



# République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABDERRAHMANE MIRA-Bejaia

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie Physico-Chimique

Laboratoire de recherche de biotechnologie végétale et ethnobotanique

## Mémoire de Master

**Filière : Biologie**

**Option : Biochimie appliquée**

### Thème

**Activité antioxydante et inhibitrice de l'activité de la lipase  
pancréatique, et l'effet de l'extrait des feuilles de *Rhamnus alaternus*  
L. sur des souris nourries avec différents régimes (études du poids,  
des paramètres physico-chimiques et histologiques)**

Présenté par : M<sup>r</sup> ZAIDI Adlane

Membres du jury

Présidente : M<sup>me</sup> BEDJOU F.

Promotrice : M<sup>me</sup> KHETTAL B.

Examineur : M<sup>r</sup> HARFI T.

Examineur : M<sup>r</sup> BASLI A.

(Pr)

(M.C.A)

(M.A.A)

(M.A.A)

Année 2013/2014

# Remerciements

Je tiens à remercier particulièrement, pour leur implication sans faille et leur disponibilité de tout instant, sans omettre de souligner leur amabilité, le personnel du Laboratoire de Recherche de Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique, ainsi que toutes les personnes m'ayant apportés une aide concrète tant de par sa qualité que de par son temps, sans qui ce travail n'aurait jamais pu être réalisé tel que présenté.

Je réitère mes plus vifs remerciements anticipés au Professeur F. BEDJOU, à Monsieur F. HARFI et à Monsieur A. BASLI pour l'examen de mon travail.

Je remercie le Docteur B. KHETTAL pour son éclairage et son engagement sans réserve à mes côtés afin de me permettre de concrétiser honorablement ce mémoire de fin du cycle Master.

Je témoigne aussi ma gratitude au Docteur CHEBOUT et madame HELLAL pour leur aide à la réalisation des coupes histologiques et la lecture des résultats au sein de l'Hôpital FRANTZ FANON de BEJAIA.

Ma reconnaissance cible également Messieurs I. BELMEHOUB et M. TACHERIOUT pour leur éclairage quant à ma compréhension de la vie des souris.

Adlane ZAIDI

# Dédicaces

La vie n'est qu'un grand fleuve qui se termine par des cascades. Qu'est-ce que la mort ? Si ce n'est l'oubli. Mr BAKLI est absent par le corps, mais ne mourra jamais dans nos cœurs. Ce présent travail vous est dédié, car vous nous avez appris plus qu'une science, l'amour du savoir.

Les parents sont signe d'autorité et de grand respect, les miens sont la voie de l'avenir. Ce travail est pour moi la concrétisation d'une longue formation universitaire, pour eux, il est l'aboutissement d'une vie d'efforts et de sacrifices dont je leur serai à jamais reconnaissant.

L'épouse représente la compagnie, le serment d'une vie, un champ aussi grand que la verdure du paradis. Ma femme est tous ce qui fait la beauté d'une vie, les petits et grands moments du quotidien, un don que le créateur offre au cœur.

Mon frère est mon ami avant tout, que dis-je ? Mon meilleur ami. Sa joie de vivre et son innocence est le marteau de la vision que j'ai de la vie. Lorsque le monde semble obscure et démunie d'humanité, lui sait regarder la seule lumière encore existante.

Ma tante (Khaltou Djamila) et ma cousine Rosa, sont deux êtres formidables, tels les roses qui fleurissent au milieu des plantes vertes, sortant du lot. Je leur dédie cet ouvrage pour leur soutien et leur sincérité.

A mes amis, qui colorient mes journées au couleur de l'arc en ciel.

Adlane ZAIDI

# Liste des figures

Numéro	Titre	Page
<b>Figure 1</b>	Isomérisation des acylglycérols et action de la lipase linguale	<b>3</b>
<b>Figure 2</b>	Principaux sels biliaires	<b>4</b>
<b>Figure 3</b>	Action de la lipase pancréatique	<b>5</b>
<b>Figure 4</b>	Action de la phospholipase A <sub>2</sub>	<b>6</b>
<b>Figure 5</b>	La Micelle	<b>6</b>
<b>Figure 6</b>	Schéma général de l'absorption des lipides	<b>7</b>
<b>Figure 7</b>	Schéma général de la voie de Kennedy et de la voie de Clark et Hubscher	<b>8</b>
<b>Figure 8</b>	Activité de la glycérophosphate acyl-transférase de la voie de Kennedy	<b>9</b>
<b>Figure 9</b>	Activité de la monoglycéride acyl-transférase de la voie de Clark et Hubscher	<b>9</b>
<b>Figure 10</b>	Structure de base des lipoprotéines	<b>10</b>
<b>Figure 11</b>	Entrée du glucose, fructose et le galactose dans l'entérocyte	<b>12</b>
<b>Figure 12</b>	Dégradation du fructose au niveau du foie	<b>13</b>
<b>Figure 13</b>	Dégradation du galactose	<b>13</b>
<b>Figure 14</b>	La glycogénogénèse	<b>14</b>
<b>Figure 15</b>	Schéma général de la lipogénèse	<b>14</b>
<b>Figure 16</b>	Mécanisme biochimique de l'action de l'insuline	<b>15</b>
<b>Figure 17</b>	Mécanisme biochimique de l'action du glucagon	<b>16</b>
<b>Figure 18</b>	Stimulation de l'enrichissement de la membrane plasmique en GLUT 4 par l'insuline	<b>17</b>
<b>Figure 19</b>	Schéma représentatif et rôles des sous-domaines du récepteur Ob-Rb	<b>18</b>
<b>Figure 20</b>	Facteurs régulateur de la leptine	<b>19</b>
<b>Figure 21</b>	Le <i>Rhamnus alaternus</i> L (feuilles, fleurs, fruits)	<b>27</b>
<b>Figure 22</b>	Structures chimiques de quelques polyphénols de <i>R. alaternus</i> L	<b>30</b>
<b>Figure 23</b>	Structure de Kaempférol -3-O-isorhamnoside, rhamnocitrin-3-O-isorhamnoside et rhamnetin-3-O-isorhamnoside	<b>31</b>
<b>Figure 24</b>	Structure de base des flavonoïdes	<b>32</b>
<b>Figure 25</b>	Schéma de l'extraction méthanolique de la poudre des feuilles de <i>R. alaternus</i> par épuisement	<b>35</b>
<b>Figure 26</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	<b>36</b>
<b>Figure 27</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine	<b>37</b>
<b>Figure 28</b>	Réaction d'un antioxydant avec le DPPH	<b>38</b>
<b>Figure 29</b>	Oxydation de l'ABTS	<b>40</b>
<b>Figure 30</b>	Dissection de souris	<b>46</b>
<b>Figure 31</b>	Les étapes d'inclusion par l'automate	<b>47</b>
<b>Figure 32</b>	Distributeur de paraffine à gauche et réfrigérateur à droite	<b>48</b>
<b>Figure 33</b>	Microtome	<b>48</b>
<b>Figure 34</b>	Les étapes de déparaffinage	<b>49</b>
<b>Figure 35</b>	Les étapes de coloration	<b>49</b>
<b>Figure 36</b>	Activité scavenger du DPPH <sup>+</sup> de l'extrait des feuilles de <i>Rhamnus alaternus</i> à différentes concentrations	<b>52</b>
<b>Figure 37</b>	Activité scavenger de la quercétine contre le DPPH <sup>+</sup>	<b>53</b>

