

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

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-Chimique  
Filière : Sciences Biologique  
Option : Biochimie Appliquée



Réf :.....

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

## **MASTER**

### ***Thème***

**Effet de l'extrait méthanolique de  
*Rhamnus alaternus* L. sur  
l'hyperlipidémie induite par l'huile  
d'olive chez des souris *Swiss Albinos***

Présenté par :

**GUERGAA Safia & GUENFISSI Sabrina**

Soutenu le : 15 Juin 2015

Devant le jury composé de :

Mr BOUGUEZZA Y.  
Mr TACHERFIOUT M.  
Mme BAKDI H.

MAA  
MAA  
MAA

President  
Encadreur  
Examineur

**Année universitaire : 2014 / 2015**

## **Remerciements**

Nos remerciements s'adressent d'abord à ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la force, la volonté et le courage pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier spécialement notre promoteur Mr TACHERFIOUT M. pour ses conseils, sa simplicité, aussi que pour le temps et la patience qu'il nous a accordé tout au long cette étude, en nous fournissant d'excellentes conditions. Soyez assuré, monsieur de toute notre estime et notre profond respect.

Nous tenons à remercier très chaleureusement Mr BOUGUEZZA Y. d'avoir accepté de  
présider le jury

Nous remercions également Mme BAKDI.H d'avoir accepté d'évaluer et de juger notre  
mémoire

Nous tenons à remercier également Dr DJAMA. L et Dr AMRANE. Y de nous avoir assisté  
à effectuer les étapes d'analyses au sein de leurs laboratoires.

Nous tenons aussi à remercier Dr CHEBOUT I. maitre assistante hospitalo-universitaire en  
anatomie pathologie du CHU de Bejaia, pour le temps qu'elle nous a consacré pour la  
réalisation des coupes histologiques

Nous remercions également Mme GUERGAA Nissette de nous avoir aidées pour la  
réalisation des coupes histologiques

Nous remercions également toute Personne ayant contribué de près ou de loin à la  
réalisation de ce mémoire et au bon déroulement de ce stage de fin d'étude, notamment  
mesdemoiselles BELHADI S. et MAMMASSE H.

***SAFIA et SABRINA***

# *Dédicace*

*C'est avec beaucoup de joie que je dédie ce modeste travail*

## *A mes chers parents*

*Qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite, et nous ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux. Vous êtes pour moi une source de vie, car sans vos sacrifices, votre tendresse et votre affection je ne pourrais arriver jusqu'au bout.*

*Que dieu le tout puissant vous garde et vous procure santé et bonheur, je ne vous remercierai jamais assez pour tout l'amour que vous nous portez.*

## *A mon adorable sœur IKRAM et mon chère frère BILAL*

*Qui occupent une place unique dans ma vie, Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur.*

## *A mes chers oncles, tantes, leurs époux et épouses*

## *A mes cousins et cousines sans exception*

## *A la mémoire de mon grand-père*

## *A mes grands parents*

*Qui m'ont accompagné par leurs prières, leurs douceur, puisse Dieu leurs prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies.*

## *A mon cher binôme SABRINA*

*Qui ma toujours soutenue, et avec qui j'ai partagé des moments agréable. Je profit de l'occasion pour te souhaiter beaucoup de réussite et un avenir meilleur, avec plein de bonheur a toi et à toute ta famille*

*A mes chères amies NAWEL, KARIMA, SABRINA, RYMA, FEDHA, SABRINA, En témoignage de l'amitié sincère qui nous a liées et des bons moments passés ensemble, je vous dédie ce travail, en vous souhaitant un avenir radieux et une vie pleine de réussite et de bonheur.*

*A tous ceux qui sont chère, proche de mon cœur et a tous ceux qui m'aime...*

**SAFIA GUERGAA**

# *Dédicace*

*C'est avec beaucoup de joie que je dédie ce modeste travail*

*A mes chers parents*

*A ma très chère maman qui ma toujours encouragé pour réussir, ainsi que mon très cher père pour tous ce qu'il a fait pour moi durant toutes mes années d'étude, que dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce travaille **Aimad**.*

*A mes chères sœurs et frères*

***Hassina ,Salima ,Souad , Lila, Nabil, Farid ,Ahcen** et sa femme **Linda**. A toutes mes nièces et à tous mes neveux.*

*A mes meilleures amies*

***Nawel, Karima, Fedha, Ryma, Safia, Sabrina**, Merci de votre amitié, de votre soutien et pour tous ces moments partagés ... et ceux à venir !*

*A mon cher binome **Safia***

*Avec qui j'ai partagé mes meilleurs moments, sans oublier sa famille surtout la petite **Ikram**.*

*A mes enseignants qui m'ont suivi tout au long de mon cursus universitaire.*

*A toute la promotion 2015 biochimie appliquée.*

*A tous ceux qui me sont chère, proche de mon cœur et à tout ceux que j'aime et qui m'aime...*

**SABRINA GUENFISSI**



## Liste des abréviations

- ADP** : adénosine-5-phosphate.
- ACAT** : A-cholesterol acyl transferase.
- APO** : Apolipoprotéine.
- ATP** : adénosine Triphosphate.
- AVC** : Accident vasculaire cérébral.
- CETP** : Cholesterol Ester Transfer Protein.
- CM** : Chylomicrons.
- DAP** : Dihydroxyacétone phosphate.
- EDTA** : Ethylèn diamine tétra-acétique.
- EC** : Ester de cholestérol.
- GPO** : glycérol phosphate déshydrogénase.
- G3P** : glycérol-3- phosphate.
- HDL** : High Density Lipoproteins.
- HMG-CoA**: 3-hydroxy-3-methylglutaryl- CoA.
- H2O2** : Peroxyde d'hydrogène.
- IDL** : Intermediate-density lipoproteins.
- IMC** : Indice de masse corporelle.
- LDL** : Low Density Lipoproteins.
- LH** : Lipase hépatique.
- LI** : Lee's index.
- LPL** : lipoprotéines lipases.
- MI** : Infarctus du myocarde.
- MVD** : maladie micro-vasculaire coronarienne.
- ONAB** : Office National Alimentation Bétail.
- OMS** : Organisation mondiale de la santé.
- PPAR** : Peroxisome proliferator-activated receptor.
- R-LDL** : Récepteur des LDL.
- SEM** : Standard error means.

**SRB1** : Scavenger Receptor Class B.

**TC** : Cholesterol total.

**TG** : Triglyceride.

**VLDL** : Very Low Density Lipoproteins.

## Liste des tableaux

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Classification des hyperlipidémies par l’OMS (classification modifiée de Fredrickson)	6
<b>II</b>	Classification botanique de <i>R. alaternus</i> .	16
<b>III</b>	Calcul des l’indice de masse corporel et l’indice de Lee, après 30jours de traitement.	34

## Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 01	La voie des lipides exogène	04
Figure 02	la voie des lipides endogène	04
Figure 03	Transport inverse du cholestérol	05
Figure 04	Les feuilles, fleurs et fruit de <i>Rhamnus alaternus</i>	16
Figure 05	Les feuilles (fraîches et sèches) et poudre de <i>Rhamnus alaternus</i> L	17
Figure 06	Elevage des souris <i>Swiss albinos</i> au sein de l'animalerie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia.	19
Figure 07	La dissection des souris.	23
Figure 08	Les étapes d'inclusion par l'automate (STP 120)	24
Figure 09	Distributeur de paraffine à gauche et Réfrigérateur à droite	25
Figure 10	Microtome	25
Figure 11	Evolution pondérale pendant 30 jours de traitement. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM	28
Figure 12	Quantité de nourriture consommée. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM	30
Figure 13	Quantité d'eau consommée. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM	31
Figure 14	Taux des triglycérides. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM	33
figure 15	Taux du cholestérol total. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM	33
Figure 16	Coupe histologique du foie d'une souris du lot I (normal) (Gx100)	36
Figure 17	Coupe histologique du foie d'une souris du lot II (contrôle) (Gx100)	36

Figure 18	Coupe histologique du foie d'une souri du lot III (contrôle + simvastatine) (Gx100)	36
Figure 19	Coupe histologique du foie d'une souri du lot IV (200mg/kg/jour) (Gx100)	37
Figure 20	Coupe histologique du foie d'une souri du lot V (400mg/kg/jour) (Gx100)	37

## Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....01

### *Chapitre I : Généralités sur l'hyperlipidémie*

I-1) Généralités.....02

I-2) Le métabolisme lipidique.....03

I-2-1) La voie exogène.....03

I-2-2) Le transport endogène.....04

I-2-3) Transport inverse du cholestérol.....05

I-3) Classification des hyperlipidémies.....06

1-3-1) Hyperlipidémie (hyperlipoprotéinémie) de type I.....06

I-3-2) Hyperlipidémie type II.....07

1-3-2-1) Hypercholestérolémie pure Type IIa.....07

1-3-2-2) hyperlipidémie de type IIb ou hyperlipidémie combinée familiale.....07

1-3-3) Hyperlipidémie de type III.....08

1-3-4) Hyperlipidémie de type IV.....08

1-3-5) Hyperlipoprotéinémie de type V.....09

1-4) Les facteurs de risque.....09

1-4-1) Les facteurs de risque non modifiable.....09

1-4-1-1) *L'âge et le sexe*.....09

1-4-1-2) *L'hérédité*.....09

1-4-2) Les facteurs de risque modifiable.....10

1-4-2-1) *L'alimentation*.....10

1-4-2-2) *Sédentarité et poids corporel* .....10

1-4-2-3) *Alcool et tabagisme*.....10

1-5) complications de l'hyperlipidémie.....10

1-5-1) L'athérosclérose.....10

1-5-2) Maladie coronarienne.....	11
1-5-3) Infarctus du myocarde (MI).....	11
1-5-4) Angine de poitrine.....	11
1-5-5) Accident vasculaire cérébral (AVC).....	11
1-5-6) Pancréatite.....	11
1-6) Traitements des l'hyperlipidémie.....	12
1-6-1) Les inhibiteurs de la HMG-CoA réductase.....	12
1-6-2) Les fibrates.....	13
1-6-3) Résine de liaison des acides biliaires.....	13
1-6-4) Niacine.....	14
1-6-5) Autres traitements.....	15

## *Chapitre II : Matériel et méthodes*

II-1) Matériel végétale.....	16
II-1-1) Classification et description.....	16
II-1-2) Préparation du matériel végétal.....	17
II-1-3) Extraction.....	17
II-1-4) Analyses phytochimiques.....	18
II-1-4-1) Dosage des polyphénols totaux.....	18
II-1-4-2) Dosage des flavonoïdes .....	18
II-2) Evaluation de l'effet de l'extrait méthanolique de <i>Rhamnus alaternus</i> L. sur l'hyperlipidémie induite par l'huile d'olive chez les souris <i>Swiss Albinos</i> .....	19
II-2-1) Matériel animal.....	19
II-2-2) Protocole expérimentale.....	20
II-2-3-) Paramètres suivis durant l'expérimentation.....	20
II-2-3-1) La quantité de l'eau et de nourriture consommée.....	20
II-2-3-2) L'évolution pondérale.....	20
II-2-4) Paramètres mesurés à la fin de l'expérimentation.....	21
II-2-4-1) Dosage du cholestérol.....	21
II-2-4-2) Dosage des triglycérides.....	22



II-2-4-3) Détermination du taux d'adiposité (indice de Lee).....	22
II-2-4-4) Détermination de l'indice de masse corporelle (IMC).....	23
II-3) Etudes histopathologique.....	23
II-3-1) Prélèvement d'organe.....	23
II-3-2) Fixation .....	24
II-3-3) Lavage déshydratation et éclaircissement.....	24
II-3-4) Imprégnation, enrobage à la paraffine et confection des blocs .....	24
II-3-5) Coupage et étalement.....	25
II-3-6) Déparaffinage des coupes.....	26
II-3-7) Coloration.....	26
II-3-8) Observation microscopique .....	26
II-4) Analyse statistique .....	26

### *Chapitre III : Résultat et discussion*

III-1) Taux d'extraction .....	27
III-2) Analyses phytochimique .....	27
III-2-1) Teneur en polyphénol totaux .....	27
III-2-2) Teneur en flavonoïdes .....	27
III-3) Evaluation de l'effet de l'extrait méthanolique de <i>Rahmnus alternus</i> L sur l'hyperlipidémie induite par l'huile d'olive chez des souris <i>Swiss Albinos</i> .....	28
III-3-1) Evaluation du poids corporel .....	28
III-3-2) La quantité de nourriture consommé.....	29
III-3-3) Le volume d'eau consommé .....	31
III-3-4) Dosage du cholestérol total et des triglycérides plasmatiques.....	32
III-3-5) Indice de masse corporelle (IMC) et l'indice de Lee.....	34
III-3-5) Etudes histologiques du foie .....	35
IV) Conclusion et perspective.....	38

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

## **Introduction**

Les ressources végétales occupent une grande place dans la vie de l'être humain, pour se défendre contre toute agression, l'homme fait appel quotidiennement à ses systèmes de défense interne notamment son arsenal de cellules immunitaires, de ce fait l'homme a recours aux médicaments et nutriments qui sont susceptibles de stimuler ou de rétablir son équilibre. Parmi les sources de médicaments, il y a principalement les plantes médicinales qui restent une source inépuisable de drogues pour les êtres humains (**Handa et al., 2006**).

Les produits naturels provenant de plantes sont une source riche, utilisée pendant des siècles pour la guérison de diverses maladies, parmi lequel l'hyperlipidémie. Actuellement les recherches dans les études cliniques et la pharmacologie, visent à déterminer l'innocuité et l'efficacité de l'utilisation de ces plantes médicinales (**Nissen et Evans , 2012**).

L'hyperlipidémie est un trouble métabolique dans lequel le plasma sanguin contient des niveaux élevés de lipides et / ou de lipoprotéines, cela peut être dû à des facteurs génétiques ou à certaines maladies, comme le diabète, l'hypothyroïdie, le syndrome néphrotique, l'alcool, ainsi que l'apport alimentaire (**Emeritus et Sadik, 2013**). L'hyperlipidémie peut être traitée avec des changements alimentaires et des médicaments qui régulent le métabolisme des lipides par l'intermédiaire de divers mécanismes (**Meng Chua et al., 2015**).

*Rhamnus alaternus* appelé aussi Mliess, appartient à la famille des Rhamnaceae. C'est un arbuste, d'origine méditerranéenne de 2 à 6 mètre de hauteur, c'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie elles sont utilisées pour le traitement de l'anémie, de la tuberculose pulmonaire et l'herpès (**Brahma et al., 2013**).

Notre travail a pour objectif, de tester l'effet anti-hyperlipidémique de l'extrait méthanolique des feuilles de *Rahmnus alaternus* L, sur des souris rendu hyperlipidémique par l'huile d'olive. Ce travail est réparti en deux parties, la première partie comprend une synthèse bibliographique sur l'hyperlipidémie, la deuxième partie est la partie expérimentale qui est consacrée a l'étude des effets anti-hyperlipidémique de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus*, suivi de dosage des paramètres lipidiques, ainsi que la réalisation des coupes histologiques.

**I-1) Généralités**

Les lipides apportés par l'alimentation jouent un rôle essentiel, en raison de l'apport énergétique qu'ils représentent, et de leurs nombreuses fonctions biologiques ou structurales. Cependant, des concentrations anormales de lipides dans le plasma sanguin conduisent à divers pathologies qui se traduisent dans la plupart du temps par des dysfonctionnements du métabolisme des lipoprotéines et engendrent un problème de transport ou de stockage des lipides. Ces perturbations peuvent conduire à une hyperlipidémie (**Nazir, 2012**). L'hyperlipidémie est un état pathologique caractérisé par un taux élevé de lipides circulants dans le sang. L'exploration des anomalies lipidiques consiste à doser les taux plasmatiques des lipides sanguins qui sont le cholestérol total et les triglycérides (**Hassan, 2013**). L'augmentation des concentrations sanguines des triglycérides est appelée hypertriglycéridémie, tandis que l'augmentation des concentrations sanguines de cholestérol est dénommée hypercholestérolémie. Enfin, on peut distinguer une hyperlipoprotéïnémie qui est une augmentation des concentrations sanguines de lipoprotéines. (**Arai et al., 2010 ; Mata et al., 2014**). Le terme lipémie est utilisé pour décrire un aspect trouble ou lactescent du sérum ou du plasma. C'est le résultat de l'hypertriglycéridémie, mais pas l'hypercholestérolémie. (**Xenoulis et Steiner, 2010**).

L'hyperlipidémie est divisée en deux sous-types : l'hyperlipidémie primaire qui est la forme la moins fréquente, généralement se produit à la suite de problèmes génétiques, c'est à dire une mutation au sein de la protéine récepteur ; l'hyperlipidémie secondaire, plus courante, qui survient à la suite de certaines maladies comme le diabète. Elle peut également être idiopathique c'est-à-dire sans cause connue (**Harikumar et al., 2013**). Les causes courantes de cette dernière incluent le diabète non traité, l'hypothyroïdie et le syndrome néphrotique, (**Farnier et al., 1998 ; Xenoulis et Steiner** ). Cet état physique n'entraîne pas de symptômes, et il peut avoir des effets néfastes sur la santé. C'est pour cette raison qu'il est nécessaire d'effectuer un examen sanguin pour diagnostiquer le trouble. Il est considéré comme un facteur de risque significatif pour le développement d'une maladie cardiaque, de diabète, de résistance à l'insuline, d'obésité et enfin d'athérosclérose (**Sagar, 2012**), qui représentent près d'un tiers des décès, car l'excès de lipides dans le sang s'accumulent dans les parois des artères, pour former une substance dénommée plaque d'athérome, qui au fil du temps peut conduire à un accident vasculaire cérébrale ou à un arrêt cardiaque (**Seol et al, 2014**).

