

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie physico-chimique
Filière : Science biologique
Option : Biochimie physiopathologie



Réf :.....

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

MASTER

Thème

Etude préliminaire sur l'effet des extraits de
Fraxinus angustifolia et *Clematis flammula* sur
l'hypercholestérolémie et la dyslipidémie chez les
souris

Présenté par :
ABDELBOST Hadjer et SAADI Sabrina

Soutenu le : **Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mme Cheraft-Bahloul N	MAA	Président
Mme Atmani D	MCA	Encadreur
Mr Tacherfiout M	MAA	Examineur

Année universitaire : 2016 / 2017



Remerciements

Avant et après tout, nous remercions notre bon Dieu le tout puissant de nous avoir donné courage, la patience et la santé pour bien continuer et réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre promotrice Mme ATMANI. D de nous avoir accordé l'accès au laboratoire de génétique et de nous avoir encadrés et de nous pousser d'avancer par ses préventions tous les jours malgré son temps précieux et ses autres travaux qui l'attendent...

Nos remerciment notre co-promoteur pour l'intérêt qu'il a apporté à notre travail et pour sa disponibilité et ces conseils qui nous ont toujours incités à mieux faire.

Nous tenons à remercier également madame BAHLOUL-CHERAFT d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.

Nous tenons à remercier également Mr TACHERFIUOT d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous remercions les techniciens du laboratoire d'histologie, pour leur contribution à la réalisation des techniques d'examens histologiques en matière de microscopie et tous les personnels de laboratoire de génétique.

Nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Au nom du tout puissant

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, la tendresse, Le respect, la reconnaissance... Aux êtres qui me sont chers et c'est tout simplement qu'à eux que je dédie ce mémoire

A ma très chère mère TAZIBTE Zahia, honorable, tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices .Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur. Je t'aime maman.

A mon très chère père ABDELBOST Abdelaziz A celui qui m'a aidé à découvrir le 'savoir' le trésor inépuisable. De tous les pères, tu as été le meilleur, tu as su m'entourer d'attention, m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité. Ce travail est ton œuvre, toi qui m'a donné tant de choses et tu continues à le faire. Merci d'avoir été toujours là pour moi.

A mon adorable et très chère sœur Sara. Ma sœur adorée. Merci d'avoir été à mes côtés durant toutes ces années, merci pour ton soutien.

A mes très cher frères Younes et Amine pour leurs aide durant ces années.

*A toute la promotion biochimie 2016-2017 et à mon binôme Sabrina.
A TOUS CEUX OU CELLES QUI ME SONT CHERS ET QUE J'AI INVOLONTAIREMENT OMIS DE CITER ET SURTOUT.*

Hadjer

Avant de dédier ce travail, je tiens d'abord à remercier le dieu qui nous a donné de la santé, la force, la patience et nous a permis de mener ce travail puis je dédie ce travail.

A

Ma mère, j'ai toujours trouvé auprès de toi compréhension et soutien. Tes prières et tes conseils ne m'ont jamais fait défaut tout au long de mes études.

Les mots me manquent pour t'exprimer toute ma reconnaissance.

Que tes sacrifices, tes privations trouvent leur récompense dans l'aboutissement de ce modeste travail qui est aussi le fruit de ta persévérance, de ton courage, ta bonne éducation et surtout ta patience

Je voudrais te dire que sans toi je ne serais jamais ce que je suis aujourd'hui et te dire combien je suis fière de l'éducation que tu m'as donnée

A mes frères :

Zahír, Hafíd et surtout mon petit frère que j'adore ferhat

A mes sœurs :

Messaad, chahíra, nabila et son fils Daniel

A mon oncle zahír et ma tante karíma et leur petite famille (mazigh, melissa, maissa, massine)

A ma chère binôme hadjer, A tous mes amis (es) pour leur soutien, aide, présence et surtout leurs compréhension

Merci pour tous ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre dans ce travail, je les remercie du fond du cœur.

Sabrina

SOMMAIRE

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I-1-Les lipides	2
I-1-1- Les triglycérides.....	2
I-1-2- Les phospholipides.....	2
I-1-3- Le cholestérol.....	2
I-2 Les lipoprotéines.....	5
I-2-1 Structure et composition.....	5
I-2-2 Classification des lipoprotéines.....	6
I-3 La dyslipidémie	7
I-3-1 Définition	7
I-3-2 Classification des dyslipidémies	7
I-4 L'athérosclérose.....	8
I-5 Traitement.....	8
I-6- Les plantes médicinales.....	11
I-7 Les composés phénoliques	11
I-7-1 Les flavonoïdes	11
I-7-3 Les phytostérols.....	12
I-8 Phytothérapie des désordres liés à la dyslipidémie et l'hypercholestérolémie.....	14
Chapitre II : Matériel et méthodes	
II-1 Matériel végétal.....	15
II-1-1- <i>Fraxinus angustifolia</i>	15
II-1-2- <i>Clematis flammula</i>	16
II-2 Matériel animal	18
II-3 Préparation de la poudre végétale	18
II-4 Traitement des souris.....	19
II-5 Prélèvement sanguin	20
II-5-1 Méthode de dosage du cholestérol total.....	20
II-5-2 Méthode de dosage du cholestérol-HDL	20
II-5-3 Méthode de dosage des triglycérides	21
II-5-4 Méthode de mesure de la concentration de cholestérol- LDL	21
II-6 Etude histologique.....	22
Chapitre III : Résultats et discussions	
III.1.Résultats	26
III-1-1 Evolution du poids corporel	26
III-1-2 Etude de l'effet anti-hyperlipidémique induit par le TritonX-100	27
III.2. Discussion	33
III-3 Etude histologique	35
III-3-1 Histologie du foie	35
III-4 Discussion	41
Conclusion.....	42
Références bibliographiques.....	43
Annexe	

Liste des figures

Figure 1 : La structure du cholestérol.....	3
Figure 2 : Voies de métabolisme du cholestérol dans l'organisme.....	4
Figure 3 : Synthèse du cholestérol.....	4
Figure 4 : Structure générale d'une lipoprotéine.....	5
Figure 5 : Mécanisme d'action des statines.....	9
Figure 6 : Augmentation de la production des récepteurs des LDL par les statines.....	10
Figure 7 : Structure de base d'un polyphéno.....	11
Figure 8 : Structure de l'enchaînement benzo- γ -pyrone.....	12
Figure 9 : Structure des stérols végétaux courants et du cholestérol.....	13
Figure 10 : Effets des phytostérols sur l'absorption du cholestérol.....	14
Figure 11 : Photographie originale de <i>Fraxinus angustifolia</i> ; arbre (a) et feuilles (b).....	16
Figure 12 : Photographie originale de <i>Clematis flammula</i> ; arbuste (a) et feuilles (b).....	17
Figure 13 : Photographie originale de la distribution des souris dans des cages.....	18
Figure 14 : Photographie originale de la poudre de <i>Fraxinus angustifolia</i> (a) et <i>Clematis flammula</i> (b).....	19
Figure 15 : Les réactions enzymatiques de dosage du cholestérol total.....	20
Figure 16 : Les réactions enzymatiques de dosage du triglycéride.....	21
Figure 17 : Photo originale de la dissection d'une souris.....	21
Figure 18 : Photo originale des foies fixés dans la formaline.....	21
Figure 19 : Photo originale de l'appareil d'inclusion.....	22
Figure 20 : Photo originale d'un distributeur de paraffine à gauche (A) et à droite plaque de congélation (B).....	22
Figure 21 : Photo originale d'un microtome (leica).....	23
Figure 22 : Les étapes de la coloration (photo originale).....	24
Figure 23 : Evolution du poids corporel des souris de différents lots durant les 44 heures d'expérimentation.....	25
Figure 24 : Evolution du poids corporel des souris de différents lots durant les 44 heures d'expérimentation.....	26
Figure 25 : Dosage du cholestérol sanguin lots de <i>F.angustifolia</i> (A) et <i>C.flammula</i> (B).....	27
Figure 26 : Dosages de HDL sanguin des lots de <i>F.angustifolia</i> (A) et <i>C. flammula</i> (B).....	28
Figure 27 : Dosage des triglycérides sanguins des lots de <i>F. angustifolia</i> (A) et <i>C.flammula</i> (B).....	29
Figure 28 : Dosage du LDL sanguin des lots de <i>F. angustifolia</i> (A)et <i>C.flammula</i> (B).....	30
Figure 29 : Coupe histologique du foie du lot I.....	34
Figure 30 : Coupe histologique du foie du lot II.....	35
Figure 31 : Coupe histologique du foie du lot III de <i>F. angustifolia</i> dose 100 mg/kg.....	36
Figure 32 : Coupe histologique du foie du lot IV de <i>F. angustifolia</i> dose 200 mg/kg.....	36
Figure 33 : Coupe histologique du foie du lot V de <i>F. angustifolia</i> dose 300g/kg.....	37
Figure 34 : Coupe histologique du foie du lot III de <i>C. flammula</i> dose 100 mg/kg.....	37
Figure 35 : Coupe histologique du foie du lot IV de <i>C. flammula</i> dose 200 mg/kg.....	38
Figure 36 : Coupe histologique du foie du lot V de <i>C. flammula</i> dose 300 mg/kg.....	39
Figure 37 : Coupe histologique du foie du lot VI Atorvastatine à 10 mg/kg.....	39

Liste des tableaux

Tableau I :La classification des dyslipidémies selon Fredrikson.....	8
Tableau II : Répartition des lots selon les traitements.....	21

Les abréviations

ACAT :	Acyl-CoA cholestérol Acyl Transférase.
ADN :	Acide Désoxyribonucléique.
ADP :	Adénosine Di Phosphate.
Apo B :	Apolipoprotéine B.
Atorva :	Atorvastatine.
ATP :	Adénosine Tri Phosphate.
CETP :	Protéine de Transfert des Esters de Cholestérol
CHE :	Cholestérol Estérase.
CHOD :	Cholestérol-Oxydase.
DAP :	Acide Diamino Pimélique.
EDTA:	Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid.
EP:	Eau Physiologique
ERO:	Espece Reactive de l'Oxygene.
FA:	<i>Fraxinus angustifolia.</i>
CF:	<i>Clematis flammula.</i>
G3P:	Glycérol-3-Phosphates.
GPO:	Glycérophosphate déshydrogénase.
HDL:	High Density Lipoprotein.
HMG COA:	Hydroxy-Methyl-Glutaryl-Coenzyme A.
IDL:	Intermediate Density Lipoprotein.
LCAT:	Lecithin-Cholesterol Acyl Transferase.
LDL B/E:	LDL recepteur B/E.
LDL:	Low Density Lipoprotein.
LDL-C:	LDL-Cholesterol.
LP:	Phospholipid.
LP a :	Lipoprotein a.
LPL :	Lipoprotéine Lipase.
MTP:	Microsomal Transfer Protein.
POD:	Peroxidase.
PPARα:	High Density Lipoprotein.
SEM:	Standard Error Mean.

SR-B1: Scavenger Receptor class B type1.
SREBP2: Sterol Regulatory Element Binding Protein.
TG: Triglycerides.
VLDL: Very Low-Density Lipoprotein.

Introduction

L'hyperlipidémie est une maladie métabolique qui regroupe des augmentations quantitatives d'une ou plusieurs lipoprotéines dans le plasma sanguin (**Saga et al., 2011**). Plusieurs causes sont possibles. Certaines personnes ont des problèmes de l'hyperlipidémie en raison de leurs mauvaises habitudes alimentaires et du manque d'activité physique. D'autres sont plutôt génétiquement prédisposés à avoir des augmentations de lipides dans le sang (**Farnier, 2008**). L'hypercholestérolémie est liée étroitement à la dyslipidémie constituée d'une hausse considérable du cholestérol dans le sang. Bien que son origine est essentiellement métabolique, elle peut être héréditaire, causée par la présence d'un (seul) allèle muté dans le gène des récepteurs de LDL (**Descamps, 2008**).

Les dyslipidémies représentent un problème réel de santé publique avec des prévalences qui dépassent 30 % dans les pays occidentaux (**Cissé et al., 2016**). En Afrique subsaharienne les prévalences varient selon la région et des taux de plus de 50 % ont été retrouvés au Ghana et au Nigéria (**Cissé et al., 2016**). Les traitements hypolipidémisants ont prouvés leur efficacité dans la prévention des maladies cardiovasculaires mais ils ne sont pas dépourvus d'effets secondaires, telles que les douleurs musculaires et les crampes (**Brosteaux et al., 2010**).

La médecine moderne dépend beaucoup des plantes. Ainsi, sous leurs conditionnements hermétiques, gélules et comprimés contiennent souvent des extraits végétaux ou des produits d'hémisynthèse d'origine naturelle (**Clément et al., 2005**). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% de la population mondiale dépendent de la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé (**Muthu et al., 2006**).

Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle, il y a eu un énorme intérêt ces dernières années pour l'étude des plantes médicinales, tant pour la conservation des traditions et de la biodiversité culturelle mais aussi pour développer de nouveaux médicaments d'origine naturelle dépourvus des effets secondaires des molécules synthétiques (**Muthu et al., 2006**). C'est dans cette optique que les feuilles de deux plantes médicinales locales, *Fraxinus angustifolia* et *Clematis flammula* ont été choisies. Ces deux plantes sont largement utilisées en Algérie dans le traitement des maladies à caractère inflammatoire comme les douleurs rhumatismales et la goutte (**Chawla et al., 2012**) ; **Kostova et Iossifova, 2007**). Bien que leur utilisation traditionnelle n'inclue pas l'hypocholestérolémie et la baisse de la dyslipidémie, notre travail a pour objectif de tester l'effet anti hyperlipidémique de l'extrait éthanolique des feuilles de ces deux plantes médicinales sur des souris rendues hyperlipidémiques par le Triton X-100.

I- 1-Les lipides

Les lipides sont des molécules principales en raison de l'apport énergétique qu'ils présentent et leurs nombreuses fonctions biologiques ou structurales (Mallol *et al.*, 2013). En effet, les acides gras, le cholestérol et les phospholipides sont les principaux constituants des membranes cellulaires et possèdent aussi un rôle de précurseurs d'hormones. Ils sont également des modulateurs génétiques du signal (Mallol *et al.*, 2013). Les principaux lipides sanguins sont: les triglycérides, les phospholipides et le cholestérol, qui représentent une famille de molécules hydrophobes, insolubles dans les milieux biologiques aqueux (Mallol *et al.*, 2013).

I-1-1- Les triglycérides

Les triglycérides sont principalement utilisés par les tissus musculaires et cardiaques, mais lors de leur surabondance dans le plasma après un repas gras par exemple, ils sont surtout captés par les adipocytes (tissus adipeux) qui sont capables d'amasser des réserves illimitées de triglycérides (Polonovski, 1976).

I-1-2- Les phospholipides

Les phospholipides sont des constituants essentiels des membranes cellulaires et sont responsables des propriétés physicochimiques de ces dernières, ils sont également les sites de nombreux messagers intra- et intercellulaires, impliqués dans des phénomènes aussi différents que la réponse aux stimulations hormonales, l'inflammation et l'agrégation plaquettaire (Béréziat *et al.*, 1988).

I-1-3- Le cholestérol

Le cholestérol est une molécule organique de la famille des stérols. Le nom cholestérol vient du grec *chole-* (bile) et *-stereos* (solide), car il fut découvert sous forme solide dans les calculs biliaires (Callias, 2007). Il est indispensable à notre organisme puisqu'il est un des principaux constituants des membranes cellulaires et qu'il participe à de nombreux processus biochimiques (Callias, 2007).

I-1-3-1 Structure du cholestérol

Le cholestérol est une substance lipidique organique à 27 carbones de la famille des stérols (Figure 1). Il peut se présenter sous deux formes:

- **Forme libre**, non associée à une autre substance. La molécule est alors faiblement hydrophile.

- **Forme estérifiée**, la fonction OH de la molécule se lie à un acide gras ce qui la rend complètement hydrophobe. Comme toutes les molécules organiques, celle-ci est principalement composée d'un grand squelette de carbone et d'hydrogène (Callias, 2007).

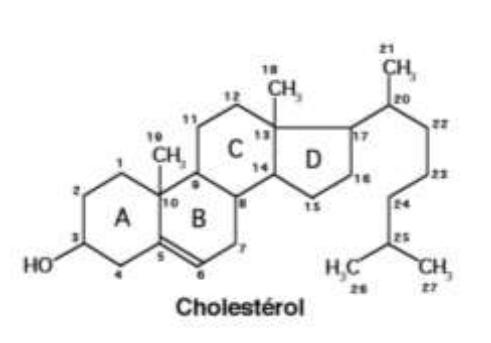


Figure 1: La structure du cholestérol (Daragan *et al.*, 2000).

I-1-3-2 Rôle biologique du cholestérol

Le cholestérol est indispensable à notre organisme car il intervient de façon majeure dans la synthèse endocrinienne étant un précurseur d'hormones stéroïdiennes et sexuelles (Callias, 2007). Sa synthèse endogène est suffisante pour assurer toutes ses fonctions physiologiques. L'apport alimentaire du cholestérol n'est donc pas indispensable, d'autant plus que les capacités de synthèse augmentent si nécessaire (Hansel et Giral, 2015), c'est d'ailleurs pourquoi il se trouve de manière extrêmement abondante dans notre organisme et dans notre sang (Callias, 2007).

I-1-3-3 Origine du cholestérol

Le cholestérol cellulaire a deux origines:

- **Endogène (75%)**: synthétisé par l'organisme lui-même à l'intérieur du foie et de certaines cellules intestinales.
- **Exogène (25%)**: fourni par notre alimentation (aliments d'origine animale tels que les viandes, surtout cerveau, rognons et foie, les crustacés, le jaune d'œuf et les matières grasses animales...) (Callias, 2007).

I-1-3-4 Métabolisme du cholestérol

Les voies complètes d'apport et de retour du cholestérol des tissus périphériques vers le foie, sont illustrées dans la **figure 2**. Les différents organes ainsi que les principaux facteurs moléculaires et lipidiques sont également énumérés.

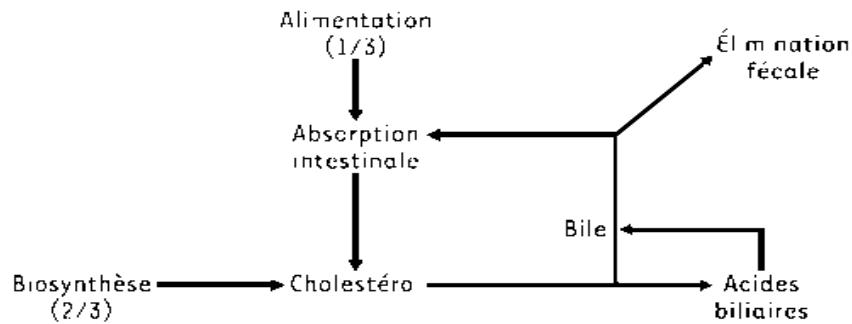


Figure 2: Voies de métabolisme du cholestérol dans l'organisme (Saile et Hassan, 2007).

