

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université A. Mira Bejaia
Faculté Science de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME MASTER
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :
Hamidouche Sabrina et Salhi Thanina.

Thème

**Activité pharmacologique de la voix oxydative d'extraits
phénoliques de *Juglans regia L.* dans le traitement de la stéatose
hépatique non alcoolique**

Soutenu le : 13/09/2022

Membre de jury :

Président :	Mme Benloukil M.	(MAA)
Promotrice :	Mme Yous F.	(MAB)
Examineur :	Mme Boudjou S.	(MCB)

Année universitaire :
2021/2022

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre mémoire de fin de cycle et pouvoir réaliser ce travail de recherche.

*On adresse nos vifs remerciements aux membres de jury **Mme BENLOUKIL** et **Mme BOUDJOU** pour avoir bien voulu examiner et juger ce mémoire.*

*En guise de reconnaissance, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre chère enseignante encadrant **Mme YOUS FARAH** pour son énorme soutien, qui n'a cessé de nous prodiguer tout au long du travail, nous avons eu l'honneur et la chance de bénéficier de ses connaissances, compétences, de ses conseils et de son suivi. Nous la remercions de la qualité de son encadrement exceptionnelle, pour sa patience, sa rigueur, sa disponibilité durant la préparation de ce mémoire.*

*Nos remerciements vont également à la responsable de Laboratoire physico-chimique 4 **Mamasse HABIBA** qui a tout mis à notre disposition pour nous permettre de travailler dans les meilleures conditions.*

Nous remercions également tous les enseignants du département physico-chimique et les collègues de Master 2 Biochimie appliquée promotion 2022.

Dédicaces

Au nom de Dieu le tout puissant je dédie ce travail :

*À ma chère mère **NADIA***

Qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études, qui n'a jamais cessé de formuler des prières à mon égard et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

*À mon cher père **AMIROUCHE***

Qui a toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, qui m'a toujours motivé à poursuivre mes rêves et à atteindre mes objectifs.

*À mes sœurs **Maylisse, LILIA, CHAHINEZ** et À mon*

*Beau-frère **ZOUBIR***

En signe d'amour, de reconnaissance de gratitude et dévouement dont vous avez fait toujours preuve à mon égard.

*À mon petit neveu **ENZO***

Qui vient d'arriver entre nous, tu m'as donné l'honneur de devenir Tata.

*À ma tante **SALHA**, son Mari **HAKIM** et À leurs enfants*

Pour leurs soutiens, leurs conseils et leurs encouragements.

*À ma défunte grand-mère **MESSAOUDA***

Que Dieu lui accorde sa miséricorde, qui m'a toujours épaulé, tu n'es plus parmi nous mais tu demeurais à jamais dans nos cœurs.

*À mes deux grands parents **YAHIA** et **AHCEN***

À mes Cher (e) s ami (e)s

MEHDI, YOUNES, SYPHAX, MAYA, NADJET, SABIHA, SIHAM, AMEL, KENZA, Lili, SAID, BISSAM, FAOUZI, MAZIGH, YACINE

Qui ont toujours cru en moi, je vous remercie pour tout ce que vous faites pour moi, votre bienveillance et votre écoute me faire sentir précieuse, vous me faites découvrir le vrai sens de l'amitié.

*À mon cher ami **MHAND OUAZAR***

T'es parti avant nous, bien trop tôt, bien trop vite, ton départ nous a tous bouleversé, t'as laissé un grand vide derrière toi et pour mieux

surmonter cela, nous n'aurons qu'à nous souvenir de ton rire, de ta bonne humeur, de ta bonté et de ton éternel optimisme. Que ton âme repose en paix. T'inquiètes pas pour ta maman on sera toujours là pour elle.

*À mon binôme **THANINA***

Avec qui j'ai eu la chance et le plaisir de travailler afin d'achever mon cycle de master et mon cursus universitaire. On a passé des moments de joie et de folies, on a pris beaucoup de plaisir à réaliser ce travail, on s'est entraîné et c'était la clé de notre réussite.

H.Sabrina

Dédicaces

Au nom de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :

À la mémoire de mon grand-père qui est pour moi le symbole de l'homme rebelle, de la force, d'égalité et de la sincérité

À mes chers parents qui ont tout fait pour moi pour que je réussisse dans ma vie et dans mes études. Que dieu me les protège de tout mal.

*À mes adorable Frères **FOUDIL** et **HAMID***

À mes cousins, cousines, mes oncles et tantes

*À mes meilleures amies **Lili**, **MALIKA** et **IMAN** que j'aime énormément et qui sont toujours là pour moi.*

*À Mon binôme **SABRINA***

Avec qui j'ai eu la chance et le plaisir de travailler afin d'achever mon cycle de master et mon cursus universitaire. On a passé des moments de joie et de folies, on a pris beaucoup de plaisir à réaliser ce travail. Je te remercie de m'avoir supporté quand j'étais grognone, mal peignée, quand j'étais malade ou quand j'avais fait des mauvais choix, tu m'a jamais jugé on s'est entraîné et c'était la clé de notre réussite.

S.Thanina

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction1

Synthèse bibliographique

I. Foie	3
I.1 Anatomie du foie.....	3
I.1.1 Situation	3
I.1.2 Structure	3
I.2 Fonctions du foie.....	4
I.2.1 Régulation du Métabolisme	4
I.2.2 Détoxification.....	4
I.3 Atteintes hépatiques.....	5
II. Stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD).....	5
II.1.1 Prévalence.....	5
II.1.2 Incidence.....	6
II.2 Pathogénèse et physiopathologie de la NAFLD	6
II.3 Causes de la NAFLD.....	8
II.4 Facteurs de risques de la NAFLD.....	9
II.5 Présentation clinique et diagnostic	9
II.6 Traitement et prise en charge.....	10
II.6.1 Modifications de l'hygiène de vie.....	10
II.6.2 Chirurgie bariatrique.....	10
II.6.3 Traitement pharmacologique.....	10
II.6.4 Autres.....	12
III. Noyer <i>Juglans Regia L.</i>	13
III.1 Classification taxonomique	13
III.2 Description botanique	13
III.3 Origine et répartition géographique de <i>Juglans Regia L.</i>	13
III.4 Usage et propriétés.....	14
III.5 Composition biochimique du Noyer	15
III.5.1 Métabolites primaires	15
III.5.2 Métabolites secondaires.....	16

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal et procédé d'extraction	18
I.1. Optimisation de l'extraction de l'extrait brut de l'écorce de noyer	18

I.1.1 Dosage des polyphénols totaux	19
I.1.2 Dosage de l'activité antioxydants par le test DPPH.....	19
I.2 Protocole final de l'extraction de l'extrait brut de l'écorce de noyer	19
II. Animaux et condition d'élevage	20
III. Etude de l'effet de l'extrait de plante sur les rats.....	21
IV. Sacrifices des animaux	22
IV.1 Récupération du sang des rongeurs.....	22
IV.2 Prélèvement des organes	22
V. Evaluation de la stéatose hépatique non alcoolique.....	23
V.1 Observation de la NAFLD	23
V.2 Dosages biochimiques.....	23
V.2.1 Dosage des transaminases.....	23
V.2.2 Dosage de cholestérol.....	23
V.2.3 Dosage des triglycérides (TG).....	23
VI. Etude statistique.....	23

Résultats et discussion

I. Extraction de l'extrait brut de l'écorce de noyer	26
I.1 Rendement de l'extraction	26
I.2 Dosage des polyphénols totaux.....	26
I.3 Dosage de l'activité antioxydants par le test DPPH	26
II. Effet du traitement par <i>Juglans regia L. in vivo</i>	26
II.1 Evolution des poids corporels des animaux	26
II.2 Taux de la glycémie.....	27
III. Evaluation de la stéatose hépatique non alcoolique.....	28
III.1 Observation de la NAFLD	28
III.2 Dosage des paramètres biochimiques	28
III.2.1 Dosage des transaminases	28
III.2.2 Dosage des triglycérides	29
III.2.3 Dosage du cholestérol.....	30
Discussion.	31
Conclusion et perspectives.	36

Références bibliographiques.

Annexes

Liste des figures

Numéro	Titre	page
01	Anatomie et vascularisation du foie.	3
02	Etape de la détoxification hépatique.	5
03	Prévalence de la NAFLD.	6
04	Physiopathologie de la NAFLD.	8
05	<i>Juglans regia</i> L.	14
06	Photographie original de l'écorce de <i>Juglans regia</i> L.	18
07	Récapitulatif des étapes du protocole final de l'extraction.	20
08	Élevage des rats au sein de l'animalerie (photographie original).	21
09	Gavage des rats.	22
10	Mesure de la glycémie.	22
11	Récupération du sang des animaux.	22
12	Prélèvement des organes.	23
13	Variation des poids corporels moyens des quatre lots de rats au fil des semaines.	26
14	Taux moyen de la glycémie des rats de chaque lot.	27
15	Photographies originales des foies des rats de chaque lot.	28
16	Évolution du taux d'ASAT et d'ALAT chez les différents lots.	29
17	Taux des TG chez le groupe Témoin et les différents groupes expérimentaux.	29
18	Taux de cholestérol chez le groupe témoin et les différents groupes expérimentaux.	30

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
01	Différentes causes de la NAFLD	9
02	Exemples de traitements pharmacologiques utilisés pour maîtriser la NASH /NAFLD	11
03	Usage interne des différentes parties de <i>Juglans regia</i> L. dans le traitement de certaines maladies.	14
04	Usage externe des différentes parties de <i>Juglans Regia</i> L. dans le traitement de certaines maladies.	15

Liste des abréviations

AG	Acide Gras
AGL	Acide Gras Libre
ALAT	Alanine Amino Transférase
ASAT	Aspartate Aminotransférase
ChREBP	Carbohydrate Response Element Binding Protein
CMC	CarboxyMéthylCellulose
DPPH	α, α -DiPhényl- β -PicrylHydrazyl
DT2	Diabetes de Type 2
FGF 21	Fibroblast Growth Factor 21
Gamma-GT	Gamma-GlutamylTranspeptidase
HDL	High Density Lipoproteins
HMG-COA	HydroxyMéthyl Glutaryl-COA réductase
IDL	Intermediate Density Lipoproteins
IRM	Imageries par Resonance Magnétique
LDL	Low Density Lipoproteins
MGL-3196	Madrigal Pharmaceuticals
NAFLD	Stéatose Hépatique Non Alcoolique
NASH	Steatohépatite Non Alcoolique
P38 MAPK	P38 Mitogen-Activated Protein Kinases
PPAR	Peroxisome Proliferator Activated Receptor
SCD-1	Stéaoryl-CoA Désaturase-1
SERBPs	Sterol Regulatory Element-Binding Protein
TG	TriGlycérides
TGO	Glutamate Oxalo Acetate-Transaminase
VLDL	Very Low Density Lipoproteins

Introduction.

Introduction

La stéatose hépatique non alcoolique est la maladie hépatique chronique la plus fréquente, posant des problèmes de santé publique, souvent associée au diabète (**Younossi et al., 2018**). Le terme NAFLD désigne un spectre de maladies du foie (**Yao et al., 2016**) allant de la stéatose hépatique à la stéatohépatite non alcoolique (NASH) et à la cirrhose, spécifiquement chez les patients qui ne consomment pas des quantités excessives d'alcool (**Pisonero et al., 2015**).

Précisément, elle se caractérise par l'accumulation des lipides au niveau du foie en l'absence d'une forte consommation d'alcool (< 20 g/jour pour la femme et < 30 g/jour pour l'homme) (**Gariani et al., 2012**). Cette pathologie peut être isolée ou associée à une inflammation hépatique non-spécifique, il s'agit d'une infiltration de triglycérides dans les cellules (**Adams et al., 2005**).

La stéatose est composée de macro ou de microvésicules lipidiques, elle regroupe plusieurs stades histologiques, la stéatose hépatique non alcoolique de type I où seule la graisse est présente et celle de type II quand une inflammation est déclarée. Lorsque les hépatocytes ont un aspect ballonisé associé à une inflammation, il s'agit de la stéatose hépatique non alcoolique de type III. L'apparition d'une fibrose voir des corps hyalins conduit au passage à une stéatose hépatique non alcoolique de type IV (**Schwimmer et al., 2005**).