**I-2) Le métabolisme lipidique**

Le métabolisme des lipoprotéines est complexe et fait intervenir de nombreux récepteurs et enzymes. Il peut être divisé en trois parties : la voie exogène (à partir de l'intestin vers les autres tissus), la voie endogène (du foie aux autres tissus) et le transport inverse du cholestérol (des tissus au foie).

**I-2-1) La voie exogène**

Sa fonction est d'amener les lipides alimentaires (de provenance exogène) aux tissus pour la production d'énergie, le stockage ou la synthèse de molécules. Les lipides alimentaires sont hydrolysés dans le petit intestin et sont absorbés par les cellules épithéliales intestinales. De nombreuses protéines cellulaires sont impliquées dans l'absorption intestinale et peuvent favoriser ou ralentir cette absorption. Par exemple, le Scavenger Receptor Class B (SRB1) qui permet l'absorption du cholestérol. Les lipides y seront ré-estérifiés par une enzyme localisée dans le réticulum endoplasmique appelée A-cholesterol acyl transferase (ACAT), et seront assemblés à l'aide de l'apo B-48 pour former des CM (chylomicrons). Les CM sont sécrétés dans la lymphe et se retrouvent dans la circulation sanguine. Au niveau des muscles et du tissu adipeux, les TG (triglycérides) contenus dans les CM sont hydrolysés en acides gras libres par la LPL (lipoprotéine lipase) pour stockage ou production d'énergie. L'apo C-II contenue dans les CM active la LPL, alors que l'apo C-III en diminue l'activité. C'est donc le ratio entre l'apo C-II et l'apo C-III qui déterminera la rapidité à laquelle le CM sera transformé en résidu de CM. Puisque seuls les TG ont été hydrolysés, le résidu sera enrichi en EC (ester de cholestérol) et en apo E. Il est à noter que l'apo A-I, A-IV, C-II, C-III et E peuvent subir des échanges avec les autres classes de lipoprotéines et, si elles sont relâchées en circulation, elles peuvent servir de constituants de base pour la formation des HDL naissantes. Les résidus de CM sont captés au foie via le R-LDL (récepteur des LDL) et la protéine apparentée au R-LDL (LRP) (Figure 01) (**Redgrave et Small, 1979 ; Martins et al., 2000 ; Merkel, et al., 2002 ; Iqbal et al., 2008**).

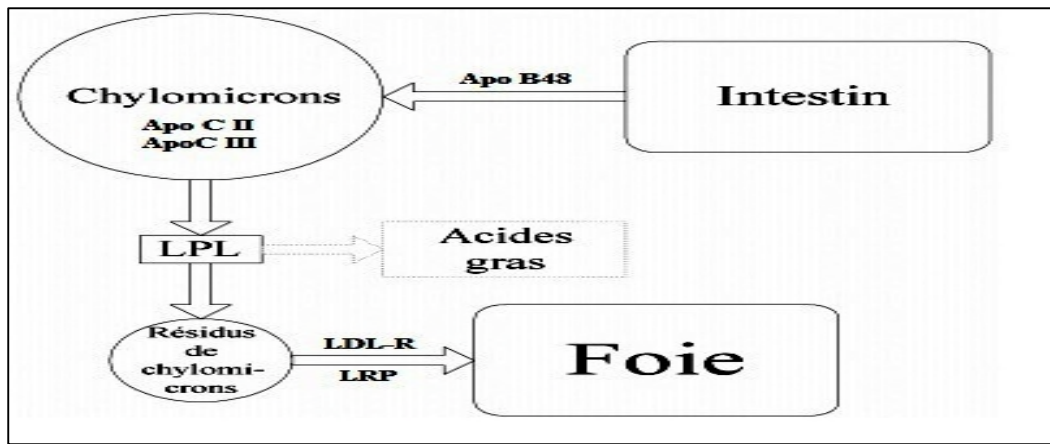


Figure 01 : La voie des lipides exogène (Hogue, 2004).

**I-2-2) Le transport endogène**

La synthèse et la sécrétion par le foie de VLDL initie une nouvelle voie de transport des lipides permettant la distribution de ceux-ci aux tissus. Les mécanismes de synthèse des VLDL au niveau hépatique sont similaires à ceux des chylomicrons au niveau intestinal. Cependant, dans ce cas ils font intervenir l'apo B100 et non sa forme tronquée l'apo B48. Au niveau de la circulation sanguine, les VLDL vont subir un remodelage structural conduisant à la formation des IDL puis des LDL. Cette cascade implique l'action de la LPL (lipoprotéine lipase) et de la LH (lipase hépatique) qui entraînent une diminution progressive du cœur hydrophobe. Cette diminution en triglycérides s'accompagne en parallèle d'un enrichissement de la lipoprotéine en esters de cholestérol provenant des HDL sous l'action de la CETP (Cholesterol Ester Transfer Protein). Tout au long de la cascade lipolytique, les lipoprotéines (VLDL, IDL et LDL) peuvent être captées par le foie ou les tissus périphériques par liaison à leurs récepteurs cellulaires spécifiques. Au niveau des récepteurs LDL-R, les particules LDL se fixent dans un premier temps puis sont endocytées dans des vésicules lysosomales où tous les constituants lipidiques et protéiques sont dégradés (Figure 02) (Miramond, 2012).

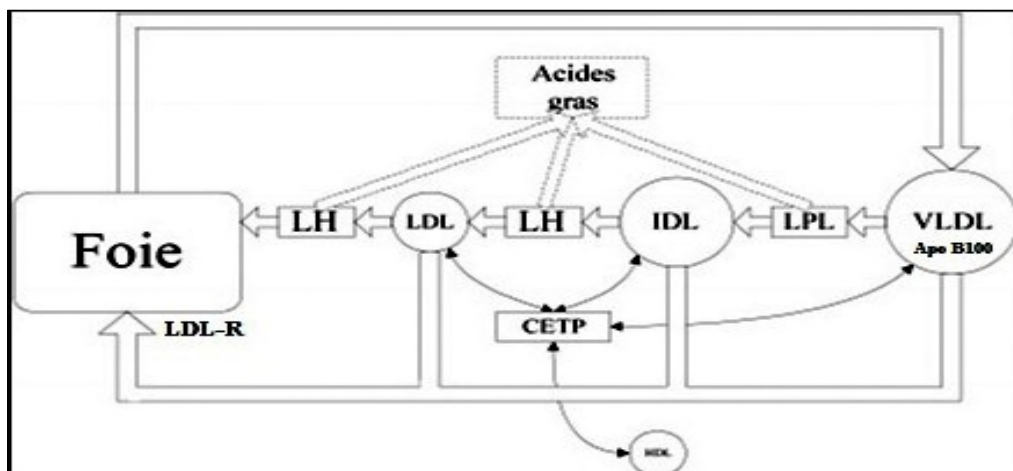
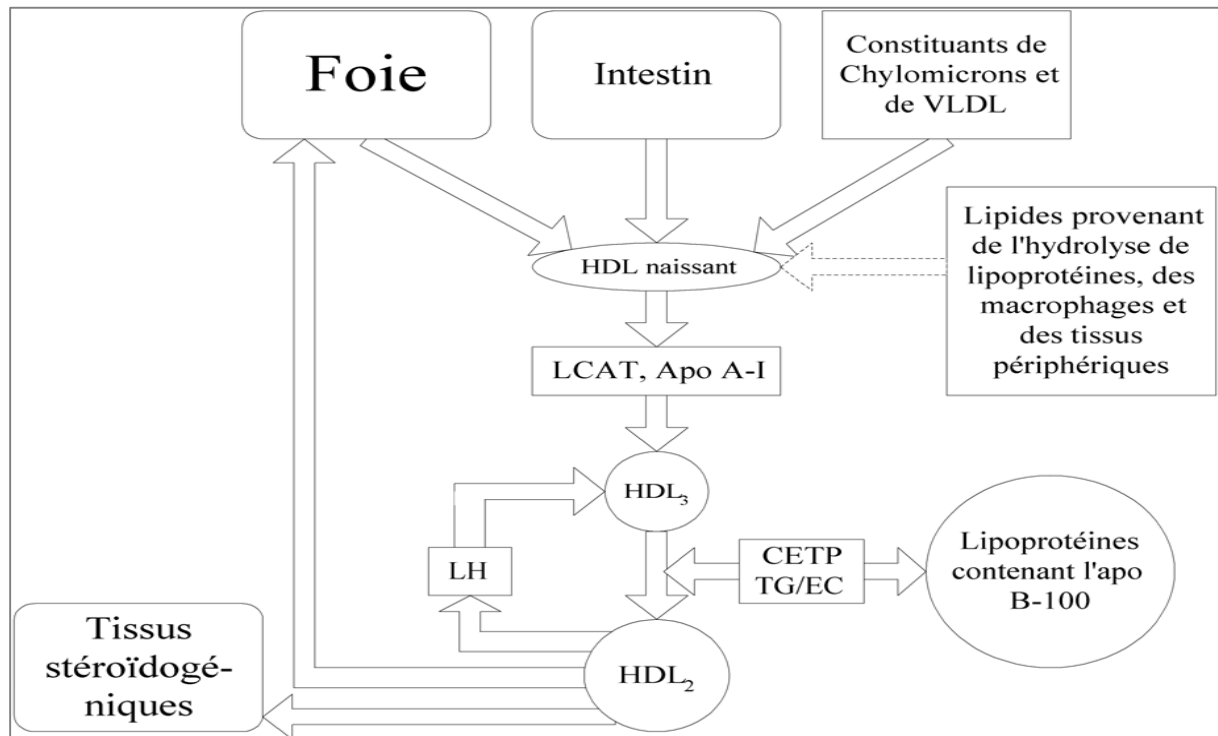


Figure 02 : la voie des lipides endogène (Hogue, 2004).

**I-2-3) Transport inverse du cholestérol**

Les apo composant la partie protéique du HDL sont synthétisés par le foie et l'intestin et proviennent également de l'hydrolyse des CM et des VLDL par les lipases. La HDL reçoit du cholestérol et des esters de cholestérol des autres lipoprotéines lors de leur hydrolyse, mais aussi via le récepteur SR-B1/Cla-1 (présent dans les macrophages, le foie et les tissus stéroïdogéniques) et via le système ABCA-1 (présent dans les macrophages, le foie, les reins, l'intestin et les glandes surrénales). Le cholestérol est alors estérifié par la LCAT. Au fur et à mesure que le HDL reçoit du cholestérol, sa taille augmente, passant de la classe HDL<sub>3</sub> à la classe HDL<sub>2</sub>. Les esters de cholestérol peuvent par la suite être échangés contre des TG entre les HDL et les lipoprotéines contenant l'apo B-100 par l'action de la CETP. Les esters de cholestérol ainsi transférés aux LDL et aux VLDL retourneront alors au foie via le R-LDL. Le HDL sera capté par un récepteur SR B1/Cla-1 du foie ou d'un tissu stéroïdogénique auquel il donnera son cholestérol. Il est important de noter que la HDL n'est pas internalisée par SR-B1/Cla-1; après avoir livré ses esters de cholestérol, la HDL se retrouve à nouveau en circulation et redevient disponible pour recevoir des esters de cholestérol. La LH est capable d'hydrolyser les TG contenus dans la HDL. Dans le foie, le cholestérol sera transformé en sels biliaires ou sera directement excrété dans la bile, alors que dans les tissus stéroïdogéniques, le cholestérol sera transformé en hormones stéroïdiennes (Figure 03) (Tall et *al.*, 2002 ; Hogue, 2004).



**Figure 03 : Transport inverse du cholestérol (Hogue, 2004).**

### I-3) Classification des hyperlipidémies

L'hyperlipidémie est classée selon la classification de Fredrickson qui est définie par le type de lipoprotéine dont la concentration plasmatique est augmentée. On en décrit six phénotypes (I, IIa, III, IV, IIb, V) (Tableau I) dont quatre sont liés à l'élévation d'une seule lipoprotéine (I : augmentation des chylomicrons, IIa : augmentation des LDL, III : augmentation des IDL, IV : augmentation des VLDL), et deux à l'élévation de deux lipoprotéines (IIb : augmentation des VLDL et LDL, V : augmentation des chylomicrons et des VLDL) (Fredrickson *et al.*, 1967 ; Hassan, 2013).

**Tableau I :** Classification des hyperlipidémies par l'OMS (classification modifiée de Fredrickson) (Mahamuni *et al.*, 2012).

Type	Total cholesterol	LDL cholesterol	Plasma TGs	Lipoprotein abnormality	Primary causes	Secondary causes
I	Elevated	Low or normal	Elevated	Excess chylomicrons	Lipoprotein lipase deficiency, apoC-II deficiency	Systemic lupus erythematosus
II a	Elevated or normal	Elevated	Normal	Excess LDL	Familial hypercholesterolemia	Hypothyroidism
II b	Elevated	Elevated	Elevated	Excess LDL and VLDL	Familial combined hyperlipidemia	Nephrotic syndrome, diabetes, anorexia nervosa
III	Elevated	Low or normal	Elevated	Excess chylomicron remnants and Intermediate density lipoproteins	Familial type III Hyperlipoproteinemia	Hypothyroidis diabetes, obesity
IV	Elevated or normal	Normal	Elevated	Excess VLDL	Familial combined hyperlipidemia, Familial Hypertriglyceridemia	Diabetes, chronic renal diseases
V	Elevated	Normal	Elevated	Excess chylomicrons and VLDL	Familial hypertriglyceridemia, apoC-II deficiency	Alcohol, diuretics, $\beta$ blockers, oral

apoC-II = apolipoprotein-C II; LDL = low-density lipoprotein; TG = triglyceride; VLDL = very low-density lipoprotein.

#### 1-3-1) Hyperlipidémie (hyperlipoprotéinémie) de type I

L'hyperlipoprotéinémie de type I est présente généralement pendant l'enfance avec des xanthomes éruptive et des coliques abdominales (Harikumar *et al.*, 2013). Elle est assez rare et aussi appelée l'hyperchylomicronémie familiale ou syndrome de Buerger-Gruetz. Ce trouble provoque une élévation des protéines qui transportent les graisses de l'intestin au foie



« chylomicrons ». Il peut causer des douleurs abdominales, une pancréatite, des dépôts de graisse dans la peau et les yeux et d'autres complications. (Nirosha et al., 2014). L'hyperlipoprotéïnémie de type I existe sous plusieurs formes : Type Ia est due à une déficience en lipoprotéine lipase (LPL) ou une altération de l'apolipoprotéine C2, entraînant une élévation des chylomicrons qui transportent les acides gras du tube digestif au foie. Type Ib est due à une déficience familiale de l'apolipoprotéine CII, causée par un manque de l'activateur de la lipoprotéine lipase. Type Ic est une chylomicronémie due à la circulation de l'inhibiteur de la lipoprotéine lipase (Harikumar et al., 2013).

### **1-3-2) Hyperlipidémie type II**

L'hyperlipoprotéïnémie de type II, est la forme la plus courante, elle est également classée en deux type IIa et IIb, dépendant principalement de l'existence d'une élévation du niveau de triglycérides en plus du cholestérol LDL (Nirosha et al., 2014).

#### **1-3-2-1) Hypercholestérolémie pure Type IIa**

Dite aussi hypercholestérolémie pure ou familiale. Elle peut être due aux altérations génétique qui touchent le gène codant pour la synthèse des récepteurs des LDL (ou R-LDL), qui sont de haute affinité aux LDL, cette affection empêche la recapture des LDL au niveau du foie (Silbernagl et Lan, 2003). La forme familiale est à transmission autosomique dominante avec trois gradations : la forme mineure (CT 2,4 à 4 g/L), la forme sévère (CT autour de 4 g/L) (forme hétérozygote de xanthomatose tendineuse, la plus fréquente) et la forme majeure (CT entre 6 et 12 g/L) (forme homozygote avec la xanthomatose cutanéotendineuse, plus rare). Mais quelque soit la variété, la formule lipidique est toujours la même, le sérum est clair, il y'a une augmentation du cholestérol total par augmentation du LDL-C. Les triglycérides, sont normaux et le HDL-C est normal ou bas. L'augmentation du LDL-C est associée à un risque athérogène accru, en particulier au niveau des coronaires. L'augmentation du niveau de risque est corrélée au taux de cholestérolémie : plus le taux de cholestérol total est du LDL-C sont élevés, plus les accidents coronaires sont fréquents (Silbernagl et Lan, 2003).

#### **1-3-2-2) Hyperlipidémie de type IIb ou hyperlipidémie combinée familiale**

C'est une hyperlipidémie mixte et fréquente (Grundy et al., 1987). En plus du cholestérol, les TG sont également légèrement augmentés. La cause de cette maladie réside vraisemblablement dans une surproduction d'Apo B-100, qui augmente la synthèse de VLDL

et aboutit donc à une formation accrue de LDL (**Silbernagl et Lan, 2003**). L'hyperlipidémie type II b et très athérogène caractérisée par l'absence de troubles lipidiques dans l'enfance. Ces troubles apparaissent après la 3<sup>ème</sup> décennie ; ils peuvent être évoqués devant un arc cornéen ou un xanthélasma; les xanthomes tendineux sont absents, le diabète et l'obésité sont fréquents. Biologiquement, le sérum est clair ou légèrement trouble, le cholestérol total et les triglycérides sont élevés correspondant respectivement à une augmentation des LDL-C et VLDL, par contre le HDL-C est souvent abaissé (**Nirosha et al., 2014**). Au sein d'une même famille, les anomalies biologiques (hypercholestérolémie et hypertriglycémie) sont très variables d'un individu à l'autre, et surtout chez le même individu d'un dosage à l'autre, en raison essentiellement de la sensibilité de cette affection aux facteurs d'environnement impliqués dans l'augmentation des TG : l'alcool, la consommation excessive de sucres et/ou l'existence d'une obésité androïde. Un même individu peut donc présenter dans le temps successivement une hypercholestérolémie de type IIa, une hyperlipidémie mixte de type IIb ou une hypertriglycémie de type IV (**Silbernagl et Lan, 2003**).

