24) : Moyenne du taux de cholestérol total des trois lots.

Une augmentation considérable du taux de cholestérol total est observée dans les deux lots qui ont suivis un régime alimentaire riche en matières grasses avec une moyenne de 0.884 g/l chez le lot RRG et 0.747 g/l chez le lot HVNS, à la moyenne observée dans le lot témoin (0.23 g/l).

Cette augmentation du taux de cholestérol total peut être expliquée par un apport alimentaire dont la composition qualitative est riche en cholestérol (jaune d'œuf) et en acides gras saturés (graisses animales) (Turpin et Bruckert, 1999). Une légère diminution

du cholestérol total a été observée chez les lapins HVNS, ce qui suggère une action hypocholestérolémiante de l'huile de nigelle.

5.3. Taux de HDLc

Nos résultats montrent un taux élevé de HDL-cholestérol chez les lots RRG et HVNS qui s'élèvent respectivement à 0,36 g/l et 0,3 g/l, des valeurs plutôt élevées en comparaison avec le lot témoin dont le taux moyen de HDLc est de 0,1 g/l.

Un taux élevé de HDLc est un bon pronostic pour l'hyperlipidémie, le fait qu'il augmente après traitement à l'huile de nigelle pourrait constituer un indice d'efficacité de cette huile dans l'amélioration du profil lipidémique des lapins atteints.

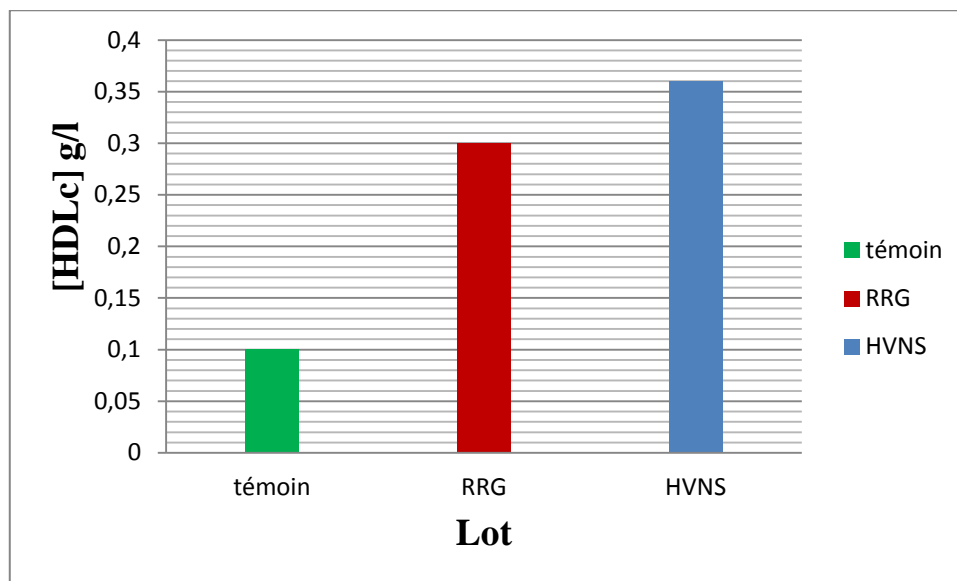


Figure (25) : Moyenne des taux de HDLc des trois lots.

Le lot RRG, quant à lui, présente une augmentation globale des lipoprotéines LDL et HDL (fig. 21 et 22). Nous n'arrivons pas pour le moment à expliquer clairement ce résultat, il serait nécessaire de refaire l'expérience sur un échantillon plus large afin de s'assurer que ce n'est pas dû à une anomalie expérimentale.