Au premier stade de la NAFLD, il est possible d'avoir recours à de simples méthodes hygiéno-diététiques mais dans les stades les plus sévères, certains médicaments visant à traiter les troubles associés (hypertension artérielle, diabète de type 2, hypercholestérolémie) sont utilisés sans traiter la pathologie en elle-même (**Lanthier, 2020**). Malencontreusement, ces médicaments ont souvent des effets secondaires, de ce fait, le recours accru à l'utilisation des traitements par des substances d'origine naturelle est fortement préconisé. De plus, la recherche pharmacologique a recours aux préparations traditionnelles à base de plantes médicinales pour traiter certaines maladies, car, ils sont mieux tolérés par l'organisme et plus accessibles (**Hebi et Eddouks, 2015**).

En Algérie, dans les régions méditerranéennes, *Juglans Regia* L. est une plante utilisée en médecine traditionnelle en raison de la présence de différents métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tannins.

Dans cette optique, le travail réalisé s'inscrit autour de l'activité pharmacologique de la voie oxydative d'extraits phénoliques de *Juglans regia* L. dans le traitement de la stéatose hépatique, induite sur un modèle de rats Wistar et cela par une induction de cette maladie par un régime riche en gras et en sucre.

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique.

I. Foie

I.1 Anatomie du foie

Le foie est la plus volumineuse glande de l'organisme. Il assure de nombreuses fonctions biologiques, chez l'homme, il mesure environs 30cm de large, 16cm d'épaisseur et 8cm de hauteur (Kamina, 2013). A frais, il est de couleur brun rouge et de consistance molle, sa surface saine et lisse (Gosling, 2003).

I.1.1 Situation

Situé dans la partie supérieure droite de l'abdomen et séparé des poumons et du cœur sous le diaphragme, le foie occupe tout l'hypochondre droit et s'étend dans l'épigastre et dans l'hypochondre gauche (Gosling, 2003). Le foie est fixé à la paroi abdominale postérieure et au diaphragme par une surface l'*area nuda*. Il est aussi fixé à la paroi abdominale antérieure et à l'estomac par des ligaments péritonéaux (Kamina, 2013).

I.1.2 Structure

Le foie est recouvert à l'extérieur par une capsule de tissu conjonctif qui traverse les vaisseaux sanguins jusqu'à l'intérieur du parenchyme, le sac fibreux entourant le vaisseau sanguin (Figure1). Dans les mailles de cette armature conjonctive se trouvent les cellules hépatiques, les hépatocytes (Helga et Wolfgang, 2015).

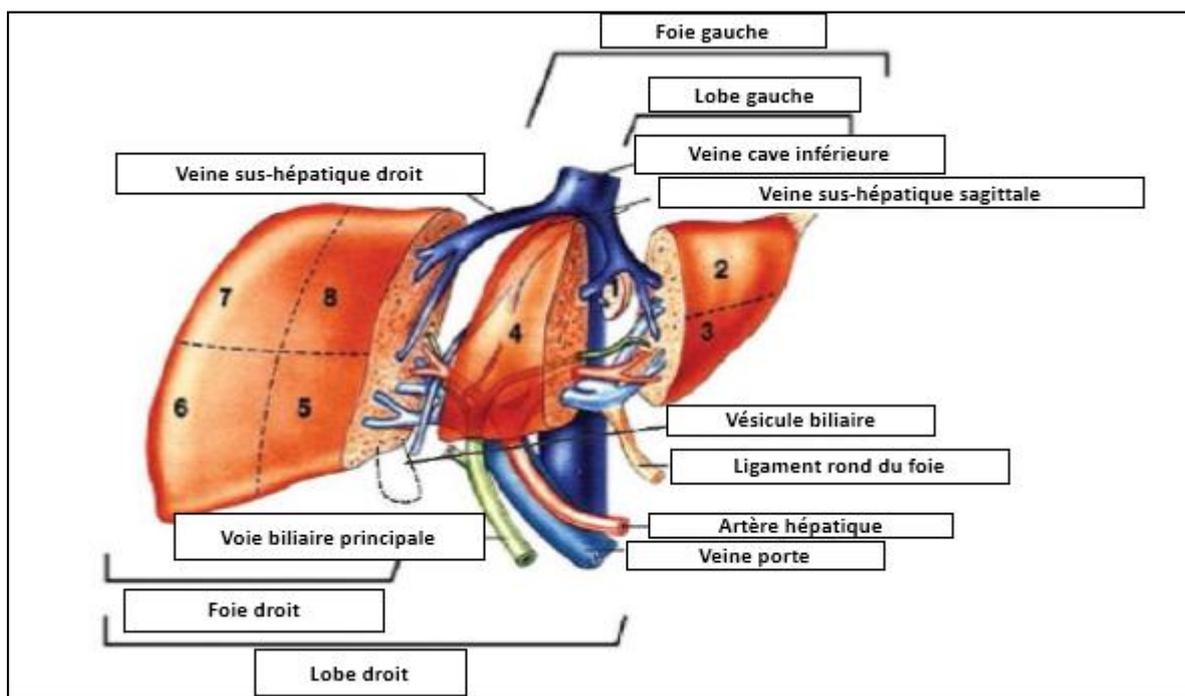


Figure 1. Anatomie et vascularisation du foie (Walter *et al.*, 2008).

I.2 Fonctions du foie

Le foie assure une fonction endocrinienne (synthèse des facteurs de croissance) et une fonction exocrine (production de la bile) il participe à l'immunité (cellules de Kupfer et Pit cells), la synthèse de la plupart des protéines sanguines, l'albumine et les facteurs de coagulation, notamment, il module l'inflammation et stocke les vitamines et le fer. D'autre part, il représente une réserve énergétique pour l'organisme et il est avant tout un organe central de la régulation des métabolismes et de la détoxification (**Guiliani et Blin, 2019**).

I.2.1 Régulation du Métabolisme

Le foie joue un rôle important dans le métabolisme des glucides et des lipides qu'il stocke ou libère en fonction des besoins de l'organisme.

Les glucides sont absorbés au niveau de l'intestin grêle, puis transportés vers le foie par la veine porte. Par l'intermédiaire de transporteurs protéiques, ils traversent la membrane sinusoïdale. Ensuite, ils pénètrent à l'intérieur des hépatocytes où ils peuvent subir soit une glycogénogénèse ou une glycolyse. Le foie assure également la glycogénolyse et la néoglucogénèse (**Francis et al., 2003**).

Il participe également au métabolisme des lipides. En effet, il prend en charge les lipides résiduels d'origine intestinale présents dans les particules résiduelles de chylomicrons. Puis, les lipides captés par le foie sont intégrés dans des lipoprotéines, les VLDL, afin de les redistribuer aux différents tissus périphériques. Cette voie, du foie vers les tissus périphériques consiste en une cascade impliquant les lipoprotéines VLDL, IDL, LDL (**Gautier et al., 2010**).

I.2.2 Détoxification

La détoxification est le processus de purification du corps des composés et substances dites endobiotiques (produits du métabolisme endogène) ou xénobiotiques (toutes substances étrangères à l'organisme, apportées par l'alimentation, les médicaments...) qui sont des déchets organiques et qui peuvent être toxique pour l'organisme (**Al-Snafi, 2015**) (**Figure 2**).

Sans être l'organe exclusif, on peut considérer le foie comme essentiel dans le traitement de ces déchets car il assure l'élimination de l'ammoniaque (produit de la dégradation des protéines) et le métabolisme de la bilirubine (produit de dégradation de l'hème) (**Guiliani et al., 2019**).

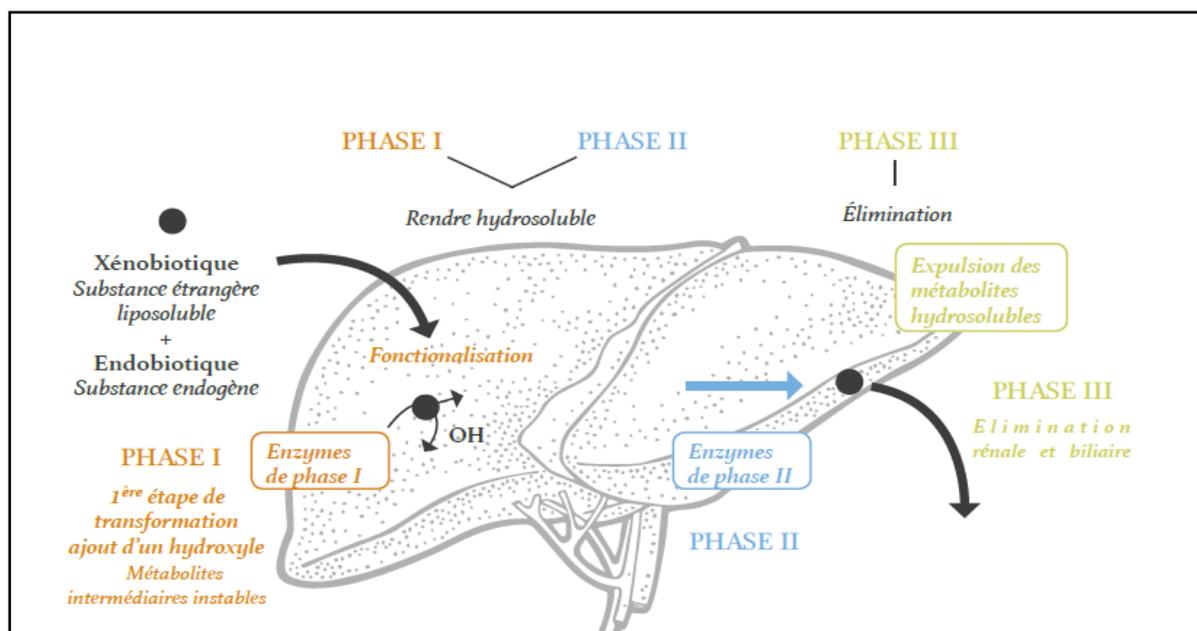


Figure 2. Etapes de la détoxification hépatique (Guiliani *et al.*, 2019).

I.3 Atteintes hépatiques

En raison de la diversité et de l'importance des fonctions hépatiques, les pathologies susceptibles d'affecter le foie sont nombreuses et variées. La stéatose est une maladie caractérisée par la présence excessive de graisses dans les hépatocytes (Bertrand *et al.*, 2016). Les causes de cette pathologie sont diverses, elles peuvent être liées à une forte consommation d'alcool (Stéatose hépatique alcoolique), à des aliments riches en gras (stéatose hépatique non alcoolique) ou viral (hépatite A, B, C, D, E). (Pariante *et al.*, 2018). Malgré la diversité de l'origine de cette maladie, le processus du développement de cette dernière reste unique en allant d'une stéatose hépatique simple à une stéatose hépatique avec une inflammation qui peut progresser vers une fibrose, une cirrhose voir un carcinome hépatocellulaire (Zampaglione *et al.*, 2020).

II. Stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD)

II.1 Prévalence et incidence de la NAFLD

II.1.1 Prévalence

La prévalence de la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) évolue de manière constante depuis plusieurs années en raison de l'épidémie mondiale de surcharge pondérale et d'obésité (Gariani *et al.*, 2012).

Mondialement, Elle est estimée entre 24 et 30 %, tandis qu'en Afrique, elle est de 13,5 % par rapport au Moyen-Orient, en l'Europe et en Amérique avec des taux de 31,8 %,

23,7 % et 30,4 %, respectivement (**Figure 3**). Les rares données disponibles sur la prévalence de la NAFLD en Afrique suggèrent que les africains ont tendance à avoir une prévalence plus faible de la maladie par rapport aux afro-américains (**younossi et al., 2018**).

Outre la variation observée entre les continents, la prévalence de La NAFLD varie selon le sexe et l'âge (**younossi et al., 2018**). Les hommes sont plus à risque de développer une NAFLD par rapport à leurs homologues féminins et augmente avec l'âge, avec moins de 1 % de chances de développer une NAFLD pour les personnes de moins de 20 ans contre un risque de 8 % et 39 % chez ceux entre 40 et 60 ans (**Shabalala et al., 2020**).