### **1-3-3) Hyperlipidémie de type III**

Il s'agit d'une accumulation plasmatique de chylomicrons remnants et des IDL par défaut de captation hépatique grâce à 2 conditions : anomalie de l'ApoE et augmentation de la synthèse des VLDL (**Nirosha et al., 2014**). Un variant ApoE anormale qui n'est pas reconnu par les récepteurs E, est exprimé à la place de l'Apo E normale. On aboutit ainsi à un trouble de la capture des résidus de chylomicrons, d'IDL au niveau hépatique (**Silbernagl et Lan, 2003**). L'hyperlipidémie de type III est un trouble rare également connu sous le nom de dysbétalipoprotéïnémie familiale. Elle se traduit par des niveaux élevés de LDL et comporte un risque très important de maladie cardiaque (**Acajjaoui, 2011**).

### **1-3-4) Hyperlipidémie de type IV**

Cette forme est due à un taux élevé de triglycérides, connu aussi sous le nom d'hypertriglycémie familiale, c'est une maladie autosomique dominante (**Harikumar et al., 2013**). La surcharge pondérale, la consommation d'alcool et l'insulino-résistance augmentent la synthèse hépatique en VLDL et une baisse de leur catabolisme. (**Gotto et al., 1999**). Les TG d'origine sont élevés (hypertriglycémie), et les concentrations plasmatiques du CT et des LDL sont normales et celles du HDL basses. Elle est traitée avec des médicaments et une alimentation saine (**Nirosha et al., 2014**).

**1-3-5) Hyperlipoprotéïnémie de type V**

Ce type est rare et très similaire au type I, mais avec un taux élevé de VLDL en plus des chylomicrons. Elle apparaît après l'âge de 20 ans est également associée à l'intolérance au glucose et l'hyper-uricémie (taux excessif d'acide urique dans le sérum sanguin) (**Nirosha et al., 2014**). Biologiquement, le sérum à jeun est opalescent avec un surnageant crémeux. La triglycéridémie est élevée, la cholestérolémie est normale ou augmentée (**Harikumar et al., 2013**).

**I-4) Les facteurs de risque****1-4-1) Les facteurs de risque non modifiable**

**1-4-1-1) L'âge et le sexe** : L'incidence des maladies coronariennes augmente avec l'âge chez les deux sexes. Il y a un décalage d'environ 10 ans entre la femme et l'homme, en effet les risques de maladie coronarienne sont plus précoces chez l'homme que la femme (**Acajjaoui, 2011**). Le vieillissement d'une personne, augmente les risques pour développer l'athérosclérose et l'hyperlipidémie. Les hommes ont plus de chance de développer une hyperlipidémie que les femmes (**Sadik et Emeritus, 2013**). Toutefois, avant la ménopause, les femmes ont tendance à avoir des niveaux de triglycérides faibles que les hommes du même âge, alors que, après la ménopause, les niveaux de LDL des femmes ont tendance à augmenter (**Sarac et al., 2012**)

**1-4-1-2) L'hérédité** : Toute anomalie portant sur la structure primaire ou la régulation de l'expression d'un ou plusieurs gènes du métabolisme des lipoprotéines, définit nommément une hyperlipidémie. Dans le premier cas, la prédisposition génétique dépend d'un seul gène ou locus, qui détermine l'essentiel des caractères associés à la dyslipidémie, qui est généralement plus sévère et plus précoce. Les hyperlipoprotéïnémies monogéniques peuvent résulter d'anomalies moléculaires de gènes d'apolipoprotéines, d'enzymes ou de récepteurs intervenant dans les trois voies de régulation du métabolisme des lipoprotéines. Dans le deuxième cas, plusieurs gènes interviennent à des degrés divers, souvent en interaction avec des facteurs d'environnement, pour favoriser l'apparition de l'anomalie lipidique, qui est souvent plus tardive (**Benlian, 1996 ; Mcelduff et al., 1998 ; couvert et al., 2010 ; et Rohilla al., 2012**).

**1-4-2) Les facteurs de risque modifiable**

**1-4-2-1) L'alimentation :** Le régime alimentaire constitue le plus grand facteur de risque, mais il est modifiable ; un mauvais régime alimentaire est un régime dans lequel les matières grasses représentent plus de 40 % de l'apport calorique total, la consommation de graisses saturées est supérieure à 10 % de l'apport calorique total ; et l'apport alimentaire en cholestérol est supérieur à 300 mg/jour (**Rohilla et al., 2012**). De nombreux aliments comme les œufs, le beurre, le foie, les reins, et certains fruits de mer contiennent du cholestérol avec des quantités qui ne modifient pas radicalement les niveaux sanguins du cholestérol. D'autres aliments, en particulier ceux consommés en quantités relativement importantes et fréquemment, peuvent affecter négativement le cholestérol et les triglycérides sanguins, tel que : la viande rouge, de nombreux fromages, gâteaux crémeux, crème glacée, des saucisses ont tous des teneurs élevées de graisses saturées, et peuvent affecter le résultat de la concentration sanguine du cholestérol. (**Amuamuta, 2014**).

**1-4-2-2) Sédentarité et poids corporel :** Il a été démontré que l'activité physique tend à réduire le cholestérol LDL, et permet d'augmenter les niveaux du cholestérol HDL dans le sang (**Sadik et Emeritus, 2013**). Les personnes qui maintiennent un poids corporel normal, sont moins susceptibles d'avoir des niveaux de HDL inférieurs à ceux des personnes en surpoids ou obèses (LDL élevé) (**Amuamuta, 2014**).

**1-4-2-3) Alcool et tabagisme:** Les personnes qui consomment régulièrement de grandes quantités de boissons alcoolisées, présentent des niveaux de LDL élevé et de faibles niveaux de HDL. (**Rohilla et al., 2012**). De plus, une consommation accrue d'alcool a été noté pour endommager le foie et le muscle cardiaque, conduisant finalement à d'autres problèmes de santé. (**Prono et al., 1990 ; Grauvogel et al., 2010**). Il a été rapporté que le tabagisme contribue à environ 400 000 décès par ans aux États-Unis. En plus de contribuer à des cancers et des maladies cardio-vasculaires. Ce dernier permet de diminuer le cholestérol HDL tandis qu'il augmente les taux des LDL. (**Mcelduff et al., 1998**).

**I-5) Complications de l'hyperlipidémie**

**I-5-1) L'athérosclérose :** ou durcissement des artères est une atteinte au niveau de l'intima, caractérisée par des dépôts lipidiques et d'éléments de fibrose formant des plaques. Ces dépôts lipidiques s'effectuent initialement, au niveau de lésions caractéristiques, sous forme de stries lipidiques visibles qui s'accroissent pour former des plaques puis de l'athérome. (**Liu et al.,**

**2002; Rohilla et al., 2012).** Cette dernière est la principale cause de maladies cardiovasculaires (**Sadik et Emeritus, 2013**).

**I-5-2) Maladie coronarienne** ou rétrécissement des artères qui irriguent le myocarde, résulte en limitant le flux sanguin et des quantités insuffisantes d'oxygène pour répondre aux besoins du cœur. Le rétrécissement peut progresser dans la mesure où le muscle cardiaque subit des dommages en raison du manque d'approvisionnement du sang (**Sadik et Emeritus, 2013**).

**I-5-3) Infarctus du myocarde (MI) :** est une condition qui se produit lorsque le sang et l'oxygène sont partiellement ou complètement bloquée de se couler dans une ou plusieurs artères cardiaques, entraînant des dommages ou la mort des cellules cardiaques. Le blocage est généralement dû à la formation d'un caillot dans une artère. Cette condition est communément appelée crise cardiaque. L'occlusion peut être due à une rupture d'une plaque d'athérome. Si l'écoulement limité du sang dans les artères et la quantité limitée d'oxygène résultante ne sont pas traitées pendant une période de temps, le blocage peut causer des dommages ou la mort des cellules du myocarde (**Sadik et Emeritus, 2013**).

**I-5-4) Angine de poitrine :** cette condition n'est pas une maladie mais un symptôme d'une maladie cardiaque sous-jacente. Elle est caractérisée par une douleur thoracique, une gêne ou une pression de serrage. La douleur peut également être ressentie dans les épaules, les bras, le cou et le dos. L'angine survient à la suite d'une réduction ou d'un manque d'apport sanguin à une partie ou l'ensemble du muscle cardiaque, ainsi qu'une déficience de l'élimination des déchets. Une mauvaise circulation sanguine est généralement due à la coronaropathie lorsqu'une obstruction partielle ou complète des artères coronaires est présente. Les crises d'angine peuvent être dues à un spasme des artères. L'angine de poitrine peut être un symptôme de la maladie micro-vasculaire coronarienne (MVD), une condition qui affecte les plus petites artères du cœur (**Harikumar et al., 2013**).

**I-5-5) Accident vasculaire cérébral (AVC) :** survient lorsque la circulation sanguine dans une partie du cerveau est bloquée ou diminuée, ou lorsque l'approvisionnement en sang, qui transporte l'oxygène, le glucose et autres nutriments, est perturbés, les cellules du cerveau alors meurent et deviennent dysfonctionnelles (**Rohilla et al., 2012**).

**I-5-6) Pancréatite :** le pancréas est responsable de la dégradation des glucides, lipides et protéines dans le corps. En cas d'une hyperlipidémie, un excès de triglycérides peut

s'accumuler et provoquer une infection appelée pancréatite très grave, dans certains cas, peut conduire à des maladies mortelles, la pancréatite peut également entraîner la fermeture éventuelle du pancréas. (Acajjaoui, 2011).

### **1-6) Traitements des l'hyperlipidémie**

La base du traitement de l'hyperlipidémie en première étape c'est la modification de style de vie, pour réduire les niveaux de cholestérol. Un changement dans l'alimentation, perte de poids et l'exercice accru sont tous connus pour avoir un effet hypolipidimiant (Nelson, 2012). Le but est la diminution du cholestérol LDL en dessous de 4 mmol/l. Le risque d'athérosclérose s'accroît par les facteurs de risque dus au mode de vie ; Pendant l'enfance, la modification de l'alimentation est la base du traitement; une activité physique régulière et aussi importante. Les adolescents doivent être mis en garde contre les risques supplémentaires dus au tabagisme. Si le LDL-cholestérol reste élevé malgré un changement rigoureux de l'alimentation, un traitement médical est à envisager. (Nuoffer et Berne, 2005). Bien que des anomalies lipidiques spécifiques peuvent être caractérisés, aux fins du choix d'une thérapie médicamenteuse, il est important de savoir si le patient a principalement l'hypercholestérolémie, l'hypertriglycéridémie ou des deux (Mcelduff, 2003).

Actuellement, les médicaments de grandes classes incluent les statines, les dérivés de l'acide nicotinique, les fibrates, les résines de liaison des acides biliaires et les inhibiteurs de l'absorption du cholestérol (Rohilla et al., 2012).

#### **1-6-1) Les inhibiteurs de la HMG-CoA réductase**

Les statines ont été introduites dans la pratique clinique à la fin des années 1980 après la découverte fortuite de leurs effets hypolipidémiant en 1976. Initialement produite à partir de métabolites fongiques, ils sont désormais fabriqués synthétiquement. Actuellement, il existe six statines dans l'utilisation clinique, la pravastatine et la lovastatine qui sont des produits naturels d'origine fongique, la simvastatine est un dérivé semi-synthétique, la fluvastatine, le premier inhibiteur entièrement synthétique, et enfin l'atorvastatine et la rosuvastatine. (Nuoffer et Berne, 2005). Les statines ont été signalées pour aider à attirer le cholestérol vers le foie pour son excrétion. Et donc possèdent la capacité de réduire le cholestérol LDL de  $\geq 15\%$ . (Rohilla et al., 2012) Maintenant considérées comme des médicaments de premier choix pour le traitement de l'hypercholestérolémie isolée, il existe des preuves de plus en plus suggérées qu'ils sont bénéfiques pour les patients atteints d'hypertriglycéridémie (Farnier et al., 1998).

➤ **Mode d'action**

Ce sont des agents systémiques oraux qui suppriment la biosynthèse du cholestérol par inhibition compétitive de l'HMG-CoA réductase, l'enzyme qui catalyse la conversion de l'HMG-CoA en mévalonate, un précurseur de stérols incluant le cholestérol. L'inhibition de la biosynthèse du cholestérol conduit à la régulation positive des récepteurs de LDL dans le foie et la clairance accrue de LDL du plasma. Les statines peuvent également influencer la production des LDL en diminuant la production hépatique de lipoprotéines de basse densité (VLDL) et en augmentant le catabolisme des remnants de VLDL. (**Farnier et al., 1998 ; Harikumar et al., 2013**).

**1-6-2) Les fibrates**

Les fibrates ont pour effet de réduire la formation des triglycérides plasmatique et d'augmenter le cholestérol HDL dans le corps. C'est ce qui représente leurs potentiels et sont envisagés dans le cas d'une hyperlipidémie combinée sévère. Néanmoins, ils ont certains effet indésirables tel qu'une myosite, une augmentation des transaminases, des troubles gastro-intestinaux qui diminue au fil du temps (**Nuoffer et Berne, 2005**). Les membres puissants des fibrates sont clofibrate, le fénofibrate et gemfibrozil (**Rohilla et al., 2012**) ils ne devraient pas être associés aux statines. Leur mécanisme d'action sur le métabolisme des lipides est très complexe (**Mcelduff, 2003**).

➤ **Mode d'action**

Les fibrates activent PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor), en particulier PPAR- $\alpha$ . Les PPARs sont une classe de récepteurs intracellulaires qui modulent le métabolisme des glucides et des matières grasses et de la différenciation du tissu adipeux. L'activation de PPARs induit la transcription d'un certain nombre de gènes qui facilitent le métabolisme des lipides (**Harikumar et al., 2013**)

Les fibrates sont des agonistes du récepteur de PPAR- $\alpha$  dans le muscle, le foie et d'autres tissus. L'activation de la signalisation de PPAR- $\alpha$  résulte en l'augmentation de la  $\beta$ -oxydation dans le foie, diminution de la sécrétion hépatique de triglycérides, augmentation de l'activité de la lipoprotéine lipase, et donc augmentation de la clairance des VLDL, et l'augmentation de HDL.

**1-6-3) Résines de liaison des acides biliaires**

Les résines échangeuses d'ions sont un groupe de médicaments utilisés pour se lier à certains éléments de la bile dans le tractus gastro-intestinal. Ils perturbent la circulation



entéro-hépatique des acides biliaires en les séquestrant et en empêchant leur réabsorption par l'intestin. En cas d'hypercholestérolémie familiale, l'effet est modeste (**Harikumar et al., 2013**). Sous traitement, les triglycérides et le cholestérol HDL augmentent souvent légèrement. Il est important d'ingérer ces médicaments avec beaucoup de liquides. La dose journalière dépend du taux de cholestérol (**Nuoffer et Berne, 2005**). En général, ils sont classés comme agents hypolipémiants, bien qu'ils puissent être utilisés à des fins autres que la diminution du cholestérol. Ils sont utilisés dans le traitement de la diarrhée chronique due à une malabsorption des acides biliaires. Lorsque les statines ne sont pas suffisantes pour abaisser le taux élevé du cholestérol, ces médicaments peuvent être ajoutés. Leur utilisation est souvent limitée par des effets secondaires, qui sont principalement un sentiment de réplétion et une constipation, comme ils peuvent inclure des nausées, des ballonnements, des crampes, et une augmentation des enzymes hépatiques. Trois médicaments sont membres de cette classe; ils sont tous synthétiques : Cholestyramine, Colesevelam, Colestipol. (**Harikumar et al., 2013 ; Nuoffer et Berne, 2005**).

➤ *Mode d'action*

Des agents séquestrant les acides biliaires sont des composés polymères qui servent de résines échangeuses d'ions. Les acides biliaires piégés échangent des anions tels que des ions de chlorure des acides biliaires.

En agissant ainsi, ils se lient aux acides biliaires et les piègent dans la circulation entéro-hépatique. Les acides biliaires piégés sont des polymères de structures importantes, ils ne sont pas bien absorbés par l'intestin dans la circulation sanguine. Les acides biliaires piégés, ainsi que tous les acides biliaires liés au médicament, sont excrétés dans les fèces après passage à travers le tractus gastro-intestinal. (**Nirosha et al., 2014**).