La biosynthèse du cholestérol est énergétiquement coûteuse, il est nécessaire qu'elle soit régulée afin de ne produire que le complément nécessaire (Espenshade et Hughes, 2007). Elle se déroule dans le cytoplasme des cellules de l'intestin (entérocytes) et le foie (hépatocytes) et se fait à partir de l'hydroxy-méthyl-glutaryl-CoA (HMG-CoA), catalysé par l'HMG-CoA réductase, l'enzyme clé du métabolisme du cholestérol (Espenshade et Hughes, 2007). Les acides gras à chaînes courtes (C8) et la leucine sont aussi de bons substrats pour la synthèse du cholestérol cette dernière est représentée par 5 réactions principales (figure 3):

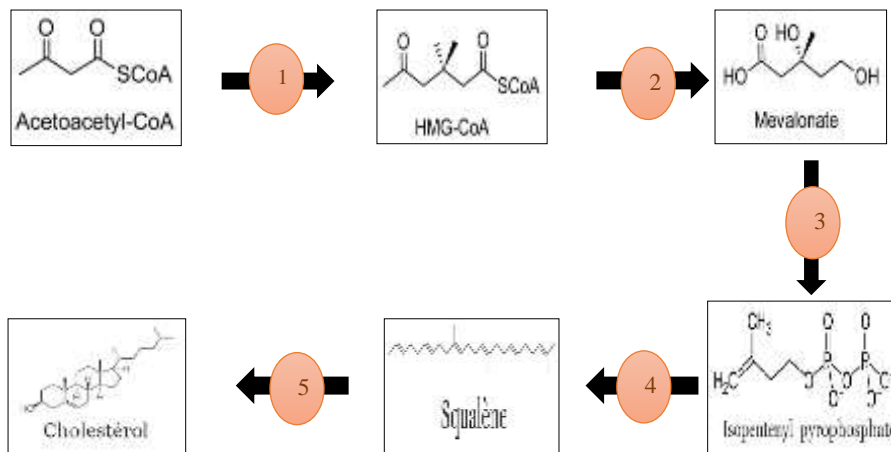


Figure 3: Synthèse du cholestérol (Chen et al., 2011).

- 1- synthèse de HMG –COA qui provient de la condensation de trois molécules d'acétyl Coenzyme A.
- 2- l'étape d'engagement de l'hydroxy-méthyl-coenzyme A réductase (HMG –COA réductase) et la transformation de l'HMG –COA en mévalonate.
- 3- transformation du mévalonate en isopentenyl actif par le clivage d'un atome du carbone.

4- polymérisation de six isopentenyl actifs pour la formation du Squaléne.

5 - cyclisation du squaléne et transformation en cholestérol par le clivage de trois atomes de carbone (**Figure 3**) (**Chen et al, 2011**).

A long terme, l'augmentation du cholestérol cellulaire provoque une diminution des taux de synthèse de l'HMG COA réductase et des récepteurs LDL, diminuant ainsi les capacités de production et de capture du cholestérol et entraîne une augmentation du taux de synthèse de l'ACAT (Acyl-COA cholestérol Acyl Transférase) augmentant ainsi l'estérification et donc le stockage (**Espenshade et Hughes, 2007**).

I-2 Les lipoprotéines

Vu leur nature hydrophobe, les lipides sont transportés à travers les différents organes de l'organisme par des macromolécules appelées lipoprotéines formant ainsi des complexes macromoléculaires avec celles-ci (**Amrani et al., 2014**). Les lipoprotéines assurent le transport des lipides à travers les milieux biologiques aqueux (plasma, lymphe et liquide interstitiel) (**Gautier et al., 2011**).

I-2-1 Structure et composition

Les lipoprotéines sont des particules sphériques qui transportent des lipides insolubles, (cholestérol et triglycérides) dans le plasma, dont le cœur hydrophobe est composé d'esters de cholestérol et de triglycérides et dont la surface est constituée de phospholipides, de cholestérol libre et d'apolipoprotéines (**figure 4**) (**Vergès, 2007**); elles sont synthétisées dans le foie et les intestins (**Mallol et al., 2013**).

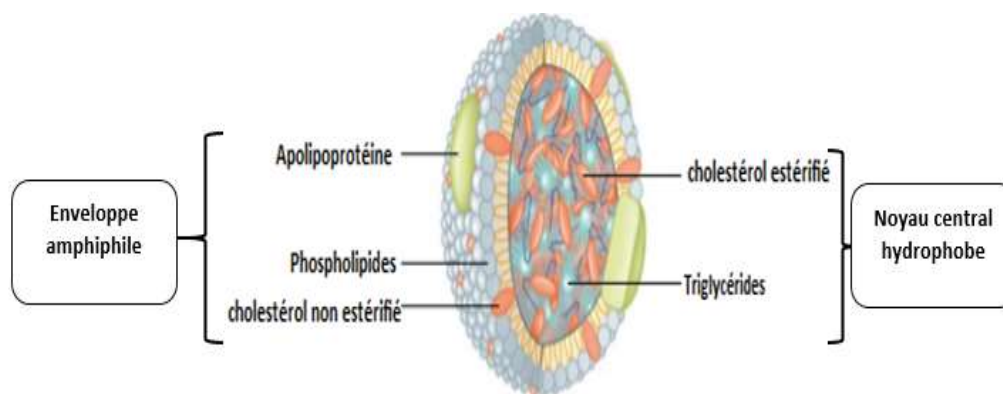


Figure 4 : Structure générale d'une lipoprotéine (**Gautier et al., 2011**).

I-2-2 Classification des lipoprotéines

Comme le cholestérol n'est pas soluble dans l'eau ni le sang qui est de nature aqueuse, il circule grâce à 4 sous-classes de lipoprotéines: elles sont subdivisées en plusieurs catégories selon leurs caractéristiques physico-chimiques (densité, taille, composition lipidique et protéique) (**Lagrost *et al.*, 2004**). Les apolipoprotéines : sont des constituants protéiques des lipoprotéines, elles permettent la formation et la stabilisation des particules de lipoprotéines, elles jouent un rôle dans le transport sanguin des lipides (**Bolanos *et al.*, 2003**).

-Chylomicrons : sont des lipoprotéines qui se forment en période digestion et qui prennent en charge le transport des triglycérides et du cholestérol d'origine alimentaire (**Vergès, 2007**). La formation des chylomicrons a lieu dans l'entérocyte, au sein duquel l'association des composants lipidiques (triglycérides, esters de cholestérol, phospholipides) à l'apo B48 est réalisée par la MTP (Microsomal Transfer Protein). Les chylomicrons sont sécrétés dans la lymphe d'où ils rejoignent la circulation sanguine (**Vergès, 2007**).

-VLDL (Very Low-Density Lipoprotein) : sécrétées par le foie, elles sont composées majoritairement de triglycérides (55 à 65 %). Elles contiennent aussi du cholestérol, des phospholipides et des apolipoprotéines (apoB-100, apoC, apoE) (**Vergès, 2007**). Dans l'hépatocyte, la formation des VLDL se déroule en deux étapes; la première, qui se produit dans le réticulum endoplasmique granuleux, est caractérisée par la lipidation de l'apoB sous l'action de la MTP, donnant naissance aux pré-VLDL. Au cours de la seconde étape, les pré-VLDL sont converties en VLDL dans le réticulum endoplasmique lisse sous l'action de l'ADP ribosylation factor-1 (ARF-1) et de la phospholipase D (**Vergès, 2007**).

-IDL (Intermediate Density Lipoprotein) : Ce sont des lipoprotéines de plus petite taille et moins riches en triglycérides. Ils sont captés par le foie par l'intermédiaire des récepteurs B/E, voire des protéines apparentées au LDL récepteur (LRP), ou bien il subit l'hydrolyse de ces triglycérides pour former des LDL (**Vergès, 2007**).

-LDL (Low Density Lipoprotein) : Ces molécules sont responsables du transport de 65 à 70 % du cholestérol. Chaque particule LDL comprend une molécule d'apo B-100, qui joue un rôle essentiel dans le métabolisme des LDL (**Vergès, 2007**).

En effet, la « clearance » des LDL se fait après leur fixation par l'intermédiaire de l'apo B-100, sur des récepteurs B/E spécifiques localisés sur les hépatocytes (70%) et sur les autres cellules de l'organisme (30 %) (**Vergès, 2007**).

-HDL (High Density Lipoprotein) : Ils évacuent l'excès de cholestérol des tissus périphériques vers le foie, leur noyau est composé surtout de cholestérol estérifié, recouvert

d'une surface de phospholipides, d'Apo A1 et d'Apo A2 (Point et Belges, 2004). Ils sont synthétisés par le foie et par l'intestin, par l'action de la lipoprotéine lipase sur les VLDL (Point et Belges., 2004).

L'hyperlipidémie est caractérisée par l'augmentation du cholestérol total de sérum, lipoprotéine de faible densité (LDL), lipoprotéine de densité très faible (VLDL) et niveaux diminués de lipoprotéine à haute densité (HDL) leurs effets anti-atherogéniques sont associés à la protection contre les maladies cardiovasculaires ce qui leur vaut le nom de « bon cholestérol » (Farnier, 2008).

I-3 La dyslipidémie

I-3-1 Définition :

La dyslipidémie est définie en tant qu'un ensemble de changements du métabolisme des lipides ou des lipoprotéines qui génère des concentrations anormales dans la circulation sanguine (Souza *et al.*, 2017). La dyslipidémie peut être due à un dysfonctionnement du système de régulation qui permet à la synthèse du cholestérol de diminuer lorsque les apports alimentaires augmentent. Cette dérégulation peut être déclenchée par des facteurs environnementaux ou génétiques et avoir une répercussion aussi bien au niveau de lipoprotéines dans le sang que sur les concentrations de ses différents composants (Souza *et al.*, 2017).

Les termes hyperlipémie ou hyperlipidémie désignent une augmentation de la concentration plasmatique en cholestérol (hypercholestérolémie) et/ou en triacylglycérols, anciennement appelés triglycérides (hypertriglycéridémie) (Jeusette *et al.*, 2004).

I-3-2 Classification des dyslipidémies:

La classification internationale des dyslipidémies ou classification de Fredrickson dont le principe repose sur les données de l'électrophorèse des lipides sériques est représentée dans tableau I (Bongard et Ferrieres, 2006).

Tableau I : Classification des dyslipidémies (**Bongard et Ferrieres, 2006**).

	Cholestérol	TG	LP	Type
I	↑	↑ ↑ ↑	CM	hypertriglycériémie exogène
II a	> 2,5 g/l	N	LDL	hypercholestérolémie pure
II b	↑	↑ ↑ ↑	VLDL+LDL	dyslipidémie mixte
III	↑	↑ ↑ ↑	IDL	dyslipidémie mixte
IV	N	↑ ↑ ↑	VLDL	hypertriglycériémie endogène
V	↑	↑ ↑ ↑	VLDL+CM	hypertriglycériémie endo/exogène

La dyslipidémie est directement liée aux maladies cardiovasculaires qui constituent la première cause de mortalité dans le monde. Elles sont responsables chaque année du décès de plus de 17 millions de personnes, soit 30 % de la mortalité dans le monde (**Bongard et Ferrieres, 2006**). L'athérosclérose est une maladie des artères, à l'origine de la plupart des accidents cardiovasculaires graves (**Bongard et Ferrieres, 2006**).

I-4 L'athérosclérose

Cette maladie est l'une des conséquences évidentes de la dyslipidémie. Un niveau de cholestérol normal est important pour un corps sain. Cependant, un niveau élevé de cholestérol dans le sang c-à-d l'hypercholestérolémie. En effet, cette dernière a été reconnue comme facteur de risque important de maladie cardiaque tel que l'athérosclérose (**Sarr et al., 2008**). Selon l'OMS, l'athérosclérose est une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibres consistant en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôts calcaires (**Beurdeaux et al., 2006**). L'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique, caractérisée par des dépôts de lipides et d'éléments fibreux dans la paroi artérielle (**Paul et Baudin, 2009**). C'est une pathologie qui se développe dès le stade fœtal et évolue ensuite lentement durant plusieurs décennies pour ne devenir généralement symptomatique qu'à la fin de l'âge. En effet, les lésions athérosclérotiques apparaissent principalement au niveau des bifurcations artérielles, sur la paroi opposée au point de jonction (**Broisat et al., 2005**).

I-5 Traitement

Le traitement pharmacologique de l'hypercholestérolémie (dyslipidémie) repose essentiellement sur l'utilisation des inhibiteurs de l'HMG CoA- réductase (statines). Pour traiter des hypertriglycériémies pures, on utilise les activateurs de PPAR α (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors alpha.) (fibrates). Ces deux classes de médicaments

contrôlent directement (fibrates) ou indirectement (statines) l'expression des gènes impliqués dans la régulation du métabolisme des lipides et des lipoprotéines (**Duriez, 2003**).

- **Les statines**

Les statines sont des inhibiteurs compétitifs de la 3-hydroxy-3- méthylglutaryl (HMG)-COA réductase, l'enzyme clé de la synthèse endogène du cholestérol. L'inhibition de cette enzyme mène à une baisse de la concentration intracellulaire du cholestérol (**figure 5**) (**Scheen, 2011**).

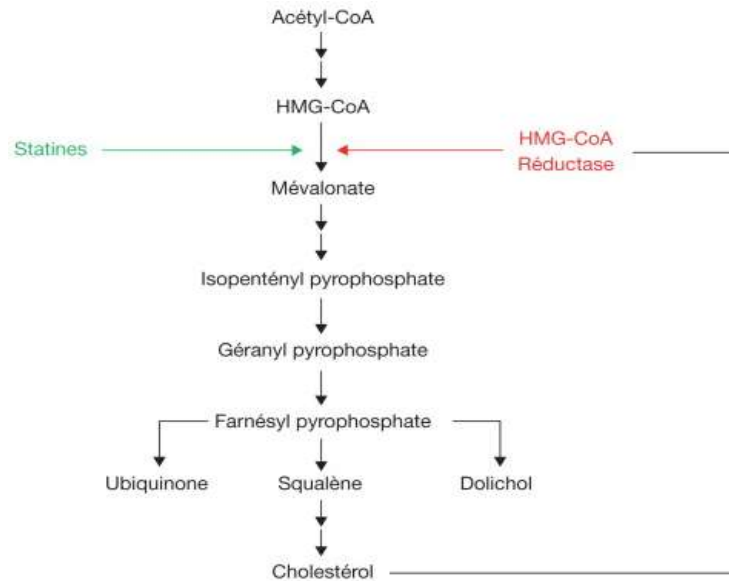


Figure 5 : Mécanisme d'action des statines (**Farnier, 2013**).

La baisse de la concentration du cholestérol active le facteur SREBP-2 (Sterol Regulatory Element Binding Protein), qui stimule la transcription du gène du LDL (B/E)-récepteur et provoque la surexpression de ce récepteur dans le foie (**Scheen, 2011**).

L'augmentation de l'activité hépatique du LDL (B/E)-récepteur augmente la clairance des LDL plasmatiques provoquant ainsi la diminution des concentrations du LDL cholestérol (**figure 6**) (**Farnier, 2014**). Il s'ensuit une diminution de la synthèse du cholestérol, de la cholestérolémie totale et dans une moindre mesure, de la triglycéridémie (**Desmeules, 2003**), une réduction significative des LDL et une augmentation légère des HDL (**Pharand et al., 2008**).

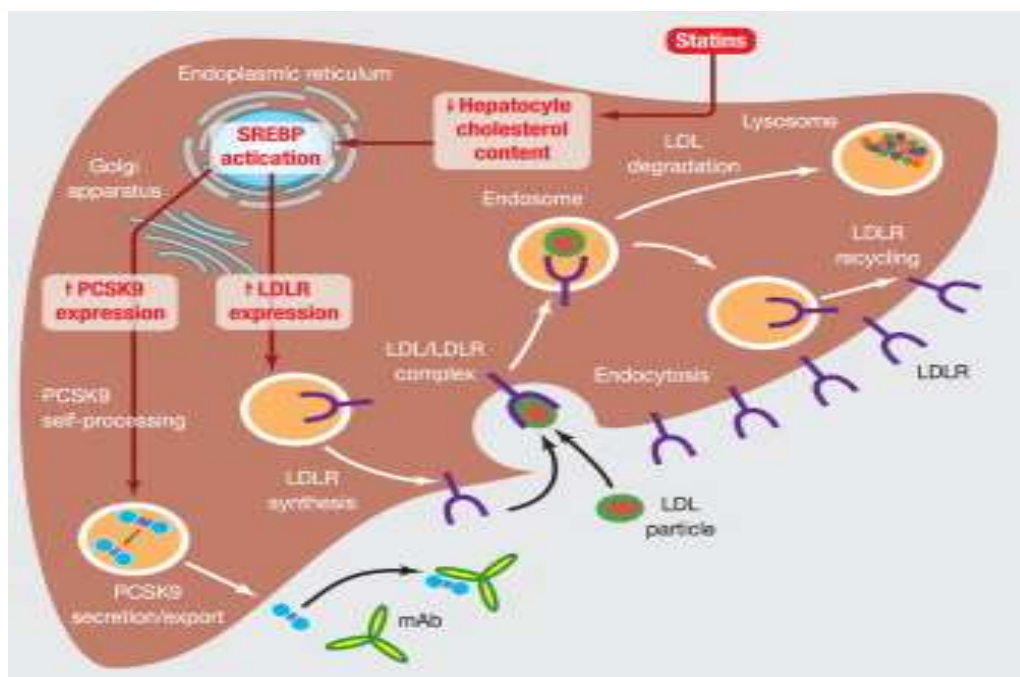


Figure 6 : Augmentation de la production des récepteurs des LDL par les statines (Farnier, 2014).

En plus de réduire la biosynthèse du cholestérol, les études ont démontré que les statines ont d'autres effets (Sheen, 2011). L'amélioration de la fonction endothéliale, un effet anti-inflammatoire et une diminution du stress oxydant, contribuant à une meilleure stabilisation de la plaque athéromateuse et une régression du volume de l'athérome a été rapportée (Nalbone *et al.*, 2002). Les statines permettent une élévation modérée du HDL-c d'environ 7% (Nicholls *et al.*, 2007).

Une prescription prolongée et élargie des statines à long terme est une préoccupation majeure de santé publique. Bien que les statines soient généralement bien tolérées, des hépatopathies sévères et des rhabdomyolyse fatales peuvent survenir dans certains cas (Desmeules, 2004). Ces effets indésirables ont attiré l'attention des autorités de pharmacovigilance et conduit en 2001 au retrait retentissant de la cérvastatine (Desmeules, 2004). C'est pour cela que la majorité des gens ont recours aux plantes médicinales.