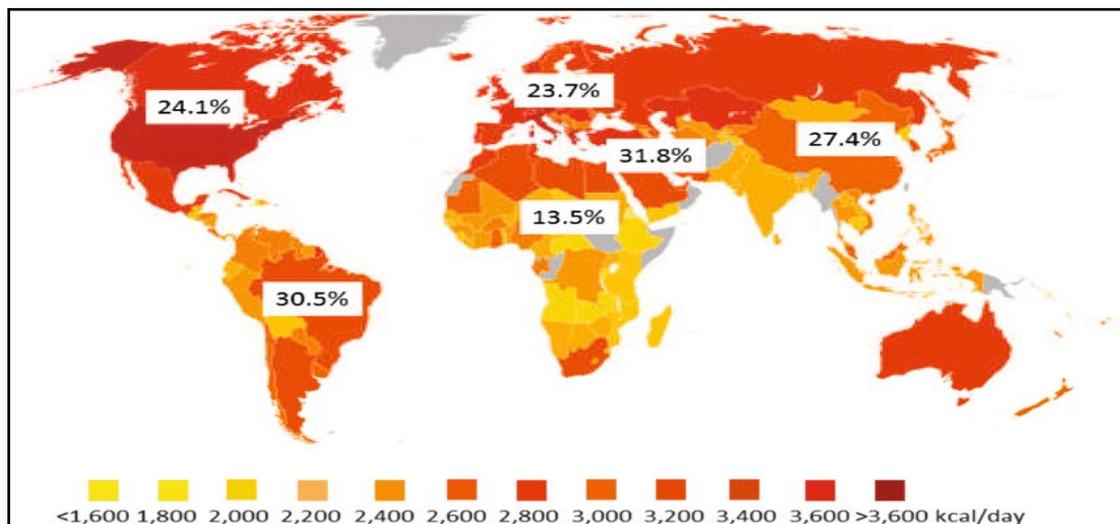


Figure 3. Prévalence de la NAFLD (**Rinella et al., 2016**).

II.1.2 Incidence

Les résultats du suivi de 5 237 hommes depuis plus de 4 ans ont été publiés dans des travaux de recherche dans lesquels, pour la première fois, l'incidence de la NAFLD était de 74,1 cas pour 1 000 personnes.

D'autre part, le taux d'incidence annuel de la NAFLD diagnostiquée par échographie abdominale chez les candidats au dépistage médical était d'environ 48,2 cas pour 1 000 personnes (**Kang et al., 2021**).

II.2 Pathogenèse et physiopathologie de la NAFLD

Pathologiquement, il peut se présenter comme une simple stéatose, une stéatohépatite non alcoolique (NASH) et éventuellement évoluer vers la cirrhose, une maladie hépatique en phase terminale (**Wang et al., 2015**).

Le mécanisme physiopathologique de la NAFLD est classiquement expliqué par l'hypothèse des deux hits où deux événements nuisibles se produisent et mettent en danger la fonction et la structure du parenchyme hépatique: l'accumulation d'acides gras dans le foie par la suite, l'apparition d'un stress oxydatif et les dommages subséquents aux cellules hépatiques (**Abenavoli et al., 2021**) (**Figure 4**).

Cette hypothèse a été remplacée par la théorie du «coup multiple» qui considère que plusieurs facteurs étiopathogènes agissent de manière parallèle ou séquentielle pour induire la NAFLD, ceux-ci incluent la résistance à l'insuline, les adipokines sécrétées par le tissu adipeux (**Shabalala et al., 2020**) et la coopération entre les facteurs métaboliques et environnementaux ce qui favorise l'accumulation de graisse dans les hépatocytes (**Marchisello et al., 2019**). La diminution de l'absorption d'AG dans le tissu adipeux et une accélération de lipolyse menant à une disponibilité en excès d'AG circulant ce qui entraîne une accumulation de graisse ectopique ainsi que le stockage des hépatocytes des lipides supplémentaires sous forme de TG conduisant à une stéatose (**Polyzos et al., 2019**).

Au vu de sa complexité, la pathogenèse du NAFLD n'est pas encore complètement clarifiée. Un modèle était récemment proposé :l'accumulation de lipides au niveau des hépatocytes qui était due à un déséquilibre entre un afflux d'acides gras par l'alimentation, la lipolyse des tissus graisseux, la lipogenèse hépatique et une diminution de l'élimination ainsi que l'oxydation des acides gras suivie dans un deuxième temps de l'apparition de l'inflammation et de la fibrose. Cela va interférer avec les voies de signalisation intracellulaire de l'insuline et donc provoquer une résistance à l'action de l'insuline sur le foie (**Gariani et al., 2012**).

La résistance à l'insuline est une caractéristique du dysfonctionnement métabolique qui contribue au développement de la NAFLD, elle conduit au dépôt de TG dans le foie donc à une stéatose (**Zhang et al., 2021**). L'obésité semble jouer un rôle dans le processus initial menant à la NAFLD mais aussi dans sa progression vers la NASH. NAFLD, obésité, diabète de type 2 (DT2) et La dyslipidémie peut indiquer que la NAFLD est une maladie qui implique pas que le foie mais plutôt l'ensemble du réglage métabolique du corps (**Abenavoli et al., 2021**).

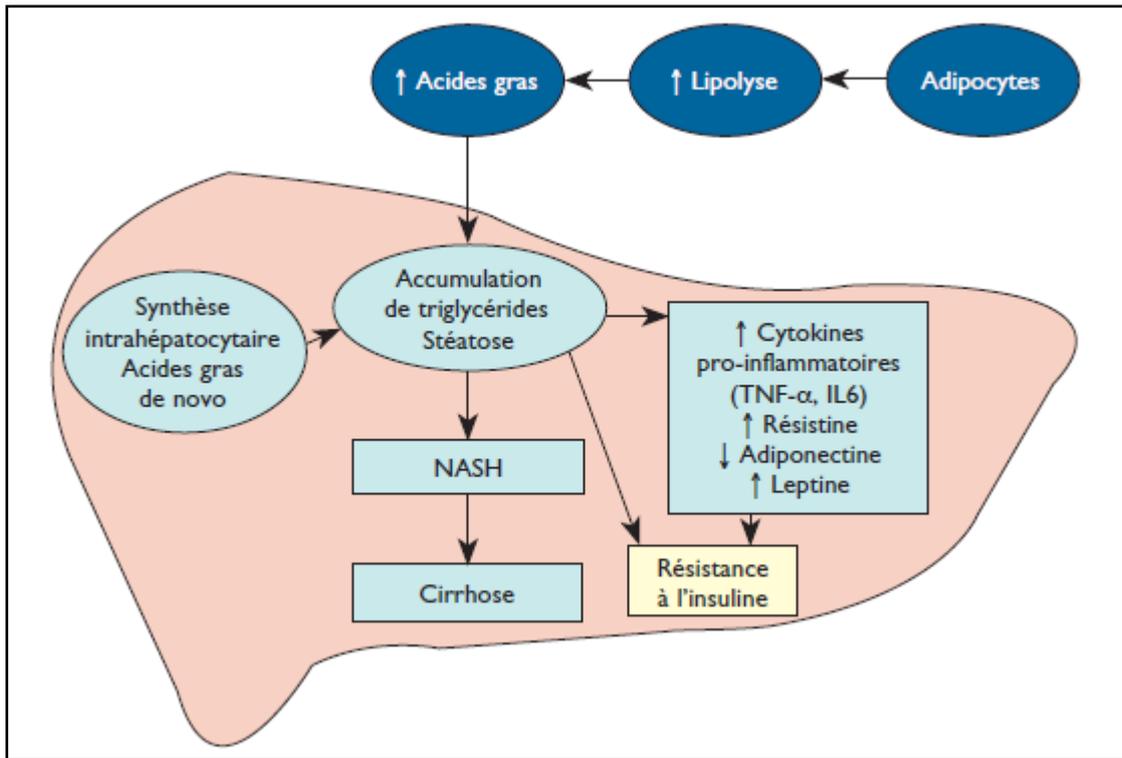


Figure 4. Physiopathologie de la NAFLD (Gariani *et al.*, 2012).

II.3 Causes de la NAFLD

Tableau 1. Différentes causes de la NAFLD (Béorchia *et al.*, 2011).

Causes métaboliques et nutritionnelles	
Principales	<ul style="list-style-type: none"> • Obésité 70-75 % • Diabète 40-50 % • Hypertriglycémie 40-50 %
Autre	<ul style="list-style-type: none"> • Dénutrition prolongée • Alimentation parentérale • Courts circuits digestifs • Gastroplastie pour obésité morbide • Résection étendue du grêle

	Causes non métaboliques
Médicaments	<ul style="list-style-type: none"> • Corticoïdes, Méthotrexate, sparaginase • Tamoxifène, amiodarone, perhexiline, nifédipine • Diltiazem, chloroquine, hycanthane
Agents toxiques	<ul style="list-style-type: none"> • Huiles toxiques • Diméthylformamide
Divers	<ul style="list-style-type: none"> • Lipodystrophie des membres • a-bêta lypoprotéïnémie • Maladie de Weber Christian • Diverticulose avec pullulation microbienne

II.4 Facteurs de risques de la NAFLD

Il existe de nombreux facteurs de risque de la NAFLD. Les plus courants comprennent le diabète de type 2, l'insulino-résistance, l'obésité, l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie et l'hypertriglycéridémie (Sohouli *et al.*, 2020).

II.5 Présentation clinique et diagnostic

Pour poser le diagnostic de, la NAFLD, il est nécessaire d'éliminer la présence d'une consommation d'alcool à risque, une prise chronique de traitement hépatotoxique ou la présence d'une autre affection hépatique (hépatite virale, auto-immune.) (Chalasanani *et al.*, 2017).

Son diagnostic repose sur l'imagerie par ultrasons, le scanner ou l'IRM et sur des tests sanguins pour exclure d'autres causes de lésions hépatiques (Gariani *et al.*, 2012). Il se peut que diverses analyses soient nécessaires à l'identification de la stéatose hépatique non alcoolique car cette dernière peut se manifester par une perturbation des tests hépatiques avec l'élévation de ALAT et gamma GT (Baillargeon, 2015).

L'échographie hépatique reste l'examen de dépistage le plus accessible mais il ne permet ni de confirmer ni d'infirmer la NAFLD. En fait le gold standard pour le diagnostic de la pathologie est la biopsie hépatique car les autres techniques ne permettent pas de distinguer la présence ou non d'une activité inflammatoire (Gariani *et al.*, 2012).

Néanmoins, il existe un facteur endocrinien récemment identifié qui est considéré comme un marqueur intéressant pour détecter la présence de la NAFLD, il s'agit de FGF21 (*Fibroblast growth factor 21*) qui est un régulateur clé du métabolisme exprimé dans de nombreux tissus, dont le foie, il améliore le métabolisme, en partie en régulant la sécrétion d'adiponectine qui elle-même améliore la résistance à l'insuline. Le FGF21 réduit le stress cellulaire et l'activation de p38 MAPK, augmentant ainsi la survie des adipocytes et stimulant l'absorption du glucose (Fisher *et al.*, 2011).

II.6 Traitement et prise en charge

Au cours des dernières années, plus de preuves ont ajouté des informations sur le traitement et la prise en charge de la NAFLD (Marchesini *et al.*, 2022). Actuellement, il n'existe pas de traitement approuvé mais comme la stéatose hépatique non alcoolique est associée à d'autres facteurs de risque comme l'obésité, le diabète et un taux élevé de cholestérol, la prise en charge de certains d'entre eux est susceptible d'aider à maîtriser cette affection et cela par certaines options thérapeutiques (Baillargeon, 2015).

II.6.1 Modifications de l'hygiène de vie

La restriction calorique couplée à une activité physique régulière peut améliorer la NAFLD, notamment si, ces modifications de l'hygiène de vie mènent à une perte de poids soutenue. En effet, la perte de poids est actuellement la pierre angulaire du traitement de la NAFLD et cela en choisissant des aliments sains et en faisant régulièrement de l'exercice. La perte de 3 à 5 % du poids corporel réduit la stéatose hépatique. Cependant, pour réduire l'inflammation, une perte plus importante (10 %) est nécessaire, accompagné d'un programme d'activité physique de 30 à 60 minutes, 2 à 3 fois par semaine (Baillargeon, 2015).

II.6.2 Chirurgie bariatrique

La chirurgie bariatrique peut réduire la stéatose, l'inflammation et la fibrose en cas de NASH présente chez un sujet obèse morbide (Lanthier, 2020), elle entraîne une perte de poids et une diminution de la résistance à l'insuline. Bien qu'elle soit utile pour traiter l'obésité morbide, la chirurgie bariatrique n'est pas recommandée (Baillargeon, 2015).