#### **1-6-4) Niacine**

Niacine ou acide nicotinique, a diverses actions affectant la formation de cholestérol. C'est un médicament rarement utilisé dans la population pédiatrique. Il diminue la production hépatique et la libération de VLDL (**McElduff, 2003**). Le principal effet de cette dernière et de ses produits dérivés implique la diminution de la production de triglycérides dans le corps. En outre, l'acide nicotinique a également été noté à élever les niveaux de cholestérol HDL via un mécanisme inconnu (**Rohilla et al., 2012**). Il faut noter que c'est également le seul médicament connu pour réduire les niveaux de lipoprotéine. Au début de traitement avec niacine, une dose initiale plus faible est préférable. (**McElduff, 2003**) parmi les effets

secondaires courants de cette classe de médicaments : des rougeurs, les bouffées de chaleur, des démangeaisons et des maux de tête. **(Rohilla et al., 2012).**

➤ **Mode d'action**

L'acide nicotinique réduit la production de triglycérides et des VLDL (lipoprotéines de très basse densité, qui est converti en LDL dans le sang). Cela conduit à une diminution de LDL et une augmentation de HDL ainsi qu'une réduction des triglycérides. L'acide nicotinique augmente le cholestérol HDL plus que les autres médicaments hypolipémiants. La forme de l'acide nicotinique de niacine abaisse le cholestérol, mais d'autres formes de niacine ne le font pas. Les autres formes qui ne diminuent pas le cholestérol incluent le nicotinamide et l'inositol nicotinate (aussi appelé sans niacine) **(Nirosha et al, 2014).**

**1-6-5) Autres traitements**

L'ézétimibe est une substance active relativement récente, inhibant la résorption du cholestérol au niveau des microvillosités entérocytaires du grêle par blocage d'un transporteur de stérols. La diminution du taux de cholestérol se situe autour de 25%. L'ézétimibe ne peut actuellement être considéré que comme médicament de réserve **(Häberle et al., 2013).**

Il faut citer aussi les huiles de poissons riches en acides gras polyinsaturés, ces huiles diminuent la synthèse hépatique des triglycérides, des LDL et VLDL et peuvent élever le cholestérol HDL. Ils présentent certaines complications, telles que les troubles de la thrombopénie et des saignements qui sont observés en particulier à des doses élevées 15 à 30g/jour **(Kumar et al., 2013).**

En conclusion, les études expérimentales mentionnées plus haut ont montré clairement que les hypolipémiants les plus utilisés, les fibrates et en particulier les statines, ont une influence réelle sur la réduction du risque cardio-vasculaire. **(Rohilla et al., 2012).**

## II-1) Matériel végétale

### II-1-1) classification et description

*Rhamnus alaternus* L. est une espèce végétale qui appartient à la famille des *Rhamnaceae*, les plantes de cette famille sont bien connues possédant diverses propriétés biologiques et sont utilisées en médecine traditionnelle et en préparation culinaire. C'est un arbuste de 2-6 mètre de hauteur vivace dioïque distribués dans tout le bassin méditerranéen, ces fleurs jaunâtres apparaissent à la fin de l'hiver et au début du printemps, et produit des fruits charnus qui mûrissent en fin de printemps et début de l'été. En outre, il a une grande valeur ornementale en raison de son feuillage coriace vert vif, qui, avec ses petits fruits rouges, crée un effet très agréable. Ces caractéristiques font de *R.alaternus* une espèce importante dans la zone méditerranéenne. (Bas et al, 2009) Il a été utilisé traditionnellement comme un digestif, diurétique, laxatif, hypotensive et pour le traitement des complications hépatiques et dermatologiques (Ben Ammar et al, 2009)



**Figure 04** : Les feuilles, fleurs et fruit de *rhamnus alaternus* (Aronne et wilcock, 1995).

La classification de *Rhamnus alaternus* est illustrée dans le tableau

**Tableau II** : classification botanique de *R. alaternus*. (yi-ling et pan-kai, 1982)

Taxon	Nom
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida Dicotylédones
Sous classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Genre	Rhamnus
Nom binominal	Rhamnus Alaternus
Famille	<u>R</u> hamnaceae

L'étude photochimique sur les extrait de la partie aérienne et les racines de *R. alaternus* à révéler la présence de divers quantité d'antraquinone de camarines de tannins et en particulier de flavonoïdes dont on trouve des flavonoïdes glycosylé et des flavonoïdes aglycone. (Ben ammar et al., 2008 ; Ben ammar et al., 2009)

### II-1-2) Préparation du matériel végétal

Cette étude a été réalisée sur les feuilles de *Rhamnus alaternus* L., récoltées au niveau du village Taghzouit de la région de Bejaia durant le mois de mars 2014. Une fois récoltées, les feuilles fraîches de *Rhamnus alaternus* ont été séchées à l'air libre pendant 20 jours, puis transférées à l'étuve à 35 °C pendant 02 jours pour affiner le séchage et pour obtenir un meilleur broyage et une meilleure extraction. Après séchage, les feuilles sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre. Les particules ainsi obtenues après broyage sont tamisées sur un tamis de diamètre de 250 µm pour avoir une poudre homogène. La poudre obtenue est conservée dans un récipient en verre et stocké à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à extraction (**Figure 05**).



**Figure 05** : Les feuilles (fraîches et sèches) et poudre de *Rhamnus alaternus* L. (Aronne et wilcock, 1995).

### II-1-3) Extraction

L'extraction est effectuée par épuisement du matériel végétal. 50g de la poudre des feuilles de *Rhamnus alaternus* sont macérés dans 500 ml de méthanol. Le mélange est maintenu sous agitation pendant 24 heures à une température ambiante. Après macération, la solution obtenue a été filtrée plusieurs fois sur papier Wattman N°03, et le filtrat est récupéré (filtrat 1). Ensuite, 300 ml de méthanol ont été ajoutés pour le précipiter, et le mélange a été laissé sous agitation pendant une nuit (afin d'avoir une extraction exhaustive) et ensuite filtré dans les mêmes conditions, le filtrat (filtrat 2) est récupéré. Les deux filtrats ont été mélangés

et lavés avec l'éther de pétrole dans une ampoule à décanter pour éliminer les matières lipophiles (chlorophylle, cires...etc.) et laissés évaporer dans une étuve à 40 °C jusqu'à ce que le poids de l'extrait reste constant et le taux d'extraction est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = P_1/P_0 \cdot 100$$

**P<sub>0</sub>** : poids de la poudre avant extraction.

**P<sub>1</sub>** : poids de l'extrait sec après extraction

#### II-1-4) Analyses phytochimiques

##### II-1-4-1) Dosage des polyphénols totaux

Le contenu en polyphénols totaux des extraits a été déterminé en suivant le protocole d'**Owen et Johns (1999)**, avec quelques modifications. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est composé d'un mélange jaune d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PM<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) qui se réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en oxyde bleu de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (MO<sub>8</sub>O<sub>23</sub>). La coloration est proportionnelle aux taux des composées phénoliques (**Ribéreau-Gayon et al., 1982**).

A température ambiante, 250 µl d'extrait ont été ajoutés à 1,25ml du réactif de Folin-Ciocalteu (0,1N) et le tout est bien mélangé. Après 5 min d'incubation, 1 ml d'une solution de monohydrate carbonate de sodium (7,5% p/v) a été ajouté et le tout est bien mélangé. La préparation a été laissée incuber pendant 1 heure à l'obscurité, puis l'absorbance a été mesurée à 740 nm contre un témoin préparé suivant la même méthode, sauf que l'extrait est remplacé par le solvant. Une courbe standard est réalisée avec différentes concentrations de l'acide gallique dans les mêmes conditions que le dosage de l'échantillon. La quantité des polyphénols totaux est exprimée en équivalents milligramme d'acide gallique (mg EAG/g d'extrait) (annexe I).

##### II-1-4-2) Dosage des flavonoïdes

Le contenu en flavonoïde des extraits a été déterminé en suivant le protocole de **Quettier-Deleu et al. (2000)**, avec quelques modifications. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres en présence du chlorure d'aluminium, grâce aux groupements hydroxyles

libres (**Ribéreau-Gayon, 1968**). Ainsi la couleur jaune obtenue est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes dans l'extrait.

A température ambiante, 1 ml de la solution d'extrait est ajouté à 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium (2%), le tout est bien mélangé. Après incubation pendant 15 min, la mesure de l'absorbance a été effectuée à 410 nm contre un témoin préparé suivant la même méthode, sauf que l'extrait est remplacé par le solvant. Une courbe standard est réalisée avec différentes concentrations de la quercétine dans les mêmes conditions que le dosage de l'échantillon. La quantité des flavonoïdes est exprimée en équivalents milligramme de quercétine (mg EQ/g d'extrait) (annexe II).

## **II-2) Evaluation de l'effet de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* L. sur l'hyperlipidémie induite par l'huile d'olive chez des souris *Swiss Albinos***

### **II-2-1) Matériel animal**

25 souris male *Swiss albinos* pesant entre 25 et 34g (au début de l'expérimentation) sont utilisées dans cette expérimentation. Elles sont issues par élevage au niveau de l'institut Pasteur d'Alger. Les souris ont été placés dans des cages transparentes en polypropylène ou chaque cage regroupe 5 souris, à une température ambiante de 20 à 25°C, avec un cycle de 10/14 h (lumière/obscurité), et disposés de granules d'aliment standard provenant de L'ONAB (Office National Alimentation Bétail), El-Kseur de Bejaïa, et l'eau de robinet. La litière utilisée est la sciure renouvelée 3 fois par semaine pour garder le bon conditionnement hygiénique des souris.



**Figure 06:** Elevage des souris *Swiss albinos* au sein de l'animalerie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia (**Origine**).

### **II-2-2) Protocole expérimentale**

Le protocole expérimental pour ce modèle a été réalisé en utilisant la méthode de **Schoenfelder et al., (2008)** avec quelques modifications. Dans ce modèle expérimental, 25 souris *Swiss Albinos* ont été réparties en 05 groupes ( $n = 5$ ) de poids homogènes.

Les souris du Groupe I ont servi de témoins (contrôle non traité) et ont reçu un gavage avec 10 ml/kg/jour d'eau physiologique par voie orale, après 01h, les souris ont été encore gavées avec 05 ml/kg/jour d'eau physiologique. Groupe II (contrôle positif), les souris ont été prétraitées avec 10 ml/kg/jour d'eau physiologique, 01 h après elles ont été traitées avec 5 ml/kg/jour d'huile d'olive. Groupe III (Simvastatine) reçoit un gavage par voie orale avec 20 mg/kg/jour de simvastatine (VASTA 20 mg, El-KENDI, Alger), 01 h après elles ont été traitées avec 5 ml/kg/jour d'huile d'olive. Groupes IV et V, les souris ont été prétraitées avec 200 mg/kg/jour et 400 mg/kg/jour de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* respectivement, 01 h après elles ont été traitées avec 5 ml/kg/jour d'huile d'olive.

Le jour où l'expérimentation a débuté est considéré comme  $J_0$ . L'étude a été réalisée durant 30 jours à partir du jour  $J_0$  et plusieurs paramètres ont été suivis durant cette période à intervalle régulier de 05 jours

### **II-2-3) Paramètres suivis durant l'expérimentation**

#### **II-2-3-1) La quantité de l'eau et de la nourriture consommées**

Ces deux paramètres ont été mesurés quotidiennement pendant la période de l'expérimentation. Une quantité de nourriture a été pesée puis offerte aux souris de chaque lot, et après 24 heures, la quantité de nourriture restante a été estimée afin de déduire la quantité consommée. Le volume de l'eau consommé par chaque lot a été mesuré avec la même méthode.

#### **II-2-3-2) L'évolution pondérale**

Pour pouvoir suivre la variation pondérale des animaux pendant l'expérimentation, la moyenne du poids de toutes les souris a été mesurée avant l'induction de l'hyperlipidémie. L'évolution du poids des souris de chaque lot a été mesurée chaque cinq jours à l'aide d'une balance électronique jusqu'aux 30<sup>ème</sup> jours.

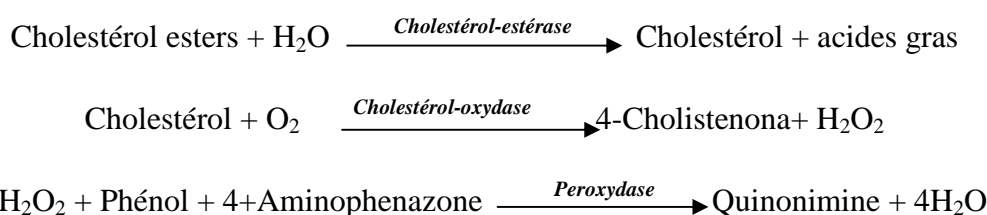


### II-2-4) Paramètres mesurés à la fin de l'expérimentation

Au 30<sup>ème</sup> jour de l'étude, les souris ont été mises à jeun durant la nuit. Le prélèvement sanguin a été effectué sous anesthésie sous l'effet de l'éther par voie de la veine jugulaire. Une fois le sang est récupéré dans des tubes contenant l'EDTA, il est centrifugé à 3000 tours/minute pendant 30 minutes pour récupérer le sérum qui va servir au dosage des lipoprotéines plasmatiques (Triglycérides et Cholestérol total).

#### II-2-4-1) Dosage du cholestérol total

Le cholestérol plasmatique est libéré par le cholestérol estérase à partir des esters de cholestérols puis oxydés par le cholestérol oxydase en cholestenona, parallèlement à la libération des molécules H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'intensité de la couleur formé, est proportionnelle à la concentration de cholestérol dans l'échantillon. L'origine de la coloration donnée est due à la formation d'un complexe selon la réaction suivante (SPINREACT, 2015) (Annexe II).



**Mode opératoire :** Le mode opératoire est illustré dans le tableau ci-dessus. Après mélange et incubation pendant 05 min à 37°C, les absorbances sont lues à 505nm et la couleur est stable pendant au moins 60 minutes.

	Blanc	Standard	Echantillon
R (ml)	1.0	1.0	1.0
Standard (µl)	-----	10	-----
Echantillon (µl)	-----	-----	10

Le taux du cholestérol total est calculé selon la formule suivante :

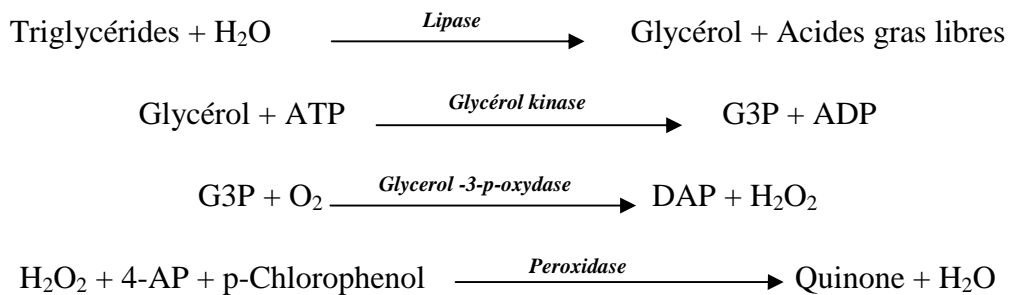
**(A échantillon / A standard) × 200 = mg/dL** de cholestérol dans l'échantillon.

Le facteur de conversion : mg/dL × 0.0258 = mmol/L.

### II-2-4-2) Dosage des triglycérides

Les triglycérides de l'échantillon sont incubés avec les lipoprotéines lipases (LPL), qui libèrent le glycérol et les acides gras libres. Le glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine-5-phosphate (ADP) par le glycérol kinase en présence d'ATP. Le glycérol-3-phosphate est convertie par la suite par le glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Dans la dernière réaction, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) réagit avec le 4-aminophenazone (4-AP) et le p-chlorophenol en présence de peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rougeâtre (SPINREACT, 2015) (Annexe II).



**Mode opératoire** : Le mode opératoire est illustré dans le tableau ci-dessous. Après mélange, les tubes sont incubés à 37°C, pendant 5 minutes. Les mesures de la densité optique (DO) sont effectuées au spectrophotomètre à 505 nm (490-550). Le taux des triglycérides est exprimé en mmol/L est donné par la formule suivante.

		Blanc	Standard	Echantillon
R	(ml)	1.0	1.0	1.0
Standard	(µl)	-----	10	-----
Echantillon	(µL)	-----	-----	10

Le taux des triglycérides total est calculé selon la formule suivante

**(A échantillon / A standard) × 200 = mg/dL** de triglycéride dans l'échantillon.

Le facteur de conversion : mg/dl × 0.0113 = mmol/L.

### II-2-4-3) Détermination du taux d'adiposité (indice de Lee)

Le taux d'adiposité a été déterminé par l'indice de Lee, qui est la racine cubique du poids du corps en grammes divisée par la longueur naso-anal en cm (Novelli et al.,

2007). L'indice de Lee est fortement corrélé avec le pourcentage de graisse corporelle. Mathématiquement, l'indice de Lee est calculé comme suit:

$$\text{indice de Lee} = \sqrt[3]{\frac{\text{poid du corp}(g)}{\text{distance naso anale}(cm)}}$$

#### II-2-4-4) Détermination de l'indice de masse corporelle (IMC)

L'indice de masse corporelle permet d'estimer l'état nutritionnel, la quantité de masse grasse de l'organisme à partir du poids et de la taille. C'est aussi un moyen simple et fiable pour dépister l'obésité. L'indice de masse corporelle est le rapport du poids (exprimé en gramme) sur le carré de la taille (exprimée en centimètre) (Novelli et al., 2007).

$$IMC = \frac{\text{poid}(g)}{\text{taille}(cm)^2}$$

### II-3) Etude histopathologique

#### II-3-1) Prélèvement d'organe

Après la collecte du sang au 31ème jour, les souris sacrifiées sous anesthésie sont fixées sur une plaque en liège sur la partie dorsale en fixant les quatre pattes à l'aide des punaises de fixation (Figure 07). Une petite incision est provoquée au niveau de périnée qui permet d'insérer une sonde d'incision. Suite à ca, on procède à la dissection de la cavité abdominale. Le foie a été isolé pour observer des changements histopathologique ou des anomalies tissulaires (lésions, couleur, consistance...etc.).



Figure 07 : La dissection des souris (Origine).

**II-3-2) Fixation**

Il consiste à figer les structures des organites cellulaires tout en conservant les constituants cellulaires et tissulaires dans un état proche du vivant. Les foies récupérés sont d'abord pesés, lavés avec de l'eau physiologique, et immédiatement immergés dans un liquide fixateur qui est le formol (10%) afin d'éviter leurs dégradation et obtenir une rigidité tissulaire suffisante. Les organes sont coupés en petits fragments et déposés dans des cassettes spéciales en plastiques.