- **Les inhibiteurs de la CETP (Protéine de Transfert des Esters de Cholestérol)**

La CETP stimule le transfert dans les deux sens de l'ester de cholestérol entre VLDL-c et HDL-c dans le plasma. Elle facilite également le transfert des triglycérides et des phospholipides. C'est un élément important dans le transfert inverse du cholestérol et

permet de réguler la concentration du HDL-c. Les médicaments hypolipémiants en cours de développement augmentent le taux de HDL-c, considéré comme du « bon cholestérol » (Farnier, 2012).

Ils sont au nombre de quatre : le torcetrapib, l'anacetrapib, le dalcetrapib et l'evacetrapib. Ces médicaments augmentent la pression artérielle et le risque cardiovasculaire. Pour cela, la plupart ne sont pas utilisés (Farnier, 2012).

I-6 Les plantes médicinales

Les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans les soins de santé et sont les principales matières premières pour les préparations médicales traditionnelles et conventionnelles, la plupart des gens choisissent les plantes médicinales plutôt que les médicaments classiques en raison de leur efficacité, l'augmentation du coût des médicaments modernes (Amalraj *et al.*, 2017). Elles sont considérées comme une importante source de métabolites secondaires et à l'origine du développement de nouveaux agents thérapeutiques (Rojas-Olivos *et al.*, 2017). En effet, de nombreux travaux ont pu démontrer l'activité biologique et le mode d'action thérapeutique des métabolites extraits à partir des plantes. Ces dernières sont dénuées d'effets secondaires connus chez certains médicaments dits modernes (Abdellah *et al.*, 2014). Les extraits éthanoliques de *Caesalpinia Linn* ont une activité anti-hyperlipidémique significative. Par conséquent elle peut être exploitée comme agent ou adjuvant thérapeutique anti-hyperlipidémique dans la thérapie existante pour le traitement de la maladie (Bharathi *et al.*, 2016).

I-7 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont les métabolites secondaires les plus répandus dans les plantes renfermant plusieurs classes, et caractérisés par la présence d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones dans leur structure (phénol) (figure 7) (Bravo., 1998).

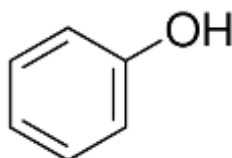


Figure 7: Structure de base d'un polyphénol (Hopkins, 2003).

Les phénols sont divisés en plusieurs classes basées sur leurs structures et leurs dérivés. Les plus grandes classes sont: les flavonoïdes et les phytostérols (Bravo., 1998).

I-7-1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés naturels des plantes médicinales, qui donnent la pigmentation aux légumes et aux fruits (Ghedira, 2005). Ils possèdent plusieurs activités biologiques parmi elles: antioxydants, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires protecteurs vasculaires et vasodilatateurs (Ghedira, 2005). Ils ont un squelette de base formé par la succession de benzo- γ -pyrone (figure 6) (Ghedira, 2005).

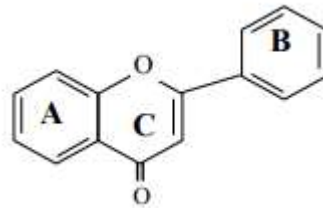


Figure 8: .Structure de l'enchaînement benzo- γ -pyrone (Ghedira, 2005).

Selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation, les flavonoïdes se divisent en 6 groupes : flavones, flavonols, flavanones, Isoflavones, dihydroflavonols et flavan-3',4'-diols. Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire liés à des oses et autres substances (Ghedira, 2005).

I-7-2 Les phytostérols

Les phytostérols sont des stérols végétaux dont la structure chimique est très proche de celle du cholestérol (figure 9) (Hansel et Giral, 2011). Ces composés rentrent en compétition avec le cholestérol au niveau de l'absorption dans l'intestin (Lecerf, 2007).

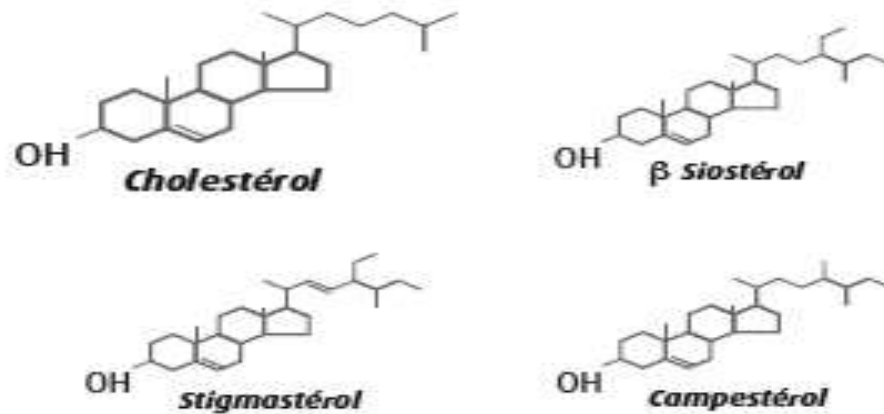


Figure 9 : Structure des stérols végétaux courants et du cholestérol (Bruckert, 2001).

I-7-3-1 Mécanisme d'action des phytostérols

L'inhibition de l'absorption du cholestérol par les phytostérols est due à la grande similitude des propriétés physico-chimiques des phytostérols avec celles du cholestérol (**figure 9**) et conduit à une diminution de la concentration plasmatique par l'inhibition de son absorption intestinale (**Figure 10**) (Serfaty-Lacrosniere *et al.*, 2001). Le cholestérol et les phytostérols à l'état libre sont peu solubles dans les graisses et les micelles (Bruckert, 2001). De plus, quand ils sont présents simultanément, ils empêchent mutuellement leur solubilité (Bruckert, 2001). En conséquence, une augmentation importante de la concentration des phytostérols entraîne une diminution de la solubilité du cholestérol et provoque une augmentation de sa précipitation et de son excrétion fécale (Lecerf, 2006). Donc l'administration des phytostérols augmente l'élimination des stérols neutres dans les selles (Serfaty-Lacrosniere *et al.*, 2001).

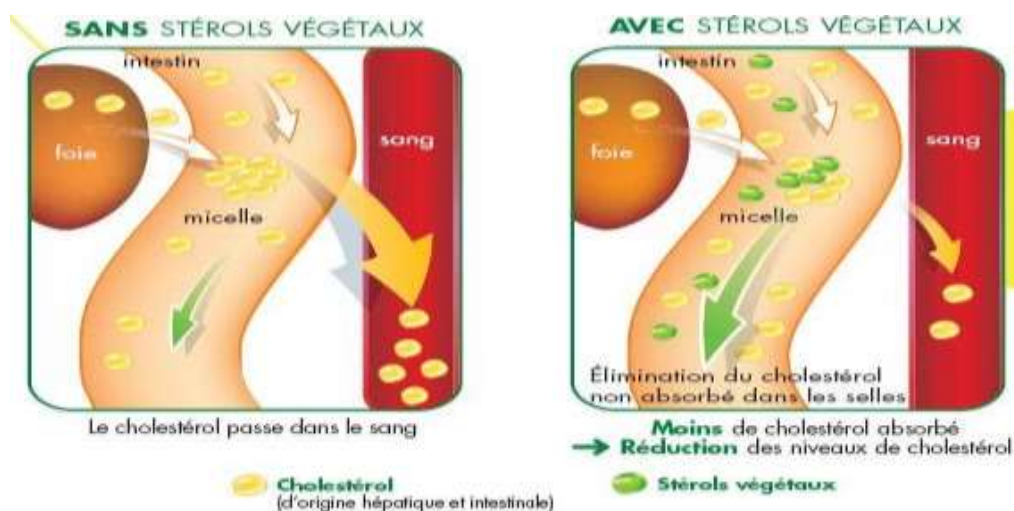


Figure 10: Effets des phytostérols sur l'absorption du cholestérol (Séjourné, 2009).

I-8 Phytothérapie des désordres liés à la dyslipidémie et l'hypercholestérolémie

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre les capacités cellulaires de production d'espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) et les antioxydants (Pincemail *et al.*, 2002). Les vertus médicinales des plantes et leurs constituants phénoliques résident dans leur potentiel à éliminer le stress oxydant (Favier, 2003). Tous les facteurs de risque cardiovasculaires sont associés à une augmentation du stress oxydant. Par exemple, les ROS (Reactive oxygen species) participent à l'oxydation des LDL, à des changements de perméabilité membranaire, à des dommages moléculaires (ADN, lipides, protéines), à la dysfonction endothéliale, toutes ces conditions prédisposent à l'athérogenèse (Thorin-Trescases, 2010).

Les polyphénols sont des molécules qui peuvent contribuer à la baisse des conditions cardiovasculaires en réduisant l'absorption du cholestérol (Zern et Fernandez, 2005). Cette réduction d'absorption de cholestérol aura comme conséquence la diminution de l'apport du cholestérol au foie par des remnants de chylomicrons qui à leur tour, permettra d'augmenter l'expression de l'ARNm hépatique du récepteur des LDL afin de compenser la disponibilité du substrat et d'induire des réductions de cholestérol plasmatique (Zern et Fernandez, 2005). Les polyphénols affectent aussi les taux de sécrétion d'apo B, les activités MTP (Microsomal Transfer Protein) et ACAT2(Acyl- CoA Cholestérol Acyl Transférase), ce qui entraîne à la formation d'une particule VLDL modifiée (Zern et Fernandez, 2005). Les réductions des TG plasmatiques ont été observées en raison d'une faible activité de MTP et éventuellement de l'activité LPL accrue. Les réductions du TG plasmatique peuvent modifier

davantage la cascade de délipidation, ce qui donne moins de LDL en circulation (**Zern et Fernandez, 2005**).

I-1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude est constitué des feuilles de *Fraxinus angustifolia* et *Clematis flammula*.

II-1-1- *Fraxinus angustifolia*

- **Distribution**

La famille des oléacées comprend environ 600 espèces dans le monde, réparties dans environ 25 genres, le genre *Fraxinus* comprend environ 70 espèces ligneuses, largement distribués en Europe, en Asie de l'est et du nord et en Amérique centrale, il est aussi très répandu dans les régions tropicales et tempérées (Afrique du nord), dont les représentants sont des plantes ligneuses, arbres et arbustes (Moulaoui *et al.*, 2015).

- **Description**

C'est un arbre majestueux qui peut atteindre 20 mètres de hauteur (**figure 11a**), les feuilles sont opposées et composées, elles sont caduques, souvent à fleurs odorantes, leurs feuilles opposées, parfois alternées, en général simples mais elles peuvent être composées (**figure 11b**) (Moulaoui *et al.*, 2015).

- **Classification**

Règne : végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Lamiales

Famille : Oléacées

Genre : *Fraxinus*

Espèce : *Fraxinus angustifolia*

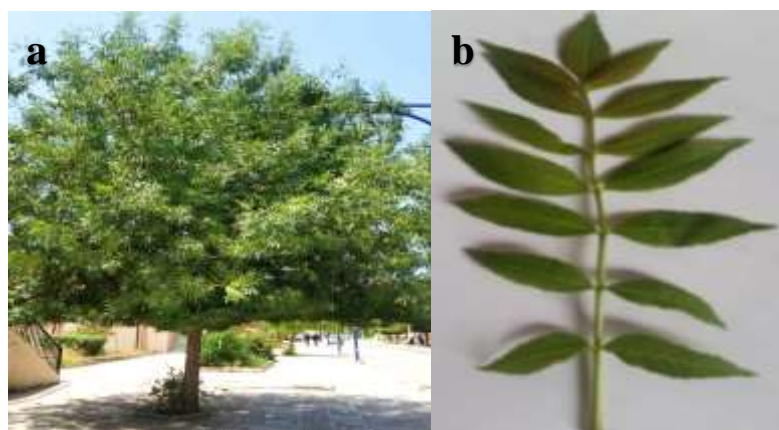


Figure 11 : Photographie originale de *Fraxinus angustifolia*; arbre (a) et feuilles (b).

Appellation vernaculaire berbère : Taslent, Tasseléne, Aslén, Asseln, Islen, Tabouchicht.

Appellation vernaculaire arabe : Sella, Rasleut, Dardar, mesharouane, Lessane el acefour.

Appellation scientifique : *Fraxinus angustifolia*.

- **Composition**

En ce qui concerne les constituants chimiques, cette famille est caractérisée principalement par la présence des secoiridoides, dérivés d'acides hydroxy-cinnamiques et la présence de mannitol et aussi la présence de coumarines, lignanes et flavonoïdes (**Kostova et Iossifova, 2007**).

- **Usage et propriétés thérapeutiques**

Fraxinus angustifolia (*F. angustifolia*) est une source importante de substances actives qui est largement utilisé dans le traitement des maladies à caractère inflammatoire, aussi utilisé comme diurétique, laxatif, sudorifique, hypoglycémique hypotensive et antiseptique (**Kostova et Iossifava, 2007**). Il a aussi été rapporté que cette plante est analgésique, hypouricémiant, antiulcéreuse, traite les maux de la vessie et de la prostate, anti-rhumatismale et diminue le taux du cholestérol dans l'organisme (**Falé et al., 2014**).

II-1-2- *Clematis flammula*

- **Distribution**

Les espèces de *Clematis* sont répandues dans l'hémisphère nord et ont été employées intensivement en tant que médecines traditionnelles autour du monde (**Chawla et al., 2012**).

- **Classification**

Embranchement : Angiospermes

Classe : Eudico

Ordre : Ranunculacées

Genre : Clematis L

Espèce : *Clematis flammula* L

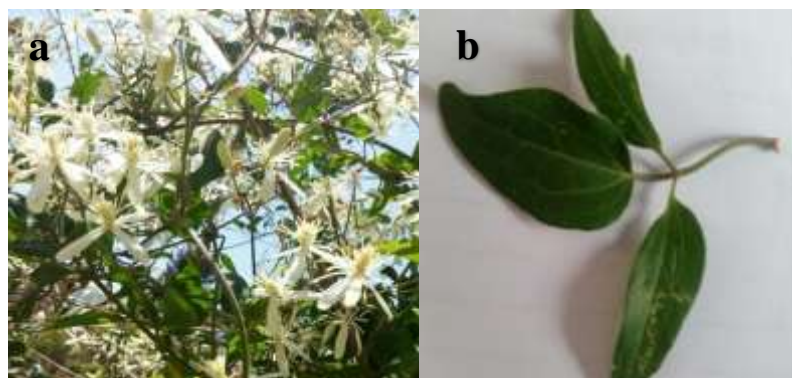


Figure 12 : Photographie originale de *Clematis flammula*; arbuste (a) et feuille (b).

Appellation vernaculaire berbère : azenzu.

Appellation vernaculaire arabe : yasmin beri.

Appellation scientifique : *Clematis flammula*.

Appellation vernaculaire français : clématite brulante

- **Utilisations traditionnelles**

Les parties aériennes de diverses espèces de *Clematis* sont en particulier utilisées en Europe et l'Asie de l'est comme un remède pour réduire la douleur de la fièvre et comme diurétique (Chawla *et al.*, 2012). Elles sont utilisées également dans le traitement des douleurs rhumatismales, les infections oculaires, la goutte et la varicosité (Chawla *et al.*, 2012). Les données ethno pharmacologiques obtenues à partir des herboristes indiquent que les feuilles de *Clematis flammula* (*C. flammula*) sont utilisées pour traiter l'arthrite et les brûlures de la peau (Chawla *et al.*, 2012). Elles sont également employées comme insectifuge pour empêcher la détérioration du blé et du maïs stockés (Atmani *et al.*, 2009).

- **Composition chimique**

Les espèces de *Clematis* ont un large éventuel de composants tels que les triterpènes, les flavonoïdes, les lignanes, les coumarines, les alcaloïdes, les polyphénols, les acides organiques...et parmi ceux-ci les saponines de triterpènes sont des constituants majoritaires

probablement responsables de la plupart d'activités montrées par des espèces de *Clematis* (Chawla *et al.*, 2012).

- **La toxicité de la plante**

Les feuilles fraîches de *Clematis flammula* sont toxiques dues à la présence de proto-anémonines (une lactone insaturée instable), un composé qui est hydrolysé en anémone puis en acide carboxylique non toxique au séchage (Chawla *et al.*, 2012). Les proto-anémone peuvent causer des irritations de la muqueuse gastrique et des saignements interne de la région digestive, d'où le nom clématite brûlante (Chawla *et al.*, 2012).

II-2 les animaux

Les expériences ont été réalisées sur 36 souris swiss albinos femelles, les souris sélectionnées sont âgées de 6 à 8 semaines (25-35 g) fournis par l'institut pasteur d'Alger, leur élevage a été effectué au niveau de l'animalerie de l'Université de Abderrahmane Mira, Bejaia (figure 13), avec un accès libre à l'aliment de bouchon et l'eau. Elles ont été réparties en 6 lots (n= 4) et maintenues à 25-27°C grâce à un climatiseur, avec un cycle de lumière et d'obscurité 12h/12h.



Figure 13 : photographie originale de la distribution des souris dans des cages.

II-3 Préparation de la poudre végétale

- **Récolte**

Les feuilles de *Clematis flammula* ont été récoltées, dans la forêt d'Azru'n Bechar à Amizour, 30 km du centre-ville de la wilaya de Bejaia, au mois de mai de 2016 alors que les feuilles de *Fraxinus angustifolia* ont été récoltées durant le mois de juillet 2016.

- **Séchage**

Les feuilles de *C. flammula* et de *F. angustifolia* ont été séchées dans un endroit aéré et ombragé, afin d'éliminer toute trace d'humidité tout en préservant la composition en composés phénoliques.

- **Broyage et tamisage**

Après le séchage, les feuilles (des deux plantes) ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique puis le broyat obtenu a été tamisé via une série de tamiseurs jusqu'à l'obtention d'une poudre fine de diamètre 63 μm (**Figure 14**). La poudre fine résultante a été conservée dans un récipient hermétique jusqu'au moment de l'utilisation.

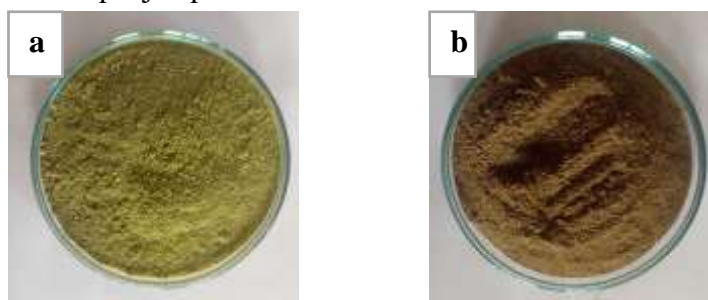


Figure 14: photographie originale de la poudre de *Fraxinus angustifolia* (a) et *Clematis flammula*(b).