<b>Figure 38</b>	Courbe d'étalonnage du TROLOX	<b>54</b>
<b>Figure 39</b>	Graphe de l'activité résiduel de la lipase pancréatique avec et sans extrait méthanolique du <i>R. alaternus</i>	<b>55</b>
<b>Figure 40</b>	Courbe du pourcentage d'inhibition de l'activité de la lipase pancréatique par l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Rhamnus alaternus</i> L	<b>56</b>
<b>Figure 41</b>	Histogramme de l'évolution du poids des souris nourries de différents régimes	<b>57</b>
<b>Figure 42</b>	Histogramme de l'évolution du poids des souris traitées par l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Rhamnus alaternus</i>	<b>59</b>
<b>Figure 43</b>	Photos des coupes histologiques des foies des lots (A : LSe) ; (B : LSt) ; (C : LTe) ; (D : LTt)	<b>62</b>
<b>Figure 44</b>	Photos des coupes histologiques des pancréas des lots (A : LSe) ; (B : LSt) ; (C : LTe) ; (D : LTt)	<b>62</b>
<b>Figure 45</b>	Photos des coups histologiques des reins des lots (A : LSe) ; (B : LSt) ; (C : LTe) ; (D : LTt)	<b>63</b>

# Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
<b>Tableau I</b>	Définition et classification des obésités de l'adulte d'après l'OMS	<b>21</b>
<b>Tableau II</b>	Classification des hyperlipidémies	<b>24</b>
<b>Tableau III</b>	Principales complications physiologiques de l'obésité	<b>26</b>
<b>Tableau IV</b>	Classification botanique et phylogénique de <i>Rhamnus alaternus</i>	<b>28</b>
<b>Tableau V</b>	Les différentes EC50 de la quercétine et l'extrait méthanolique de <i>R. alaternus</i>	<b>53</b>
<b>Tableau VI</b>	Gains de poids des souris	<b>57</b>
<b>Tableau VII</b>	Résultats de l'évolution des poids de souris traité ou pas avec l'extrait de <i>Rhamnus alaternus</i>	<b>59</b>
<b>Tableau VIII</b>	Taux sérique de cholestérol et du HDL-cholestérol des souris	<b>60</b>

# Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

## *Partie Bibliographique*

**Chapitre I : Physiologie des lipides**

<b>1. Absorption et digestion des lipides .....</b>	<b>2</b>
1.1. Digestion pré-intestinale.....	3
1.2. Digestion intestinal.....	4
1.2.1. Emulsification.....	4
1.2.2. La digestion enzymatique.....	5
1.2.3. Formation des micelles.....	6
2. Devenir des lipides après absorption.....	7
3. Stockage des acides gras.....	10
4. Le tissu adipeux.....	10
5. Absorption et digestion des glucides.....	11
6. Régulation hormonale.....	15
6.1. L'insuline et le glucagon.....	15
6.2. La leptine.....	17
6.2.1. Médiation des effets de la leptine.....	17
6.2.2. Effet de la leptine.....	18

## Chapitre II : Physiopathologie des lipides

1. L'obésité.....	20
1.1. Prévalence.....	20
1.2. L'indice de masse corporelle.....	21
1.3. Les causes de l'obésité.....	21
1.3.1. Déterminants génétiques.....	21
1.3.2. Déterminants physiologiques.....	22
1.3.3. Déterminants environnementaux.....	23
2. Les dyslipidémies.....	23
2.1. L'hypercholestérolémie.....	24
2.2. L'hypertriglycéridémie.....	24
3. Athérosclérose.....	25
4. Complications associées à l'obésité.....	25

## Chapitre III : *Rhamnus alaternus* L

1. Description du le <i>Rhamnus alaternus</i> L (Nerprun alaterne).....	27
2. Classification botanique et nomenclature.....	28
3. Les métabolites secondaires du <i>Rhamnus alaternus</i> .....	29
3.1. Les flavonoïdes.....	31
4. Propriétés pharmacologiques et toxicologiques de <i>Rhamnus alaternus</i> L.....	32