5.4. Taux de LDL

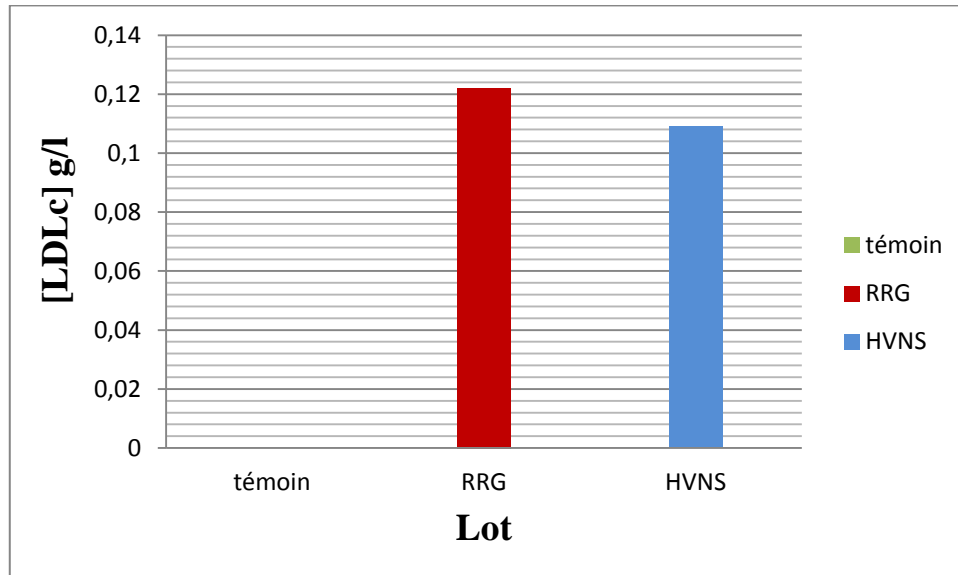


Figure (26) : Moyennes des taux de LDL des trois lots.

Le taux le plus élevé de LDLc a été constaté chez les lapins hyperlipidémiques du lot RRG (0,122g /l), marquant une très nette augmentation par rapport au lot témoin (00g/l). Comme décrit précédemment, ces résultats restent à confirmer compte tenu de l'augmentation simultanée de HDLc.

De même le taux de LDLc du lot HVNS sont beaucoup plus élevés (0,109g/l) que les valeurs observées dans le lot témoin. Cela pourrait être dû au fait que les lapins du lot HVNS démontrent une atteinte hyperlipidémique plus importante que celle observée chez le lot RRG. De ce fait l'impact du supplément alimentaire de HVNS serait minimisé.

Conclusion
et
perspectives

Conclusion et perspectives

Dans le but d'étudier l'hypothétique effet hypolipidémiant de l'huile végétale de *N. Sativa*, nous avons mis au point un model animal d'hyperlipidémie induite par un régime alimentaire riche en graisses.

Les animaux hyperlipidémiques démontraient clairement des signes de lipotoxicité qui se traduisaient par une alopecie dépressive, une insuffisance cardiaque, une stéatose hépatique. L'établissement du profil lipidémique a permis de constater une augmentation du taux globale de triglycérides et de cholestérol chez ces animaux, ainsi qu'une augmentation du taux de lipoprotéines LDL et HDL.

L'administration d'une dose de 1ml/jour d'huile de nigelle a permis de réduire, considérablement, le taux de triglycérides mais sans effet significatif sur les autres paramètres lipidiques. Cet effet est accompagné d'une diminution du volume splénique, comparativement, aux animaux hyperlipidémiques .

Enfin, nos travaux font état de résultats préliminaires qui démontrent, principalement, une activité hypotriglycéridémiant de l'huile végétale de *Nigella Sativa* plutôt qu'une activité hypolipidémiant à proprement dit. Cependant, un effet hypocholestérolémiant de cette huile n'est pas à exclure compte tenu de certains de nos résultats, notamment, une réduction notable des graisses abdominales et une augmentation du taux de HDLc. Il conviendrait de refaire l'expérience en augmentant l'effectif d'animaux afin de vérifier la reproductibilité de l'expérience et la significativité des résultats à travers une étude statistique. D'autre part, il serait souhaitable de d'étendre l'examen macroscopique des organes à une étude histologique qui nous permettrait de détecter de possibles dégénérescences des organes.