- **Extraction**

L'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre fine des feuilles de *F. angustifolia* (200g) et *C. flammula* (100g) a été réalisée par macération des poudres dans de l'éthanol (96%) pendant 24 h avec un rapport de 1:4 (m /v). La macération a été effectuée sous agitation à température ambiante et à l'abri de la lumière. Les mélanges ont été ensuite décantés dans des éprouvettes pendant 24 h. Le surnageant récupéré (extrait éthanolique) a été versé dans des cristallisoirs et a été soumis à un séchage sous la hotte jusqu'à la stabilisation complète de son poids sec. Une fois séchée, l'extrait éthanolique obtenu est stocké dans un congélateur (-20°C) jusqu'au moment de son utilisation dans l'expérimentation *in vivo*.

II-4 Traitement des souris

L'hyperlipidémie est induite selon le protocole expérimental décrit par **Chakraborty et al (2012)** avec quelques modifications. Les souris sont privées de nourriture pendant 18h, puis ont été gavées d'une dose de Triton X-100 (TX-100) à 400 mg/kg qui a été diluée dans l'eau physiologique.

L'administration du TX-100, d'eau physiologique et l'extrait éthanolique de *F. angustifolia* ou *C. flammula* a été réalisé par gavage en utilisant une sonde.

La première dose des différents traitements a été directement après l'administration du Triton X-100 aux individus. La 2^{ème} et la 3^{ème} administration sont effectuées après 24h et 44h respectivement. Les lots ont été répartis suivant le tableau II ci-dessous

Tableau II : Répartition des lots selon les traitements

doses	1 ^{ère} dose après 18 h								2 ^{ème} dose après 24h				3 ^{ème} dose après 44h							
Phase	Phase 1		Phase 2																	
lots	EP	TX-100	EP	TX-100	FA/CF (mg/kg)			ATOR	EP	TX-100	FA/CF (mg/kg)			ATOR	EP	TX-100	FA/CF (mg/kg)			ATOR
					100	200	300				100	200	300				100	200	300	
1	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
2	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
3	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
4	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
5	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
6	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+

FA : Extrait de feuilles de *F.angustifolia*. CF: Extrait de feuilles de *C.flammula*.

EP : Eau Physiologique. ATOR : Atorvastatine.

Après 4 heures de jeûne de la 3^{ème} dose, les souris sont sacrifiées; le sang est immédiatement recueilli dans des tubes héparines.

Les tubes sont centrifugés à 3000 tours/minute pendant 10 minutes, le plasma récupéré est utilisé pour la détermination des paramètres biochimiques (TC, TG, HDL-c, LDL-c).

II-5 Dosage des paramètres lipidiques (TC, TG, HDL-c, LDL-c)

II-5-1 Principe du dosage du cholestérol total (CT) :

Le dosage a été réalisé en utilisant le kit spinreact basé sur les réactions suivantes

-Le cholestérol plasmatique est libéré par la cholestérol-estérase (CHE) à partir des esters de cholestérol (rx 1).

-le cholestérol libéré est ensuite oxydé par la cholestérol-oxydase (CHOD) en eau oxygénée et cholistenona (rx 2).

-L'eau oxygénée réagit avec le phénol et l'aminofenazone par l'intermédiaire de la Peroxydase (POD). Cette réaction (rx 3) conduit à la formation d'un composé de couleur rose (quinonimine) mesurée à 505 nm, dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon, selon la réaction suivante (**figure15**) (**Annexes, la fiche technique N°1**).

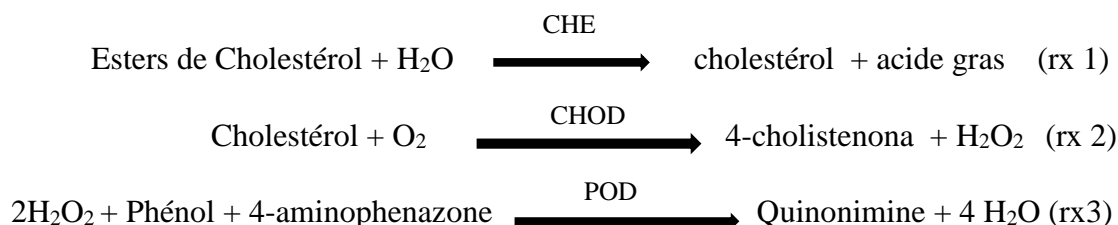


Figure 15 : les réactions enzymatiques de dosage du cholestérol total.

II- 5-2 Principe du dosage du cholestérol-HDL

Une solution de phosphotungstate (PTA) est ajoutée au sérum afin de précipiter les lipoprotéines de faible densité (LDL) et les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) présentes dans l'échantillon. Après centrifugation et élimination du culot, le surnageant contenant les lipoprotéines de haute densité (HDL) est utilisé pour leur dosage basé sur la même méthode comme pour le cholestérol total, mesurée à 505 nm (**Annexes, fiche technique N°2**).

II -5-3 Principe du dosage des triglycérides

-Les triglycérides de l'échantillon sont incubés avec la lipoprotéine lipase (LPL) qui libère le glycérol et les acides gras libres (rx 4).

-Le glycérol libéré est ensuite converti en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine-5-phosphate(ADP) par le glycérol kinase en présence d'ATP (rx 5).

-Le glycérol -3-phosphate est converti par la suite par le glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (rx 6).

-Dans la dernière réaction, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) réagit avec le 4 aminophénazone (4-AP) et le P chlorophénol en présence de peroxydase (POD) ce qui donne la couleur rougeâtre à la réaction qui est mesurée à 505nm (rx 7) (**figure 16**) (**Annexes, la fiche technique N°3**).

(**Buccolo *et al.*, 1973**) (**Annexes, la fiche technique N°3**).

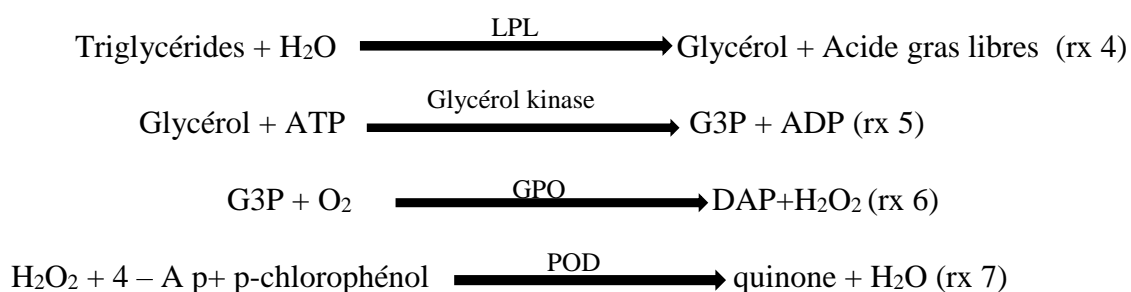


Figure 16 : les réactions enzymatiques de dosage du triglycéride.

II-5-4 Méthode de mesure de la concentration de cholestérol LDL

Le dosage se fait selon une méthode de calcul directe par la formule de **Friedwald *et al.*, (1972)**. LDL-C (mg/dl) = Cholesterol total (mg/dl) - [HDL-C (mg/dl) + TG/5] (mg/dl) (rx 8).

II-6 Etude histologique

a) Prélèvement de foie

Le foie a été prélevé, lavé dans le KCL (0.9 %) frais et fixé dans la formaline (formol à 10%) (**figure 17**).

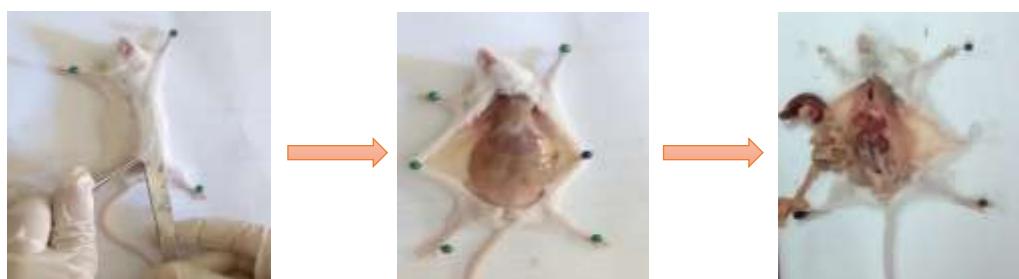


Figure 17 : photo originale de la dissection d'une souris.

Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anatomie pathologie au niveau de l'Université de Abderrahmane Mira Bejaia.

b) Fixation

Elle a pour but de figer les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies dans un état proche du vivant. Les échantillons sont placés dans des cassettes spéciales en plastique (**figure18**).



Figure 18: photo originale des foies fixés dans la formaline.

c) Déshydratation, éclaircissement et imprégnation

Afin de les déshydrater, les pièces de foie ont été placées dans un automate constitué de 12 cylindres, réparties dans 8 bains d'éthanol à des concentrations croissantes (de 65% à 100 %) pendant 45 min pour chacun, puis dans deux bains de xylène pendant 30 min pour chacun. Finalement l'étape de l'imprégnation, les pièces sont mises dans 2 bains de paraffine liquide pendant 1h30 min pour éliminer le xylène (**figure 19**).



Figure 19:photo originale de l'appareil d'inclusion (photo originale).

d) Enrobage et confection des blocs de paraffine

L'enrobage et la confection des blocs consistent à placer les fragments d'organe dans un des moules métallique remplis préalablement de paraffine fondue, couvert d'une cassette (**figure 20A**). Après l'enrobage, les cassettes sont misent sur une plaque réfrigérante jusqu'aux au refroidissement et durcissement de la paraffine. Les blocs démoulés sont prêts à être coupés (**figure 20B**).

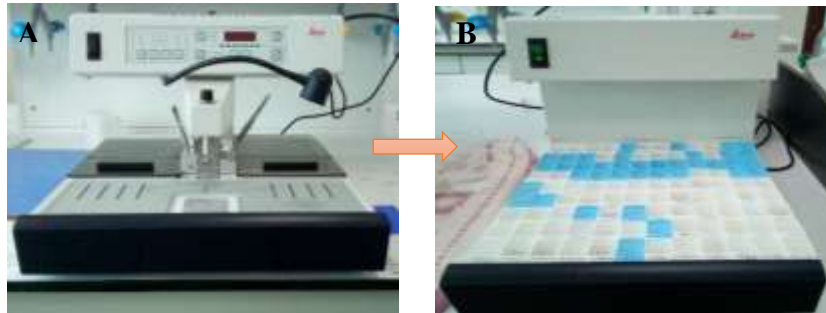


Figure 20 : photo originale d'un distributeur de paraffine à gauche (A) et à droite plaque de congélation (B).

e) Coupes et étalement

Les coupes ont été réalisées avec un microtome (**figure 21**) au laboratoire de l'ana pathologie de la faculté de la médecine à l'université de Bejaia. L'épaisseur des coupes (0.2 μ m) permet au rayon lumineux du microscope de traverser le prélèvement et d'éviter les superpositions cellulaires. Les rubans ont été recueillis sur des lames en verre et étaler à l'aide d'un bain Marie, puis laisser sécher à l'air libre.



Figure 21 : Photo originale d'un microtome (leica).

➤ Déparaffinage des coupes

Avant la coloration, les coupes ont été débarrassées de la paraffine à l'aide d'une étuve à 70°C.

➤ **Coloration et montage**

La coloration des tissus biologiques la plus utilisée est l'hématoxyline éosine. La méthode se compose de deux colorants : un colorant nucléaire (l'hématoxyline) (violet/noir) et un colorant cytoplasmique (l'éosine). Immerger les lames dans un bain d'Hématoxyline de Mayer (10 minutes). Rincer à l'eau courante. Les lames ont été mises par la suite dans un bain d'éosine pendant 2 à 3 min, puis rincer avec l'eau. Elles ont ensuite subies une déshydratation par des passages rapides dans l'éthanol puis éthanol- xylène puis xylène (figure 22).

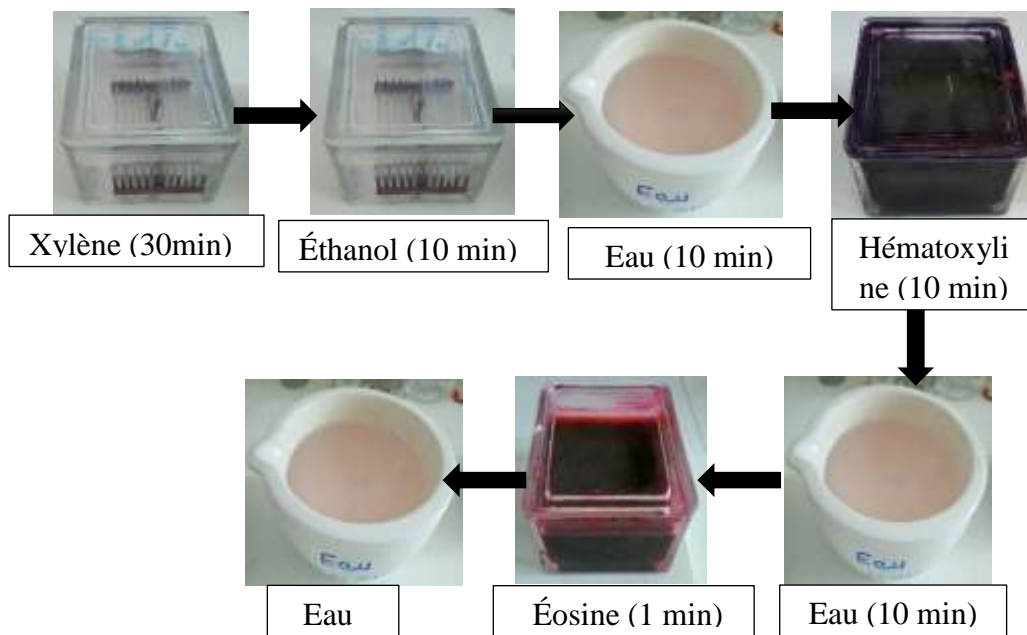


Figure 22 : Les étapes de la coloration (photo originale).

Après la coloration suit le montage qui consiste à fixer une lamelle en verre contre une lame après coloration par l'utilisation d'Eukit. Cette étape permet le collage et la protection des coupes (Protection chimique des colorants). Enfin, sécher les lames puis observer au microscope optique à différents grossissements (Gr:100) et (Gr:200).

III.1.Résultats

III-1-1 Evolution du poids corporel

L'accroissement pondéral du poids corporel est associé à l'obésité, présentant au moins un des facteurs de risque aux pathologies cardiovasculaires entre autre la dyslipidémie (Emery *et al.*, 2007).

L'évolution du poids corporel de différentes souris traitées par *F.angustifolia* et *C. flammula* et les souris témoins aux cours de l'expérimentation sont illustrées dans les figures 23 et 24, respectivement.

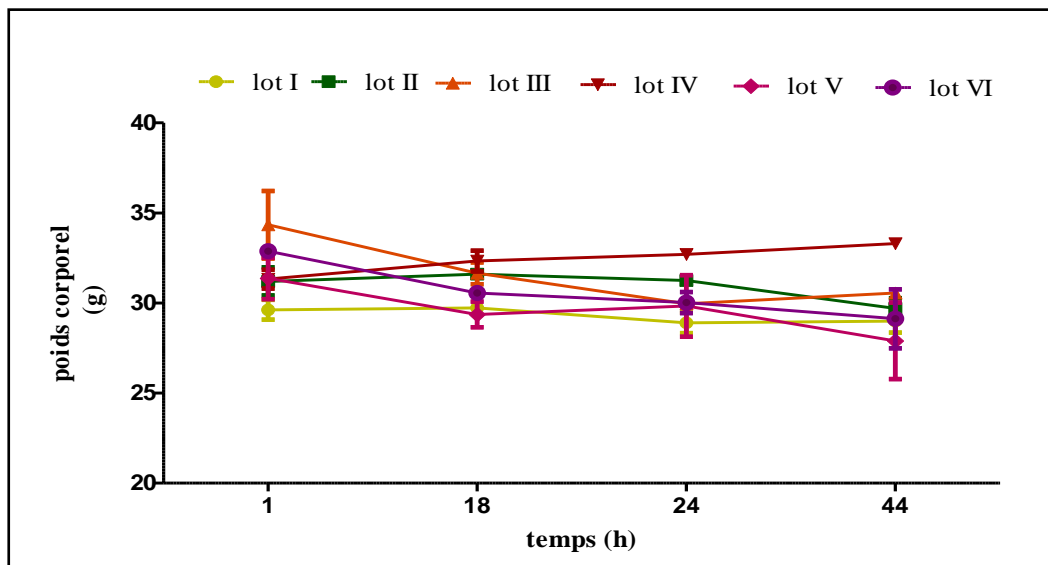


Figure 23 : Evolution du poids corporel des souris de différents lots durant les 44 heures d'expérimentation. I : control normal; II : control hyperlipidémique; III, IV et V : Triton X-100 (400mg/kg) plus 100, 200 et 300 mg / kg de l'extrait de feuilles de *F. angustifolia* respectivement ; VI Triton X-100 (400mg/kg) et l'atorvastatine (10 mg/kg). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM de (n=4) ; one-way ANOVA suivie par le test Tukey a été utilisé pour l'analyse statistique ; La différence est considérée hautement significative à ** $p < 0,001$ et très hautement significative à *** $p < 0,0001$ comparée au lot II.

Selon les résultats obtenus et après l'analyse statistique, la variation des poids des souris de tous les lots étudiés comparés à celui du control positive n'est pas significative.