## *Partie Pratique*

## Chapitre IV : Matériel et méthodes

### I. Matériel

1. Matériel végétal.....	33
2. Matériel animal.....	33

<b>II. Méthode</b>	
1. Extraction méthanolique.....	33
2. Dosage des polyphénols totaux.....	35
3. Dosage des flavonoïdes.....	37
4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	38
4.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire, test DPPH.....	38
4.2. Détermination de l'activité anti-radicalaire, test ABTS.....	39
5. Evaluation de l'effet inhibiteur de l'activité de la lipase pancréatique par l'extrait méthanolique des feuilles de Rhamnus alaternus L.....	41
5.1. Extraction de la lipase pancréatique de souris.....	41
5.2. Mesure de l'activité de la lipase pancréatique en présence et en absence de l'extrait méthanolique de Rhamnus alaternus L.....	41
6. Etude de l'effet de régimes enrichis en lipides et en carbohydrates de la masse corporelle de souris.....	42
6.1. Répartition des souris.....	42
6.2. Les régimes alimentaires.....	42
- Le lot de souris T.....	43
- Le lot de souris G.....	43
- Le lot de souris S.....	43
7. Effet de l'extrait méthanolique de Rhamnus alaternus L. sur la masse corporelle de souris nourries avec une alimentation enrichie en sucre...43	
7.1. Dosage sérique de quelques molécules du métabolisme des lipides, cholestérol et HDL-cholestérol.....	44
a) Dosage du cholestérol total.....	44
b) Dosage du HDL-cholestérol.....	45
7.2. Analyse histologique.....	46
a) Prélèvement d'organes.....	46
b) Fixation.....	46
c) Lavage, déshydratation et éclaircissement.....	46
d) Imprégnation, enrobage à la paraffine et confection des bloque.....	47
e) Coupe et étalement.....	48
f) Déparaffinage des coupes.....	49
g) Coloration.....	49
h) Observation sous microscope.....	50

## Chapitre V : Résultats et discussions

1. Rendement d'extraction.....	51
2. Teneur de l'extrait de <i>R. alaternus</i> en polyphénols totaux.....	51
3. Teneur de l'extrait de <i>R. alaternus</i> en flavonoïdes.....	51
4. Activité antioxydant.....	52
4.1. Activité anti-radicalaire ; test DPPH.....	52
4.2. Activité anti-radicalaire ; test ABTS.....	54
5. Activité anti-lipase de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Rhamnus alaternus</i> L.....	55
6. Effet des régimes enrichis sur la masse corporelle de souris.....	56
7. Effet de l'extrait méthanolique de <i>Rhamnus alaternus</i> L sur la masse corporelle de souris nourries par une alimentation enrichis en sucres....	58
7.1. Taux sérique de cholestérol et HDL-cholestérol.....	60
7.2. Analyse histologique.....	61
Conclusion.....	64

### Introduction

Au cours du siècle dernier, les maladies liées aux métabolismes des lipides ont connu une progression fulgurante. L'évolution du monde et les différents modes de vie de l'Homme moderne, ont suscité le développement de nouvelles traditions, nouveaux comportements et nouveaux régimes alimentaires et physiques.

Ces changements ont contribué à l'apparition et l'augmentation de certaines maladies, tel que les cancers, les maladies respiratoires, cardiovasculaires, et métaboliques comme le diabète de type II, les dyslipidémies et l'obésité.

L'obésité et le surpoids sont considérés comme un grand danger de santé publique (Puhl, 2009). Ils sont caractérisés par l'augmentation anarchique d'adipocytes (cellules graisseuses), due à l'accumulation excessive de triglycérides dans le tissu adipeux (Bocquier et *al.*, 2006). A leurs côtés, l'hyperlipidémie, qui se définit comme une augmentation du taux de cholestérol et/ou de triglycérides sanguin, est un facteur de risque de maladies cardiovasculaires (Reiner et *al.*, 2011).

La recherche de solutions naturelles à ces pathologies, a conduit les chercheurs à étudier la chimie des plantes afin de caractériser des substances remèdes (Bahorum et *al.*, 1996). Les plantes médicinales sont considérées comme étant de grands réservoirs de nouveaux médicaments et la source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice, 1997).

*Rhamnus alaternus* L. arbrisseau caractéristique des côtes méditerranéennes et utilisé en médecine traditionnelle pour ses nombreuses vertus thérapeutiques, fait l'objet de beaucoup d'intérêt dans la recherche de nouvelles molécules actives. Elle est connue pour être riche en polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, molécules à pouvoir thérapeutiques très important (Bruneton, 1999).

Dans une approche scientifique, ce travail a été réalisé afin de déterminer, tout d'abord, le régime enrichi approprié pouvant induire un surpoids et ou une obésité. Le second intérêt de notre étude est d'évaluer l'effet de l'extrait des feuilles de la plante sur l'activité de la lipase pancréatique ainsi que sur le poids corporel, et ce, dans le but d'étudier le potentiel pouvoir thérapeutique de *R. alaternus* contre l'obésité.

## Physiologie des lipides

Les lipides sont des molécules organiques insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques apolaires tel que le chloroforme. Ils sont caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras (Touitou, 2005).

Les rôles biologiques principaux des lipides, qui représentent environ 20% du poids du corps, sont très divers. Ce sont des molécules de réserves (triglycérides), précurseur (stéroïdes, vitamines, prostaglandines), structurales (phospholipides) (Touitou, 2005).

Les acides gras, unités de base de tous les lipides, possèdent une longue chaîne d'hydrocarbures avec un groupement acide carboxylique terminal. La plupart des acides gras comprennent un nombre pair d'atomes de carbone et une chaîne non ramifiée. Ils sont soit saturés et ne possèdent pas de double liaison, soit mono ou poly-insaturés possédant plusieurs double liaisons (Hames et *al.*, 2006).

### 1. Absorption et digestion des lipides

Les lipides alimentaires ne sont pas absorbables directement, car les triglycérides et les phospholipides ; les formes principales dans l'alimentation ; sont trop complexes. Les formes absorbables par les entérocytes sont les acides gras libres, les monoglycérides, le cholestérol et les vitamines liposolubles (Ferran, 2011).