II.6.3 Traitement pharmacologique

A ce jour, de nombreuses options thérapeutiques ont été testées sans preuve d'efficacité sur la NASH. Ceux-ci sont présentés dans le tableau ci-dessous (Lanthier, 2020) :

Tableau 2. Exemples de traitements pharmacologiques utilisés pour maîtriser la NASH /NAFLD (Dictionnaire Vidal., 2001 ; Sanyal *et al.*, 2010 ; Gariani *et al.*, 2012 ; Huang *et al.*, 2019 ; Lanthier, 2020).

Molécule	Utilisation	Mécanisme d'action	Effet sur la NAFLD/NASH
La metformine	Traitement de l'hyperglycémie liée au diabète de type 2.	-Réduction de la production hépatique du glucose, en inhibant la néoglucogenèse et la glycogénolyse -Au niveau musculaire, elle augmente la sensibilité à l'insuline, favorisant sa captation.	Aucune efficacité sur la NASH.
L'acide ursodéoxycholique	Traitement des maladies hépatiques cholestatiques.	-Diminution de l'absorption intestinale du cholestérol - Augmentation du catabolisme hépatique du cholestérol en acides biliaires via une augmentation de l'activité hépatique du cholestérol 7 alpha-hydroxylase.	Réduit l'inflammation.
Les fibrates	Sont utilisés dans le traitement de l'hypertriglycéridémie.	-Activation des PPAR-alpha qui sont des récepteurs nucléaires capables de stimuler la transcription de gènes codant pour diverses protéines impliquées dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines. -Augmentation du HDL-cholestérol par une augmentation de l'expression des gènes des Apo lipoprotéines A1 et A2	Aucun effet sur la NASH.

Les statines	Traitement de l'hypercholestérolémie.	-Diminution de la cholestérolémie et les taux plasmatiques de lipoprotéines en inhibant l'HMG-CoA réductase et la synthèse hépatique du cholestérol. -Augmentation également du nombre des récepteurs des LDL à la surface des hépatocytes, amplifiant ainsi le captage et le catabolisme des LDL et diminuent la synthèse des LDL.	n'ont pas d'impact sur l'histologie hépatique mais réduisent les événements cardiovasculaires si le risque vasculaire est élevé.
La pioglitazone	Traitement de l'hyperglycémie .	C'est un agoniste du récepteur activé par PPAR γ , un récepteur nucléaire exprimé principalement dans le tissu adipeux et jouant des rôles variés comme la régulation du métabolisme lipidique, énergétique et glucidique ainsi que des effets anti-inflammatoires.	Améliore la stéatose et l'inflammation.
Aramchol	Traitement de la NAFLD.	-Inhibition de la stéaroyl-CoA désaturase-1 (SCD-1). -limitation de la vitesse de synthèse des AG mono insaturé.	Réduction de la NAFLD.
Agonistes des récepteurs hormonaux thyroïdiens : MGL-3196	NAFLD/ NASH	Diminution de l'accumulation des lipides hépatiques par l'action des récepteurs des hormones thyroïdiennes au niveau du foie	Réduit la stéatose et la fibrose hépatique

II.6.4 Autres

A cause de l'obésité, du diabète et du syndrome métabolique qui y sont souvent associées, les patients atteints de stéatose hépatique non alcoolique ont un risque plus élevé de mourir de maladies cardiovasculaires. Il est donc nécessaire de prendre en charge les facteurs de risque cardiovasculaires. Le tabac doit être cessé, le diabète, l'hypertension et la dyslipidémie doivent être bien maîtrisés, quant à l'alcool, il faut en limiter la consommation (Lanthier, 2020).

III. Noyer *Juglans Regia* L.

III.1 Classification taxonomique

Selon Créte, 1956, Le noyer appartient a :

- **Embranchement** : Phanérogames
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous classe** : Apétales
- **Ordre** : Amentales
- **Famille** : Juglandacea
- **Genre** : Juglans
- **Espèce** : *Juglans Regia* L.

III.2 Description botanique

Juglans regia L. est un arbre fruitier et forestier vivace à feuilles caduques et porte une écorce lisse de couleur brune olive adaptée aux conditions de lumière modérée (Shah *et al.*, 2018) (figure5).

Son tronc peut atteindre 30m de hauteur et peut vivre jusqu'à 100ans (Gallais et Bannerot, 1992) son diamètre peut avoisiner les deux mètres de longueur (Shah *et al.*, 2018). Les fleurs de cet arbre sont groupées en inflorescences spéciales qu'on nomme les chatons. Ces dernières sont soit toutes males, soit toutes femelles, portées par un même pied (la plante est monoïque) ou par des pieds différents dans le cas des plantes dioïques. Le noyer, lui, est monoïque. La fécondation se réalise grâce au vent, donnant naissance à un fruit : La noix (Catherin *et al.*, 1995). Ce fruit est caractérisé par une coque lignifiée enfermée dans une enveloppe appelée le brou (Manning, 1978).

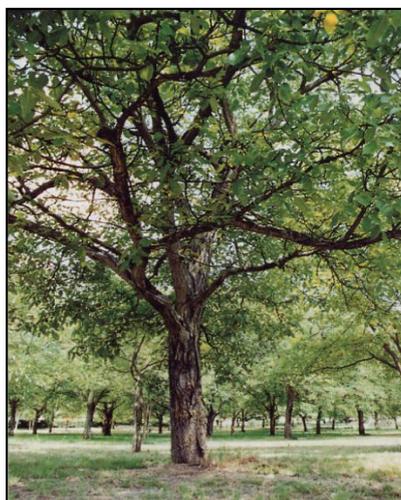


Figure 5. *Juglans regia* L. (Catherin *et al.*, 1995).

III.3 Origine et répartition géographique de *Juglans regia* L.

Le genre *Juglans* est originaire du moyen orient et comprend une vingtaine d'espèces différentes dont la plus connue dans le pourtour méditerranéen est *Juglans regia*. Une espèce connue sous le nom vernaculaire de « noyer commun » « walnut » en anglais et « Tajugett » en tamazight (Kajji, 2020). Il est largement cultivé dans les zones tempérées du monde pour ses noix et pour l'approvisionnement en bois commercial (Shah et al., 2018).

Dans les différentes régions de l'Algérie, le noyer se trouve sous forme de peuplement, on le trouve généralement à Annaba, Sétif, la grande Kabylie, Tébessa, Tlemcen, Djelfa et au sud de Tiaret (Bonev, 1973).

III.4 Usage et propriétés

Les feuilles de noyer sont principalement utilisées dans les médecines traditionnelles comme antimicrobien, hypoglycémiant, anti-diarrhéique et pour le traitement de la sinusite, du rhume, des anémies et des maux d'estomac, l'écorce est utilisée pour traiter les cancers gastriques, hépatiques et pulmonaires. Il est aussi utilisé pour traiter l'ictère et les rougeurs de la peau (Kajji, 2020). Des chercheurs ont remarqué que la noix a un effet d'abaissement des triglycérides et un effet d'abaissement du peroxyde d'urine chez des rats diabétique du type II.

Tableau 3. Usage interne des différentes parties de *Juglans regia* L. dans le traitement de certaines maladies (Catherin et al., 1995).

Partie utilisée	Usage Interne	
	Mode d'utilisation	Maladies
Feuilles	Infusion	Engorgement des voies digestives vers intestinaux Anémie Jambes enflées Manque d'appétit
	Macération dans du Vin rouge	Manque d'appétit
	Séchées à l'air libre	Diabète
Brou	Macération dans du vin rouge	Stimulation du système digestif Antirachitique

Ecorce	Infusion	Ictère Rougeurs de la peau Diverses infections
---------------	----------	--

Tableau 4. Usage externe des différentes parties de *Juglans Regia* L. dans le traitement de certaines maladies (Catherin *et al.*, 1995).

		Usage Externe	
Partie Utilisée	Mode d'utilisation	Usage	Maladies
Feuille	Décoction	Gargarisme	Angines
		Injections vaginales	Métrites Vaginites
		Bains	Jambes enflées
		Lotion	Chutes de cheveux Ulcères Leucorrhée
		Compresse	Inflammation des paupières
Bourgeon	Onguent	Application massage	Antipelliculaire
Brou	Décoction	Gargarisme	Angines
		Lavement	Diarrhées
Ecorces de jeunes arbres	Broyage	Applications	Cors verrues

III.5 Composition biochimique du Noyer

III.5.1 Métabolites primaires

Juglans Regia L. est composé principalement de glucides (le fructose, le glucose, le saccharose ..) (santos *et al.*, 2013), des Acides aminés qui sont présents surtout dans les feuilles (L-proline, L-tyrosine, L-arginine...), des éléments minéraux (le cuivre, le zinc, le manganèse..) (Kale *et al.*, 2010) et des acides organiques (l'acide malique, l'acide shikimique, l'acide citrique..) (santos *et al.*, 2013).

III.5.2 Métabolites secondaires

Les principaux constituants de *Juglans regia* L. sont les tanins du type ellagitanins et pyrogallol qu'on trouve dans les feuilles (**Blumenthal, 2000**) et les flavonoïdes qui se trouvent principalement sous forme de quercétine (la quercétine 3-galactoside, quercétine 3-arabinoside, quercétine 3-xyloside, la quercétine 3-rhamnoside..) (**Amaral et al., 2004 ; Liu et al., 2007**).

Des données antérieures ont démontré la présence des composés phénoliques qui sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique, auquel, est directement lié au moins à un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction ester, éther ou hétéroside (**Bruneton, 1999**), la plus part sont des acides phénoliques dont l'acide parahydroxybenzoïque, vanillique, genistique, paracoumarique, gallique et acide chlorgénique (**Luczak et al., 1989 ; Blumenthal, 2000**).

Chapitre II : Matériel et Méthodes.

I. Matériel végétal et procédé d'extraction

Dans la présente étude, l'extrait phénolique de l'écorce de *Juglans Regia* L. a été obtenu après un mode opératoire spécifique et a été choisi afin de déterminer son efficacité sur son effet curatif de la NAFLD.

L'écorce de *Juglans Regia* L. a été récoltée en avril 2022 (**figure 6**), séchée à température ambiante et réduite en petits morceaux à l'aide de ciseaux. Ces derniers ont été broyés avec un broyeur électrique et tamisés pour donner une poudre très fine laquelle a été soumise à une extraction solide-liquide avec une optimisation des conditions d'extractions.



Figure 6. Photographie originale de l'écorce de *Juglans regia* L.

I.1. Optimisation de l'extraction de l'extrait brut de l'écorce de noyer

Afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols de l'écorce du noyer, quatre paramètres ont été étudiés : Le rapport éthanol /eau, La masse de la poudre, le temps de macération et la température.

Une quantité de poudre (50mg, 25mg et 37,5mg) a été ajoutée aux tubes à essai avec 4ml de solvant d'extraction (Ethanol 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%) et conservée pendant trois temps de décoction différents en les agitant chaque deux minutes à des températures différentes, puis les échantillons ont été centrifugés durant 5min à 6000 rpm. Les surnageants ont été récupérés et utilisés afin de déterminer le contenu phénolique total et d'effectuer le dosage de l'activité antioxydants en utilisant le test DPPH.

I.1.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur phénolique a été déterminée par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale des groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Sigleton et Ross, 1965) avec quelques modifications. Dans des eppendorfs un volume de 10 µl de l'extrait obtenu à partir des différentes macérations a été ajouté à des volumes de réactif de Folin-Ciocalteu et de carbonate de sodium. Les eppendorfs ont été conservés pendant 1h à l'abri de la lumière puis l'absorbance a été mesurée à 765nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage a également été réalisée en parallèle en utilisant l'acide gallique à différentes concentration comme référence.

I.1.2 Dosage de l'activité antioxydant par le test DPPH

Le DPPH est un radical stable, utilisé pour l'évaluation des propriétés anti-radicalaires de toute substance (Sanchez-Moreno, 2002). La méthode utilisée a été décrite par Molyneux, (2003). Une quantité de poudre de DPPH a été dissoute dans 100ml d'éthanol et la solution obtenue a été conservée pendant 12h au frais et à l'abri de la lumière.