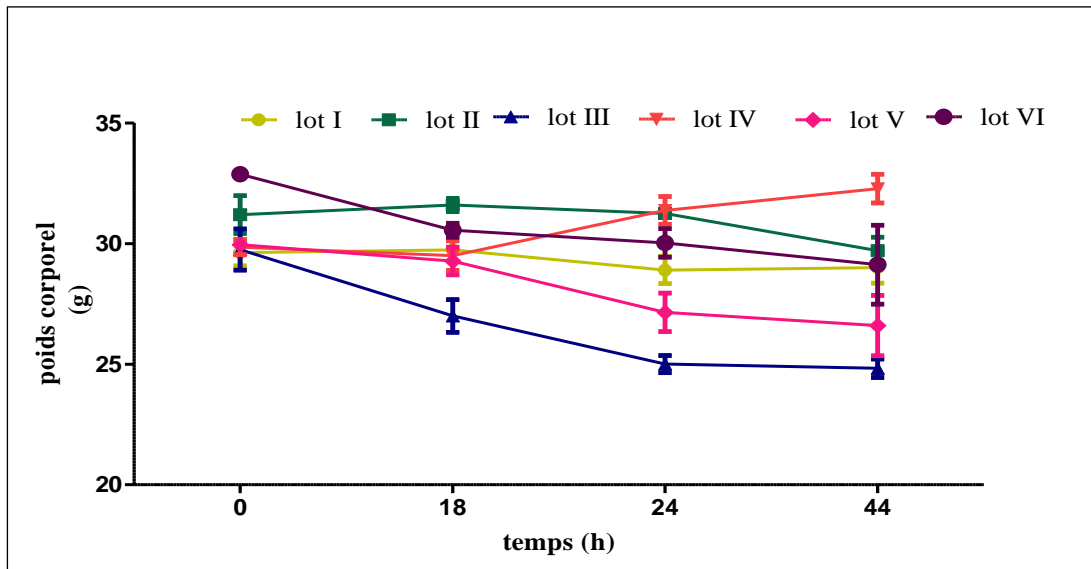


Figure 24 : Evolution du poids corporel des souris de différents lots durant les 44 heures d'expérimentation. I : control normal ; II : control hyperlipidémique ; III, IV et V : TX-100 (400mg/kg) plus 100, 200 et 300 mg/kg de l'extrait de feuilles de *C. flammula* respectivement ; VI : Triton X-100 (400mg/kg) et l'atorvastatine (10 mg/kg). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM de (n=4) ; one-way ANOVA suivie par le test Tukey a été utilisé pour l'analyse statistique ; La différence est considérée hautement significative à $**p < 0,001$ et très hautement significative à $***p < 0,0001$ comparé au lot II.

De même, dans la **figure 24** qui montre la variation des poids des souris hyperlipidémique et pré-traités par l'extrait de *C. flammula*, la variation de poids pendant 44h était non-significatif pour tous les lots.

III-1-2 Etude de l'effet anti-hyperlipidémique induit par le TritonX-100

La dyslipidémie est caractérisée par la présence d'anomalies quantitatives et qualitatives des lipoprotéines (Bongard *et al.*, 2006). Les principaux médicaments utilisés comme les statines (atorvastatine) visent à corriger les dyslipidémies (Morozova *et al.*, 2004). L'effet hypocholestérolémiant des statines est dû à la diminution de la biosynthèse du cholestérol par inhibition de HMG-COA réductase (Morozova *et al.*, 2004). Ces molécules médicamenteuses ont de plus des effets antiathérogènes sur la paroi vasculaire (anti-inflammatoire) (Morozova *et al.*, 2004).

III-1-2-1 Dosage des paramètres lipidiques sanguins

Afin de mieux caractériser l'effet des extraits éthanoliques de feuilles de *F. angustifolia* et *C. flammula* sur l'hyperlipidémie induite par l'administration par gavage du Triton X-100 aux souris, un dosage des différents paramètres lipidiques (cholestérol total, triglycérides, HDL-c, LDL-c) a été entrepris.

• Dosage de cholestérol total

Le niveau de cholestérol total dans le sang est un indicateur essentiel d'une hyperlipidémie. Après l'administration par voie orale du TX-100 à une dose de 400 mg/kg aux lots II-VI les résultats obtenus sont montrés dans la **figure 25** qui suit :

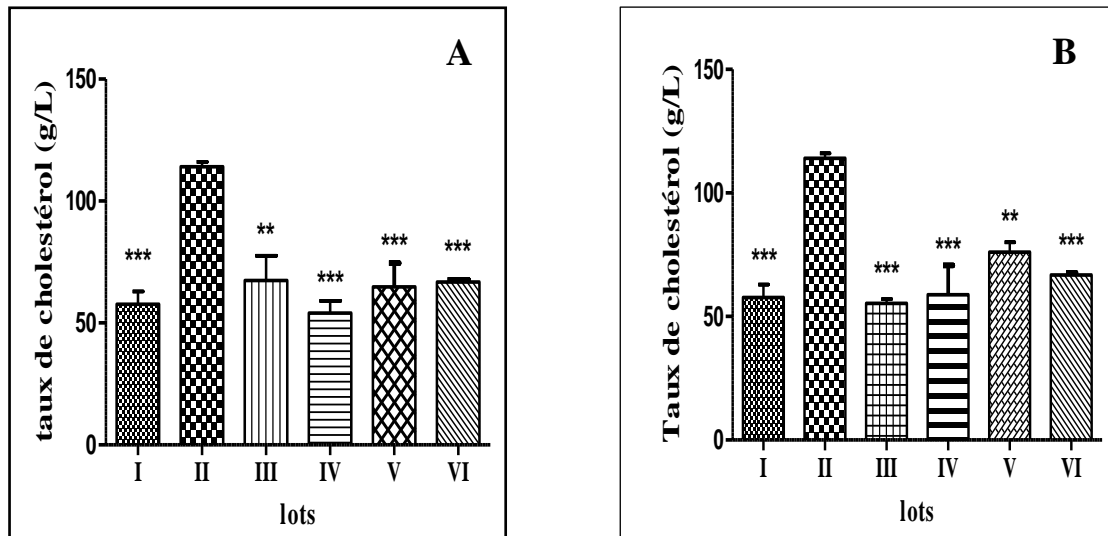


Figure 25 : Dosage du cholestérol sanguin dans les lots *F.angustifolia* (A) et *C.flammula* (B). I : control normal; II : control hyperlipidémique; III, IV et V : Triton X-100 (400mg/kg) plus 100, 200 et 300 mg / kg de l'extrait de feuilles respectivement ; VI : Triton X-100 (400mg/kg) et l'atorvastatine (10 mg/kg). Les données ont été exprimées en moyen \pm SEM de (n=4) ; one-way ANOVA suivies par le test Tukey était utilisé pour l'analyse statistique. La différence statistique est considérée hautement significative (**), très hautement significative (***) comparé au lot II.

Dans la **figure 25 (A)** le traitement avec TX-100 a causé une élévation significative de 51% au niveau du cholestérol total du lot II comparé au lot I. TX-100 agit en tant qu'un agent tensio-actif et supprime l'action des lipases pour bloquer la prise des lipoprotéines de la circulation par le tissu extra hépatique ayant pour résultat l'augmentation de la concentration des lipides sanguins (Aarati *et al.*, 2015). Les lots traités par l'extrait de *F. angustifolia* à des doses de 100, 200 et 300 mg/kg indiquent que l'extrait a réduit le cholestérol total de 41 ; 53 ; 43 % respectivement, de manière non-dose dépendante et comparable au médicament Atorvastatine. De plus l'abaissement du cholestérol a restauré ce dernier à son niveau normal comme l'a démontré l'analyse statistique en comparant avec le lot I.

D'autre part, la **figure 25(B)** a montré des résultats similaires après le traitement avec les différentes doses de l'extrait de *C. flammula* où le niveau de cholestérol a été réduit à un niveau normal après comparaison avec le lot I. En effet, les doses de 100, 200 et 300 mg/kg avaient

réduit le cholestérol total de manière égale de 52; 49 et 33%, respectivement. Cette réduction est aussi comparable à celle du médicament l'atorvastatine (41%).

• **Dosage des HDL-c**

Les HDL sont des lipoprotéines résultant du catabolisme des chylomicrons à travers l'hydrolyse par la lipoprotéine lipase (LPL) des triglycérides par le foie, libérés sous forme de particules naissantes, pauvres en cholestérol (Gautier *et al.*, 2011). Dans la circulation vont capter du cholestérol libre au niveau des différentes cellules de l'organisme "transport reverse" qui vont le transformé en cholestérol estérifié à l'aide de la LCAT (Lecithin-Cholesterol Acyl Transférase) qui vont être captées au niveau du foie par l'intermédiaire d'un récepteur SR-B1 (Scavenger Receptor class B type1) (Gautier *et al.*, 2011). Les HDL-c sont aussi appelés le « bon cholestérol » car une concentration élevée des HDL-c dans le sang constitue une protection contre le risque cardiovasculaire (Dilmi-Bouras et Sadoun, 2002).

Après l'administration du TX -100 à une dose de 400 mg/kg les résultats obtenus pour HDL-c des différents lots sont illustrés dans les figures 26 (A et B) suivantes :

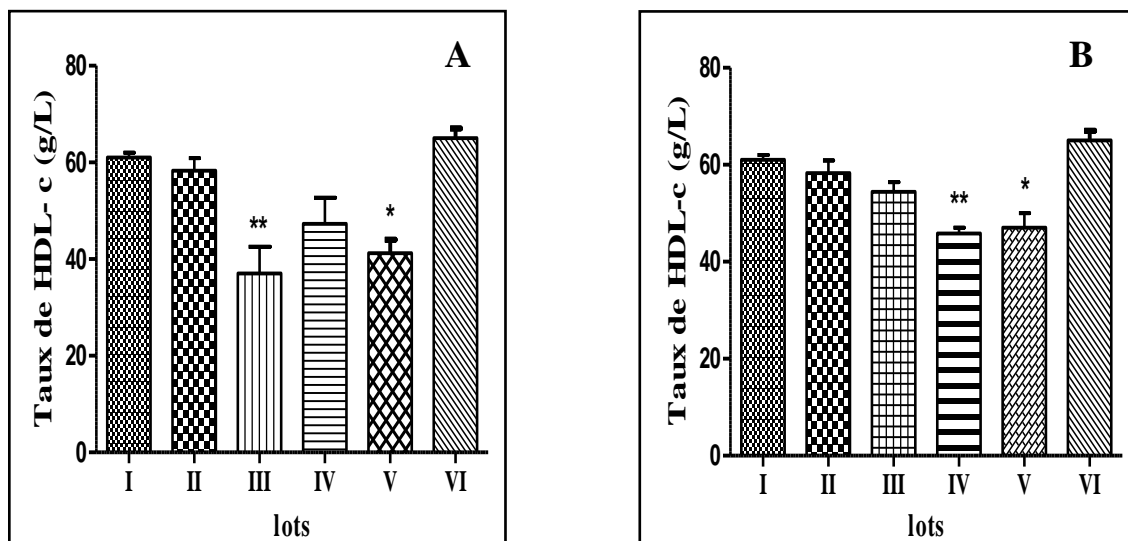


Figure 26 : Dosages de HDL sanguin des lots de *F.angustifolia* (A) et *C.flammula* (B). I : control normal; II : control hyperlipidémique; III, IV et V : TX-100 (400mg/kg) plus 100, 200 et 300 mg / kg de l'extrait de feuilles respectivement ; VI : TX-100 (400mg/kg) et l'atorvastatine (10 mg/kg). Les données ont été exprimées en moyen ± SEM de (n=4) ; one-way ANOVA suivie par le test Tukey était utilisé pour l'analyse statistique. La différence statistique est considérée hautement significative (**), très hautement significative (***) comparé au lot II.

L'administration du Triton X-100 n'a pas changé le taux de HDL-c dans le groupe II, un résultat inattendu, et en désaccord avec les résultats de l'étude de laquelle la méthode a été tirée (Chakraborty *et al.*, 2012). Comme l'étude citée (Chakraborty *et al.*, 2012) a été menée sur

des rats et pas sur des souris, et comme nos résultats ont été validés par des tests répétés, et basé sur des études sur le métabolisme du HDL-c (**Rader, 2006**) on ne peut que constater qu'après 4 heures de jeûne, les résultats du HDL ne sont pas stabilisés. En effet, cette constatation est renforcée par le fait, que chez les souris, environ 90 mg du cholestérol par kg proviennent par jour des tissus extra-hépatiques vers le HDL (**Dietschy et Turley, 2002**) Ce type de métabolisme ralentit l'apparition du HDL-c dans le sang.

Le traitement avec les différentes doses de *F. angustifolia* a eu pour conséquence une baisse significative du HDL-c chez les lots III (100mg/kg) et V (300mg/kg) en comparant avec le lot II.

Concernant *C. flammula*, la **figure 26 (B)** indique qu'une réduction significative des taux de HDL-c a été détectée chez les lots IV et V comparés au lot II. Ces résultats sont en contradiction avec le fait que ces deux plantes avaient baissé les taux de cholestérol (**figure 25**). Associé au fait que le TX-100 n'a pas baissé le taux de HDL-c comme prévu, on peut assumer que la valeur du HDL-c n'est normalisée qu'après cinq heures de la prise d'un repas normal. (**Briel et al., 2009**)

L'atorvastatine (lot VI) a causé une augmentation légère des HDL-c en accord avec la bibliographie (**Nicholls et al., 2007**). Etant un inhibiteur de la HMG-CoA réductase, ce médicament entraîne une augmentation des récepteurs à LDL hépatiques, ceci à leur tour entraîne également une augmentation légère des HDL (**Zarei et al., 2011**).

• Dosage des triglycérides

Les triglycérides représentent la forme de stockage des acides gras dans l'organisme (**Lagrost et al., 2004**). Les triglycérides sont intégrés dans les lipoprotéines pour assurer leur transport dans les milieux aqueux, les lipoprotéines riches en triglycérides sont les VLDL et les chylomicrons. D'après la **figure 27**, l'induction de l'hyperlipidémie a provoqué une augmentation significative de 50% du taux de triglycérides chez les souris du lot II comparé au lot I.

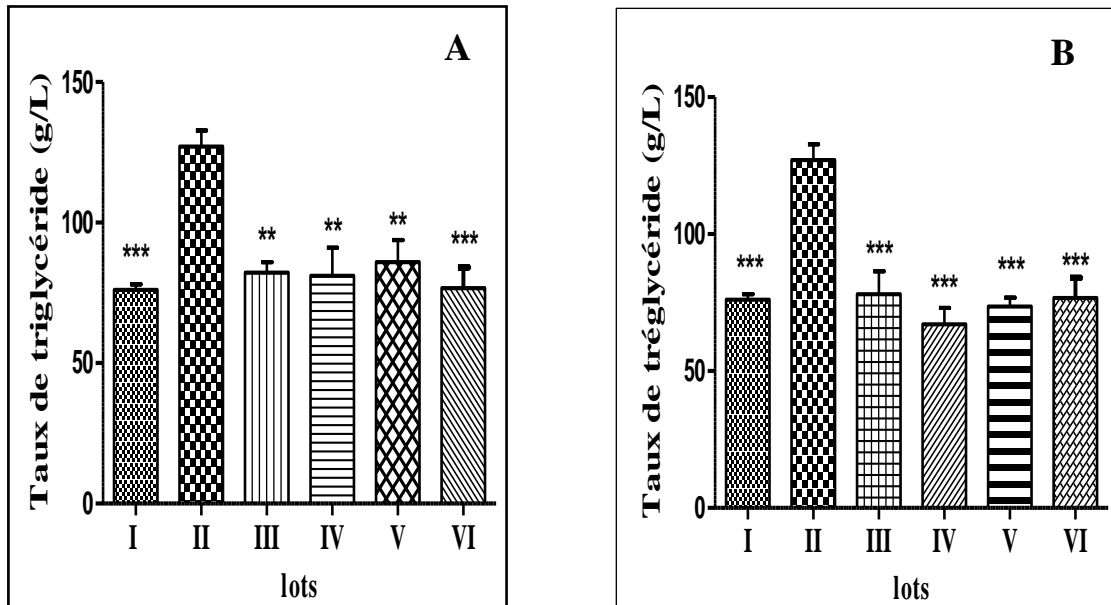


Figure 27: Dosages de triglycérides sanguin des lots de feuilles de *F. angustifolia*(A) et *C. flammula* (B). I : control normal; II : control hyperlipidémique; III, IV et V: TX-100 (400mg/kg) plus 100, 200 et 300 mg / kg de l'extrait de feuilles respectivement ; VI : TX-100 (400mg/kg) et l'atorvastatine (10 mg/kg). Les données ont été exprimées en moyen \pm SEM de (n=4) ; one-way ANOVA suivie par le test Tukey était utilisé pour l'analyse statistique. La différence statistique est considérée hautement significative (), très hautement significative (***) comparé au lot II.**

D'autre part, les teneurs en triglycérides des souris hyperlipidémiques traitées avec l'extrait de *F. angustifolia* à des doses de 100, 200 et 300 mg/kg étaient réduites de 35, 36 et 32%. Cette réduction s'est avéré non-dose dépendante et comparable à celle de l'Atorvastatine (40 %) **figure 27 (A)**.

De même, les extraits de *C. flammula* à des doses de 100, 200, 300 mg/ kg ont causé une baisse des taux de triglycérides de 39, 47 et 42 % respectivement. Cette baisse est aussi non dose-dépendante et égale à celle du standard. Cette diminution significative du niveau TG peut être due à l'augmentation de l'activité de lipase ou en augmentant l'excrétion de matières fécales **figure 27 (B)** (El-Newary, 2016).

- **Estimation des LDL-c**

Les LDL-c représentent le produit final de la cascade métabolique VLDL-LDL-IDL (Vergès, 2007). Elles sont responsables du transport du cholestérol du foie vers les cellules périphériques. L'excès des particules LDL-c est la cause de l'athérosclérose (Vergès, 2007).

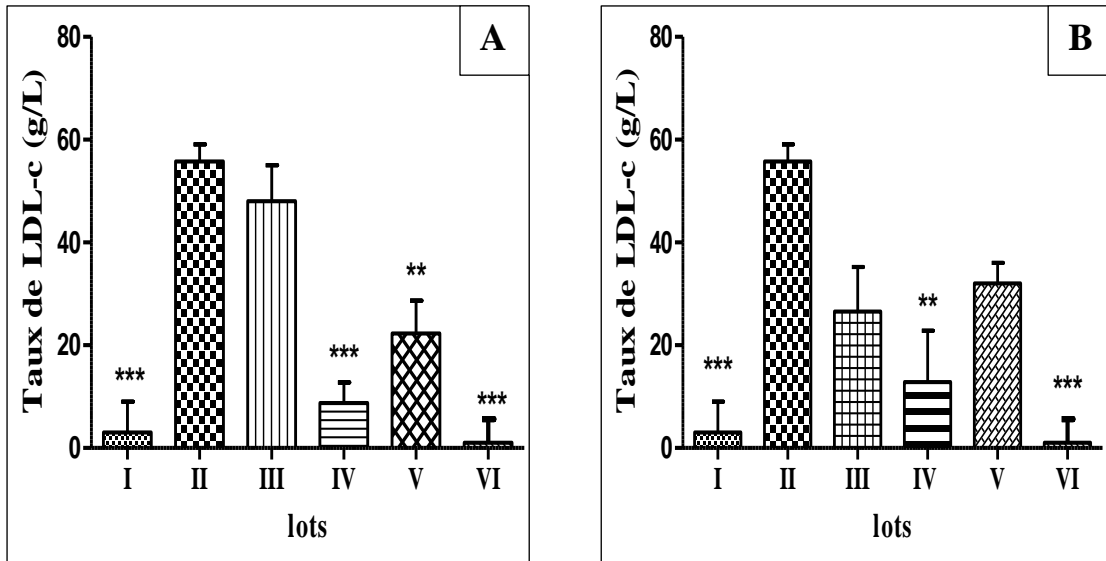


Figure 28: Dosages de LDL-c sanguin des lots de feuilles de *F. angustifolia*(A) et *C. flammula* (B). I : control normal; II : control hyperlipidémique; III, IV et V : Triton X-100 (400 mg/kg) plus 100, 200 et 300 mg / kg de l'extrait de feuilles respectivement ; VI : Triton X-100 (400 mg/kg) et l'atorvastatine (10 mg/kg). Les données ont été exprimées en moyen \pm SEM de (n=4) ; one-way ANOVA suivie par le test Tukey était utilisé pour l'analyse statistique. La différence statistique est considérée hautement significative (), très hautement significative (***) comparé au lot II.**

L'induction de l'hyperlipidémie par le TX-100 a provoqué une augmentation significative de 95 % au niveau de LDL-c du lot II comparé au lot I. Les taux de LDL-c dans les lots traités avec *F. angustifolia* à des doses de 100, 200, 300 mg/kg ont été réduites de 98, 75 et 97 % respectivement et l'abaissement des LDL-c était de manière dose-dépendante pour *F. angustifolia* (figure 28A) et de manière non-dépendante pour les feuilles de *C. flammula* (figure 28B). Pour le standard, il a réduit les LDL-c de 98 %. D'autre part, la dose de 100 mg/kg n'a pas été suffisante et efficace dans la prévention de l'hyperlipidémie liée au taux de LDL-c ce qui augmente le risque de maladies cardiovasculaire.