Les lipides alimentaires ne sont pas hydrosolubles dans la muqueuse intestinale. Afin d'être absorbés, les lipides doivent d'abord passer par différentes étapes, l'émulsification, l'hydrolyse, la formation de micelles et l'absorption par diffusion du contenu micellaire (Ferran, 2011) (Raisonnier, 2004). Ces étapes ne peuvent se dérouler sans la présence des éléments suivants :

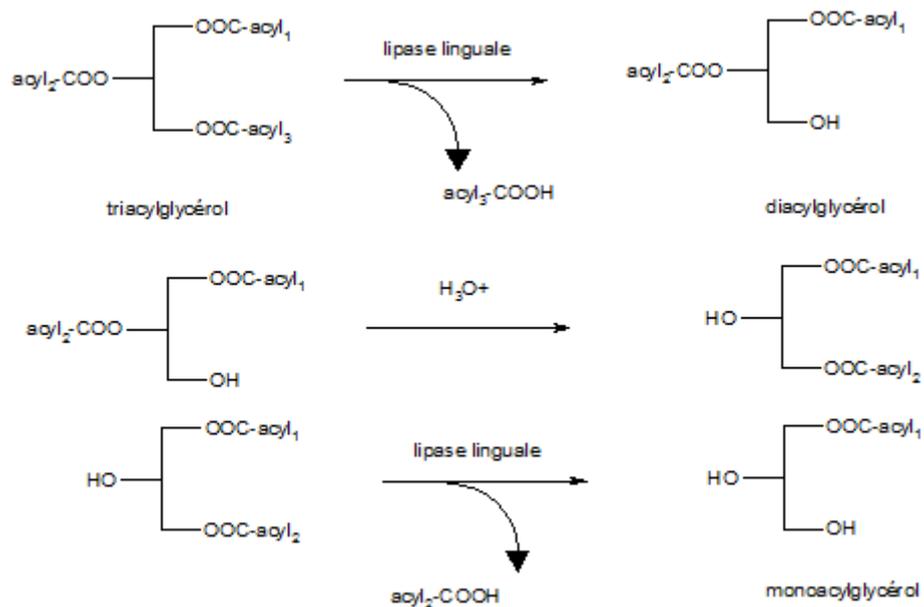
- Des sels biliaires qui aident l'activité enzymatique et l'absorption des produits de la lipolyse.
- Des enzymes : les lipases ; colipases ; cholestérol estérases et les phospholipase A<sub>2</sub>.

### 1.1. Digestion pré-intestinale

30% de la digestion des graisses se fait dans l'estomac (essentiellement les triglycérides à courte et moyenne chaînes) grâce à la lipase gastrique (importante chez le nouveau-né) et la lipase (Bouquelet, 2008).

La lipase linguale, par exemple, est la première à hydrolyser les lipides alimentaires. Elle est produite à la partie latéro-postérieure de la langue. Elle n'est active qu'au niveau stomacal et réagit plus particulièrement sur les acides gras en position 3 du triacylglycérol (Bouquelet, 2008).

L'acidité stomacale provoque une isomérisation des acylglycérols et augmente de ce fait le taux d'hydrolyse potentiel de la lipase linguale. A la sortie de l'estomac il est possible de caractériser des mono et des diacylglycérols ainsi que des acides gras libres et du glycérol (Figure 1) (Bouquelet, 2008).



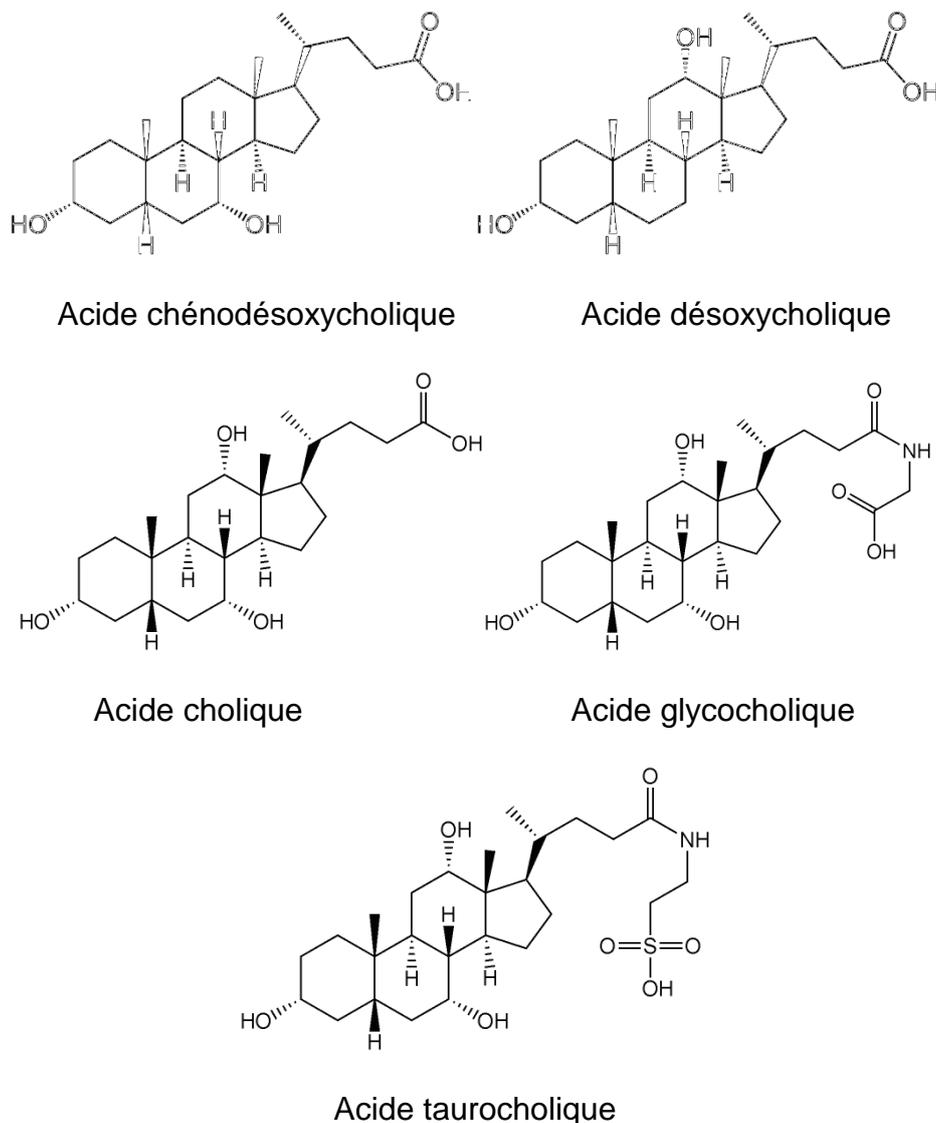
**Figure 1** : Isomérisation des acylglycérols et action de la lipase linguale (Bouquelet, 2008).