*Références
bibliographiques*

Références Bibliographiques

- ❖ Abdullah O. Bamosa ., Basil A ., Ali . et Saleh A. Sowayan. (1997). Effect of oral ingestion of *Nigella sativa* seeds on some blood parameters. Saudi pharmaceutical journal, 5 (2-3).
- ❖ Akram Khan M.et Afzal M. (2016). Chemical composition of *Nigella sativa* linn : Part 2 Recent advances.Inflammopharmacology. 24(2-3) :67-79.
- ❖ Benhaddou Andaloussi, A. (2009). Etude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa* : sites d'action cellulaires et moléculaires.
- ❖ Bhatnagar, D ., Soran, H. et Durrington, P.N. (2008). Hypercholesterolaemia and its management. BMJ 337, a993.
- ❖ Bruckbauer, A ., Banerjee, J ., Cao, Q ., Cui, X ., Jing, J ., Zha, L ., Li, F ., Xue, B ., Shi, H .et Zemel, M.B. (2017). Leucine-nicotinic acid synergy stimulates AMPK/Sirt1 signaling and regulates lipid metabolism and lifespan in *Caenorhabditis elegans*, and hyperlipidemia and atherosclerosis in mice. Am J Cardiovasc Dis 7, 33–47.
- ❖ Cabré, A ., Lázaro, I ., Cofán, M ., Jarauta, E ., Plana, N ., Garcia-Otín, A.L ., Ascaso, J.F ., Ferré, R ., Civeira, F ., Ros, E. et Masana, L. (2010). FABP4 plasma levels are increased in familial combined hyperlipidemia. J Lipid Res 51, 1173–1178.
- ❖ Chan, J ., Karere, G.M ., Cox, L.A .et L.VandeBerg, J. (2015). Animal Models of Diet-induced Hypercholesterolemia.
- ❖ Christian Moussard. (2016). Biochimie structurale et métabolique, 3 eme édition. ed, LMD(Licence - Maitrise - Doctorat).
- ❖ Comité français de coordination des recherches sur l'athérosclérose et le cholestérol. (1997). Hyperlipidémie de l'histoire de l'évolution de l'alimentations à la diététique. Jhon libbey eurotext.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ De Sanctis, J.B ., Blanca, I ., Radzioch, D . et Bianco, N.E.(1994). Lipoprotein lipase expression in natural killer cells and its role in their cytotoxic activity. *Immunology* 83, 232–239.
- ❖ De Winter, C.F ., Bastiaanse, L.P ., Hilgenkamp, T.I.M ., Evenhuis, H.M .et Echteld, M.A. (2012). Cardiovascular risk factors (diabetes, hypertension, hypercholesterolemia and metabolic syndrome) in older people with intellectual disability: Results of the HA-ID study. *Research in Developmental Disabilities* 33, 1722–1731.
- ❖ Denke, M.A ., Sempos, C.T. et Grundy, S.M. (1993). Excess body weight. An underrecognized contributor to high blood cholesterol levels in white American men. *Arch. Intern. Med.* 153, 1093–1103.
- ❖ Docubo.J (CHU TIVOLI, ULB et UMH). (2004). Recommandations pour le diagnostic et le Traitement des dyslipidémies.
- ❖ Ghedira, K. (2006). La nigelle cultiv'ée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie* 4, 220.
- ❖ Glickman RM .et Green PHR. (1977). The intestine as asource of apolipoprotein A1 . *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(6) :2569-2573.
- ❖ Goldberg, I.J ., Eckel, R.H. et McPherson, R. (2011). Triglycerides and Heart Disease, Still a Hypothesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31, 1716–1725.
- ❖ Grassi G ., Di Caprio G ., Fimia G M ., Ippolito G ., Tripodi M. et Alonzi T. (2016) . Hepatitis C virus relies on lipoproteins for its life cycle. *World J Gastroenterol.* 22(6): 1953–1965.
- ❖ Harikumar .K, S ., Abdul Althaf, B ., Kishore kumar, M ., Ramunaik, CH .et Suvarna. (2013). A Review on Hyperlipidemic. *jntps*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Hemn, H.O ., Noordin, M.M ., Rahman, H.S ., Hazilawati, H ., Zuki, A .et Chartrand, M.S. (2015). Antihypercholesterolemic and antioxidant efficacies of zerumbone on the formation, development, and establishment of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Drug Des Devel Ther* 9, 4173–4208.

- ❖ Hussain, M.M. (2014). Intestinal Lipid Absorption and Lipoprotein Formation. *Curr Opin Lipidol* 25, 200–206.

- ❖ Jain, K.S ., Kathiravan, M.K ., Somani, R.S .et Shishoo, C.J. (2007). The biology and chemistry of hyperlipidemia. *Bioorg. Med. Chem.* 15, 4674–4699.

- ❖ Khattab, M.M .et Nagi, M.N. (2007) . Thymoquinone supplementation attenuates hypertension and renal damage in nitric oxide deficient hypertensive rats. *Phytotherapy Research* 21, 410–414.