Les teneurs en LDL-c des souris hyperlipidémique traitées avec l'extrait de *C. flammula* à des doses de 100, 200, 300 mg/ kg ont été réduites de 52, 77 et 43 % respectivement de manière non dose-dépendante et comparable à l'atorvastatine. Cette réduction a contribué à la restauration des triglycérides à leur niveau normal (lot I).

III.2. Discussion

Les plantes médicinales jouent un rôle important en empêchant une série de maladies dans le monde entier entre autres l'hyperlipidémie (**Parikh et al., 2014**). En effet, certaines études ont rapportées les effets thérapeutiques des plantes et leurs extraits dans la régulation des teneurs en lipides plasmatiques (**Bisht et al., 2015**). Une étude sur l'activité anti-hyperlipédimiante de *Spirulin aplatensis* menée par **Sudha et ses collaborateurs (2011)** ont prouvés que le TX-100 induit chez les rats une hyperlipidémie montrée par leurs niveaux élevés de cholestérol sanguin et hépatique, de triglycéride, de PL, de VLDL et de LDL et aucune variation significative au niveau de HDL-c.

Une étude effectuée par **Brosteaux et ses collaborateurs (2010)** sur l'effet hypolipidémiant de *Ruellia tuberosa* a prouvé que l'extrait éthanolique de cette plante a réduit sensiblement les niveaux accrus de triglycérides (TG) et de cholestérol qui ont été causé par le Triton X-100. *Fraxinus angustifolia* et *Clematis flammula* sont largement utilisés en médecine traditionnelle algérienne pour traiter plusieurs pathologies dont fait partie la goutte, les douleurs, varicosité...etc (**Atmani et al., 2009**).

Le médicament anti hyperlipidémiant (atorvastatine) semble efficace pour prévenir l'augmentation des niveaux du cholestérol plasmatique (**Aarati et al., 2015**). Cependant, les statines peuvent induire des effets indésirables musculaires allant de la diminution de la force musculaire, l'augmentation des transaminases, les hépatites...etc (**Lièvre et Cucherat 2005**).

Les indications de la toxicité sont des changements des signes cliniques tels que la perte de poids, convulsions et mortalité. La surveillance étroite des souris pendant la période de traitement a indiqué l'absence de tels signes de toxicité de l'extrait des feuilles de *Fraxinus angustifolia* en accord avec l'étude de **Medjahed et al., (2016)**.

La présente étude montre une diminution significative dans la concentration plasmatique du cholestérol, triglycérides, LDL-c, des souris hyperlipidémiques après l'administration de doses croissantes des extraits de feuilles de *C. flammula* et *F. angustifolia* d'une part et de l'autre part aucune variation significative des concentrations plasmatique des HDL-c. Cette étude a donc démontré l'efficacité des deux plantes dont les extraits ont réussi à contrecarrer l'effet du TX-100. Les effets sur tous les paramètres biochimiques étaient non dose-dépendants, suggérant que la dose de 100 mg/kg est optimale. D'autre part, en comparant les effets hypolipidémians de deux plantes, il a été observé après analyse statistique que la dose de 200

mg/kg de l'extrait de feuilles de *F. angustifolia* a démontré un meilleur taux de réduction du cholestérol total, alors que l'extrait de feuilles de *C. flammula* a été meilleur dans la réduction des triglycérides. Aussi, la dose 100 mg/kg d'extrait de feuilles de *F. angustifolia* a démontré une réduction pour HDL-C et l'extrait de feuilles de *Clematis flammula* et un pourcentage de réduction meilleur pour LDL-C. Ceci démontre que le mécanisme d'action hypolipidémiant des deux plantes n'est pas le même et mérite d'être plus profondément examiné.

La réduction des différents taux de cholestérol, LDL-C et triglycérides des deux plantes peut être dû à:

-Leur capacité à diminuer du cholestérol par l'oxydation accrue des acides gras mobilisés ou de l'inhibition de la lipolyse (**Sudha et al., 2011**).

-Les études récentes ont établies que les polyphénols et les flavonoïdes sont capables d'inhiber l'accumulation des lipides, ils régulent également la physiologie des adipocytes (**Rojas-Olivos et al., (2017)**); **Kostova et Iossifova (2007)** ont décrit que le genre *Fraxinus* est une source riche en flavones et flavonols qui sont des dérivés de la quercétine et le Kaempferol. Certains polyphénols comme quercétine, acide cinnamique et oleuropeine ont été identifié pour *F.angustifolia*. La quercétine est connu pour son activité hypolipidémiant par l'abaissement des taux de cholestérol sérique et de triacylglycérol chez les rats **Itaya et Igarashi (1992)**, lors de leur étude de l'effet de taxifolin sur le niveau du cholestérol dans le sérum des rats. Le genre *Clematis* est aussi une source riche de terpénoïdes et saponines. Selon **Gundamaraju et ses collaborateurs (2014)**, les saponines ont une action hémolytique qui résulte de l'affinité de la fraction aglycone pour les stérols membranaires, en particulier le cholestérol, avec lesquels ils forment des complexes insolubles.

III-3 Etude histologique

Le foie joue un rôle important dans le maintien de l'homéostasie sanguine. Il assure la synthèse des lipides et leur activité métabolique (Blumcarractaire *et al.*, 1970). L'analyse histologique du foie peut révéler la présence d'une dyslipidémie. C'est dans cette perspective qu'on a prélevé les foies des souris des différents lots pour effectuer une analyse histologique afin de confirmer l'efficacité des extraits de feuilles de *F. angustifolia* et *C. flammula* dans la protection contre l'effet hyperlipidémique du TX-100.

III-3-1 Histologie du foie

La coloration par l'hématoxyline/éosine a révélé dans

-la **figure 29 (a et b)** qui représente une coupe histologique du foie d'une souris témoin non traitée (lot I) par le TX-100, une architecture normale du foie sans modification hépatique, les cellules mononuclées qui forment la classe dominante, avec la présence d'un nombre discret de cellules binuclées car c'est les hépatocytes binuclées qui vont donner naissance à un clone d'hépatocyte mononuclées (Nadal et Zajdela, 1966).

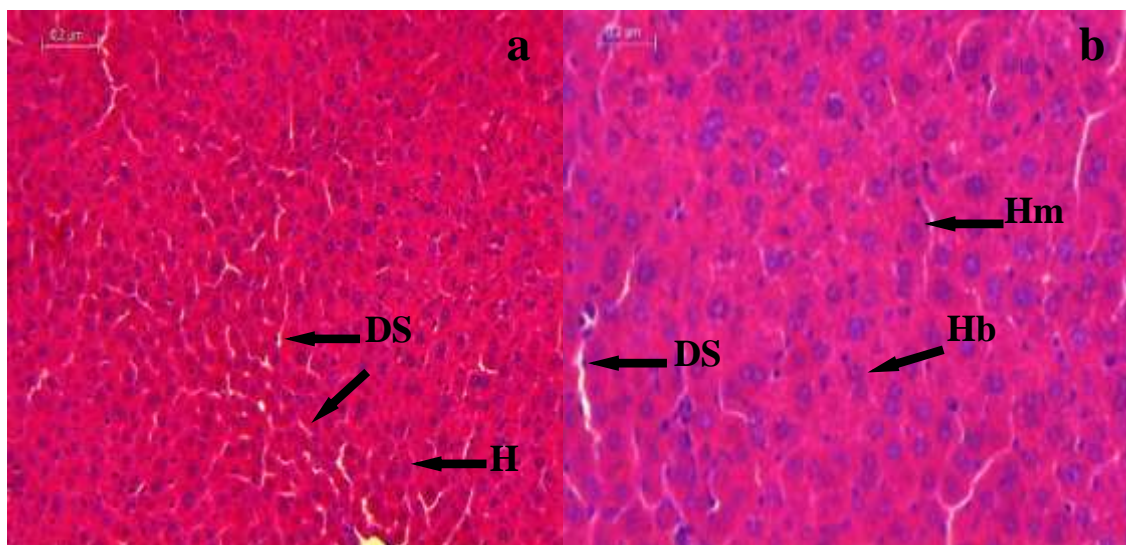


Figure 29 : Coupe histologique du foie du lot I. a : (Gr:1.25x8 x 10), **b :**(Gr:1.25x8x20). **H :** Hépatocytes, **Hb :** Hépatocytes binuclées, **Hm :** Hépatocytes mononuclées, **DS :** Dilatation des sinusoides.

-la **figure 30 (a et b)** qui représente la coupe histologique de foie de la souris du lot II (hyperlipidémique) montre un développement d'une stéatose hépatique en réponse au TX-100 qui induit une diffusion massive des lipides à l'intérieur des hépatocytes ce qui permet une disposition intra hépatique de ces lipides sous forme de vacuoles. On distingue nettement un grand nombre des micros et macro gouttelettes lipidiques (en blanc) avec la disparition

de leur noyau (Tiphaine *et al.*, 2012). On remarque aussi la présence de veines centrolobulaires dilatées (figure 30 a) l'une d'elle est congestive. La dilatation des sinusoides (figure 30b) indiqué est un signe de toxicité du TX-100.

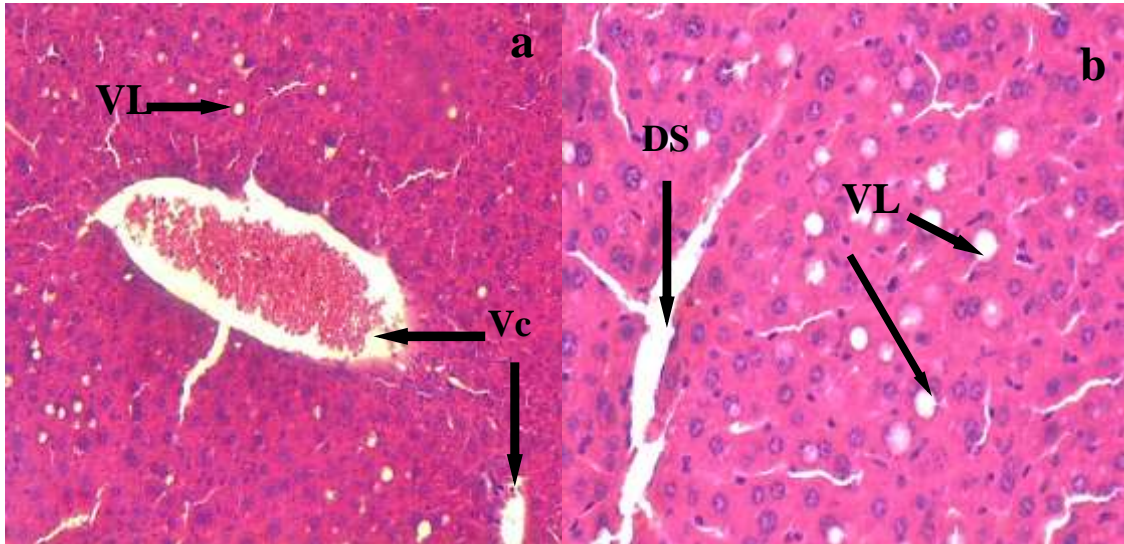


Figure 30 : Coupe histologique du foie du lot II. a : (Gr:1.25x8 x10), b:(Gr:1.25x8x10). C : Congestion, **VL :** Vacuoles Lipidiques, **Vc :** Veines centrolobulaires, **DS :** Dilatation des sinusoides.

-La **figure 31 (a et b)** qui montre la coupe histologique du foie d'une souris traitée par la dose de 100 mg/kg de l'extrait éthanolique de feuilles de *F. angustifolia*. Cette figure nous permet d'observer un petit nombre de vacuoles lipidiques qui sont réparties dans les hépatocytes avec l'absence de leur noyau avec une architecture presque normale. Ces observations signifient que cette dose a réduit le volume et le nombre des vacuoles lipidiques diminuant l'effet de la stéatose hépatique due au TX-100.

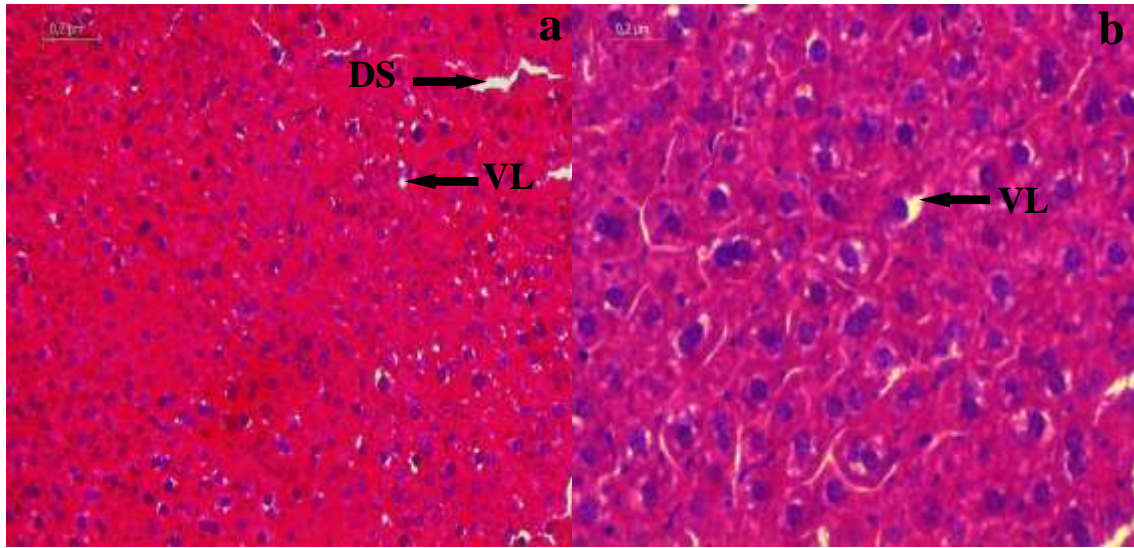


Figure 31 : Coupe histologique du foie du lot III de *F. angustifolia* dose 100 mg/kg. a :(Gr:1.25x8x10), b :(Gr:1.25x8x20). VL : Vacuoles Lipidiques, DS : Dilatation des sinusoides.

-les figures 32 et 33, qui montrent les coupes histologiques des foies des souris des lots IV et V respectivement, on note la disparition totale des gouttelettes lipidiques au niveau du foie des souris des deux lots ce qui indique l'absence totale de la stéatose hépatique. Une légère présence de capillaires sinusoides (figure 32 a).

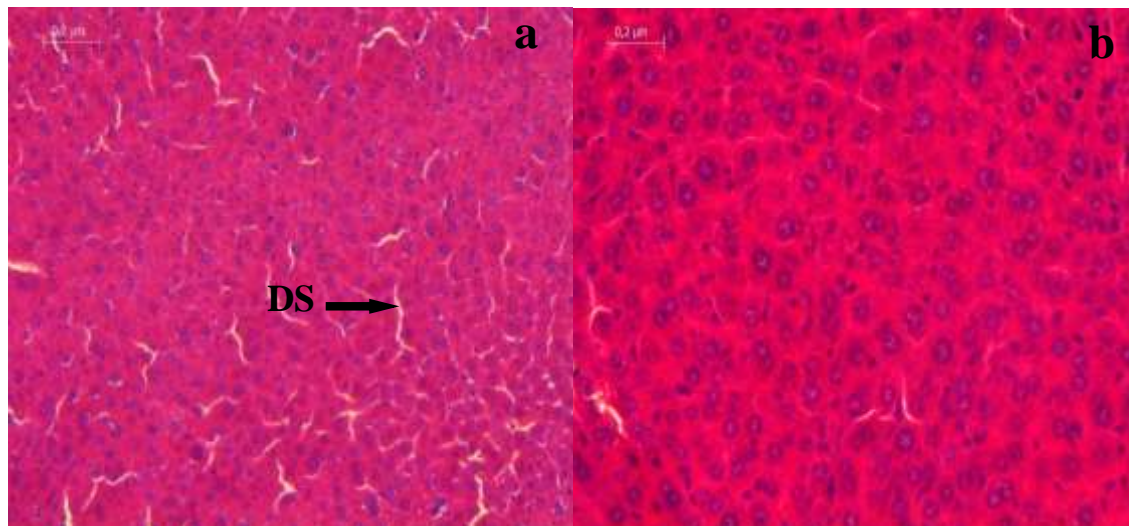


Figure 32: Coupe histologique du foie du lot IV de *F. angustifolia* dose 200 mg/kg. a : (Gr: 1.25x8x10), b : (Gr:1.25x8x20). DS : Dilatation des sinusoides.

Cette dilatation est plus prononcée à la dose de 300 mg/kg (figure 32 a) suggérant une toxicité de l'extrait à cette dose. La présence d'une veine centrolobulaire légèrement dilatée est aussi notée.