**II-3-3) Lavage, déshydratation et éclaircissement**

Avant de procéder à la déshydratation, les pièces fixées sont lavées à l'eau courante afin d'éliminer l'excès de fixateur. Les pièces fixées et lavées sont ensuite placées dans l'automate qui est constitué de 12 cylindres, réparties en : 6 cylindres d'alcool (éthanol 100°) pour déshydrater les échantillons (étape de déshydratation), 4 cylindre de xylène pour les purifier d'alcool (étape d'éclaircissement) et 2 cylindres de paraffine pour éliminer le xylène, chaque bain prend 1h30mn dans chaque cylindre (Figure 08).



**Figure 08:** Les étapes d'inclusion par l'automate (STP 120) (CHU de Bejaia, 2015).

**II-3-4) Imprégnation, enrobage à la paraffine et confection des blocs**

L'enrobage et la confection sont réalisés en plaçant le fragment d'organe dans un moule métallique, immergé dans deux bains successifs de paraffine liquide pour que cette dernière s'infilte dans les échantillons. Ainsi, ils sont protégés contre l'humidité et le dessèchement (Figure 09). Après leur enrobage, les cassettes sont incubées à basse température jusqu'à refroidissement de la paraffine. Les blocs démoulés et taillés sont prêt à être coupés.



**Figure 09 :** Distributeur de paraffine à gauche et Réfrigérateur à droite (CHU de Bejaia, 2015).

### II-3-5) Coupage et étalement

La coupe du bloc de paraffine au microtome permet de réaliser une coupe très fine de 3 à 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur ce qui permet au rayons lumineux de microscope de traverser le prélèvement et d'éviter les superpositions cellulaires. Ces dernières sont recueillies sur des lames de verre propres à partir d'un bain marin et étalée à l'aide d'une solution d'eau gélatinée à 0.4% (Annexe III ) puis laissées séché pendant une heure à 37°C (Figure 10).



**Figure 10:** Microtome (CHU de Bejaia, 2015).

**II-3-6) Déparaffinage des coupes**

Avant la coloration, les coupes doivent être débarrassées de la paraffine, les lames sont baignées dans 2 bains successifs de xylène pendant 15 minutes chacun suivi de 3 bains, successifs d'éthanol de degrés décroissant (100%, 90%, 70%) pendant 3 minutes chacun, puis rincées à l'eau distillée pendant 1 minute.

**II-3-7) Coloration**

La méthode de coloration des tissus biologiques la plus courante est l'hématoxyline/éosine, elle est formée de deux colorants sur la même préparation, un colorant nucléaire, l'hématoxyline (violet/noir) et un colorant cytoplasmique, l'éosine (rouge).

La coloration est réalisée en mettant les lames dans un bain d'hématoxyline pendant 03 minutes suivi d'un rinçage à l'eau courante pendant 5 minutes. Les lames sont par la suite mises dans l'éosine pendant 30 secondes puis rincées rapidement avec de l'eau. L'étape qui suit consiste à une déshydratation avec l'éthanol à des concentrations croissantes (70°, 90°, 100°) pendant 2 minutes chacune. La coloration est terminée avec un bain de xylène qui prend de 2 à 3 minutes et on les laisse sécher dans une étuve.

**II-3-8) L'observation microscopique**

Les coupes sont montées entre lames et lamelles, puis observées au microscope optique. L'observation s'est faite à des grossissements G 100, révèle des noyaux violets et des cytoplasmes en rose, et la prise des photos est effectuée avec un appareil photos numérique (OPTIKA)

**II-4) Analyse statistique**

Dans chaque essai, les données expérimentales représentent la moyenne de cinq essais indépendants  $\pm$  SEM. Les moyennes ont été comparées en utilisant le test t de Student. Les valeurs sont considérées comme significativement différentes si  $p < 0,05$ .

### III) Résultat et discussion

#### III-1) Taux d'extraction

Les feuilles de la plante *Ramnus alaternus L.* ont été soumises à une extraction liquide-solide en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction. Après évaporation du solvant du filtrat, un résidu sec d'extrait brute méthanolique a été obtenu ayant un poids de 10,95g ce qui correspond à un rendement de 21,9%. Ce rendement est beaucoup plus élevé par rapport à celui obtenue par **Ljubuncic et ses collaborateurs (2005)** en utilisant comme solvant l'eau distillé qui est de l'ordre de 8%.

La différence de rendement varie en fonction de plusieurs paramètres, le taux d'extraction des composés phénolique à partir d'une matière végétale peut être influencé par leur nature chimique, la méthode d'extraction utilisée, la nature du solvant et leur degré de pureté, la température, la granulométrie de la poudre ainsi que le temps de macération.

#### III-2) Analyses phytochimiques

##### III-2-1) Teneur en polyphénols totaux

La spectrophotométrie UV/Vis a permis de quantifier la teneur en polyphénol totaux de l'extrait méthanolique de *R. alaternus*, cela a été réalisé en utilisant le réactif de folin-ciocalteu. Après l'addition de la solution du réactif de Folin Ciocalteu et de monohydrate carbonate de sodium, une couleur bleue est obtenue, Cette coloration varie en fonction de la concentration de l'extrait de la plante.

La courbe d'étalonnage (annexe I) établie à l'aide de différentes concentrations de l'acide gallique, nous a permis d'estimer la teneur en composés phénoliques de l'extrait. Elle a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en équivalent gramme d'acide gallique. La teneur en composé phénoliques est de l'ordre de  $153,54 \pm 6,82$  mg EAG/g d'extrait sec. **Kosalec et ses collaborateurs (2013)**, ont trouvé 38,4mg EAG/g de matière fraîche de l'écorce, cette différence pourrait s'expliquer par la partie qui a été étudiée (feuilles et écorces)

##### III-2-2) Teneur en flavonoïdes

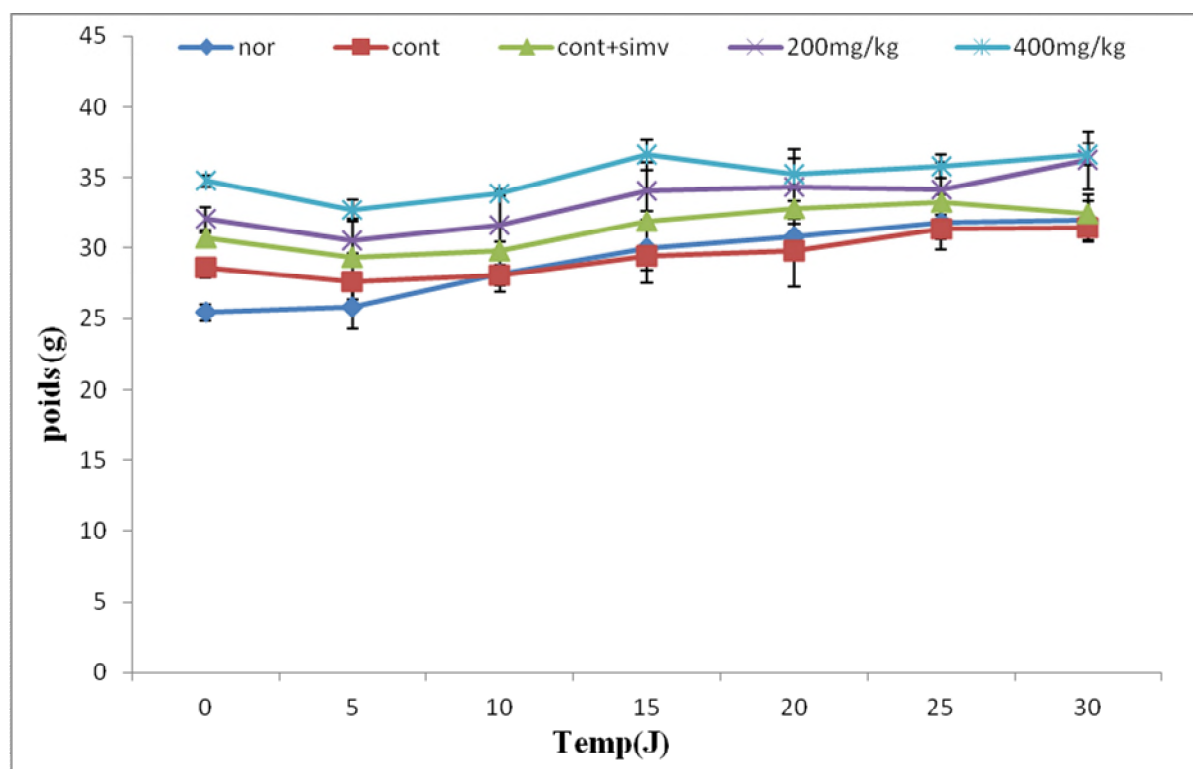
La teneur en flavonoïdes a été estimée par la méthode utilisant le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant différentes concentrations de quercétine, un flavonoïde très connu de la famille des flavonols. Après l'addition d' $AlCl_3$  et incubation, une couleur jaunâtre est obtenue dont l'intensité est

proportionnelle à la concentration de l'extrait de la plante. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique de *R. alaternus* contient environ  $189,66 \pm 16,00$  mg EQ/g d'extrait sec. Donc les feuilles de *R. alaternus* sont très riches en flavonoïdes, ce taux est inférieur à celui obtenu par **Ben Ammar et ses collaborateurs (2007)**, qui ont démontré que l'extrait méthanolique des feuilles de *R. alaternus* de Tunisie contient environ  $283 \pm 11$  mg EQ /g. Cette différence pourrait s'expliquer par la région dans laquelle la plante est cultivée, la méthode de dosage, la sensibilité et la pureté des réactifs utilisés ainsi que la période de la récolte.

### III-3) Evaluation de l'effet de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* L. sur l'hyperlipidémie induite par l'huile d'olive chez des souris *Swiss Albinos*

#### III-3-1) Evolution du poids corporel

Le gain pondéral est l'un des principaux problèmes de santé publique à l'échelle mondiale. Il existe une relation causale entre le poids et l'hyperlipidémie (**Sanchez-Castillo et al., 2005**), cette dernière est principalement associée à l'obésité en raison du changement rapide et marqué des styles de vie et des habitudes alimentaires.



**Figure 11:** Evolution pondérale durant 30 jours de traitement. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SEM.



D'après les résultats, on remarque que le poids des souris normales non traitées avec l'huile d'olive (groupe I), a subi une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) entre  $J_0$  (25.44g) et  $J_{30}$  (31.95g) qui représente environ 25% d'augmentation par rapport au poids initial. Cette augmentation n'est pas homogène tout au long de l'expérimentation, puisque au jour  $J_5$  (25.80g), on remarque une très légère augmentation par rapport au  $J_0$  (25.44g), par contre, cette différence est très remarquable entre  $J_{10}$  (28.14g) et  $J_5$  (25.80g). Entre  $J_{15}$  et  $J_{30}$ , ces augmentations restent très légères (29.96g au  $J_{15}$ , 30.84g au  $J_{20}$ , 31.78 au  $J_{25}$  et enfin 31.95 au  $J_{30}$ )

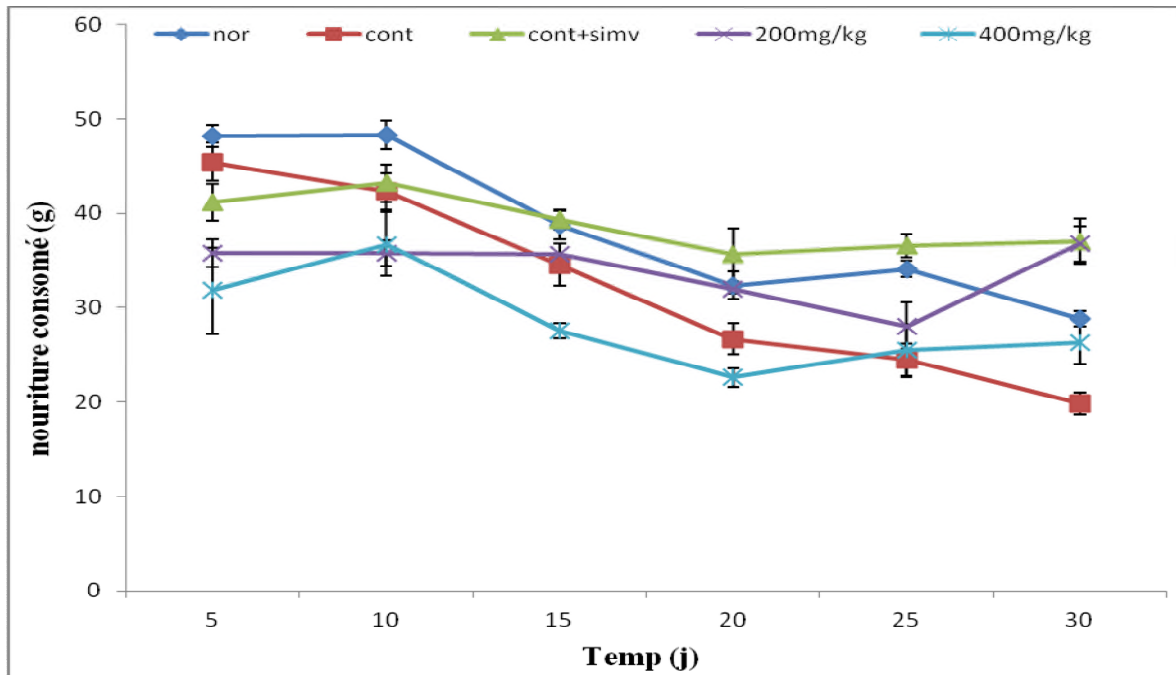
On remarque que le poids des souris du groupe II (control) et du groupe III (control + simvastatine), reste stable avec de légères fluctuations non significatives durant toute la période de traitement.

Concernant les souris des groupe IV et V traitées par 200mg/kg/jour et 400mg/kg/jour respectivement, on constate une légère augmentation du poids corporel mais qui reste non significative entre  $J_0$  (32.05g pour le groupe IV et 34.75g pour le groupe V) et  $J_{30}$  (36.20g pour le groupe IV et 36.63g pour le groupe V). Cette augmentation est de l'ordre de 12.84% et 5.41% respectivement.

La stabilité du poids corporel observée chez les souris des différents lots traités par l'huile d'olive montre que le régime utilisé n'a pas d'effet hyperlipidémiant significatif sur les souris. Cela est peut être due à la composition de l'huile d'olive. Bien que sa composition est complexe, les principaux éléments contribuant à ses avantages pour la santé comprennent l'acides oléique, les composés phénolique, et le squalène qui ont tous été testés et prouvés comme de bon anti-oxydants. En effet, les principaux phénols, hydroxytyrosol et oleuropéine piègent les radicaux libres et permettent l'inhibition de l'oxydation de la lipoprotéine de basse densité (LDL) (**Panagiotakos et Kostis, 2010**)

### III-3-2) La quantité de nourriture consommée

La figure 12 représente l'influence d'un traitement de 30 jours par l'extrait méthanolique des feuilles de *R. alaternus L.* sur le taux de consommation journalière de nourriture chez des souris saines et des souris gavées par l'huile d'olive.



**Figure 12:** Quantité de nourriture consommée. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$ SEM.

D'après les résultats, on remarque que la quantité de nourriture consommée par les souris du groupe I (normal) et II (control) diminue significativement ( $p < 0.05$ ) entre  $J_0$  et  $J_{30}$ . Par contre, chez les souris des groupes III (control + simvastatine), IV (200mg/kg/j) et V (400mg/kg/j), on constate des fluctuations non significatives (augmentation et diminution) tout au long de la période d'étude.

**Groupe IV (200 mg/kg/j) :** Les résultats obtenus montrent que la quantité de la nourriture consommée durant les 05 premiers jours par ce groupe (35,76g) est inférieure à celle consommée par les souris du groupe I (normal) (48,22g), du groupe II (control) (45,49g) et du groupe III (control + simvastatine) (41,18g). Mais reste supérieur à celle consommée par les souris traitées par 400 mg/kg/j de l'extrait (31,79 g). Au 10<sup>ème</sup> jour, on remarque que les souris ont gardé presque le même comportement alimentaire, (35,75g) et ont consommées une quantité inférieure à celle consommée par les souris des groupes I, II et III (48,37g, 42,37g et 43,23g respectivement). Au 20<sup>ème</sup> et 25<sup>ème</sup> jour, on constate une légère diminution de la quantité de nourriture consommée pour ce groupe (31.9g et 28.08g respectivement), puis une augmentation au 30<sup>ème</sup> jour (36.74g).

**Groupe V (400 mg/kg/j) :** Pour ce groupe, on constate que la quantité de la nourriture consommée a augmenté légèrement durant les 10 premiers jours (31,79g et 36,72g respectivement), puis a diminuée légèrement aussi entre le 10<sup>ème</sup> et le 20<sup>ème</sup> jour (36.72g au

J<sub>10</sub>, 27.60g au J<sub>15</sub> et 22.58g au J<sub>20</sub>). Entre le 20<sup>ème</sup> et le 30<sup>ème</sup> jour, la quantité de nourriture consommée revient à la hausse, mais c'est une hausse non significative (22.58g au J<sub>20</sub>, 25.51g au J<sub>25</sub> et 26.27g au J<sub>30</sub>).