Dans chaque eppendorf, un volume de l'extrait obtenu à partir de chaque macération a été ajouté à 2ml de solution de DPPH. La lecture de l'absorbance a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre au bout de 30min à 517nm. Un pourcentage d'inhibition a été calculé à partir des absorbances obtenues par la formule suivante :

$$\% = [(A \text{ témoin} - A \text{ échantillon}) / A \text{ témoin}] \times 100$$

I.2 Protocole final de l'extraction de l'extrait brut de l'écorce de noyer après résultats d'optimisation

Après optimisation de la méthode d'extraction, un poids de poudre a été macéré dans 400ml d'éthanol durant un temps donné et une température donnée dévoilée par le logiciel JMP pro14 ; Ensuite la solution obtenue a été versée dans des éprouvettes et laissée se sédimenter pendant 12 heures.

Le surnageant a été récupéré dans des ballons et passé dans un rota vapeur à une température de 39°C puis dans un lyophilisateur.

Ensuite, 2mg/ml de l'extrait brut obtenu ont été mélangé dans le solvant afin de réaliser le dosage des polyphénols totaux et le test DPPH en suivant les procédés expliqués précédemment.



Figure 7. Récapitulatif des étapes du protocole final de l'extraction.

II. Animaux et condition d'élevage

Pour l'évaluation de l'activité pharmacologique de la voix oxydative de l'extrait phénolique de *Juglans regia* L. et de son effet curatif sur la stéatose hépatique, nous avons utilisé des rats de souches Wistar provenant de l'institut Pasteur et pesant en moyenne entre 250 et 350g.

La pratique a été entamée au mois d'Avril et a pris fin au milieu du mois d'Août, au niveau de l'animalerie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia (**Figure 8**). Les rats ont été élevés dans de grandes cages en plexiglas recouvertes d'une grille en fer. Leurs plancher ont été recouvert de copeaux de bois renouvelés tous les cinq jours.

Les rats ont été mis sous des conditions de température ambiante variant entre (24-26°), d'humidité variant entre (60-70%) avec un accès libre à la nourriture et à l'eau. Le cycle de lumière a été maintenu à 12 heures de lumière et à 12 heures d'obscurité par jour.

Pour les besoins de l'expérience, les animaux ont été répartis en quatre lots :

Groupe de rats témoins (T) : Groupe d'animaux recevant un régime standard.

Groupe de rats témoins positif (T+) : Groupe d'animaux recevant un régime riche en gras et en sucre rapides afin d'induire la maladie puis ils ont été remis sous un régime normal et notamment traités durant la même période avec l'extrait de *Juglans regia* L..

Groupe de rats témoins négatif (T-) : Les rats de ce lot ont été nourris avec le même régime que le groupe T+ mais ils n'ont reçu aucun traitement après induction de la maladie et ils n'ont pas été remis sous le régime normal.

Groupe RR : les rats de ce lot ont été nourris avec le régime riche en gras et en sucres rapides, après induction de la maladie, ils ont été remis sous un régime normal mais n'ont reçu aucun traitement.

Les rats de chaque groupe ont été chaque jour pesé jusqu'à la fin de l'expérimentation.



Figure 8. Élevage des rats au sein de l'animalerie (photographie originale).

III. Etude de l'effet Anti-NAFLD de l'extrait de plante sur les rats

Après une période de 3 mois et 10 jours de régime riche en gras et en sucre, les rats du groupe témoins positif (T+) ont été traités avec des doses quotidiennes de l'extrait de *Juglans regia* L. véhiculé à l'aide du CMC par gavage (administration intra-gastrique) (**figure 9**) à l'aide d'une sonde de gavage pour une période de 21 jours.

Durant la période du traitement, le taux du glucose a été mesuré à l'aide d'un glucomètre (**figure 10**).



Figure 9. Gavage des rats.



Figure10. Mesure de la glycémie.

IV. Sacrifice des animaux

IV.1 Récupération du sang des rongeurs

À la fin de l'expérimentation, les animaux ont été anesthésiés avec du chloroforme, les prélèvements sanguins ont été effectués dans des tubes héparinés (**figure 11**) puis transférés dans une centrifugeuse afin de récupérer le sérum, par la suite la mise à mort de l'animal a été faite par dislocation cervicale.



Figure 11. Récupération du sang des animaux.

IV.2 Prélèvement des organes

Les organes ont été prélevés (foie, cœur, tissu adipeux, pancréas, rate, reins) après une incision (**figure12**). Les organes prélevés ont été rincés dans de l'eau physiologique, pesés puis conservés dans le formol à 10% au frais pour des investigations ultérieures.

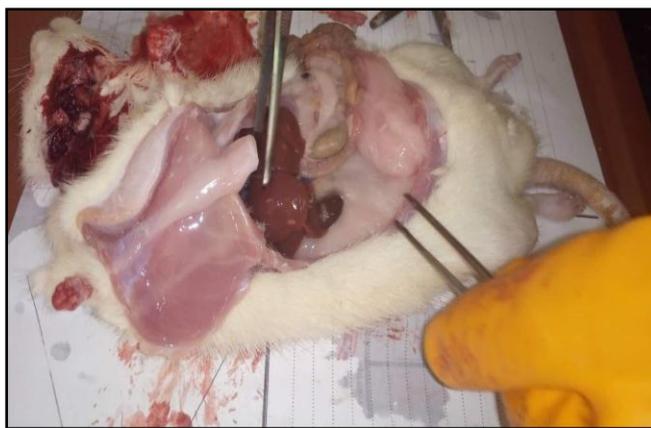


Figure12. Prélèvement des organes des rats.

V. Evaluation de la stéatose hépatique non alcoolique

V.1 Observations

Après le sacrifice des animaux, le foie des rats de chaque lot a été récupéré et la stéatose hépatique non alcoolique a été observée à l'œil nu.

V.2 Dosages biochimiques

Le taux des transaminases (ASAT/ALAT), triglycérides (TG) et cholestérol a été déterminé dans le plasma des animaux en utilisant des réactifs de marque Cebio.

V.2.1 Dosage des transaminases

Pour ASAT et ALAT, 800 μ l du réactif N°1 ont été mélangés avec 200 μ l du réactif N°2, puis le tout a été incubé à 37°C pendant 5min. Après incubation, 1000 μ l du mélange des deux réactifs ont été ajoutés à 100 μ l d'échantillon, par la suite, l'absorbance initiale a été mesurée à 340nm après 60secondes puis chaque minute pendant trois minutes.

Un calcul en U/L a été effectué en multipliant le ΔA /min par le facteur : ΔA /min \times 1746

V.2.2 Dosage de cholestérol

1000 μ l du réactif ont été ajoutés à 10 μ l d'échantillon puis le tout a été mélangé et incubé à 37°C pendant 10 min. Par la suite, l'absorbance a été mesurée à 510nm.

Parallèlement, 1000 μ l du réactif ont été ajoutés à 10 μ l d'eau distillée pour le blanc et 1000 μ l du réactif avec 10 μ l de la solution d'étalon pour l'étalon.

V.2.3 Dosage des triglycérides (TG)

1ml du réactif (mélange des réactifs 1 et 2) a été ajouté à 10 μ l d'échantillon puis le mélange a été incubé à 37°C pendant 5 à 10 minutes puis l'absorbance a été mesurée à 500nm, en parallèle un blanc et un étalon ont été préparés.

VI. Etude statistique

Le logiciel JMP Pro14 a été utilisé pour la partie optimisation de l'extraction des polyphénols. Les résultats *in vitro* ont été exprimés en moyenne \pm écart type (SD) pour le DPPH et pour les phénols totaux. Les tests anti hémolytiques *in vivo* ont été obtenus avec trois répétitions. L'analyse de variance (modèle one-way ANOVA) a été réalisée en combinaison avec le test de Dunnett pour plusieurs comparaisons en utilisant le logiciel GraphPad Prism5.03 (États-Unis). Les différences avec les témoins ont été prises en compte significatif à * $p < 0,05$.

Chapitre III : Résultats.

I. Extraction de l'extrait brut de l'écorce de noyer

I.1 Rendement de l'extraction

Le rendement de l'extraction qui est assimilé au rapport entre le poids de l'extrait obtenu et le poids de la poudre de la plante utilisée au préalable est égal à 8,70%.

I.2 Dosage des polyphénols totaux

La quantité en polyphénols totaux estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu pour l'extrait à partir d'une gamme étalon réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations ont abouti à des résultats exprimés en $\mu\text{g/ml}$ d'acide gallique équivalent. En outre, la droite d'étalonnage a été obtenue avec un coefficient de corrélation égale à $R^2=0,9948$ (**annexe 1**).

A partir de la droite d'étalonnage, la concentration en polyphénols totaux de l'extrait de *Juglans regia* L. par décoction est de $189,2 \pm 0,81 \mu\text{g/ml}$ d'acide gallique équivalent.

I.3 Dosage de l'activité antioxydants par le test DPPH

L'activité antioxydants de l'extrait de plante étudiée a été déterminée. Les résultats obtenus pour le test DPPH exprimés en termes de pourcentage d'inhibition est égale à 78%.

II. Effet du traitement par *Juglans regia* L. *in vivo*

II.1 Evolution des poids corporels des animaux

Les poids corporels des animaux des quatre lots a été suivi tout au long des dix-sept semaines de la présente étude : durant la période du régime riche en gras et en sucre (les 14 premières semaines) pour les (T+), (T-) et groupe (RR), puis pendant la période du traitement avec l'extrait de *Juglans regia* L. et la remise sous régime normal pour les rats du lot (T+) durant les trois dernières semaines.

La variation du poids corporel moyen des quatre lots : témoins, témoins positifs, témoins négatifs et groupe RR est représentée dans le graphe ci-dessous :

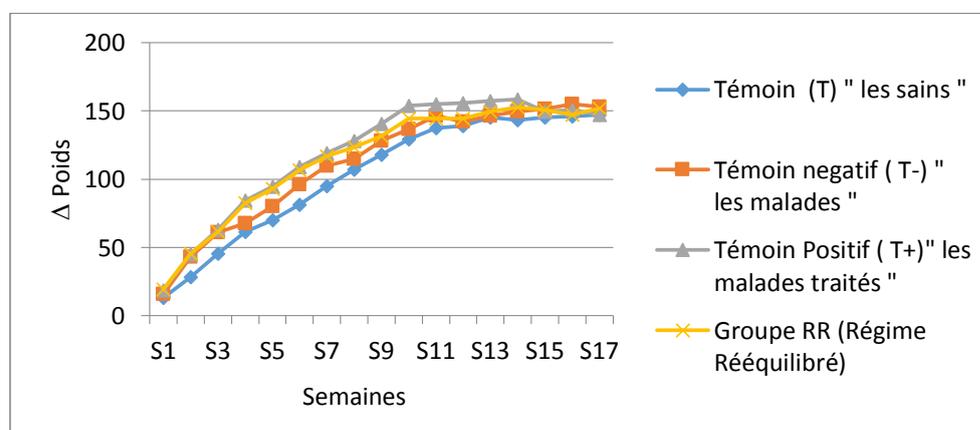


Figure 13. Variation des poids corporels moyens des quatre lots de rats au fil des semaines (Témoin T (n=6), T- (n=9), T+ (n=8), RR (n=9)), représentés en valeur absolues.

À Travers ces observations, nous notons que le poids des rats du lot témoins, auquel, on avait donné un régime standard a subit une variation notable mais moins importante par rapport à celle du poids des animaux des autres lots tout au long de l'expérience. Tandis que pour les rats du lot (T-), (T+) et le groupe (RR) qui ont été nourris avec un régime riche en gras et en sucre, une augmentation intense du poids corporel a été constaté durant les quatorze premières semaines suivit d'une diminution du poids après le traitement avec l'extrait de plante, les trois dernières semaines pour les rats du lot (T+) et pour ceux du groupe (RR) qui n'ont pas été traités mais qui ont uniquement été remis sous régime normal.

II.2 Taux de la glycémie

Avant le sacrifice des animaux et durant la période du traitement avec l'extrait de *Juglans regia* L., le taux de la glycémie a été mesuré à l'aide d'un glucomètre.

Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure ci-dessous :

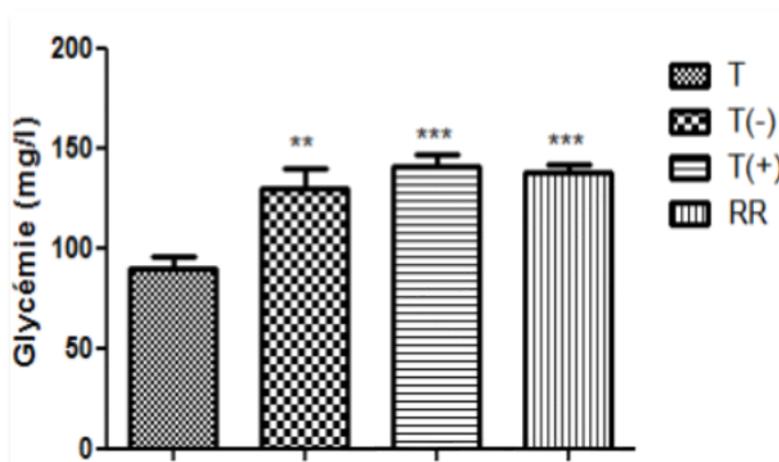


Figure14. Taux moyen de la glycémie des rats de chaque lot.

Les valeurs sont exprimés en mg/l. $P^* < 0,05$, $P^{***} < 0,001$: significativement différent du groupe témoin (T) et témoin négatif (T-).

Les résultats présentés dans la figure ci-dessus, montre une augmentation de façon très hautement significative ($P \leq 0,05$) du taux de la glycémie chez les animaux du lot T+ traités avec l'extrait de plante et le groupe RR qui ont été juste remis sous régime normal par rapport au groupe témoin (T).

Concernant les rats du groupe T-, lesquels n'ont pas été traités avec l'extrait de *Juglans regia* L. et qui ont continué le régime riche en gras et en sucre, ont exhibé une augmentation hautement significative ($P \leq 0,05$) du taux de la glycémie par rapport au groupe témoin (T).

III. Evaluation de la stéatose hépatique non alcoolique

III.1 Observation de la NAFLD

Des boules chargées de graisses ont été observées au niveau du foie des rongeurs du groupe (T-) avec des boules qui commencent à se vider au niveau du foie de ceux du groupe (T+) et (RR) et une absence de ces dernières chez les rats du groupe (T) (**figure 15**).



(a)



(b)



(c)



(d)

Figure15. Photographies originales des foies des rats de chaque lot (a) : Foie du groupe T-, (b) : Foie du groupe T+, (c) : Foie du groupe RR, (d) : Foie du groupe T.

III.2 Dosage des paramètres biochimiques

III.2.1 Dosage des transaminases

Les résultats du dosage des transaminases ASAT/ALAT chez les différents lots sont représentés dans la figure ci-dessous :

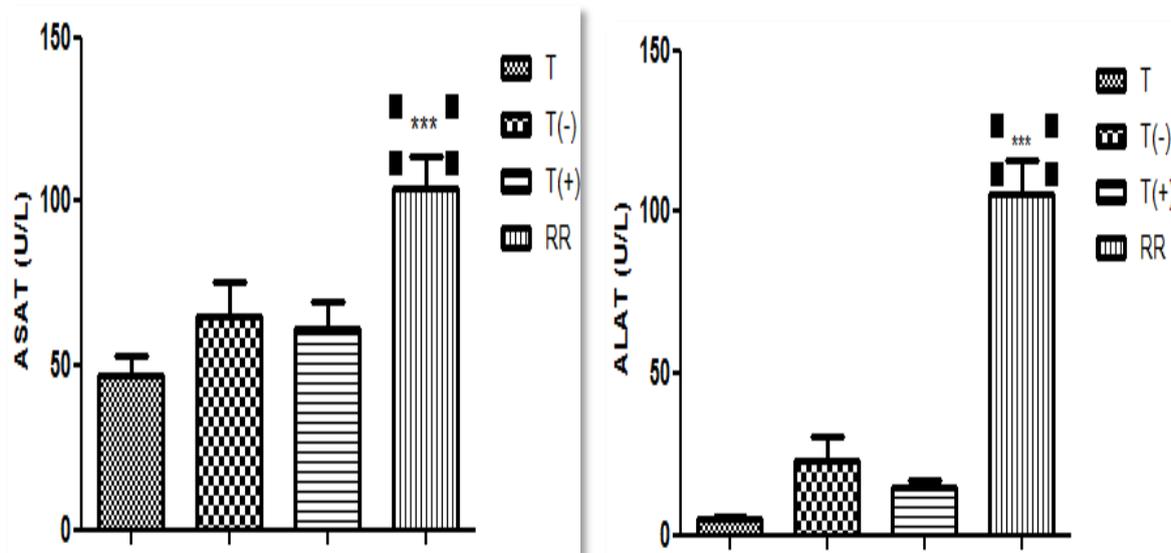


Figure 16. Évolution du taux d'ASAT et d'ALAT chez les différents lots.

Les valeurs sont exprimés en U/L. $P^{***}<0,001$: significativement différent du groupe témoin (T) et témoin négatif (T-).

D'après la figure 17, on observe une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,05$) de l'activité enzymatique d'ASAT et ALAT chez le groupe (RR) par rapport au groupe témoin (T).

Ensuite, une diminution du taux des transaminases a été observée chez le groupe Témoin positif (T+) par rapport au témoin négatif (T-).

Concernant le groupe (T-), on observe une légère augmentation des taux d'ASAT et d'ALAT par rapport au groupe témoins (T).

III.2.2 Dosage des triglycérides

Les résultats du dosage des TG qui a été effectué dans le cadre d'un bilan lipidique sont représentés dans la figure 17.

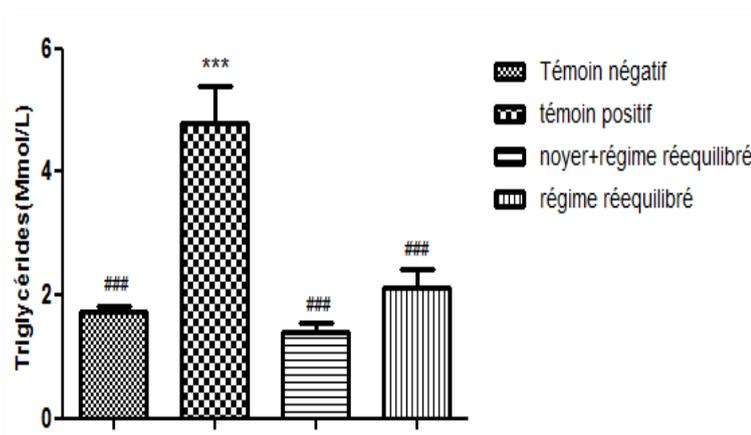


Figure 17. Taux des TG chez le groupe Témoin et les différents groupe expérimentaux.

Les valeurs sont exprimés en Mmol/L. $P^* < 0,05$, $P^{***} < 0,001$: significativement différent du groupe témoin (T) et témoin négatif (T-).

Les résultats montrent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,05$) du taux des triglycérides chez le groupe Témoin négatif (T-) par rapport au groupe témoin (T) et une diminution d'une façon très hautement significative chez le groupe témoin positif et le groupe RR par rapport au groupe témoin négatif (T-). On observe ainsi, une différence non significative ($P > 0,05$) entre le groupe (RR) et (T+).

III.2.3 Dosage du cholestérol

Le taux de cholestérol chez les quatre lots est exprimé dans l'histogramme suivant (figure18) :

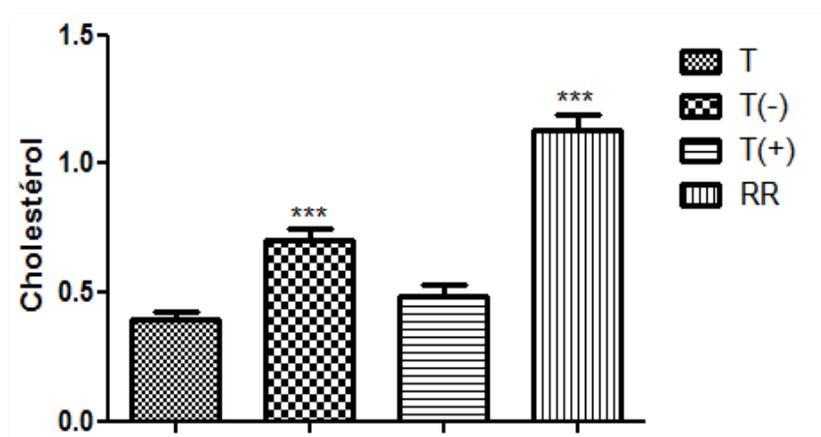


Figure18. Taux de cholestérol chez le groupe témoin et les différents groupe expérimentaux.

$P^* < 0,05$, $P^{***} < 0,001$: significativement différent du groupe témoin (T) et témoin négatif (T-).

Les résultats présentés dans la figure 18 montrent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,05$) du taux de cholestérol chez le groupe RR et le groupe témoin négatif (T-) par rapport au groupe témoin (T). Par contre : une diminution significative est enregistrée chez les rats traités avec l'extrait de *Juglans regia* L. (T+) par rapport à ceux du lot (T-) avec une diminution non significative par rapport au groupe témoins (T).

Chapitre IV : Discussion.

Le noyer a fait l'objet de plusieurs études dévoilant sa richesse en composés phénoliques, lesquels sont considérés entre autre, comme des participants à la capacité anti-oxydants (**Liu et al., 2007**). De ce fait, la détermination de leurs teneur est essentiel pour étudier le potentiel des plantes dans la prévention des pathologies (**Tosun et al., 2009**).

Dans la présente étude, la teneur en composés phénoliques de l'extrait éthanolique de l'écorce de *Juglans regia* L. était égale à $189,2 \pm 0,81$ mg/ml acide gallique équivalent. **Chaleshtori et al. (2011)** a démontré que la teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Juglans regia* L. était de $410 \pm 14,43$ mg EAG/g. D'autres études effectuées par **Qurechi et al. (2014)** ont dévoilé une teneur en polyphénols qui variait de 344,6 à 548,7 mg EAG/g dans l'extrait de poudre de *Juglans regia* L., en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction. Cette variation en taux de polyphénols est potentiellement liée au type de solvant utilisé, néanmoins, l'éthanol est considéré le moins nocif pour l'homme et pour la nature, de ce fait, notre choix s'est dirigé vers ce solvant. De plus, la partie ciblée de la plante et la méthode d'extraction a un impact primordial dans la concentration de l'extrait en polyphénols. Toutefois, la valeur qualité des constituants de l'extrait peut dépasser la valeur quantité.

Selon **Jakopic et al. (2007)** les variations de la teneur en composés phénoliques sont dues à plusieurs facteurs notamment le solvant utilisé. **Tawaha et al. (2007)**, a notamment déduit que le réactif de Folin-Ciocalteu n'était pas spécifique aux polyphénols car plusieurs composés peuvent réagir avec ce réactif donnant un taux phénolique élevé.

L'évaluation de l'activité antioxydant s'est portée sur l'application du test DPPH qui s'agit d'un radical libre stable. Les résultats obtenus dans la présente étude sont exprimés en termes de pourcentage d'inhibition est égale à 78%. Selon **Van et al. (1995)**, l'activité antioxydants des plantes est du à leurs richesses en composés phénoliques présentant des activités antioxydants puissantes capables d'empêcher la formation des radicaux libres.

Nos résultats révèlent que l'extrait de poudre de *Juglans regia* L. a la capacité de réduire les TG et le cholestérol chez les rats du lot (T+), nos résultats sont en accord avec les résultats de **Liang et al. (2017)**, lequel, a rapporté que l'extrait de *Juglans regia* L. avait un effet actif sur le métabolisme des lipides et sur l'inflammation au niveau du foie.

Laakso et al. (2001) a exposé une diminution de la production de VLDL chez des patients après avoir été traités avec des agents oraux. L'effet global de *J. regia* sur le métabolisme des VLDL pourrait être dû à un double mode d'action : réduction de la production de VLDL et l'amélioration de l'élimination des VLDL. De plus, **Toivonen et Hodges, (2011)** ont montré que les polyphénols issus de noyer sont des candidats potentiels qui agissent contre l'oxydation des lipoprotéines de basse densité LDL. Cela explique la diminution du poids des rats après le traitement. Chez les rats du lot T-, lesquels n'ont reçu aucun traitement, une intense augmentation du taux des TG et du cholestérol a été observée.