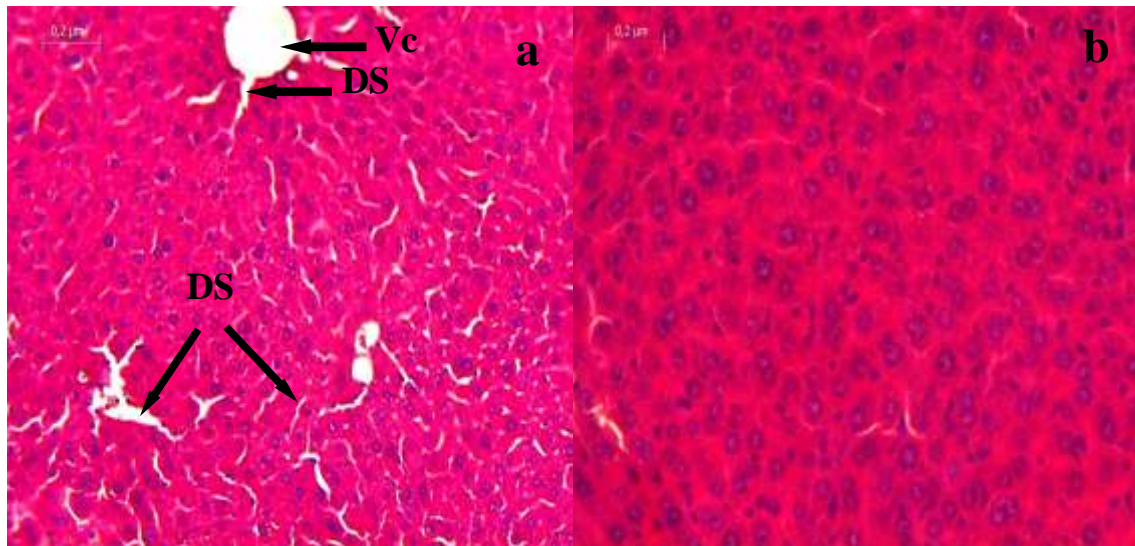


Figure 33: Coupe histologique du foie du lot V de *F. angustifolia* dose 300 mg/kg. a : (G:1.25x8x10), b : (G:1.25x8x20). Vc : Veine centrolobulaire, DC : Dilatation des Sinusoïdes.

- la figure 34 qui représente la coupe histologique du foie de la souris du lot III (100 mg/kg) de l'extrait de feuilles de *Clematis flammula*. On observe un tissu hépatique d'aspect normal avec certaines modifications : dilatation des sinusoides (figure 34b), la disparition de gouttelettes lipidiques ce qui indique que cette dose a un effet sur la protection du foie de la dyslipidémie.

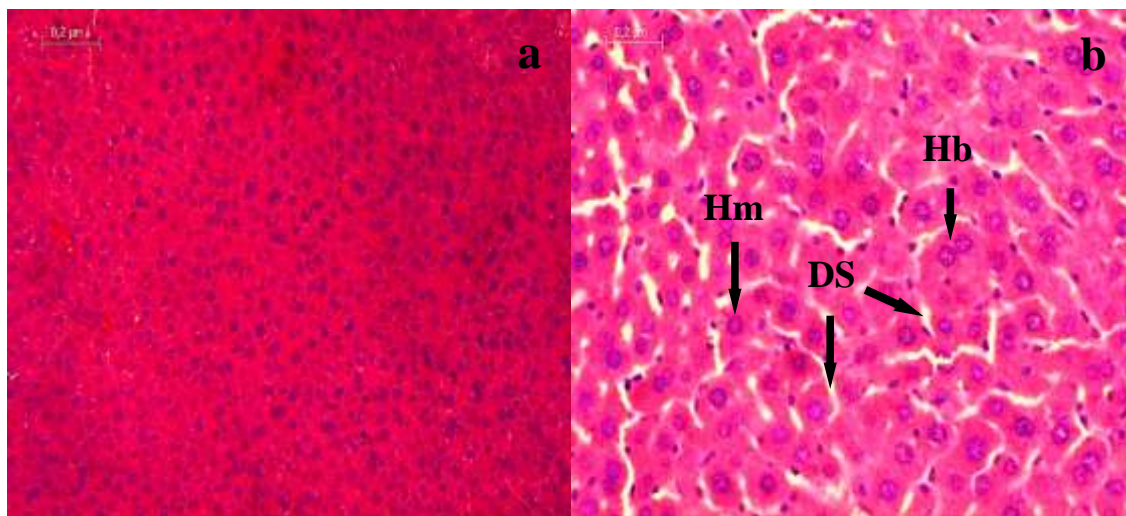


Figure 34: Coupe histologique du foie du lot III de *C. flammula* dose 100 mg/kg. a : (G:1.25x8x10), b : (G:1.25x8x20). Hb : Hépatocytes binucléés, Hm: Hépatocytes mononuclé, DS : Dilatation des sinusoides.

-La figure 35 qui montre la coupe histologique du foie de la souris du lot IV traitée par 200 mg/kg d'extrait de *C. flammula*. On remarque l'existence de deux veines centrolobulaires entourées d'hépatocytes saines l'une vide l'autre congestive (figure 34 a). Aussi, on observe des gouttelettes lipidiques qui contiennent un noyau (figure 34 a et b) (Bacq, 2003).

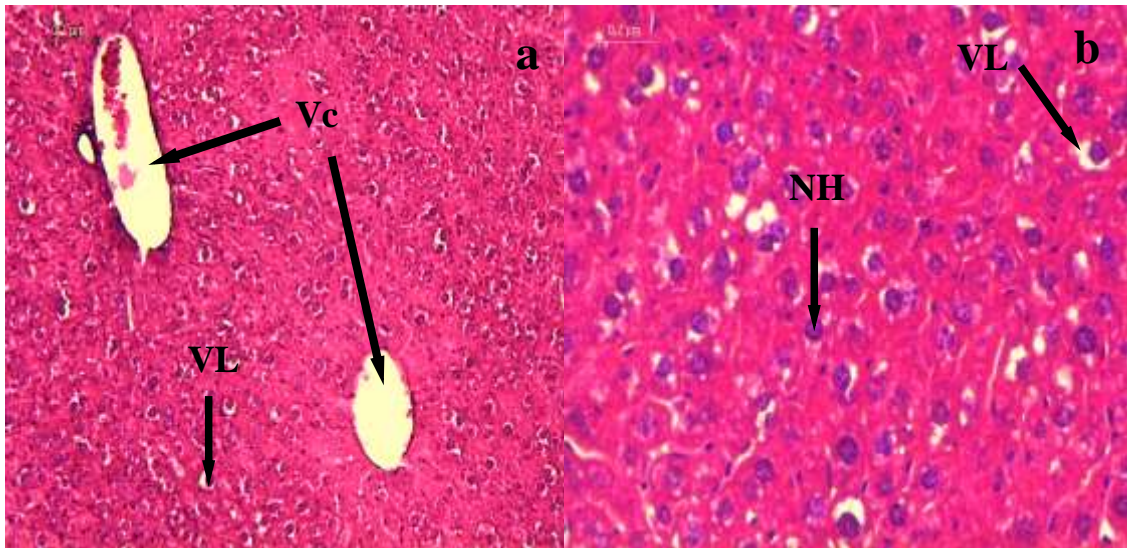


Figure 35 : Coupe histologique du foie du lot IV de *C. flammula* dose 200 mg/kg. a : (G:1.25x8x10), b : (G:1.25x8x20). VC : Veine Centro lobulaire, NH : Noyau d'hépatocyte, C : Congestion, VL : Vacuoles Lipidiques.

-La **figure 36** qui est le résultat de la préparation d'une coupe histologique du foie de la souris traitée par la dose 300 mg/kg de l'extrait éthanolique de feuilles de *Clematis flammula*. Cette coupe montre une amélioration nette par rapport au foie de la souris du groupe II où aucune manifestation des vacuoles lipidiques dans les hépatocytes et une très petite dilatation des sinusoides sont observées.

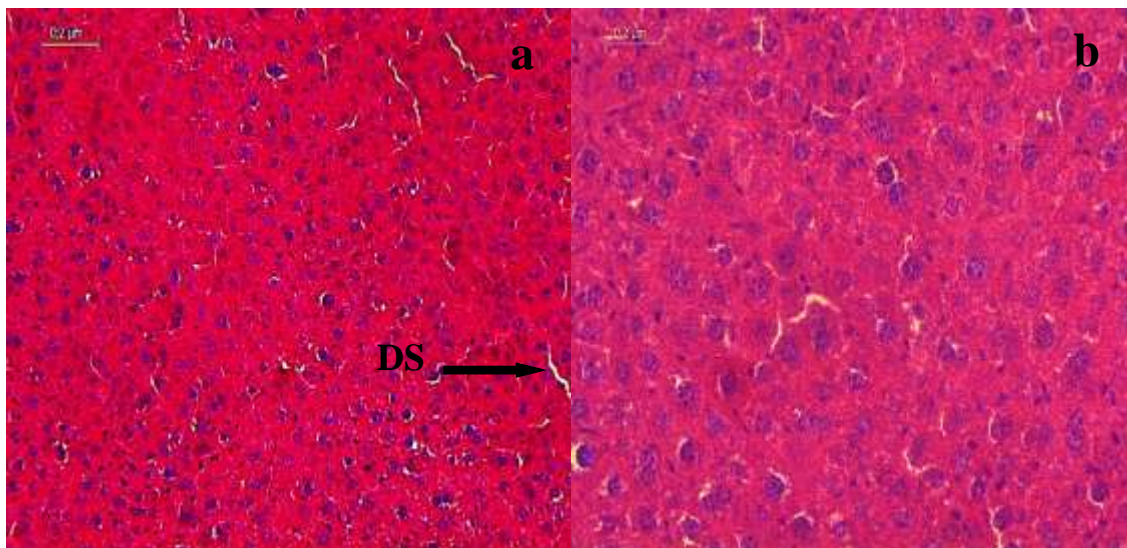


Figure 36 : Coupe histologique du foie du lot V de *C. flammula* dose 300 mg/kg. a : (G:1.25x8x10), b : (G:1.25x8x20). DS : Dilatation des sinusoides.

-la **figure 37** qui montre la coupe histologique de la souris traitée par 10 mg/kg de l'atorvastatine. Une manifestation de deux types des gouttelettes lipidiques au niveau des

hépatocytes est observée l'une est dépourvue de noyau (petit cercle à fond blanc) avec un taux qui paraît inférieur à celui trouvé dans le lot II, l'autre contient un noyau.

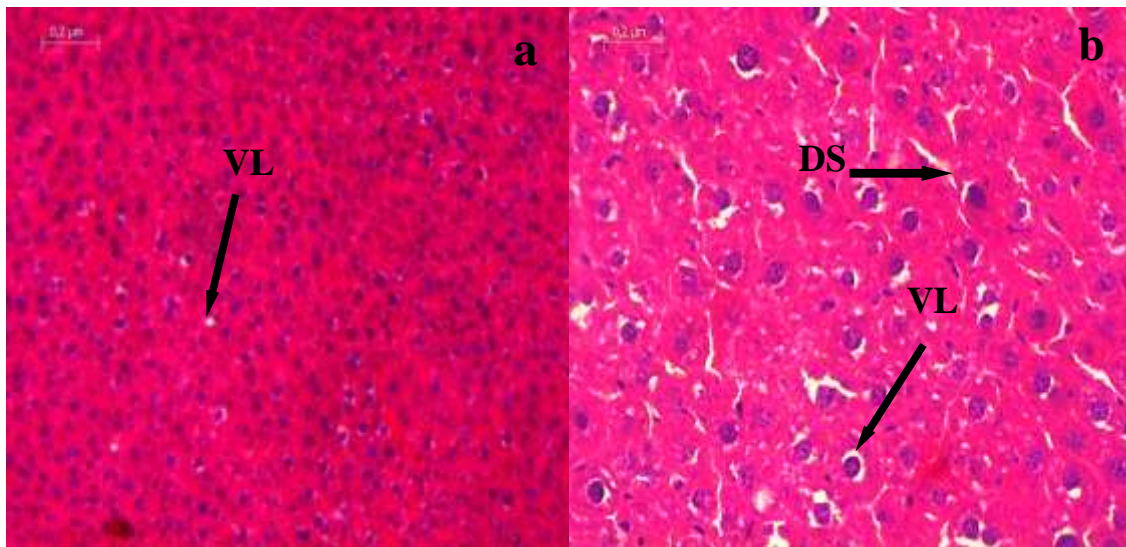


Figure 37: Coupe histologique du foie du lot VI Atorvastatine à 10 mg/kg. a : (G:1.25x8x10), b : (G:1.25x8x20). VL : Vacuoles Lipidiques, DS : Dilatation des sinusoides.

III-4 Discussion

Selon l'analyse histologique des souris traitées par l'extrait éthanolique de feuilles de *Fraxinus angustifolia* et *Clematis flammula* pour la dose de 100 mg/kg, on déduit que ces deux plantes diminuent la stéatose hépatique par la diminution remarquable des vacuoles lipidiques, agissant ainsi comme des anti-hyperlipidémiantes ce qui confirme notre étude biochimique.

Les deux plantes ont restitué l'architecture normale du foie mais présentent des signes de toxicité (les veines centro-lobulaires dilatées ou la dilatation des sinusoides), en particulier dans le cas de *F. angustifolia* (300 mg/kg). Cependant, la dilatation des veines centrolobulaires est limitée puisque dans la plupart des cas elles n'étaient pas congestives.

La disparition de la stéatose est très importante et peut être expliquée par plusieurs hypothèses :

- L'activation des lipases qui ont été bloquées par le TX-100 (**Itaya et Igarashi, 1992**).
- L'empêchement du mécanisme de surfactant de l'agent inducteur de la lipidémie en rendant les membranes des cellules épithéliales de l'estomac plus stables et moins perméables au passage des lipides (**Itaya et Igarashi, 1992**).
- L'activation du métabolisme des lipides ingérés, puisque ceux-ci ne sont pas stockés au niveau du foie. **Itaya et Igarashi (1992), (Itaya et Igarashi, 1992)**.
- Si les lipides ne sont pas stockés, ils pourraient être utilisés pour la synthèse des hormones.
- En agissant comme des phytostérols, les polyphénols des extraits de plantes peuvent empêcher la digestion des lipides externes (**Itaya et Igarashi, 1992**).

Cette étude a démontré un effet hypolipidémiant considérable des deux plantes *F. angustifolia* et *C. flammula* qui est confirmé par l'étude histologique (**Itaya et Igarashi, 1992**).

Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine car elles contiennent des principes actifs qui réagissent directement sur l'organisme. L'étude de l'activité anti-hyperlipidémique a concerné deux plantes très utilisées en médecine traditionnelles.

Clematis flammula et *Fraxinus angustifolia* sont des plantes médicinales utilisées dans le nord d'Algérie (Kabylie) pour traiter les maladies inflammatoires. De ce fait l'étude menée avait pour but de démontrer le pouvoir hypolipidémiant de l'extrait éthanolique des feuilles de ces plantes. Un modèle animal hyperlipidémique induit par le triton X100 a été utilisé. Les souris ont été traitées avec différentes doses d'extrait (100, 200, 300 mg/kg) ainsi que la molécule standard ATOR à 10 mg/kg. Les paramètres biochimiques ont été ensuite quantifiés (cholestérol, triglycérides, HDL-c, LDL-c). Pour confirmer les résultats, des coupes histologiques du foie ont été effectuées.

Les résultats de la présente étude montrent que les extraits de feuilles de *Clematis flammula* et *Fraxinus angustifolia* ont démontré que les extraits diminuent de façon significative le taux de cholestérol totale, triglycérides, LDL-c et une élévation du taux de HDL-c. L'analyse des coupes histologiques du foie a révélé une diminution remarquable des vacuoles lipidiques au niveau des hépatocytes. Ces résultats indiquent que ces extraits sont efficaces pour diminuer le risque de déclenchement d'athérosclérose et de stéatose hépatique.

Ceci nous mène à conclure que les feuilles de ces deux plantes contiennent des molécules bioactives pouvant être employées en thérapeutique.

Très peu d'information est connue sur la composition chimique de *Clematis flammula*. Par contre, *Fraxinus angustifolia* contient de l'oleuropéine, la rutine et la fraxine. Le pouvoir hypolipidémiant est probablement due à la présence de composés phénoliques bioactifs qui ont contrecarrer l'effet du Triton X-100, pour cela, il serait souhaitable de tenter d'identifier les composés bioactifs des deux plantes afin de les exploiter dans l'industrie de la pharmacologie.

Aussi, les études futures doivent être entreprises afin de mieux comprendre les divers mécanismes sous-jacents des vertus médicinales de ces plantes. Il serait également très intéressant de compléter nos résultats par le dosage des autres paramètres telle que les VLDL, les chylomicrons avec une caryotomie (coupe sur le tissu frais), ainsi que l'utilisation des colorants spécifiques pour mieux visualiser les gouttelettes lipidiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aarati S, et Aniket K .(2015). Anti-Atherosclerosis Activity of Seed oil of Punica Granatum Linn in Triton X-100 induced hyperlipidemic rats. *International Journal of Advanced Research*, 10(3), 1276 – 1280.
- Abdellah, K., Sabrine, D., Rokaia, C., Zakaria, Eddine, S., Salah, A., et Didi, O.(2014). Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 1(1), 1-5.
- Amalraj, A., Gopi, S. (2017). Medicinal properties of Terminalia arjuna (Roxb.) Wight et Arn.: A review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(1), 65-78.
- Amrani, A., Benaissa, O., Boubekri, N., Zama, D., Biod, K., Beroal, N et Bettuzzi, S.(2014). Effet hépatoprotecteur et antiradicalaire d'un extrait butanolique de Rhantheriumsuaevolens. *Phytothérapie*, 12(6), 386-392.
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303-309.
- Beaudeau, L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., et Peynet, J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 21(3), 144-150.
- Béréziat, G., Chambaz, J., Colard, O., et Wolf, C.(1988). Les multiples fonctions des phospholipides cellulaires. *Medicine Science*, 4(1), 8-15.
- Bharathi, B., Karimulla, S., Kanti Bag, A., Gobinath, M., Naresh Babu, P. (2016). Evaluation of Antihyperlipidemic Activity on Ethanolic extract of Caesalpiniasappan L in hyperlipidemic rats. *International Journal of Current Trends in Pharmaceutical Research*. 4(1): 31–34
- Bisht, A., Madhav, S., et Upadhyaya, K. (2015). Screening of polyherbal formulation for its potential anti-hyperlipidemic and antioxidant activity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(5), 134-139.
- Blumcaractère, C., Gaumeton, C., Muh, P., et Leclercq, B. (1970). Modifications de la valeur des normes sanguines en fonction du degré de stéatose hépatique chez l'oie gavée. *In Annales de Recherches Vétérinaires*, 1(2), 167-178.
- Bolanos, V et Miguel, R.(2003). On the structure and function of apolipoproteins: more than a family of lipid-binding proteins. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 83(1), 47-68.
- Bongard V., Ferrieres J. (2006). Facteurs de risque cardiovasculaire et prévention. *La revue du praticien*. 56(1) : 79-87.