La diminution de la quantité de la nourriture consommée peut s'expliquer par la composition de l'huile d'olive. L'acide oléique, un acide gras mono-insaturé dont l'huile d'olive est particulièrement riche, aurait pour effet de déclencher dans l'organisme les signaux de la satiété, ce qui aurait incité les souris à manger moins. Les chercheurs ont introduit, dans l'intestin grêle des rats, de l'acide oléique, de l'acide palmitique (acide gras saturé), des protéines ou des glucides. Seul l'acide oléique a eu pour effet d'augmenter la production d'oléoyléthanolamide, (l'acide oléique est transformé dans le petit intestin en oléoyléthanolamide) une hormone qui agit comme transmetteur des signaux de satiété, et qui par conséquent, diminue l'appétit. Donc un apport approprié en acide oléique pourrait contribuer à prolonger l'intervalle entre les repas et s'avérer utile dans la lutte contre l'excès de poids (Schwartz *et al*, 2008).

### III-3-3) Le volume d'eau consommée

Le volume d'eau consommé durant la période de traitement est mesuré quotidiennement

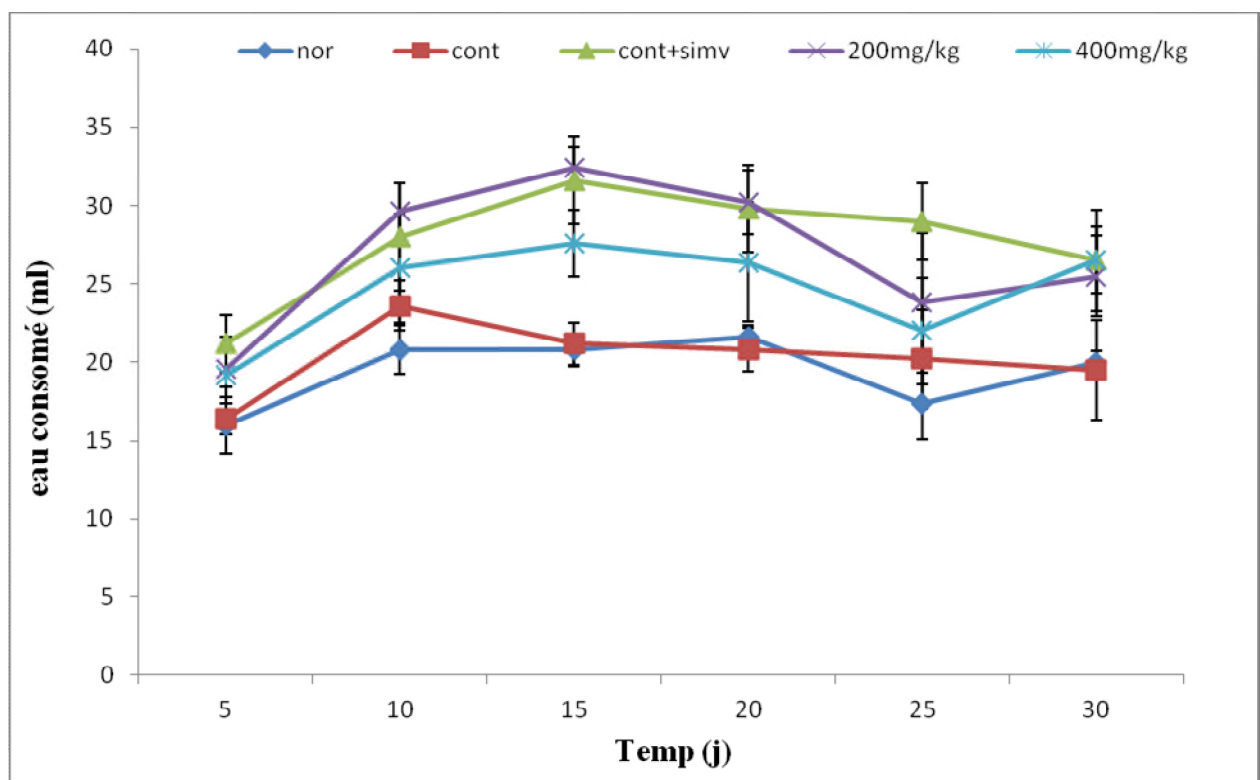


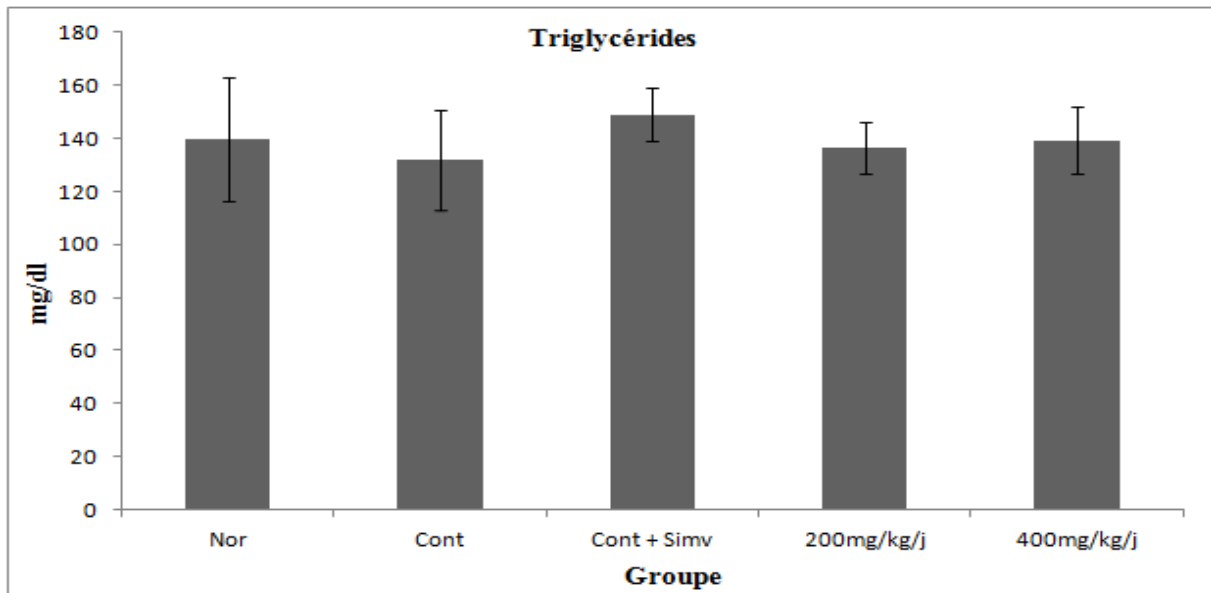
Figure 13: Quantité d'eau consommée. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SEM.

**Groupe IV (200 mg/kg/jour) :** on remarque que le volume d'eau consommé par ce groupe durant les 15 premiers jours a subi une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) (32,4ml) par rapport à celui consommé par les souris des groupes I, II, III et V (20,8ml, 21,2ml, 31,6ml, 27,6ml respectivement). Et on constate que le volume d'eau consommé par ce groupe représente le volume le plus élevé durant toute l'expérimentation par rapport à tous les autres groupes. Au 20<sup>ème</sup> jour on remarque que la quantité de l'eau consommée par ce groupe subit une légère diminution mais qui est non significative, et qui reste toujours plus élevée par rapport aux autres groupes. du 25<sup>ème</sup> au jour 30<sup>ème</sup> jour on remarque une augmentation non significative de la quantité de l'eau consommée par ce groupe (23,8ml au J<sub>25</sub>, 25,5 au J<sub>30</sub>), qui est supérieur à la quantité consommée par les souris des groupes I et II (20ml, 19,5ml respectivement) et inférieure au volume consommé chez les souris des groupes III et V qui représente un volume identique 26,5ml.

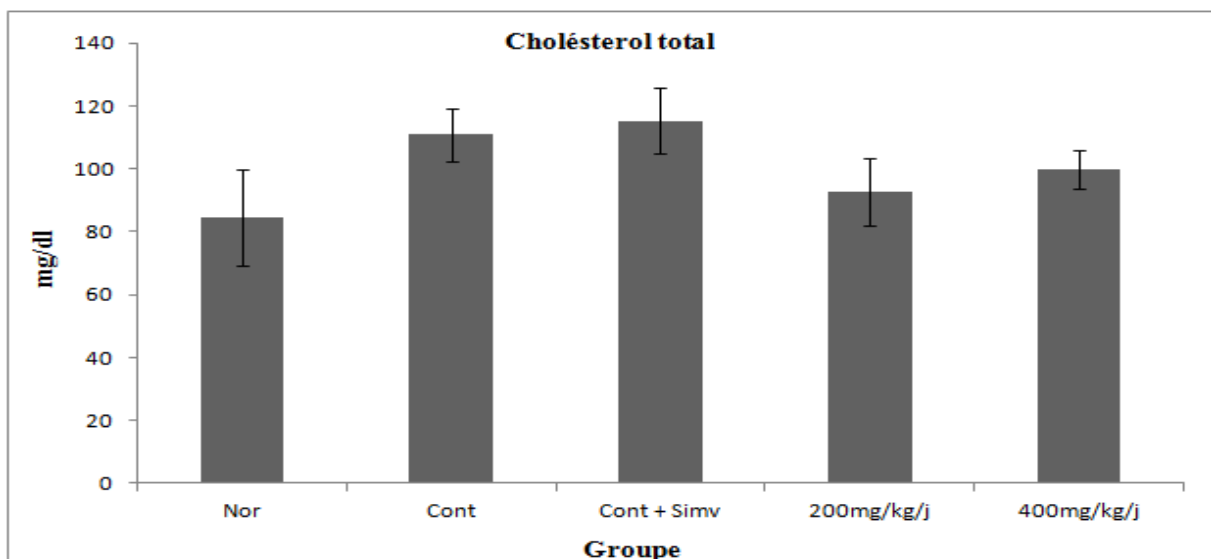
**Groupe V (400 mg/kg/jour) :** Suite aux résultats obtenus, on remarque une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du volume d'eau consommé par ce groupe durant les 15 premiers jours de traitement (19,2ml au J<sub>5</sub>, 26ml au J<sub>10</sub> et 27,6 ml au J<sub>15</sub>), des quantités qui sont inférieures par rapport à celles consommées par les souris des groupes III (control + simvastatine), (21,2ml au J<sub>5</sub>, 28ml au J<sub>10</sub> et 31,6ml au J<sub>15</sub>) et groupe IV (200mg/kg/j). Mais qui reste supérieures par rapport aux autres groupes, normale et contrôle. du 20<sup>ème</sup> au 25<sup>ème</sup> on observe que la quantité de l'eau consommée par ce groupe a diminué légèrement, (26,4ml au J<sub>20</sub> et 22ml au J<sub>25</sub>). Au dernier jour de l'expérimentation, on note que la quantité de l'eau consommée par ce groupe a augmenté jusqu'à 26,5ml mais qui reste non significative, et on constate que ce volume est équivalent à celui consommé par les souris du groupe III (control + simvastatine) (26,5ml) et qui reste toujours supérieur par rapport au volume consommé chez les groupes I (normale) et II (contrôle).

### **III-3-4) Dosage du cholestérol total et des triglycérides plasmatiques**

Les résultats du dosage des triglycérides et du cholestérol total à la fin de l'expérimentation (31<sup>ème</sup> jour) sont illustrés dans les figures 14 et 15 respectivement.



**Figure 14:** Taux des triglycérides. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SEM.



**Figure 15 :** Taux du cholestérol total. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SEM.

Dans cette étude, les résultats montrent que l'huile d'olive n'a pas provoqué une augmentation significative ( $p > 0.05$ ) des taux du cholestérol total et des triglycérides, par rapport aux souris normales qui n'ont pas été gavées quotidiennement avec de l'huile d'olive.

En effet, l'huile d'olive a été largement utilisée comme un outil d'enquête pour étudier le métabolisme des lipides. C'est la source la plus importante de matières grasses dans le régime alimentaire méditerranéen, et il a été traditionnellement consommé en quantité élevée. Des études sur l'huile d'olive et la prévention des maladies ont suscité un intérêt considérable. En 2004, la US Food and Drug Administration (FDA) a approuvé la

consommation d'huile d'olive pour la prévention contre les maladies cardiovasculaires. Mais en même temps, selon l'International Obesity Task Force, les pays méditerranéens ont une forte prévalence de l'obésité et du surpoids en comparaison avec d'autres pays européens (Bes-Rastrollo et al., 2010)

D'autre part, d'après Helal et al (2012), les concentrations du cholestérol ont augmentés après la consommation de l'huile d'olive. Mais d'autres études montrent que la consommation d'huile d'olive peut avoir des effets favorables sur l'hypercholestérolémie et l'hypertension (Perona et al., 2010). D'après Carluccio (2010) l'huile d'olive peut en effet être considérée comme un aliment fonctionnel protecteur contre plusieurs facteurs de risque, et la prévention du syndrome métabolique, l'hypertension et les maladies cardiovasculaires. (Assy et al., 2010 ; Carluccio1 et al., 2010)

Étant donné que l'huile d'olive n'a pas augmenté significativement le taux des lipides sanguins (triglycérides et cholestérol), donc chez les souris du lot III la simvastatine n'a probablement pas d'effet sur ses dernières. Cependant, des études ont montré que la simvastatine a des effets hypolipidémiant et permet le traitement et la prévention de l'hyperlipidémie en inhibant la HMG-CoA reductase et la synthèse du cholestérol (Zhengyu et al., 2013). Enfin chez les deux groupes IV et V le taux des lipides sanguin est le plus faible en comparaison avec les autres groupes. Cela est probablement dû à l'extrait de *Rhamnus alaternus* qui a déjà montré un bon effet hypolipidémiant dans une hyperlipidémie aigüe induite par le triton WR-1339.

### III-3-5) indice de masse corporelle (IMC) et l'indice de Lee

L'indice de Lee est un indice d'adiposité, il permet de mesurer la teneur du tissu adipeux chez les souris. L'indice de masse corporelle (IMC) de son côté offre un moyen de classer le poids corporel en fonction des risques pour la santé.

**Tableau III** : Calcul de l'indice de masse corporelle et l'indice de Lee, après 30 jours de traitement.

Groupe	IMC (g/cm <sup>2</sup> )	LI
Nor	0,305 ± 0,011	1,461 ± 0,018
Cont	0,294 ± 0,009	1,448 ± 0,014
Cont + simv	0,293 ± 0,011	1,45 ± 0,019
200mg/kg/j	0,394 ± 0,009	1,51 ± 0,020
400mg/kg/j	0,332 ± 0,007	1,515 ± 0,009

L'indice de masse corporel est maintenu stable chez les souris des lots I, II, III (0,30 g/cm<sup>2</sup>, 0,29 g/cm<sup>2</sup>, 0,29 g/cm<sup>2</sup> respectivement). Chez les deux groupes IV et V (200 et 400mg/kg/j), on constate une légère augmentation mais qui reste non significative. Les souris du lot IV présente une valeur supérieure (non significatif (p>0,05)) à celle observée chez les souris du lot V.

Concernant l'indice de Lee, il reste homogène chez les groupe I, II, III (1,46g/mm-1,44g/mm-1,45g/mm respectivement), mais une augmentation non significatif s'est observée chez les groupe IV et V (1,51g/mm-1,51g/mm). Bien que les cinq groupes présentent un indice de graisse corporelle proche, il n'y a pas de différences significatives dans leurs indices de Lee.

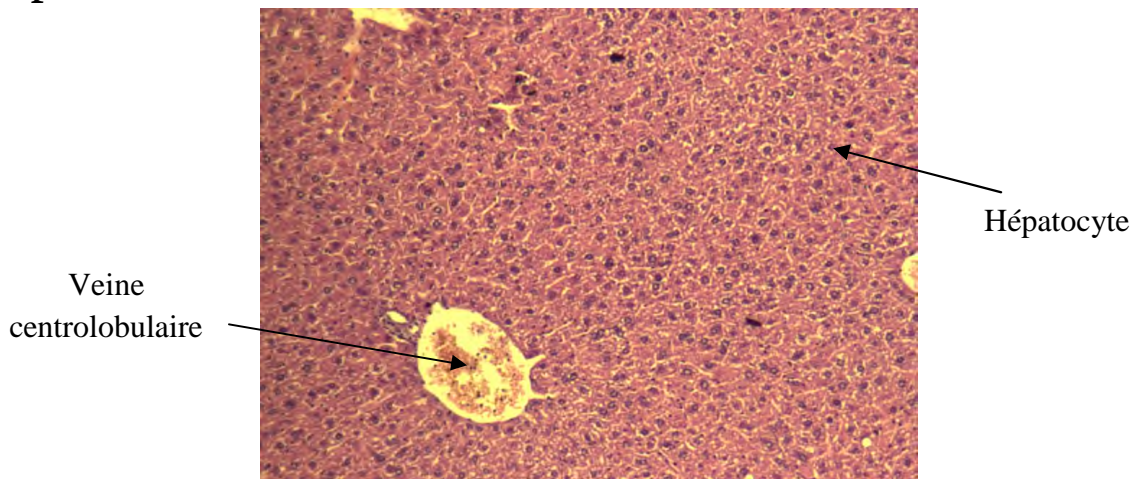
### III-3-5) Etudes histologiques du foie

#### Histologie du foie

Les figures (16,17, 18, 19 et 20) représentent respectivement des coupes histologiques du foie coloré avec l'hématoxyline/éosine, réalisées après 30 jours du traitement. Les figures montrent qu'il n'ya pas de dépôt des lipides à l'intérieur des hépatocytes (dans tous les lots), on constate que l'huile d'olive n'a pas induit une diffusion des lipides dans le foie. Donc le foie révèle un aspect normal sans modification hépatiques, les hépatocytes s'organisent de façon radiale autour des veines centro-lobulaires qui reçoit le sang à partir du parenchyme hépatique au contacte des sinusoides. On constate la présence de petite inflammation chez les souris des groupes II, III et IV.