Le cholestérol hépatocellulaire résulte de la synthèse réalisée à partir de l'acétate qui est régulée par la HMGCoA réductase et de l'apport de cholestérol du milieu extracellulaire. En l'occurrence, lorsqu'on consomme à longue durée une nourriture riche en gras, le cholestérol s'accumule et se trouve en excès, ce qui provoque son dépôt sur la paroi des artères et de ce fait, peut entraîner une gêne à la circulation du sang (**Chiang et al., 1996**). En réponse à l'insuline et au glucose, les facteurs de transcriptions SERBPs et ChREBP sont activés et induisent l'expression de gènes impliqués dans la synthèse des acides gras et du cholestérol dans le foie. L'amélioration de la lipogénèse conduit à une production plus importante de VLDL, ce qui résulte, une perturbation métabolique conduisant à une NAFLD. L'augmentation de la sécrétion de VLDL dans le plasma provoque une augmentation des LDL par échange médié par la protéine de transfert de cholestérol estérifié des esters de cholestérol et des TG (**Fon Tacer K et al., 2011**), cela explique le taux élevé du cholestérol et des TG chez les rats du lot T- et groupe RR.

L'effet traitant de l'extrait éthanolique de l'écorce de *Juglans regia* L. entraîne une réduction de l'activité enzymatique sérique d'ASAT et d'ALAT chez les rats du lot (T+) par rapport aux rats non traités. Une étude effectuée par **Banerji et al. (1995)** et **Madani et al. (2009)** a montré que chez les rats diabétiques traités avec l'extrait de *Juglans Regia* L. l'ASAT et L'ALAT avaient une diminution significative par rapport aux rats diabétiques non traités. Les transaminases jouent un rôle essentiel dans le métabolisme des acides aminés et cela par le transfert d'un groupe amino d'un acide aminé vers le cétylglutarate. Au niveaux du foie, l'ALAT convertit l'alanine en pyruvate qui peut être utilisé pour fabriquer du glucose (**Mitchell et al., 2016**).

La recherche a révélé qu'une cellule hépatique est composée d'ALAT et d'ASAT dans le cytosol et que l'activité enzymatique des ALAT est augmentée en cas de lyse des cellules du foie, car cette dernière est libérée dans le sang (**De Ritis *et al.*, 1955 ; Bragança., 2017**). La diminution des taux plasmiqes des transaminases est due à la diminution des lésions des cellules hépatiques, du cholestérol, des triglycérides, des taux de lipides hépatiques et par la suite à la prévention de la formation de la stéatose hépatique. Selon **Gnanadesigan, (2016)**, la diminution du taux des transaminases signifie la stabilité de la membrane plasmique ainsi que la protection et la régénération des cellules hépatiques endommagées. Ces résultats suggèrent que l'extrait de *Juglans regia* L. possède des propriétés protectrices contre les lésions hépatiques induites par le régime riche en gras qui sont dues à la présence des polyphénols.

Toutefois, une absence de l'activité hypoglycémiant de l'extrait de plante chez les rats traités a été observée. Nos résultats s'opposent à ceux de **Mohammadi *et al.* (2011)** lequel a démontré que l'extrait alcoolique de *J. regia* avait une propriété hypoglycémiant marquée lorsqu'il était administré pendant 28 jours à des rats diabétiques. Cette différence est peut-être due à la période du traitement, à la partie utilisée de la plante et/ou à la dose journalière administrée.

La présente étude a démontré que l'extrait brut de *Juglans regia* L. avait la capacité de débiter à traiter la NAFLD induites par un régime riche en gras et en sucre chez des rats wistar, ainsi qu'une capacité d'antioxydation et d'abaissement des taux de lipides. Le noyer est connu pour être une immense ressource des ellagitanins ayant une propriété antioxydants très élevée (**Shimoda *et al.*, 2009**).

Une étude effectuée par **Ren *et al.* (2018)** révèle la présence d'un total de 12 acides phénoliques et glycosides d'acides di-carboxyliques dans l'extrait de poudre de *Juglans regia* L. par HPLC-Q-TOF/MS, acide gallique, gallate de méthyle et acide ellagique ont été déterminés comme les principaux composés. Selon les littérature, l'acide ellagique est considéré comme étant une matière antioxydants puissante ayant un effet protecteur surtout sur le foie (**Aslan *et al.*, 2018**).

Les essais phyto-chimiques préliminaire effectués sur l'écorces de *Juglans regia* L. ont révélé la présence des plusieurs constituants phyto-chimiques avec des concentrations élevés en alcaloïdes, coumarines, quinones, anthraquinones libres et en anthraquinones (**Raja *et al.*,**

2012).

Amral *et al.* (2008) ont confirmé que la présence de 96 % de tanins considérés comme principaux agent causal du potentiel médicinal des noix ainsi que des composés phénoliques et des flavonoïdes. Cela signifie que les acides phénoliques de *Juglans regia* L. pourraient potentiellement contribuer à l'effet anti-NAFLD de la présente étude.

Conclusion et perspectives.

Conclusion et perspectives

Ces dernières années, les scientifiques se sont intéressés à la recherche de principes actifs d'origine végétale afin de produire des traitements thérapeutiques fondés sur des extraits de plantes dans le but de soulager, prévenir ou guérir différentes pathologies.

Ce travail est consacré à l'étude de l'activité pharmacologique d'un extrait phénolique obtenue à partir de l'écorce de *Juglans regia* L. par macération dans la prévention de la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) induite par un régime riche en gras et en sucre chez des rats Wistar.

A la lumière des résultats obtenus au cours de la présente recherche, nous pouvons déduire que l'extrait récolté constitue une bonne source d'antioxydants. Cela est observé lors des résultats obtenus à partir des résultats de quantification du taux de polyphénols et du piégeage du radical DPPH qui confirme la présence importante des métabolites secondaires ayant une activité antioxydante dans l'extrait de plante.

Par conséquent, l'évaluation de l'activité anti-NAFLD de l'extrait éthanolique de l'écorce de *Juglans regia* L. a donné un effet bénéfique, cela est observé lors du dosage des différents paramètres biochimiques. En outre, on n'a pas pu observer une réduction du taux de la glycémie chez les rats.

Au terme de cette étude, nous pouvons conclure que *Juglans regia* L. est riche en substances biologiques actives, leur conférant un grand intérêt pharmacologique notamment dans le traitement de la NAFLD.

Les différents travaux réalisés dans cette étude ouvrent de nouvelles perspectives afin de connaître le mécanisme exact d'action de *Juglans regia* L. dans la prévention de la stéatose hépatique non alcoolique. Parmi ces perspectives on trouve :

- ✓ Approfondir les investigations phyto-chimiques et biologiques de *Juglans regia* L. afin d'isoler et d'identifier les principes actifs responsables de cette activité observée en utilisant des méthodes plus précises telles que la HPLC.
- ✓ Faire d'autres tests pour l'évaluation de l'activité antioxydante des plantes telles que le test de blanchissement de la β -carotène,
- ✓ Approfondir l'analyse d'efficacité thérapeutique de *Juglans regia* L. pour connaître son aspect toxicologique.
- ✓ Pour compléter le bilan sanguin, la réalisation des coupes histologiques est nécessaire afin de confirmer l'effet hépato-protecteur de *Juglans regia* L..

Références bibliographiques.

A

Abenavoli L, Larussa T, Corea A, Procopio AC, Boccutto L, Dallio M, Luzzza F. Dietary polyphenols and non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients*; 2021, 13:1-10.

Adams LA, Lymp JF. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*; 2005, 129:113-134.

Al-Snafi AE. Therapeutic properties of medicinal plants: a review of their detoxification capacity and protective effects (part 1). *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*; 2015, 5:257-270.

Amaral JS, Seabra RM, Andrade PB, Valentao P, Pereira JA, Ferreres F. Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia L.*) leaves. *Food Chemistry*; 2004, 88:373-379.

Amaral JS, Valentão P, Andrade PB, Martins RC, Seabra RM. Do cultivar, geographical location and crop season influence phenolic profile of walnut leaves? *Molecules*; 2008, 13:1321-1332.

Aslan A, Gok O, Erman O, Kuloglu T. Ellagic acid impedes carbontetrachloride-induced liver damage in rats through suppression of NF-kB, Bcl- 2 and regulating Nrf-2 and caspase pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*; 2018, 105:662-669.

B

Baillargeon J. La stéatose hépatique; 2015, 50:51-56.

Banerji MA, Buckley MC, Chaiken RL, Gordon D, Lebovitz HE, Kral JG. Liver fat, serum triglycerides and visceral adipose tissue in insulin sensitive and insulin-resistant black men with NIDDM. *Journal of the International Association for the Study of Obesity* ; 1995, 19:846-850.

Béorchia S, Delasalle P, Bonny C, Hanslik B. Comment rechercher la NASH chez les patients porteurs d'un foie gras non alcoolique. *Hegel*; 2011, 1: 2-10.

Bertrand C, Valet P, Castan L. Stéatose et résistance à l'insuline: implication des hépatokines. *Obésité*; 2016, 11:170-80.

Blumenthal M. Herbal Medicine Expanded Commission E. Monographs. 1st ed. American Botanical Council; 2000:401

Bonev I. Note technique sur le noyer, production des plants greffés et création des noyeraies. Alger : Bibliothèque forestière; 1973:31.

Bragança A. Elévation des tests hépatiques. HUG ;2017 :1-17.

Bruneton J. Pharmacognosie et photochimie des plantes médicinales. Paris : Édition TEC et DOC, EM inter. 3^{ème} édition; 1999:228.

C

Catherin JY, Corcelles JJ, Mazin R. Le noyer & la noix. Aix-en-provence: Edisud; 1995:157.

Chalasan. The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*; 2017;10-22.

Chaleshtori RS, Chaleshtori FS, RafieianM. Biological characterization of Iranian walnut (*Juglans regia*) leaves. *Turkish Journal of Biology*; 2011, 35:635-639.

Chiang JYL, Vlahcevic ZR. The regulation of cholesterol conversion bile acids. *Advances in molecular and cellular biology*; 1996, 14:269-316.

D

Deritis F, Coltorti M, Giusti G. Transaminase activity of the blood in viral hepatitis. *Bollettino della societa italiano di biologia sperimentale*; 1955, 31:394-399

Dictionnaire Vidal. 77e éd. Paris: Ed. Du vidal, 2001,2343 et 256p.

E

Elsevier BV. Non-alcoholic fatty liver disease in adults 2021: A clinical practice guideline of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF), the Italian Society of Diabetology (SID) and the Italian Society of Obesity (SIO). *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*; 2021,32:1-16.

F

Fisher FM, Maratos-Flier E. Understanding the physiology of FGF21. *Annual Review of Physiology*; 2011, 78:223-241.

Fon Tacer K, Rozman D. Nonalcoholic Fatty liver disease: Focus on lipoprotein and lipid deregulation. *Journal of lipid*; 2011:1-14.

Francis GA, Fayard E, Picard F, Auwerx J. Nuclear receptors and the control of metabolism. *Annual Review of Physiology*; 2003, 65:261-311.

G

Gallais A, Bannerot H. Amélioration des especes végétales cultivées. *Quae*, 1992:768.

Gariani K, Philippe J, Jornayvaz FR. Diabète et stéatose hépatique non alcoolique. *Revue médicale suisse*; 2012, 8:1911-1914.

Gautier T, Masson D, Lagrost L. Métabolisme des lipides et des lipoprotéines chez l'homme. *EMC, Endocrinologie-Nutrition*; 2010, 10:1-16.

Gnanadesigan M, Ravikumar S, Anand M. Hepatoprotective activity of *Ceriops decandra* (Griff.) Ding Hou mangrove plant against CCl₄ induced liver damage. *Journal of Taibah University for Science*; 2017, 11:450-457.

Gosling J.A. Anatomie humaine atlas en couleur. De Boeck Supérieur; 2003:316.

Guiliani JP, Blin R. La détoxification hépatique. *Revue professionnelle de naturopathie*; 2019:56-61.

H

Hebi M, Eddouks M. Evaluation de l'activité antioxydants de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*; 2015, 15:6-7.

Helga F, Wolfgang K. Atlas de poche d'anatomie. Paris : Médecine sciences Flammarion; 2015:428.

Huang T, Jason B, Amany Z. Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A review of epidemiology, Risk factors, Diagnosis and Management. *Internal Medicine Journal*; 2019, 50:1-16.

J

Jakopic J, Colaric M, Veberic R, Hudina M, Solar A, Stampar F. How much do cultivar and preparation time influence on phenolics content in walnut liqueur? *Food Chemistry*; 2007, 104:100-105.

K

Kajji A. Le noyer. Rabat : INRA, 2020:26.

Kamina P. L'essentiel en anatomie. Paris : Maloine; 2013:250.