## 1.2. Digestion intestinal

### 1.2.1. Emulsification

Une émulsion est un mélange hétérogène de deux substances lipides non miscibles. L'émulsification consiste à disperser les lipides dans la muqueuse intestinale. Grace aux sels biliaires qui jouent le rôle d'émulsifiant, ce mélange reste stable (Ferran, 2011).

Les sels biliaires sont des produits de l'oxydation du cholestérol au niveau du foie. Le cholestérol oxydé est conjugué à la taurine, la glycine, à un sulfate ou un glucuronide, et sont stockés dans la vésicule biliaire. Cette conjugaison leur confère le caractère amphiphile avec un domaine hydrophile (acide aminé conjugué) et un domaine lipophile (cholestérol) (Figure 2) (Ferran, 2011).



**Figure 2** : Principaux sels biliaires (Raisonnier, 2004).

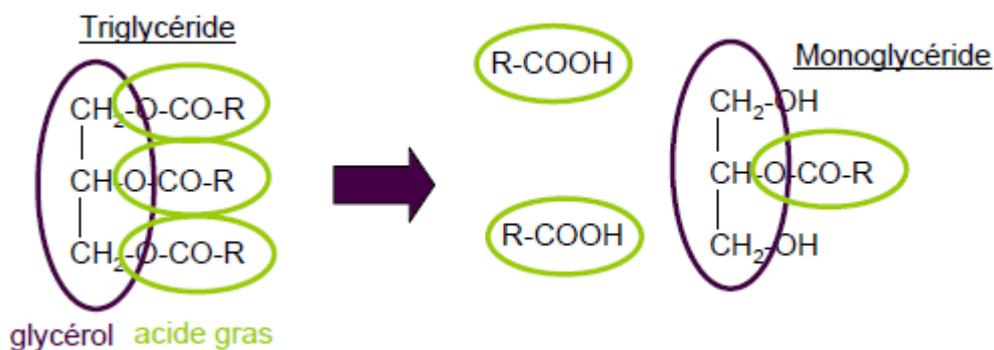
Pour une meilleure solubilité des émulsions dans le milieu aqueux, de la lécithine vient se rajouté au complexe. L'émulsion va rendre les lipides accessibles alors à la lipase pancréatique (Ferran, 2011).

### 1.2.2. La digestion enzymatique

La colipase, petite protéine de 10 kDa, est secrétée par le pancréas sous la forme d'une procolipase, elle est activée par la trypsine. La colipase possède trois domaines, l'un va servir d'ancrage à la lipase pancréatique, un autre est spécifique de la reconnaissance interfaciale et le dernier est un site de reconnaissance micellaire (Bouquelet, 2008).

La lipase pancréatique est résistante à la protéolyse et se fixe par son domaine C terminal à la colipase et par son domaine N terminal au niveau de l'interface. Les acides gras produits sont captés par la colipase et maintenus dans des particules qui se transforment en micelles d'acides gras. En l'absence de colipase, la lipase pancréatique serait inhibée par les acides gras libérés et par les sels biliaires de l'émulsion (Bouquelet, 2008).

Les triacylglycérides hydrolysés par la lipase pancréatique se verront enlever préférentiellement les acides gras en position 1 et 3 (Figure 3) (Ferran, 2011).

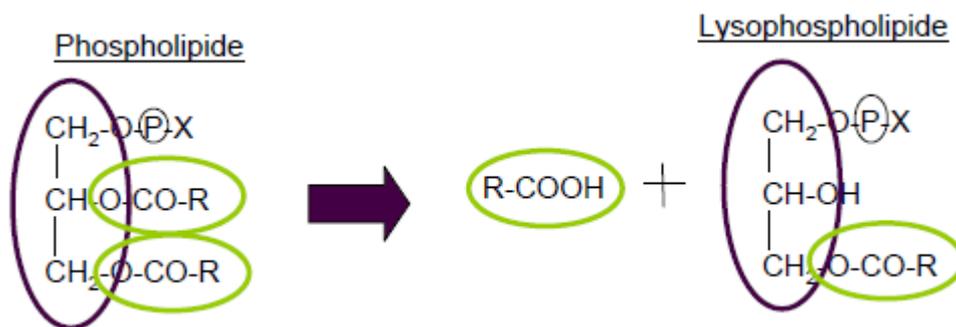


**Figure 3** : Action de la lipase pancréatique (Ferran, 2011).

La deuxième enzyme à intervenir est la cholestérol estérase, elle hydrolyse les esters de cholestérol, de vitamines A, D et E, et de Glycérides, et libère des acides gras libres. Elle est capable de lyser les 3 liaisons des triglycérides car c'est une

estérase non spécifique. Son activité ne peut se faire qu'avec la présence des sels biliaires (Ferran, 2011) (Raisonnier, 2004).