- Bouchelta, A., Boughdad, A., et Blenzar, A. (2005).** Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicumfrutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisiatabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 9(4), 259-269.
- Bravo L., 1998.** Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. Pp317-333.
- **Briel, M., Ferreira-Gonzalez, I., You, J. J., Karanicolas, P. J., Akl, E. A., Wu, P., ... et Whitt, I. (2009).** Association between change in high density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease morbidity and mortality: systematic review and meta-regression analysis. *British Medical Journal*, 338, b92.
- Broisat, A., Riou, L., Fagret, D., et Ghezzi, C. (2005).** Physiopathologie de la plaque d'athérome vulnérable. *Médecine Nucléaire-Imagerie Fonctionnelle et Métabolique*, 29(4), 199.
- Brosteaux, C., Ruiz, J., Buclin, T., Kuntzer, T., & Rodondi, N. (2010).** Statines et effets indésirables musculaires. *Revue Médicale Suisse*, (239), 510.
- Bruckert, E.(2001).**Fonctionnalité des lipides dans le contexte d'une relation alimentation-santé. Les phytostérols, place dans la prise en charge du patient hyperlipidémique. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 8(4), 312-316.
- Buccolo, G., David, H. (1973).** Quantitative determination of serumtriglycerides by the use of enzymes. *ClinicalChemistry*, 19(5), 476-482.
- Callias, C. (2007).** Les alicaments dans la lutte contre l'hypercholestérolémie. *Bull Soc EnsNeuchSci*, 30, 1-18.
- Chakraborty, M. A., Mathew, N., Masani, Y., et Kamath, J. V.(2012).** Effects of *Vitisvinifera* against Triton-X 100 induced hyperlipidaemia in rats. *Inter Res J Pharm*, 3(12), 101-3.
- Chawla, R., Kumar, S., et Sharma, A.(2012).** The genus *Clematis* (Ranunculaceae): Chemical and pharmacological perspectives. *Journal of ethnopharmacology*, 143(1), 116-150.
- Chen, Z. Y., Ma, Y., Liang, Y., Peng, C., et Zuo, Y. (2011).**Role and classification of cholesterol-lowering functional foods. *Journal of FunctionalFoods*, 3(2), 61-69.
- Cissé, F., Agne, D., Diatta, A., Mbengue, S., Ndiaye, A., Samba, A., ... et Touré, M. (2016).** Prévalence des dyslipidémies au laboratoire de biochimie du CHU Aristide le Dantec de Dakar, Sénégal. *The Pan African Medical Journal*, 25 (67),1-4.
- Clément, R.(2005).** Aux racines de la phytothérapie: entre tradition et modernité (1repartie). *Phytotherapie*, 3(4), 171-175.
- Daragan, A., Voloshin, M., Chochina, V., Khazanovich,N., Wood, G., Avdulov, A., et Mayo, H.(2000).** Specific binding of ethanol to cholesterol in organic solvents. *Biophysical journal*, 79(1), 406-415.
- Descamps, S. (2008).** Hypercholestérolémie familiale. *Louvain Médical*, 127(1), 3.

- Desmeules, J. (2003).** Inhibiteurs de l'HMGCo-A reductase: un choix fondé sur des faits. *Pharma-Flash30* (4-5), 1-2.
- **Dietschy, M., & Turley, D. (2002).** Control of cholesterol turnover in the mouse. *Journal of Biological Chemistry*, 277(6), 3801-3804.
- Dilmi-Bouras, A., et Sadoun, D. (2002).** Effet du yaourt à *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii*ssp. *Bulgaricus* sur le cholestérol sanguin chez le lapin. *Médecine et Nutrition*, 38(1), 24-32.
- Duriez, P. (2003).** Mécanismes d'action des statines et des fibrates. *Thérapie*, 58(1), 5-14.
- El-Newary, S. A. (2016).** The hypolipidemic effect of *Portulacaoleracea* L. stem on hyperlipidemic Wistar Albino rats. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(1), 111-124.
- Emery, C., Lafuma, A., Khoshnood, B., Fagnani, F., Dinet, J., et Sermet, C. (2007).** Évaluation du coût associé à l'obésité en France. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 1(2), 28-34.
- Espenshade, J., & Hughes, L. (2007).** Regulation of sterol synthesis in eukaryotes. *Annual Review of Genetics*, 41, 401-427.
- Falé, P. L., Ferreira, C., Rodrigues, M., Frazão, N., et Serralheiro, L. (2014).** Studies on the molecular mechanism of cholesterol reduction by *Fraxinus angustifolia*, *Peumusboldus*, *Cynaracardunculus* and *Pterospartumtridentatum* infusions. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(1), 9-17.
- Farnier, M. (2008).** Dyslipidémie de l'obésité abdominale: approches thérapeutiques (partie I). *Elsevier Masson*, 100(12), 979-984.
- Farnier, M. (2012).** Les nouveaux espoirs des inhibiteurs de la CETP. *Correspondances en MHDN*, 16(4), 98-100.
- Farnier, M. (2013).** Histoire des statines. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 7(5), 407-412.
- Farnier, M. (2014).** PCSK9: From discovery to therapeutic applications. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 107(1), 58-66.
- Friedewald, T., Levy, I., et Fredrickson, S. (1972).** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinicalchemistry*, 18(6), 499-502.
- Gautier, T., Masson, D., et Lagrost, L. (2011).** Métabolisme des lipoprotéines de haute densité (HDL). *Archives of Cardiovascular Diseases Supplements*, 3(4), 267-272.
- Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- Gundamaraju, R., Hwi, K., Singla, K., Vemuri, C., et Mulapalli, B. (2014).** Antihyperlipidemic potential of *Albizia amara* (Roxb) Boiv. Bark against Triton X-100 induced hyperlipidemic condition in rats. *Pharmacognosyresearch*, 6(4), 267

- Hansel, B., et Giral, P. (2015).** Cholestérol alimentaire et morbidité/mortalité cardiovasculaire. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 50(4), 202-208.
- Hopkins, W. (2003).** *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur. (2) chap :14, 276.
- Hou, Y., Shao, W., Xiao, R., Xu, K., Ma, Z., Johnstone, H., et Du, Y. (2009).** Pu-erh tea aqueous extracts lower atherosclerotic risk factors in a rat hyperlipidemia model. *Experimental gerontology*, 44(6), 434-439.
- Itaya, S., & Igarashi, K. (1992).** Effects of taxifolin on the serum cholesterol level in rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 56(9), 1492-1494.
- Jacotot B. (1999).** Les hyperlipidémies: Que reste-t-il de la classification de Fredrickson? *Presse Med*, 28, 36.
- Jeusette, I., Istasse, L., et Diez, M.(2004).** Métabolisme lipidique et hyperlipémies chez le chien. *Ann MédVét*, 148, 79-89.
- Kostova, I. & Iossifova, T. (2007).** Chemical components of *Fraxinus* species. *Fitoterapia*, 78(2), 85-106.
- Lagrost, L., Masson, D., et Chapman, J.(2004).** Lipoprotéines et métabolisme lipidique. L'athérosclérose : Physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques, 59-77.
- Lecerf, J. (2006).** Les phytostérols adjuvants contre le cholestérol. *Phytothérapie*, 4(1), HS58–HS62.
- Lecerf, J. (2007).** Phytostérols et risque cardiovasculaire. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 21(1) , 17-27.
- Lièvre, M., & Cucherat, M. (2006).** Les statines: données factuelles 2005 (no 2). *Médecine*, 2(2), 58-62.
- Mallol, R., Rodriguez, M. A., Brezmes, J., Masana, L., et Correig, X. (2013).** Human serum/plasma lipoprotein analysis by NMR: application to the study of diabetic dyslipidemia. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 70, 1-24.
- Medjahed, Z., Atman-kilani, D., Fauconnier, M. L., Richard, G., et Atmani, D. (2016).** Hepatoprotective and antidiabetic activities of *Fraxinus angustifolia* Vahl extracts in animal models: characterization by high performance liquid chromatography analysis. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 46(3), 910-920.
- Morozova, S., Suc-Royer, I., et Auwerx, J. (2004).** Modulateurs du métabolisme du cholestérol et avenir du traitement de l'athérosclérose. *médecine/sciences*, 20(6-7), 685-690.
- Moulaoui, K., Caddeo, C., Manca, L., Castangia, I., Valenti, D., Escribano, E., Manconi, M. (2015).** Identification and nanoentrapment of polyphenolic phytocomplex from *Fraxinus angustifolia*: *in vitro* and *in vivo* wound healing potential. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 89, 179-188.
- Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N., et Ignacimuthu, S. (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2(1), 43.

- Nadal, C., & Zajdela, F. (1966).** Polyploïdie somatique dans le foie de rat: I. Le rôle des cellules binucléées dans la genèse des cellules polyploïdes. *Experimental Cell Research*, 42(1), 99-116.
- Nalbone, G., Bernot, D., Peiretti, F., Alessi, M. C., et Juhan-Vague, I. (2002).** Les statines en thérapeutique cardiovasculaire. *Médecine/Sciences*, 18(12), 1257-1265.
- **Nicholls, J., Tuzcu, M., Sipahi, I., Grasso, W., Schoenhagen, P., Hu, T., et Kapadia, S. R. (2007).** Statins, high-density lipoprotein cholesterol, and regression of coronary atherosclerosis. *Journal of the American Medical Association*, 297(5), 499-508.
- Parikh, N. H., Parikh, P. K., & Kothari, C. (2014).** Indigenous plant medicines for health care: treatment of Diabetes mellitus and hyperlipidemia. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(5), 335-344.
- Paul, J. L., & Baudin, B. (2009).** Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs précoces. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2009(409), 41-50.
- Pharand, C., Williamson, D., et Rave, M. (2008).** Des dyslipidémies. *Pharmacie clinique et thérapeutique*, 443.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., et Defraigne, J. O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239.
- Point, L., et Belges, E. (2004).** Pour le diagnostic et le traitement des dyslipidémies. Guide de poche 4^{ème} édition, 8-19.
- Polonovski, J. (1976).** Quelques aspects du métabolisme des lipoprotéines. *Biochimie*, 58(8), 971-980.
- Rachid, S., et Hassan, T. (2007).** Cholestérol, lipoprotéine et athérosclérose: de la biochimie à la physiopathologie. *Les Technologies de laboratoire*, 2, 4-11.
- Rader, D. (2006).** Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(12), 3090-3100.
- Rojas-Olivos, A., Solano-Gómez, R., Alexander-Aguilera, A., Jiménez-Estrada, M., Zilli-Hernández, S., et Lagunez-Rivera, L. (2017).** Effect of *Prosthecheakarwinskii* (Orchidaceae) on obesity and dyslipidemia in Wistar rats. *Alexandria Journal of Medicine*, 2-5.
- Saga, 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.
- Saile R et Hassan T. (2007).** Cholestérol, lipoprotéines et athérosclérose: de la biochimie à la physiopathologie. *Les Technologies de Laboratoire* 2: 4-11.
- Sarr, S., André, C., et Guillaume, C. (2008).** Statins (HMG-coenzyme A reductase inhibitors)–biomimetic membrane binding mechanism investigated by molecular chromatography. *Journal of Chromatography B*, 868(1), 20-27
- Scheen, A. (2011).** Les statines dans la prise en charge des dyslipidémies. *Revue du Praticien*, 61(8), 1120-1126.

- Séjourné, C. (2009).** Mécanismes d'actions des phytostérols au niveau intestinal. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(3), 132-135.
- Serfaty-Lacrosniere, C., Nigon, F., Chauvois, D., Neveu, C., Chapman, J., et Bruckert, E. (2001).** Les phytostérols: une nouvelle approche dans la prise en charge diététique de l'hypercholestérolémie. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 36(5), 341-6.
- Souza, E., Carvalho, O., Ferreira, M., da Cunha, E., Barros, A., Taglialegna, T., et Carvalho, C. (2017).** Effect of the treatment with *Euterpe oleracea* Mart. oil in rats with Triton-induced dyslipidemia. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 90, 542-547.
- Sudha, S., Karthic, R., et Naveen, R. (2011).** Anti hyperlipidemic activity of *Spirulina platensis* in Triton X-100 induced hyperlipidemic rats. *Hygeia: J Drugs Med*, (3), 32-37.
- Thorin-Trescases, N., Voghel, G., Farhat, N., Drouin, A., Gendron, È., et Thorin, É. (2010).** Âge et stress oxydant-Vers un déséquilibre irréversible de l'homéostasie endothéliale. *médecine/sciences*, 26(10), 875-880.
- Tiphaine, L., Marta, L., Patricia, L., Aurélia, B., Sylvie, R., Claudia, B., Patrice, M., Catherine, P., Francine, W., André, B., Gabriel, P., Anne-Marie, C., Philippe, G. (2012).** Les bactéries intestinales, facteur d'aggravation des maladies liées à l'obésité. *Intestinal Microbiota Determines Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice*, 1.
- Vergès, B. (2007).** Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 21(1), 9-16
- Yinyang, J., Mpondo, M., Tchatat, M., Ndjib, C., Ottou, M., et Dibong, D. (2014).** Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville de Douala (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 78(1), 6600-6619.
- Zarei, A., Ashtiyani, S., Mohamadi, A., et Gabari, A. (2011).** The effects of *Physalis Alkekengi* extract on lipids concentrations in rats. *Arak Medical University Journal*, 14(2), 36-42.
- Zern, L., et Fernandez, L. (2005).** Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *The Journal of nutrition*, 135(10), 2291-2294.

Annexe : Fiches techniques de la composition des réactifs de dosage des paramètres lipidique sanguins et le mode de leur

➤ Fiche technique N°1

Réactif pour le dosage du cholestérol total

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

Mode opératoire : 1 ml du réactif (RT (constitué de R1 + R2 (annexe)) a été mélangé avec 10 µl du sérum, après 10 min d'incubation à une température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 505 nm. La lecture a été réalisée contre un standard en remplaçant le sérum par R3 (contenant du cholestérol à 200mg/dl) réalisé sous les mêmes conditions.

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

$$\frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Standard}} \times 200 \text{ (concentration du standard)} = \text{mg/dl de cholestérol dans l'échantillon}$$

➤ Fiche technique N°2

Réactif pour le dosage du HDL-C

	Echantillon
R (µl)	10
Echantillon (µl)	100

Mode opératoire : Le mode est illustré dans le tableau ci-dessus. Après l'ajout du réactif (annexe), le tout est bien homogénéiser et incubé pendant 10 min à température ambiante. En suite le mélange est centrifugé à 4000 tours/min pendant 20min ou pendant 2 min à

12 000 tours par min. Le surnagent contenant le HDL-c est récupérées et utilisé pour doser le taux du HDL par la même méthode cité précédemment concernant le cholestérol totale.

➤ **Fiche technique N°3**

Réactif pour le dosage du triglycéride

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

Mode opératoire : Le mode est illustré dans le tableau ci-dessus. Après l'ajout du réactif (annexe), le tout est bien homogénéiser et incubé pendant 10 min à température ambiante, l'absorbance a été mesuré à 505 nm. Le taux du triglycéride est calculé selon la formule suivante :

$$\frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Standard}} \times 200 (\text{concentration du standard}) = \text{mg/dl de cholestérol dans l'échantillon}$$

Résumé

Le but de ce travail a été d'évaluer l'effet antihyperlipidémique des extraits de feuilles de deux plantes médicinales locales, *Fraxinus angustifolia* et *Clematis flammula*, à des doses de 100, 200, 300, mg/kg sur des souris albinos pendant 3 jours. Ces deux plantes sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement des maladies à caractère inflammatoire. De plus, *Fraxinus* est aussi utilisée en tant que hypocholestérolémiant. L'hyperlipidémie a été induite par l'administration par gavage de 400mg/kg du triton X-100 et les paramètres biochimiques (cholestérol total, HDL, et triglycérides) ont été déterminés suivis par une analyse histologique du foie. Les résultats ont montré des effets hypocholestérolémiant et hypolipidémique considérables pour les deux plantes, non dose-dépendants, restaurant tous les paramètres biochimiques à leur niveau normal et comparable à ceux du médicament, l'atorvastatine. Ces effets bénéfiques ont été évidents au niveau des coupes histologiques. Les mécanismes d'action des deux plantes doivent donc être examinés.

Mots clés: *Fraxinus angustifolia*, *Clematis flammula*, cholestérol total, HDL, triglycérides.LDL

Abstract:

The purpose of this work was to evaluate the antihyperlipidemic effect of leaf extracts of two local medicinal plants, *Fraxinus angustifolia* and *Clematis flammula*, at doses of 100, 200, 300, mg / kg on albino mice for 3 days. These two plants are widely used in traditional medicine for the treatment of inflammatory diseases. In addition, *Fraxinus* is also used as a cholesterol-lowering agent. Hyperlipidemia was induced by gavage of 400mg / kg triton X-100 and biochemical parameters (total cholesterol, HDL, and triglycerides) were determined, followed by histological analysis of the liver. The results showed considerable hypocholesterolemic and hypolipidemic effects for both plants, non-dose-dependent, restoring all biochemical parameters to their normal level and comparable to those of the drug, atorvastatin. These beneficial effects were evident in histological sections. The mechanisms of action of the two plants must therefore be examined.

Key words: *Fraxinus angustifolia*, *Clematis flammula*, cholestérol total, HDL, triglycérides, LDL.

ملخص:

كان الهدف من هذه الدراسة معرفة مدى تأثير مستخلص أوراق شجرة الدردار و نبتة الياسمين البري باستخدام جرعات 100 200 300 ملغ/كغ لفئران البينوس لمدة 3 أيام وتستخدم هذه النباتات على نطاق واسع في الطب التقليدي لعلاج الامراض الالتهابية كما تعتبر اوراق الدردار بمثابة خافض الكولسترول اما بالنسبة للتجربة التي تطرقنا اليها حول مرض ارتفاع الكولسترول في الدم نتج عن زقم ترتون اكس 100 بجرعة 400 ملغ/كغ والعوامل البيوكيميائية (الكوليسترول الكلي, بروتين الشحمي مرتفع الكثافة, الدهون الثلاثية) تم تحديدهم متبوعين بالتحاليل النسيجية للكبد اظهرت النتائج انخفاض نسبة الكولسترول ونقص الشحميات في الدم بالنسبة للنبتين وهي جرعات ليست مستقلة و استرجاع جميع العوامل البيوكيماوية الى معدلاتها الطبيعية مماثلة لتلك التي في دواء الاترفاستاتين وكانت هذه الاثار المفيدة واضحة في التحاليل النسيجية لذلك ينبغي دراسة كيفية تأثير النبتتين.

كلمات : أوراق شجرة الدردار، نبتة الياسمين البري، الكوليسترول الكلي، بروتين الشحمي مرتفع الكثافة، الدهون الثلاثية، بروتين شحمي منخفض الكثافة .