Kale AA, Shah S, Gaikwad SA, Mundhe, Deshpande NR, Salvekar JP. Elements from stem bark of orchard tree – *Juglans regia*. *International Journal of Chemtech Research*; 2010, 2:548-550.

Kang SH, Lee WH, Yoo JJ, Cho Y, Kim SU, Lee TH, Jang BK, Kim SJ, Ahn SB, Kim H, Jun DW, Choi J, Kim W, Jeong SW, Kim MW, Koh H, Jeong S, Lee JW, Cho YK. KASL clinical practice guidelines: Management of nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical and molecular hepatology*; 2021, 27:363-401.

L

Laakso M. Maladie cardiovasculaire dans le diabète de type 2 : défi pour le traitement et la prévention. *Journal of Internal Medicine*; 2001, 249:225-235.

Lanthier N. Les nouveaux traitements de la stéatohépatite non-alcoolique. *Nutrition clinique et métabolisme*; 2020, 34:216-222.

Liang X, Chen D, Cao L, Zhao S. Effects of pressed degreased walnut meal extracts on lipid metabolism in postnatally monosodium glutamate-induced mice and 3T3-L1 preadipocytes. *J. Funct.Foods*; 2017, 31:89-96.

Liu YM, Xu YP, Gao JM, Yang XP, Liu YS. Analysis of volatile components from leaves of *Juglans regia* by GC/MS. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*; 2007, 24:1100-1102.

Luczak S, Swiatek L, Zadernowski R. Phenolic acids in leaves and pericarpium of walnut *Juglans regia* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica*; 1989, 46:494-499.

M

Madani H, Rahimi P, Mahzoni P. Effects of hydroalcoholic extract of *Juglans regia* leaves on activity of AST and ALT enzymes in alloxaninduced diabetic rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences*; 2009, 15:213-218.

Manning WE. The classification within the juglandaceae. *Garden*; 1978, 65: 1058-1087.

Marchisello S, Pino AD, Scicali R, Urbano F, Piro S, Purello F. Pathophysiological, Molecular and Therapeutic Issues of Nonalcoholic Fatty Liver Disease : An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*; 2019, 20:1-32.

Mitchell R, McGill. Le passé et le present des aminotransferases sériques et l'avenir des biomarqueurs des blessures hépatiques. *Excli* ; 2016,15 :817-828.

Mohammadi J, Saadipour K, Delaviz H, Mohammadi B. Anti-diabetic effects of an alcoholic extract of *Juglans regia* in an animal model. *Turkish Journal of Medical Sciences*; 2011, 41:685-691.

Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* ; 2003, 26: 211-219.

P

Pariente A. Hépatopathies stéatosiques dysmétaboliques. *EMC-traité de médecine akos* ;2018, 13 :1-7.

Pisonero-Vaquero S, Gonzalez-Gallego J, Sanchez-Campos S, Victoria Garcia-Mediavilla M. Flavonoids and related compounds in non-alcoholic fatty liver disease therapy. *Current medicinal chemistry*; 2015, 22: 2991-3012.

Polyzos Sa, kountouras J, Mantzoros CS. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease from pathophysiology to therapeutics. *Metabolism mars*; 2019, 92:82-97.

Q

Qureshi MN, Stecher G, Bonn GK. Determination of total polyphenolic compounds and flavonoids in *Juglans regia* leaves. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*; 2014, 27.

R

Raja G, Shaker IA, sailaja I, Swaminathan R, BashaSaleem S, Babu K S. Phytochemical Screening and Reducing Power Assay of Nut Extracts of *Juglans regia L.* International journal of chimique and life science; 2012, 15:1026-1031

Ren, S, Yan X, Ma J, Pan Y, Zhang W, Wang D, Fei Z, Liu X. Defatted walnut powder extract reduces cholesterol gallstones formationn in C57BL/6 mice by downregulating the levels of ABCG5/8 in the liver and NPC1L1 in the intestine. *Funct.Foods*; 2018, 48:85-91.

Rinella M, Charlton M. The globalization of nonalcoholic fatty liver disease: Prevalence and impact on world health. *Hepatology (Baltimore, Md)*; 2016, 64:19-22.

S

Sanchez-Moreno C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and Technology International*; 2002, 8:121-137.

Santosa A, Barrosa L, Calhelhaa RC, Dueñasb M, Carvalhoa AM, Santos-Buelgab C, Ferreiraa I. Leaves and decoction of *Juglans regia L.*: different performances regarding bioactive compounds and *in vitro* antioxidant and antitumor effects. *Industrial Crops and Products*; 1978, 51:430-436.

Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *The New England Journal of Medicine*; 2010, 362:1675-1685.

Schwimmer JB, Behling C, Newbury R, Deutsch R, Nievergelt C, Schork NJ. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*; 2005, 42:641-649.

Shabalala SC, Dlodla PV, Mabasa L, Kappo AP, Basson AK, Pheiffer C, Johnson R. The effect of adiponectin in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the potential role of polyphenols in the modulation of adiponectin signaling. *Biomedicine & pharmacotherapy*; 2020, 131:1-17.

Shah UN, Mir JI, Ahmed N, Zaid A, Jan S, Fazili KM, Wani SH. Bio-techniques for improvement of qualitative and quantitative traits in walnut (*Juglans regia*). *Advances in Horticultural Science*; 2018, 32:113-135.

Shimoda H, Tanaka J, Kikuchi M, Fukuda T, Ito H, Hatano T, Yoshida T.Effect of polyphenol rich extract from walnut on diet-induced hypertriglyceridemia in mice via enhancement of fatty acid oxidation in the liver. *Food Chemistry*; 2009, 17:1786-1792.

Sigleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and viticulture*; 1965, 16:144-158.

Sohouli MH, Lari A. The association between polyphenols intake and odds of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) among adult population. *International Journal of Nutrition Sciences*; 2020, 5:118-125.

T

Tawaha K, Alali FQ, Gharaibeh M, Mohammad M, El-Elimat T. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*; 2007, 24:1372-1378.

Toivonen PM, Hodges DM. Abiotic stress in harvested fruits and vegetables. *InTech*; 2011, 39-58.

Tosun M, Ercisli S, Sengul M, Ozer H, Polat T, Ozturk E. Antioxidant properties and total phenolic content of eight salvia species from Turkey. *Biological research*; 2009, 42:175-18

V

Van AS, Tromp M, Haenen GRMM, Van D, Vijgh W, Bast A. Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochemical and biophysical research*; 1995, 214:755-763.

W

Walter J, Burdelski M, Bröring DC. Chances and risks in living donor liver transplantation. *Deutsches Ärzteblatt International*; 2008, 105:101-107

Wang Y, Li JY, Han M, Wang WL, Li YZ. Prevention and treatment effect of total flavonoids in *Stellera chamaejasme L.* On nonalcoholic fatty liver in rats. *Lipids in health and disease*; 2020, 14:1-9.

Y

Yao H, QiaoYJ, Zhao YL, Tao XF, Xu LN, Yin LH, Peng JY. Herbal medicines and nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*; 2016, 22:6890-6905.

Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, Bugianesi E. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*; 2018, 15:11-20.

Z

Zampaglione L, Ferrari J, Goosens N. La stéatopathie dysmétabolique. *Schweiz Gastroenterol* ;2020, 1 :79-85.

Zhang C, Yang M. Current options and future directions for NAFLD and NASH treatment. *International Journal of Molecular Sciences*; 2021, 22:1-19.

Annexes.

Annexe 1

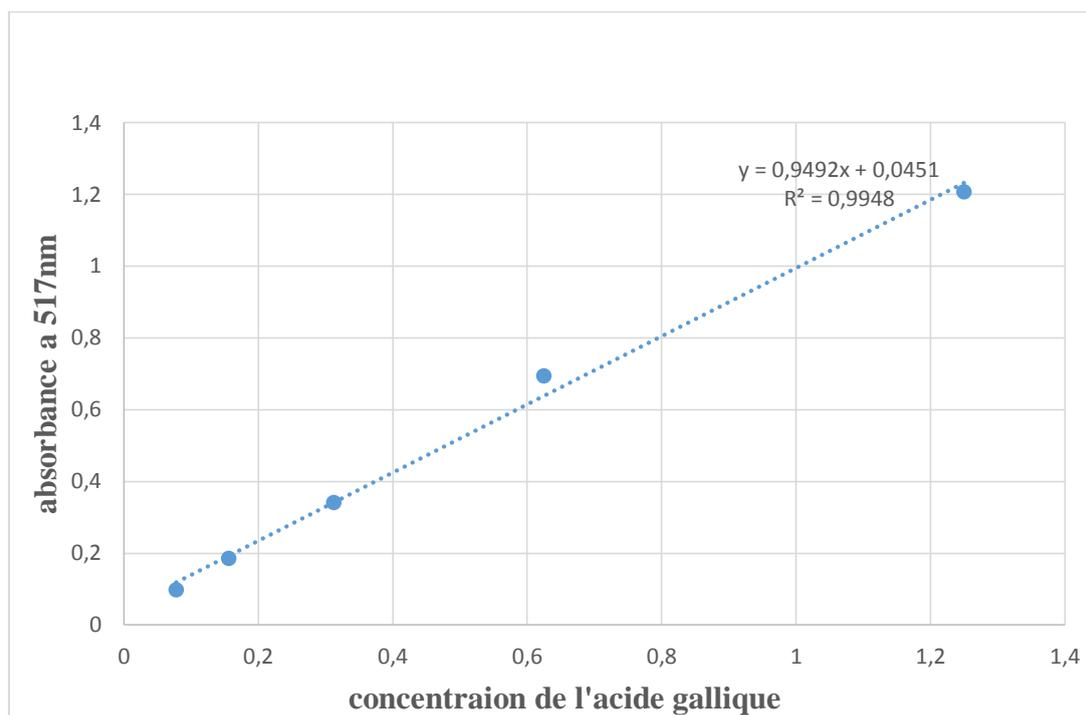


Figure 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique utilisé dans le dosage des polyphénols totaux.

Résumé

Ce travail entre dans le cadre de la valorisation et de la caractérisation de *Juglans regia* L., une plante médicinale utilisée en phytothérapie traditionnelle. De ce fait, notre étude c'était portée sur l'évaluation de l'effet traitant de son extrait sur la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) sur des rat Wistar. Sachant que cette pathologie a été provoquée par un régime riche en gras et en sucre. Dans cette perspective, une extraction par décoction a été effectuée sur l'écorce de *Juglans Regia* L. Après optimisation des conditions d'extraction, l'analyse quantitative a exhibé une richesse de l'extrait en composés phénoliques ($189,2 \pm 0,81$ mg/ml d'acide gallique équivalent), ce qui a marqué une significative activité antioxydants (78%), indiquée par le radical libre DPPH. L'étude de l'activité anti-NAFLD a exposé une diminution significative du taux des transaminases (ASAT/ALAT), des triglycérides et du cholestérol. Cependant, nous avons constaté que l'extrait n'avait aucun effet sur la diminution du taux de la glycémie.

En conclusion, *Juglans regia* L. semble avoir un effet bénéfique sur le traitement de la NAFLD, en l'occurrence, liés à ses propriétés antioxydants et à son action sur les paramètres biochimiques de la pathologie.

Mots clé : *Juglans regia* L., NAFLD, activité antioxydants, transaminases, composés phénoliques.

Abstract

This work is part of the valuation and characterization of *Juglans regia* L., a medicinal plant used in traditional herbal medicine. Therefore, our study was focused on the evaluation of the treating effect of its extract on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in Wistar rats. Knowing that this pathology was caused by a diet high in fat and sugar. In this perspective, an extraction by decoction was carried out on the bark of *Juglans Regia* L. After optimization of the extraction conditions, the quantitative analysis showed a richness of the extract in phenolic compounds (189.2 ± 0.81 mg/ml of gallic acid equivalent), which marked a significant antioxidant activity (78%), indicated by the free radical DPPH. The study of anti-NAFLD activity showed a significant decrease in the level of transaminases (ASAT/ALAT), triglycerides and cholesterol. However, we found that the extract had no effect on lowering blood sugar levels.

In conclusion, *Juglans regia* L. seems to have a beneficial effect on the treatment of NAFLD, in this case, related to its antioxidant properties and its action on the biochemical parameters of the pathology.

Keywords: *Juglans regia* L., NAFLD, antioxidant activity, transaminases, phenolic compounds.