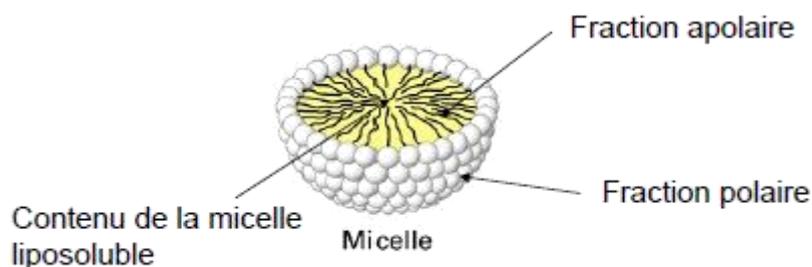
Enfin, la troisième et dernière enzyme, la phospholipase A<sub>2</sub>, hydrolyse les phospholipides pour libérer les acides gras et le lysophospholipide. Elle est activée par la trypsine et ne peut fonctionner qu'avec la présence des sels biliaires (Figure 4) (Ferran, 2011) (Raisonnier, 2004).



**Figure 4** : action de la phospholipase A<sub>2</sub> (Ferran, 2011).

### 1.2.3. Formation des micelles

Les micelles (Figure 5) sont des complexes hydrosolubles (de 4 à 6 nm) formés d'acides gras, de monoglycérides entourés des sels biliaires. Elles sont, contrairement aux gouttelettes d'émulsion, solubles et non en suspension. Grâce aux micelles, la diffusion des substances lipophiles vers la bordure peut se faire facilement à travers une couche aqueuse (Ferran, 2011).



**Figure 5** : la Micelle (Ferran, 2011).

Remarque : les acides gras à courtes chaînes sont assez solubles dans l'eau et n'ont pas besoin de micelles pour diffuser (Ferran, 2011).

Au niveau de la bordure en brosse, les acides gras sont absorbés et les sels biliaires des micelles sont relâchés dans la lumière intestinale, à partir de ce moment, ils servent soit à former de nouvelles micelles, soit ils sont réabsorbés pour un recyclage dans l'iléon (Figure 6) (Ferran, 2011) (Raisonnier, 2004).

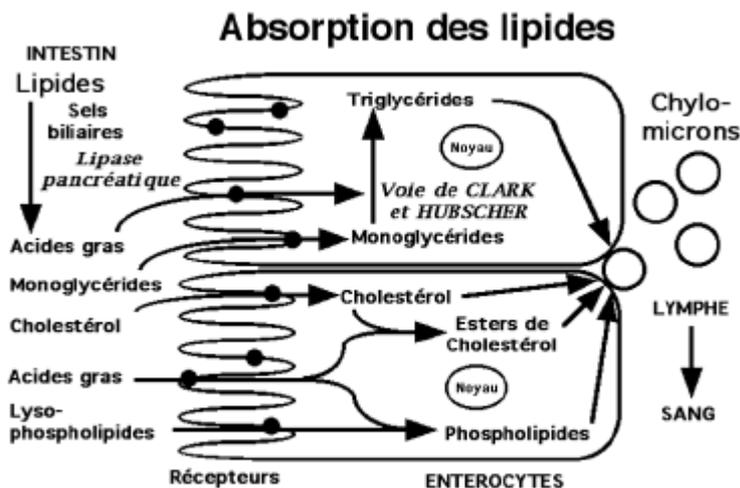


Figure 6 : Schéma général de l'absorption des lipides (Raisonnier, 2004).

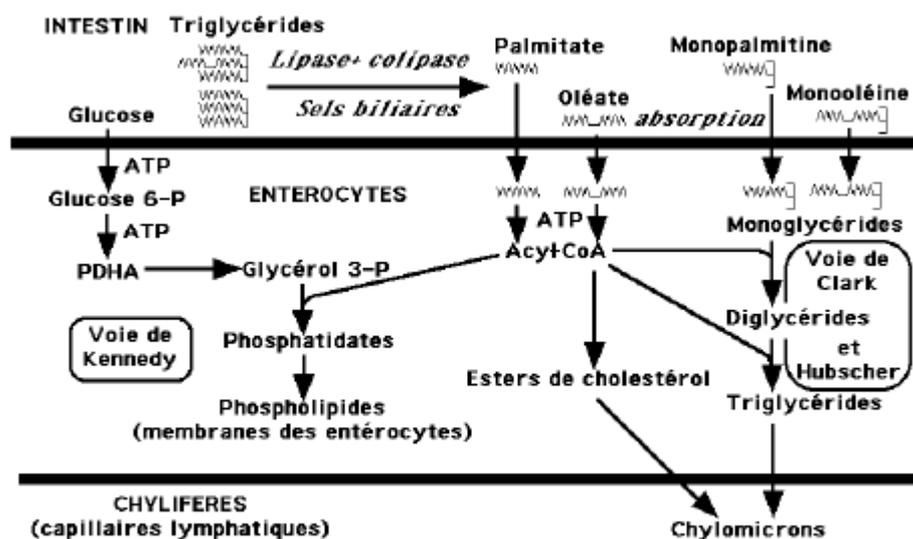
## 2. Devenir des lipides après absorption

Après l'absorption des lipides, ils seront re-synthétisés à partir du glycérophosphate pour les phospholipides (voie de KENNEDY) et des monoglycérides pour les triglycérides (voie de CLARK et HUBSCHER) au niveau des entérocytes. Le cholestérol, quant à lui, est en partie estérifié dans les entérocytes (Raisonnier, 2004).

La (Figure 7) illustre la resynthèse des lipides absorbés. Les acides gras sont aussitôt activés en acyl-CoA pour servir de substrats aux synthèses des lipides. Ces synthèses sont faites par les voies citées précédemment. Les phospholipides sont synthétisés à partir du glycérophosphate provenant du glucose par les enzymes de

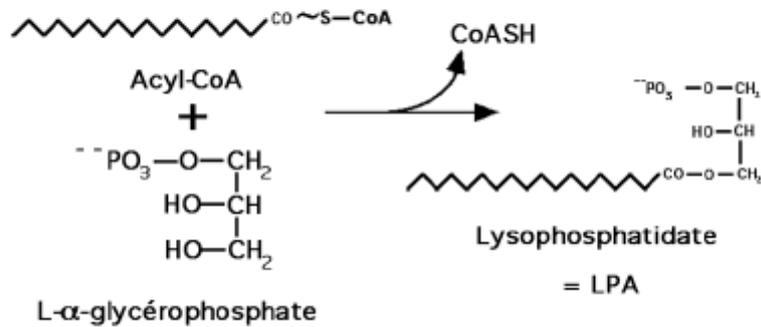
la voie de Kennedy, la plus importante étant la glycérophosphate acyl-transférase (Figure 8) (Raisonnier, 2004).