- ❖ Matos, S.L ., de Paula, H ., Pedrosa, M.L ., Santos, R.C. dos ., de Oliveira, E.L ., Júnior, C ., Alves, D .et Silva, M.E. (2005) . Dietary models for inducing hypercholesterolemia in rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48, 203–209.

- ❖ Mohammed Abdulrazzaq ASSI., Mohd Hezmee MOHD NOOR., Noor Farhana BACHEK., Hafandi AHMAD ., Abdul Wahid HARON ., Md Sabri MOHD YUSOFF .et Mohammed Ali RAJION. (2016). The Various Effects of *Nigella Sativa* on Multiple Body Systems in Human and Animals.

- ❖ Murray .Robert K ., Granner .Daryl K .et Rodwell.Victor W. (2006) .Harper’s Illustrated Biochemistry,27th Edition.The McGraw-Hill Companies.

- ❖ Nakajima, K ., Nakano, T ., Tokita, Y ., Nagamine, T ., Inazu, A., Kobayashi, J ., Mabuchi, H ., Stanhope, K.L ., Havel, P.J ., Okazaki, M ., Ai, M .et Tanaka, A. (2011). Postprandial lipoprotein metabolism; VLDL vs chylomicrons. *Clin Chim Acta* 412, 1306–1318.

- ❖ Neffati, S ., Charfeddine, B ., Smach, M.A ., Othmen, L.B ., Ltaief, A ., Brahem, I ., Dridi, H .et Limem, K. (2009). Hypocholestérolémie et maladie cœliaque : à propos d’un cas. *Annales de Biologie Clinique* 67, 359–361.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Palm, W ., Sampaio, J.L ., Brankatschk, M ., Carvalho, M ., Mahmoud, A ., Shevchenko, A .et Eaton, S. (2012) . Lipoproteins in *Drosophila melanogaster*--assembly, function, and influence on tissue lipid composition. *PLoS Genet.* 8, e1002828.
- ❖ Park, Y.-M.M ., Sui, X., Liu, J ., Zhou, H ., Kokkinos, P.F ., Lavie, C.J ., Hardin, J.W .et Blair, S.N . (2015). The Impact of Cardiorespiratory Fitness on Age-Related Lipids and Lipoproteins. *J Am Coll Cardiol* 65, 2091–2100.
- ❖ Pibot, P ., Biourge, V .et Elliott, D. (2006). *Encyclopédie de la nutrition clinique canine.* Royal Canin, France.
- ❖ Rahman, S ; Kumar, P., Mahto, S.K ; Tonk, R.S ;Taneja, R.S. (2017) . Light Chain Myeloma induced Severe Hypertriglyceridemia. *J Clin Diagn Res* 11, OD01-OD03.
- ❖ Raisonnier, A. (2003). FMPMC-PS - Lipides et lipoprotéines - Objectifs au cours de Biochimie PCEM2 Biochimie Métabolique et Régulations [WWW Document]. URL <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/LLbioch/> (accessed 6.1.17).
- ❖ Robert H. Nelson. (2013). Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease. *Prim. Care* 40, 195–211.
- ❖ Said Gharby ., Hicham Harhar ., Dominique Guillaume ., Aziza Roudani ., Samira Boulbaroud ., Mohamed Ibrahim ., Mushtaq Ahmad., Shazia Sultana., Taibi Ben Hadda ., Imane Chafchaoui-Moussaoui .et Zoubida Charrouf. (2013). Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco . *Research Gate*.
- ❖ Subbotin, V.M. (2012). Neovascularization of coronary tunica intima (DIT) is the cause of coronary atherosclerosis. Lipoproteins invade coronary intima via neovascularization from adventitial vasa vasorum, but not from the arterial lumen: a hypothesis. *Theor Biol Med Model* 9, 11.
- ❖ Sultan.F ., Lagrange.D .et Griglio. (1995). Metabolisme intravasculaire des chylomicrons et des remnants de chylomicrons. *Nutrition clinique et métabolisme (paris)* ,9(1) :43-51.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ Wang, T.Y ., Liu, M ., Portincasa, P .et Wang, D.Q.-H. (2013). New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. *Eur. J. Clin. Invest.* 43, 1203–1223.
- ❖ Yanni, A.E. (2004). The laboratory rabbit: an animal model of atherosclerosis research. *Lab. Anim.* 38, 246–256.
- ❖ Zaoui, A ., Cherrah, Y ., Alaoui, K ., Mahassine, N ., Amarouch, H .et Hassar, M. (2002). Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *J Ethnopharmacol* 79, 23–26.
- ❖ Zechner.R. (1997). The tissue-specific expression of lipoprotein lipase : implication for energy and lipoprotein metabolism. *Current opinion in lipidology*, 8(2) :77.
- ❖ Zhang, G ., Li, M ., Xu, Y ., Peng, L ., Yang, C ., Zhou, Y .et Zhang, J. (2016) . Antioxidation Effect of Simvastatin in Aorta and Hippocampus: A Rabbit Model Fed High-Cholesterol Diet. *Oxid Med Cell Longev* 2016, 6929306.
- ❖ Zhang, L ., Liang, L ., Tong, T ., Qin, Y ., Xu, Y .et Tong, X. (2016). Antihyperlipidemic activity of adenosine triphosphate in rabbits fed a high-fat diet and hyperlipidemic patients. *Pharm Biol* 54, 2358–2363.