L'étude de l'effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *Rhamnus alaternus* sur le profil lipidique, et les analyses des coupes histologique du foie des souris traitées par l'huile d'olive, montrent que cet extrait ne présente pas d'effet hypolipidémiant. Ces résultats conduisent à penser que, l'huile d'olive (régime de type méditerranéen), pauvre en AG saturé et riche en AG mono insaturé na pas induit une hyperlipidémie. Sachant que des études sur ce dernier ont révélées que sa consommation conduit à une augmentation importante dans le taux de lipides et cela en fonction du pays ( **Bes-Rastrollo et al., 2010**). Étant donné que l'huile d'olive n'a pas induit une augmentation du taux des lipides sanguins, donc l'effet de l'extrait de *Rhamnus alaternus* est absent, vue que le taux de lipides n'est pas élevé. Des études ont montrées que cet extrait est efficace pour diminuer le taux des lipides plasmatiques, le risque de déclenchement d'athérosclérose et de stéatose hépatique.

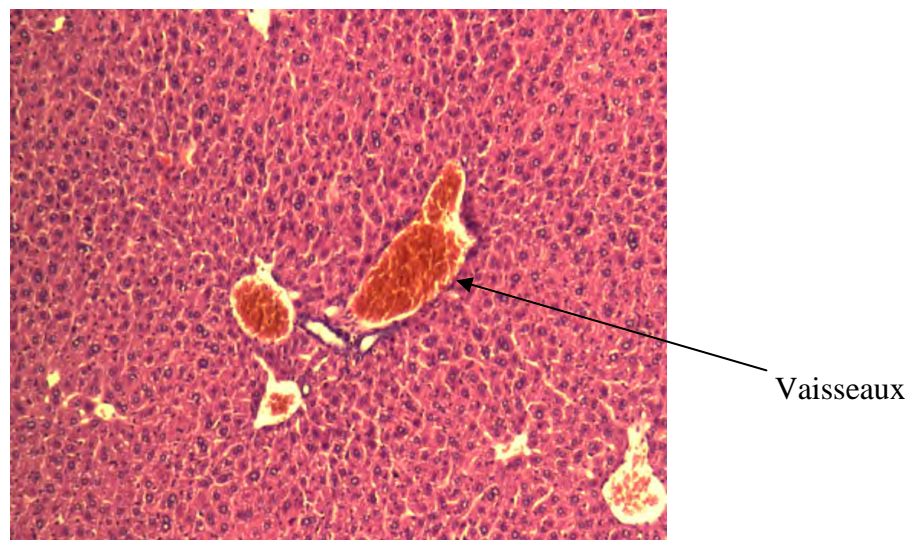




**Figure 16** : Coupe histologique du foie d'une souris du lot I (normal) (Gx100).

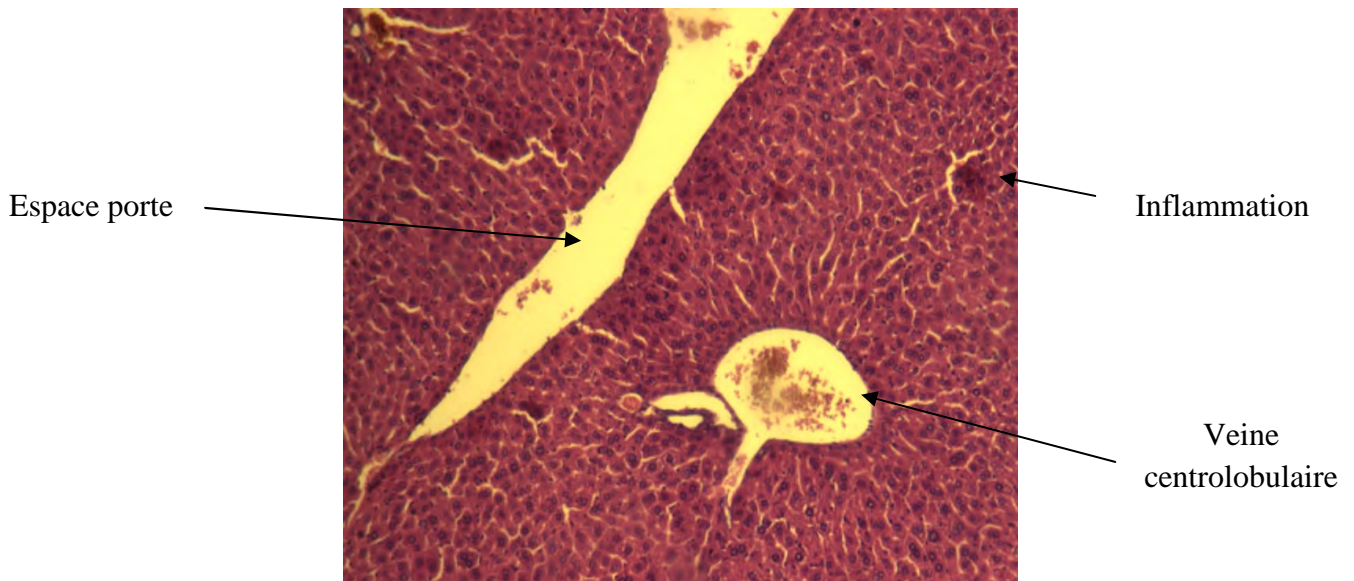


**Figure 17** : Coupe histologique du foie d'une souris du lot II (contrôle) (Gx100).

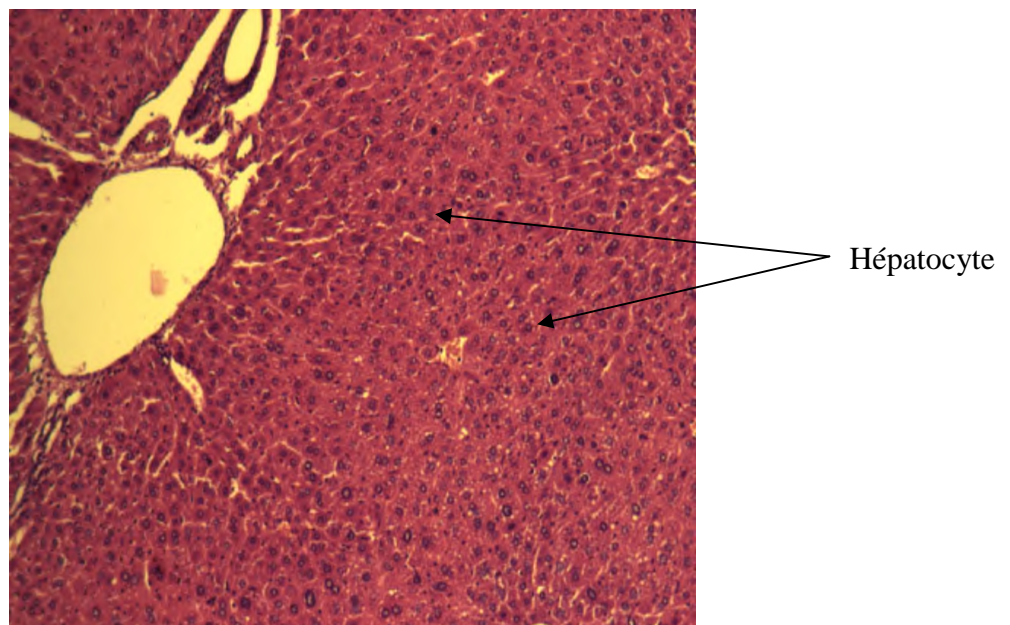


**Figure 18** : Coupe histologique du foie d'une souris du lot III (contrôle + simvastatine) (Gx100).





**Figure 19** : Coupe histologique du foie d'une souris du lot IV (200mg/kg/jour) (Gx100).



**Figure 20**: Coupe histologique du foie d'une souris du lot V (400mg/kg/jour) (Gx100).

La médecine traditionnelle joue un rôle crucial dans le traitement de diverses maladies, tel que l'hyperlipidémie, un syndrome métabolique qui a touché l'humanité depuis des siècles. *Rhamnus alaternus* est connue pour ses bienfaits thérapeutiques ayant le pouvoir de guérir certaines maladies telles que l'anémie.

Le présent travail est consacré à l'étude de l'extrait méthanolique des feuilles de *Rhamnus alaternus* ainsi que son impact sur le développement de l'hyperlipidémie induite par l'huile d'olive.

Le protocole d'extraction appliqué est de type liquide-solide, par le méthanol. Le taux d'extraction est de 21,9%. L'évaluation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes de *Rhamnus alaternus* révèle la présence de taux assez important de ces derniers ( $153,54 \pm 6,82$  mg EAG/g et  $189,66 \pm 16,00$  mg EQ/g respectivement). L'analyse de ses paramètres démontre que les feuilles de *Rhamnus alaternus* sont très riches en composés phénoliques particulièrement en flavonoïdes.

L'évolution du poids pondérale des souris a montré que ce dernier reste stable chez les souris des différents lots. D'autre part, l'évaluation de la quantité de nourriture consommée par les souris a subi une diminution, et donc diminution de l'appétit. Concernant la mesure de la quantité de l'eau consommée, on constate une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du volume d'eau consommé chez les souris du Groupe V (400 mg/kg/jour. Pour le Groupe IV (200 mg/kg/jour) une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du volume de l'eau consommé a été observée durant les 15 premiers jours.

L'ensemble des résultats obtenus sur l'effet de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* sur l'hyperlipidémie induite par l'huile d'olive à des doses 200 et 400mg/kg, a montré que cet extrait n'a pas induit une diminution significative du taux du cholestérol total et des triglycérides. ( $p > 0,05$ ) par rapport aux souris des groupe I (normal) et II (control), cela peut être du soit, à l'inefficacité de l'extrait soit au model de souris utilisés (huile d'olive), puisque même les souris du groupe II (control) n'ont pas subi une augmentation significative des taux de cholestérol total et triglycérides, par rapport au souris du groupe I (normal). Enfin l'analyse des coupes histologiques a été effectuée après 30 jours de traitement, les résultats obtenus montrent une absence de dépôt de lipides dans le foie chez les souris de tous les groupes, ce qui n'a pas donné de différence dans l'histologie des foies des souris.

Pour une initiative approfondie, des études futures doivent être entreprises afin d'évaluer et compléter ses expériences, en utilisant un autre modèle de régime riche en lipides (notamment en acide gras saturés), permettant l'obtention de meilleur résultats et une bonne compréhension de divers mécanismes ayant engendré ces activités.

- **Acajjaoui, H. (2011).** *Analyse d'une étude prospective sur les effets indésirables des inhibiteurs de l'HMG-CoA reductase réalisée dans une officine versus cas rapportés et revues bibliographiques.* Thèse, Pharmaceutical sciences, université Joseph Fourier, p.19-38.
- **Ammar, RB., Kilani, S., Bouhlel, I., Ezzi, L., Skandrani, I., Boubaker, J., Sghaier, MB., Naffeti, A., Mahmoud, A., Chekir-Ghedira, L. et Ghedira, K.(2008).** Antiproliferative, antioxidant, and antimutagenic activities of flavonoid-enriched extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L.: combination with the phytochemical composition. *Drug Chem Toxicol*, 31(1):61-80.
- **Amuamuta, A. (2014).** A review on risk factors/indicators and effects of hyperlipidemia. *Middle-east journal of scientific research*, 22(6): 886-893.
- **Arai, T., Mori, N., Lee, P., Muranaka, S., Sagara, F., Takemitsu, H., Nishiyama, Y., Yamamoto, I. et Yagishita, M.(2010).** Predisposition for primary hyperlipidemia in Miniature Schnauzers and Shetland sheepdogs as compared to other canine breeds. *Research in Veterinary Science*, 88: 394-399.
- **Aronne, G et Wilcock, C-C. (1995).** Reproductive lability in pre-dispersal biology of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae). *Protoplasma*, 187:49-59.
- **Assy, N., Nassar, F. et Grosowski, M. (2010).** Chapter 126 – Monounsaturated Fat Enriched with Olive Oil in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* :p1151–1156.
- **Bas, J.M., Oliveras, J. et Gómez, C. (2009).** Myrmecochory and short-term seed fate in *Rhamnus alaternus*: Ant species and seed characteristics. *Acta Oecologica*, 35(3) :380-384.
- **Ben Ammar, R., Bhouiri, W., Ben Sghaier M., Boubaker J., Skandrani I., Neffati, A., Bouhlel, I., Kilani, S., Mariotte, A.M., Chekir-Ghedira, L., Dijoux-Franca, M.G. et Ghedira, K. (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry*, 116 (1): 258–264.
- **Ben Ammar, R., Bouhlel, I., Valenti, K., Ben Sghaier, M., Kilani, S., Mariotte, A.M., Dijoux-Franca, M.G., Laporte, F., Ghedira, K. et Chekir-Ghedira, L. (2007).** Transcriptional response of genes involved in cell defense system in human cells stressed by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and pre-treated with (Tunisian) *Rhamnus alaternus* extracts:

Combination with polyphenolic compounds and classic in vitro assays .*Chemico-Biological Interactio*, 168: 171-183.

- **Benlian, P., De Gennes, J.L., Dairou, F., Hermelin, B., Ginon, I., Villain, E., Lagarde, J.P. Federspiel, M. C., Bertrand, V. Bernard, C. et Bereziat ,G. (1996).** Phenotypic expression in double heterozygotes for familial hypercholesterolemia and familial defective apolipoprotein B-100. *Hum Mutat.* **7**: 340-345.
- **Berne, J.M.N. (2005).** Athérosclérose et hyperlipidémies primaires –un problème pédiatrique? *Paediatrica*, 16 (6): 34-37.
- **Bes-Rastrollo, M., Soares, M.J. et Martinez-Gonzalez, M.A. (2010).** Chapter 96 – Olive Oil Consumption and Weight Gain. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* : P. 895–902.
- **Couvert, P., Giral, P., Rousselot, D.B. et Carrié, A. (2010).** Les dyslipidémies héréditaires. *Biochimie métabolique et hérédité*, n°425 :73-85.
- **Davis , B. T., Wang, X.J., Rohret, J.A., Struzynski, J.T., Merricks, E.P., Bellinger, D.A., Rohret, F. A., . Nichols, T. C. et Rogers C.S. (2014).** Targeted Disruption of LDLR Causes Hypercholesterolemia and Atherosclerosis in Yucatan Miniature Pigs. *PLoS One*, 9(4).
- **Farnier,M. et Davignon, J. (1998).** Current and future treatment of hyperlipidemia: the role of statins. *The american journal of cardiology*, 82(4): 3-10.
- **Fredrickson, D.S., Levy R.I. et Lees, R.S. (1967).** Fat transport in lipoproteins. An integrated approach to mechanism and disorders. *N Engl J Med*, 276 (1) : 34-44.
- **Goldstein, J.I. et Brown, M. S. (1973).** Familial Hypercholesterolemia: Identification of a Defect in the Regulation of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Activity Associated with Overproduction of Cholesterol. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 70 (10):2804-2808.
- **Gotto, AM. et Pownall, H. (1999).** Manual of lipid disorders. Reducing the risk for coronary heart disease. Lippincott-Williams and Wilkins. *Baltimore*, pp. 231-232.
- **Grauvogel, J., Daemrlich, TD., Ryschich, E., Gebhard, MM. et Werner, J. (2010).** Chronic alcohol intake increases the severity of pancreatitis induced by acute alcohol administration, hyperlipidemia and pancreatic duct obstruction in rats. *Pancreatology*, 10: 603-12.
- **Grundy, S.M., Chait A. et Brunzell J.D. (1987).** Familial combined hyperlipidemia. *Arteriosclerosis* **7**: 203-207.

- **Häberle1, J., Lämmle1, A. et Baumgartner1, M.R. (2013).** Troubles du métabolisme lipidique de l'enfant. *Paediatrica*, 24(4) :20-23.
- **Harikumar, K., Althaf, S.A., kumar, B.k., Ramunaik, M. et Suvarna, CH. (2013).** A review on hyperlipidemia. *International journal of novel trends in pharmaceutical sciences*, 3 (4): 59-68.
- **Hassan, B.A.R. (2013).** Overview on hyperlipidemia. *Chromatography separation techniques*, 4(2):4-2.
- **Helal, O., Berrougui, H., Loued, S., et Khalil, A. (2012).** Vierge extra-consommation de l'huile d'olive améliore la capacité des HDL de médiation efflux de cholestérol et augmente ABCA1 et d'expression de ABCG1 dans les macrophages humains. *British Journal of Nutrition*, 109 (10) :1844-1855.
- **Hogue, J.C. (2004).** Contribution de la protéine de transfert des esters de cholestérol à l'hétérogénéité de particules ldl dans l'hypercholestérolémie familiale hétérozygote. Mémoire. Médecine expérimentale. Université Laval.
- **Iqbal, J., Rudel, L. L., et Hussain, M. M. (2008).** Microsomal triglyceride transfer protein enhances cellular cholesteryl esterification by relieving product inhibition. *The Journal of biological chemistry*, 283:19967-19980.
- **Junquero, D. et rival, Y. (2005).** Syndrome métabolique : quelle définition pour quel(s) traitement(s) ? . *Médecine/sciences*, 12(21): 1045-1053.
- **Kosalec, I., Kremer,D., Locatelli, M., Epifano, F., Genovese, S., Carlucci, G., Randić, M.et Zovko Končić, M.(2013).** Anthraquinone profile, antioxidant and antimicrobial activity of bark extracts of *Rhamnus alaternus*, *R. fallax*, *R. intermedia* and *R. pumila*. *Food Chemistry*, 136(13):335-341.
- **Kumar, A., Sunil, C., Salam, A.D., Suriya, A.S., Tomy,D. et Carla, D.(2013).** A review of hyperlipidemia and medicinal plants. *INT.J.A.PS.BMS*, 2(4): 219-237.
- **Liu, J., Zhang, F., Li, C., Lin, M. et Briggs, M.R. (2002).** Synergistic Activation of Human LDL Receptor Expression by SCAP Ligand and Cytokine Oncostatin M. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, p91-96.
- **Ljubuncic , P ., Azaizeh, H., Portnaya , I., Cogan ,U., Said, O., Saleh, KA. et Bomzon, A.(2005).** Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel. *J Ethnopharmacol*, 99(1):43-47.