Les triglycérides des chylomicrons sont synthétisés à partir des monoglycérides par une monoglycéride acyl-transférase (Figure 9) propre aux entérocytes et la diglycéride acyl-transférase. Cette voie plus économique en énergie (voie de Clark et Hubscher) s'accompagne de synthèse de phospholipides à partir des lysophospholipides absorbés et d'esters de cholestérol (Figure 7) (Ferran, 2011) (Raisonnier, 2004).



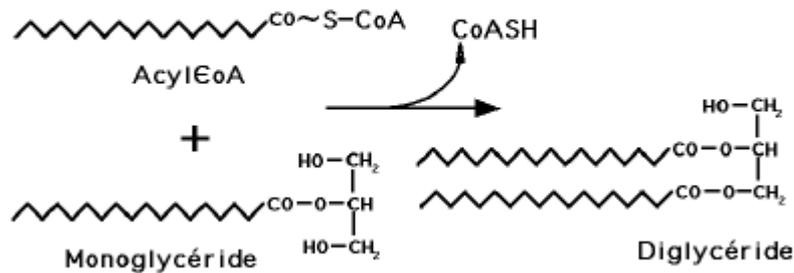
**Figure 7:** Schéma général de la voie de Kennedy et de la voie de Clark et Hubscher (Raisonnier, 2004).

### *Glycérophosphate acyl transférase*



**Figure 8 :** Activité de la glycérophosphate acyl-transférase de la voie de Kennedy (Raisonnier, 2004).

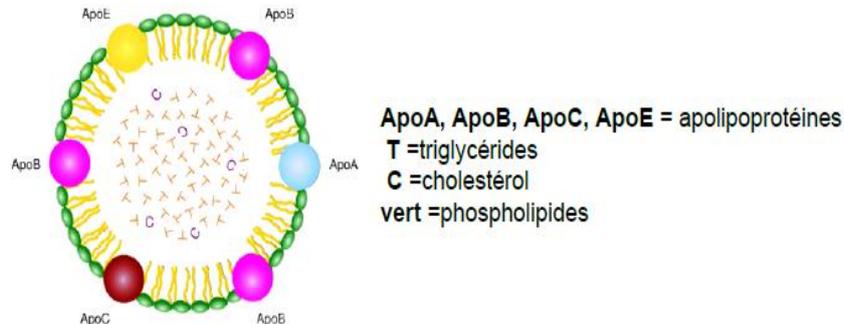
### *Monoglycéride acyltransférase*



**Figure 9:** Activité de la monoglycéride acyl-transférase de la voie de Clark et Hubscher (Raisonnier, 2004).

Remarque : Il n'y a que les acides gras à longues chaînes qui doivent être reconditionnés sous forme de triglycérides pour former les chylomicrons avec la participation des Apolipoprotéines et des phospholipides pour être transportés dans l'organisme. Les acides gras à courtes chaînes (de 10 à 12 atomes de carbone) sont plus solubles que les acides gras à longues chaînes et sont donc absorbés directement dans le sang (Ferran, 2011).

Les chylomicrons sont formés au niveau des entérocytes. Ils contiennent 80-90% des triglycérides, 8 – 9 % de phospholipides et 2 % de cholestérol et de protéines (ApoB-48, ApoE et ApoC). Les esters de cholestérol et les triglycérides sont enrobés d'apolipoprotéines, de phospholipides et de cholestérol non estérifié (Figure 10) (Ferran, 2011).



**Figure 10 :** Structure de base des lipoprotéines (Ferran, 2011).

Les chylomicrons ainsi formés, vont être transportés à travers la lymphe jusqu'à la circulation sanguine. Les triglycérides des chylomicrons sont hydrolysés par la suite en glycérol et acides gras libres sous l'action de la lipoprotéine lipase présente à la surface de nombreux tissus, principalement dans les endothéliums des capillaires sanguins du tissu adipeux, du cœur, des muscles et de la mamelle en période de lactation (Bender et al, 2008) (Ferran, 2011).

### 3. Stockage des acides gras

Une fois dans le tissu adipeux, les acides gras sont activés en acyl-CoA afin d'être conjugués au glycérol formant ainsi le triacylglycérol, l'unique forme de stockage des lipides énergétiques (Ferran, 2011).

### 4. Le tissu adipeux

Il existe deux variétés d'adipocytes (cellules adipeuses), les adipocytes blancs et les adipocytes bruns, ce qui implique qu'il existe deux types de tissu adipeux (appelé couramment « graisse ») : le tissu adipeux blanc ou graisse blanche et le tissu adipeux brun ou graisse brune (André et al, 2008).

Les adipocytes de la graisse blanche sont des cellules sphériques, renfermant une volumineuse vacuole lipidique constituée uniquement de triglycérides (André et al, 2008).

Le tissu adipeux blanc est principalement localisé sur la nuque, les épaules et l'abdomen chez l'homme, sur la poitrine, les hanches, les cuisses et les fesses chez la femme. Il renferme la quasi-totalité des triglycérides stockés dans l'organisme et représente, une des plus importantes réserves énergétiques de l'organisme. L'organisme fait appel à la graisse lorsque les réserves de glucides sont épuisées (jeûne, efforts physiques, lutte contre le froid ...etc.) (André et *al*, 2008).

### **5. Absorption et digestion des glucides**

L'absorption des glucides chez les mammifères, se fait exclusivement sous formes de sucres simples (monosaccharides) au niveau de l'intestin grêle (Faure, 2011).