Résumé

L'ensemble de cholestérol, triglycéride et phospholipide constituent des lipides qui jouent un rôle primordiale dans l'organisme, cependant son excès provoque des complications notamment les maladies cardiovasculaires, en effet cela peut avoir lieu par l'administration d'une dose riche en matière grasse.

L'étude réalisée sur 9 lapins répartis en 3 lots, un lot témoin reçoit une alimentation normale, un lot non traité reçoit un régime à base de graisse et de jaune d'œuf et un lot traité reçoit en plus de régime riche en matière grasse un traitement avec l'huile de *Nigella Sativa*.

L'évaluation des résultats du bilan lipidique révèle une réduction des niveaux sérique de LDL cholestérol et triglycéride chez le lot traité avec *Nigella Sativa*, par rapport au lot non traité, cette huile a permis aussi d'augmenter le niveau de HDL par rapport aux deux autres.

On conclusion l'huile de *N.Sativa* a un vrai effet hypolipidimiant.

Mots clés : cholestérol, triglycéride, maladie cardio vasculaire, *N.Sativa*.

Summary

The whole of cholesterol, triglyceride and phospholipids constitute lipids, which play a primordial role in the organism, however its excess causes complications in particular cardiovascular diseases, in fact this can take place by the administration of a dose rich in matter fat.

The study carried out on 9 rabbits distributed in 3 batches, a control batch receives a normal feed, an untreated batch receives a diet based on fat and egg yolk and a treated batch receives in addition to diet rich in fat A treatment with *Nigella Sativa* oil.

The evaluation of the results of the lipid balance revealed a reduction of the serum levels of LDL cholesterol and triglyceride in the batch treated with *N. Sativa*, compared to the untreated batch, this oil also allowed to increase the level of HDL compared to the two other.

The oil of *N.Sativa* is concluded to have a true hypolipidimizing effect.

Key word: cholesterol, triglycerid, coronary disease, *N.Sativa*.

ملخص

يعتبر كل من الكولسترول والدهون الثلاثية والدهون الفسفورية عناصر اساسية في جسم الانسان. على الرغم من ان زيادة نسبته تؤدي الى ظهور عدة امراض بما في ذلك امراض القلب و الشرايين. هذا الاخير الذي يمكن تسببه عن طريق اعطاء جرعة عالية من الدهون.

اجريت الدراسة على تسعة ارناب مقسمة الى ثلاث مجموعات, (مجموعة شاهدة تلقت نضام غذائي عادي , مجموعة ثانية تلقت نضام غذائي غني بالدهون و صفار البيض , و مجموعة ثالثة تلقت زيادة على عن نضام غذائي غني بالدهون و صفار البيض علاج بزيت حبة البركة).

تقييم نتائج الدهون في البلازما يظهر انخفاض في نسبة الكولسترول و الدهون الثلاثية ذات الكثافة المخفضة عند المجموعة المعالجة بحبة البركة, مقارنة مع المجموعة التي تلقت نضام غذائي غني بالدهون و صفار البيض. و يسمح هذا الزيت بزيادة نسبة الكولسترول في الدم مقارنة مع المجموعتين الاخرتين.

نستنتج ان الحبة السوداء لها دورا فعلا في خفض نسبة الكولسترول في الدم.

مفتاح الكلمات: الكولسترول, الدهون الفسفورية , امراض القلب الشرايين, حبة البركة