- **Martins, I. J., Hone, E., Chi, C., Seydel, U., Martins, R. N., and Redgrave, T. G. (2000).** Relative roles of LDLr and LRP in the metabolism of chylomicron remnants in genetically manipulated mice. *Journal of lipid research*, 41:205-213.
- **Mata, p., Alonso, R., Ruíz-García, A., Díaz-Díaz, J.L., González, N., Gijón-Conde, T., Martínez-Faedo, C., Morón, L., Arranz, E. et al. (2014).** Hiperlipidemia familiar combinada: documento de consenso. *Aten Primaria*, 46(8):440-446.
- **McCordle, B.W. (2003).** Drug therapy of hyperlipidemia. *Progress in pediatric cardiology*, 17: 141–150.
- **McElduff, P., Dobson, A., Beaglehole, R. et Jackson, R. (1998).** Rapid reduction in coronary risk for those who quit cigarette smoking. *Aust N Z J Public Health*, 22(7):787-791.
- **Merkel, M., Heeren, J., Dudeck, W., Rinninger, F., Radner, H., Breslow, J. L., Goldberg, I. J., Zechner, R., et Greten, H. (2002).** Inactive lipoprotein lipase (LPL) alone increases selective cholesterol ester uptake in vivo, whereas in the presence of active LPL it also increases triglyceride hydrolysis and whole particle lipoprotein uptake. *The Journal of biological chemistry*, 277:7405-7411.
- **Miramond, M. (2012).** *Le rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge des dyslipidémies: de la sécurisation à l'accompagnement.* Thèse, pharmaceutical sciences, université Joseph Fourier, p.22-30.
- **Nazir, A. (2012).** *Lipémie postprandiale et lactoferrine : le Lipolysis Stimulated Receptor comme cible potentielle.* Thèse, procédés biotechnologiques et alimentaires, Université de Lorraine, p.19-28.
- **Nelson, R.H. (2014).** Hyperlipidemia as a Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Author- manuscript*, 40(1): 195-211.
- **Nirosha, K., Divya, M., Vamsi, S. et Sadik, M. (2014).** A review on hyperlipidemia. *International journal of novel trends in pharmaceutical sciences*, 4 (5): 81-90.
- **Novelli, E.L.B., Diniz, Y.S., Galhardi, C.M., Ebaid, J.M.X., Rodrigues, H.G., Mani, F., Fernandes, A.A.H., Cicogna, A.C. et Novelli Filho, J.L.B.V. (2007).** Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals*, 41: 111–119.
- **Owen, P.L. et Johns, T. (1999).** Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacologie*, 64: 149-160.

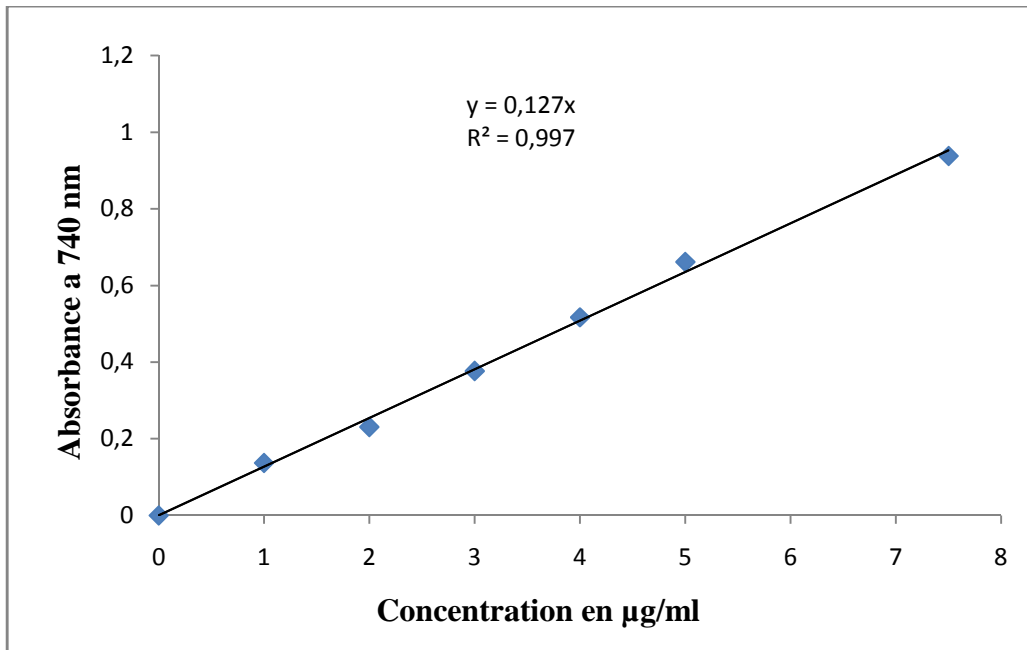
- **Panagiotakos, D. et Kostis, R. (2010).** Chapter 83 – Olive Oil and Acute Coronary Syndromes: The CARDIO2000 Case-control Study. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* : p.795–800.
- **Perona, J.S., Cabello-Moruno, R. et Ruiz-Gutiérrez, V. (2010).** Chapter 88 – Pomace Olive Oil and Endothelial Function. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* : P. 829–834.
- **Prono, C., Philippe, C., Maitrot, B. et Wolf, L.M. (1990).** hypelipidimie induit par l'alcool : relation avec le phénotype des apolipoprotéines E. *Bulletin de la SNFMI* n°24.
- **Puthot, M. (2011).** *Le potentiel de tératogénicité des statines et fibrates : revue de la littérature et étude à partir d'un cas clinique déclaré au centre régional de pharmacovigilance de Grenoble.* Thèse, Pharmaceutical sciences, université Joseph Fourier, P.31-104.
- **Quettier-deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J. C. Bailleul, F. et Trotin, F. (2000).** Phenolic compounds and antioxidants activities of buckwheat hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72: 35-42.
- **Redgrave, T. G., et Small, D. M. (1979).** Quantitation of the transfer of surface phospholipid of chylomicrons to the high density lipoprotein fraction during the catabolism of chylomicrons in the rat. *The Journal of clinical investigation*, 64:162-171.
- **Ribéreau Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P. et Ribéreau Gayon, P. (1982)** .Composés phénoliques. In *Traité d'oenologie, sciences et techniques du vin*, pp.477-499.
- **Ribéreau-Gayon, P.(1968).** Notion générales sur les composés phénoliques. In *Composées phénoliques des végétaux.* Edition Dunod, Paris, pp. 105-133.
- **Rohilla,A., Dagar, N., Rohilla, S., Dahiya, A. et Kushnoor, A. (2012).** Hyperlipidemia- a deadly pathological condition. *International journal of current pharmaceutical research*, 4(3):15-18.
- **Sadik, F.et Emeritus, D. (2013).** Hyperlipidemia-Update & Review. *Pharmacy continuing education from wf professional associates*, 35(1): 3-11.

- **Sagar, D., Nirzarini, S., Punam, S., Nikunj, P. et Dilip, J. (2011).** A Study of Anti-Hyperlipidemic Activity of Polyherbal Formulation Using Various Experimental Animal Models. *Inventi Rapid: Ethnopharmacology*, 2(1):1-4.
- **Sánchez-Castillo, C.P., Velásquez-Monroy, O., Lara-Esqueda, A., Berber, A., Sepulveda, J., Tapia-Conyer, R. et James, W.P.T. (2005).** les augmentations de diabète et d'hypertension Dans Une société à l'obésité abdominale: Résultats de l'Enquête sur la santé nationale mexicaine 2000. *Santé publique Nutr*, 8 (1) : 53-60.
- **Sarac I, Backhouse, K., Shojaee-Moradie, F., Stolinski, M., Robertson, MD., Bell, JD., Thomas, EL, Hovorka, R., Wright, J. et al. (2012).** Gender Differences in VLDL1 and VLDL2 Triglyceride Kinetics and Fatty Acid Kinetics in Obese Postmenopausal Women and Obese Men. *J Clin Endocrinol Metab*, 97(7):2475-2481.
- **Schwartz, G.J., Fu, J., Astarita, G., Li, X., Gaetan, i S., Campolongo, P., Cuomo, V. Piomelli, D. (2008).** Le lipide messenger OEA Liens consommation de graisses alimentaires à satiété. *Metab cellule*, 8(4):281-288.
- **Seol, I.C., Jo, H.K., Shin, H.S., Han, J.M., Choi, M.K., Son, C.G. et Yoo, H.R. (2014).** Anti-atherosclerosis and hyperlipidemia effects of herbal mixture, Artemisia iwayomogi Kitamura and Curcuma longa Linne, in apolipoprotein E-deficient mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 153:142-150.
- **Silbernagl, S. et Lang, F. (2003).** Reins, équilibre hydrominéral. Métabolisme des lipoprotéines. In *Atlas de poche de physiopathologie*. Flammarion, pp.118-247.
- **Singer, W. (2002).** L'hypothyroïdie subclinique. *Endocrinologie*, 2(10).
- **Tall, A. R., Costet, P. et Wang, N. (2002).** Regulation and mechanisms of macrophage cholesterol efflux, *J Clin Invest*, 110:899-904.
- **Trautwein, EA., Kunath-Rau, A., Dietrich, J., Drusch, S. et Erbersdobler, HF. (1997).** Effet des graisses alimentaires riches en acides laurique, myristique, palmitique, oléique ou l'acide linoléique à plasma, hépatiques et des lipides biliaries de cholestérol chez des hamsters nourris. *Br J Nutr*, 77(4): 605-620.
- **Wu, N., Sarna, LK., Hwang, SY., Zhu, Q., Wang, P., Siow, YL. et O K. (2013).** Activation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase during high fat diet feeding. *Biochim Biophys Acta*, 1832(10):1560-1580.
- **Xenoulis, P. et Steiner, J. (2010).** Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. *The veterinary journal*, 183: 12-21.

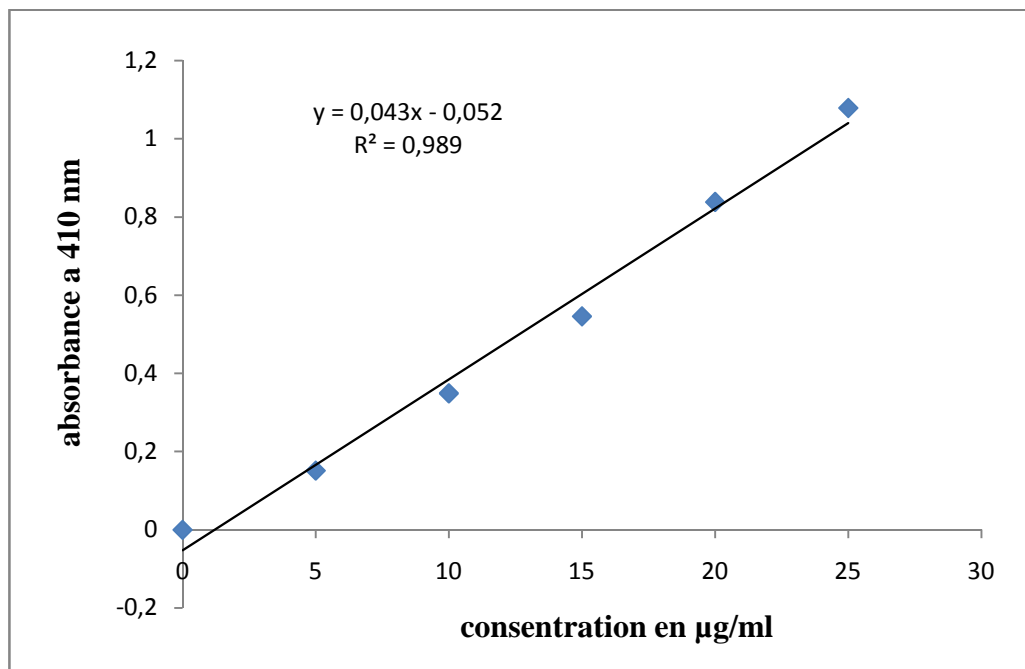


- **Yagyu, H., Lutz, EP., Kako, Y., Marks, S., Hu, Y., Choi, SY., Bensadoun, A. et Goldberg, IJ. (2002).** Very low density lipoprotein (VLDL) receptor-deficient mice have reduced lipoprotein lipase activity. Possible causes of hypertriglyceridemia and reduced body mass with VLDL receptor deficiency. *J Biol Chem*, 277(12):10037-10043.
- **YI-ling, C et Pan-Kai, C. (1982)** . Rhamnaceae. In: Chen Yi-ling, ed., *FL. Reipubl. Popularis Sin.* 48(1):1-169.
- **Zhanga, Z., Zhanga, M., Li, Y ., Liu, S., Ping, S., Wang., J., Ning,F., Xie, F. et Li, C. (2013).** Simvastatin inhibits the additive activation of ERK1/2 and proliferation of rat vascular smooth muscle cells induced by combined mechanical stress and oxLDL through LOX-1 pathway. *Cellular Signalling*, 25(1): 332–340.

**Annexe I** : les courbes d'étalonnage utilisées pour le dosage des polyphénols totaux et les flavonoïdes



**Figure 01** : courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphenoles totaux en utilisant l'acide gallique.



**Figure 02** : courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes en utilisant la quercétine.

**Annexe II :** Fiches techniques de la composition des réactifs du dosage des paramètres Lipidiques sanguins.

**Fiche technique N° 1**

Réactif pour le dosage du cholestérol total

<b>R1</b> Buffer	PIPE pH 6.9	90 mmol/L 26 mmol/L
<b>R2</b> Enzyme	Cholestérol estérase (CHE) Cholestérol oxydase (CHOD) Peroxydase (POD) 4-Aminophenazone (4-AP)	300 U/L 300 U/L 1250 U/L 0.4 mmol/L
<b>CHOLISTEROL CAL</b>	Cholestérol primaire standard aqueux	200mg/dL

**Fiche technique N° 2**

Réactif pour le dosage des triglycérides

<b>R1</b> Buffer	GOOD pH 7.5 P-chlorophenol	50 mmol/L 2 mmol/L
<b>R2</b> Enzymes	Lipoprotéine lipase (LPL) Glycerokinase (GK) Glycero-3-oxidase (pod) Peroxidase (POD) 4-Aminophenazone (4-AP) ATP	150000 U/L 500 U/L 2500 U/L 440 U/L 0.1 mmol/L 0.1 mmol/L
<b>TRIGLYCERIDES CAL</b>	Triglycérides aqueux standard primaire	200 mg/dL

**Annexe III** : Fiches techniques de la composition des produits utilisés lors de la préparation des coupes histologique.

**Fiche technique N° 1** : Eau gélatiné 0,4 % (**Martoja, 1967**)

Gélatine en poudre	0,4 g
Eau distillée	100 ml

La solution est homogénéisée sous agitateur sur une plaque chauffante

**Fiche technique N° 2** : Hématoxyline de Groat : préparation à froid

<b>Solution A</b>	Acide sulfurique concentré	0,8 ml
	Alum de fer	1g
	Eau distillée	50 ml
<b>Solution B</b>	Hématoxyline	0,5g
	Alcool 90°	50 ml

## **Résumé**

Les plantes médicinales sont à la fois la mémoire des anciennes traditions thérapeutiques...etc. une source importante pour de nouveaux médicaments. Depuis toujours l'homme a eu recours à ses dernières pour se soigner. *Rhamnus alaternus* est une plante connue pour son pouvoir bénéfique sur la santé, et présente un remède pour divers maladies. Son utilisation pour le traitement de l'anémie nous a conduits à valoriser les substances naturelles présentes dans cette plante, et tester son effet sur l'hyperlipidémie, Pour cela nous avons procédé par une analyse phytochimique, suivie d'une évaluation de l'activité antihyperlipidémique *in vivo* sur des souris traitées avec l'huile d'olive, Les analyses effectuées ont montré que *Rhamnus alaternus* n'a pas influencé sur le taux de lipides, et cela, car le régime utilisé n'a pas induit une hyperlipidémie chez les souris. Le changement du modèle de régime pourra déterminer l'effet antihyperlipidémique de *Rhamnus alaternus*.

## **Mot clé :**

Hyperlipidémie, *Rhamnus alaternus*, médecine traditionnelle, stéatose, syndrome métabolique.

## **Abstract**

Medicinal plants are both the memory of the ancient healing traditions, and an important source for new drugs. Historically, man has resorted to his last for treatment. *Rhamnus alaternus* is a plant known for its beneficial health and has a cure for various diseases. Its use for the treatment of anemia has led us to develop natural substances in this plant, and test his effect on hyperlipidemia. For that purpose, we proceed by a phytochemical analysis followed by an evaluation of the antihyperlipidemic activity *in vivo* in mice treated with olive oil. The analysis performed showed that *Rhamnus alaternus* doesn't have an influence on lipid levels and this because the regime used which did not induce hyperlipidemia in mice. The change of regime model may define the antihyperlipidemic effect of *Rhamnus alaternus*.

## **Key words:**

hyperlipidemia, *Rhamnus alaternus*, phytotherapy, steatosis, metabolic syndrome.