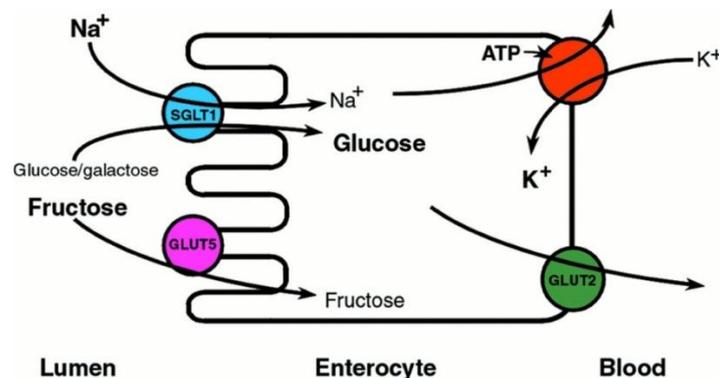
Les glucides alimentaires sont formés principalement de polysaccharides complexes (amidon, cellulose...) et de disaccharides (saccharose, lactose) qui sont par leur nature hydrosolubles. Etant donné que les seules formes assimilables de glucides sont les monosaccharides (glucose, fructose et galactose), les polysaccharides doivent alors être digérés et transformer en glucides simples (Bender et *al*, 2008) (Faure, 2011) (Ferran, 2011).

Dès l'ingestion des glucides, leur dégradation commence au niveau pré-intestinal, par le biais des amylases salivaires ( $\alpha$ -Amylase) qui coupent les polysaccharides à liaisons  $\alpha$  (1-4) ; les polysaccharides à liaisons  $\beta$ , tel que la cellulose, sont dégradés par des enzymes bactériennes au niveau du gros intestin. Les polysaccharides ainsi dégradés à 70% par les amylases salivaires, et les 30 % restants par les amylases pancréatiques ( $\alpha$  (1-4)) au niveau de la lumière intestinal, donnent des oses de plus petites tailles : le maltose, le maltotriose, dextrines à partir de l'amidon, qui seront dégradés ultérieurement (Faure, 2011).

Au niveau des bordures en brosses des entérocytes (du duodénum et le jéjunum), les oligosaccharidases, enzymes produites par les entérocytes, coupent les produits de la première dégradation. Les trois produits de la dégradation de l'amidon sont dégradés par deux enzymes, la maltase (maltose et maltotriose) et la dextrinase (dextrine) produisant du glucose. La saccharase et la lactase dégradent quant à elles, respectivement le saccharose et le lactose pour produire le glucose, le fructose et le galactose (Ferran, 2011).

Après la dégradation complète des « gros sucres », les monosaccharides sont absorbés par les entérocytes grâce à des transporteurs spécifiques, les SGLT (Sodium-glucose linked transporter) transporte activement (nécessite de l'ATP), et les GLUT (Glucose transporter) qui fonctionne par diffusion facilitée (ne nécessite pas de l'ATP). Les SGLT1 et GLUT5 se trouvent au niveau de la membrane apicale, ils transportent respectivement le glucose/galactose et le fructose. Au niveau de la membrane basolatérale, la GLUT2 transporte les trois sucres (Figure 11) (Faure, 2011) (Hames et al, 2006).

A la suite de la libération des trois oses dans le sang, ils sont acheminés vers les différents tissus, principalement le foie, les muscles et le tissu adipeux. Le fructose est capté par le muscle et le tissu adipeux où il sera converti en fructose 6-phosphate par l'hexokinase et entre par la suite dans la glycolyse. Par contre, au niveau hépatique, l'hexokinase n'existe pas, mais on trouve son homologue la glucokinase qui ne peut phosphoryler le fructose. Il sera alors transformé pour produire le glycéraldéhyde phosphate et le dihydroxyacétone phosphate qui interviennent par la suite dans la glycolyse (la figure 12 illustre les étapes de cette synthèse) (Hames et al, 2006).



**Figure 11** : Entrée du glucose, fructose et le galactose dans l'entérocyte (Ferran, 2011).

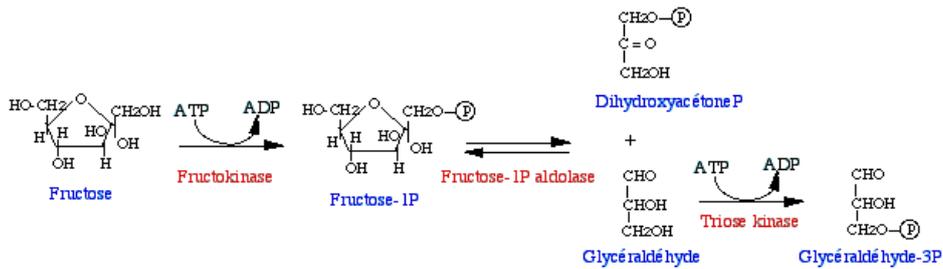


Figure 12 : Dégradation du fructose au niveau du foie (Hames et al, 2006).

Le galactose doit être transformé en glucose pour entrer dans la glycolyse. Etant donné qu'il est l'épimère du glucose en position C-4, une réaction d'épimérisation qui se déroule par l'intermédiaire d'une voie en quatre étapes, appelée voie d'interconversion glucose-galactose, doit être accomplie (la voie est schématisé dans la figure 13) (Hames et al, 2006).

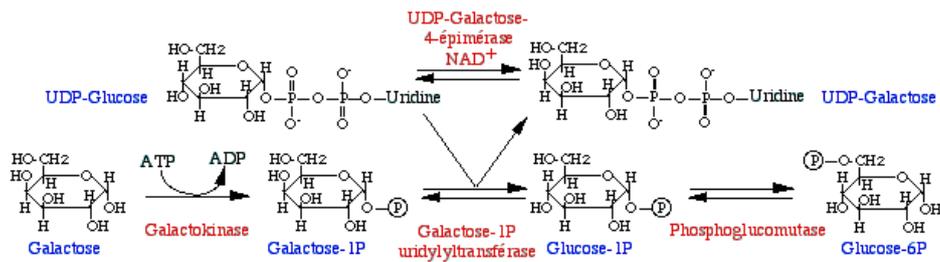
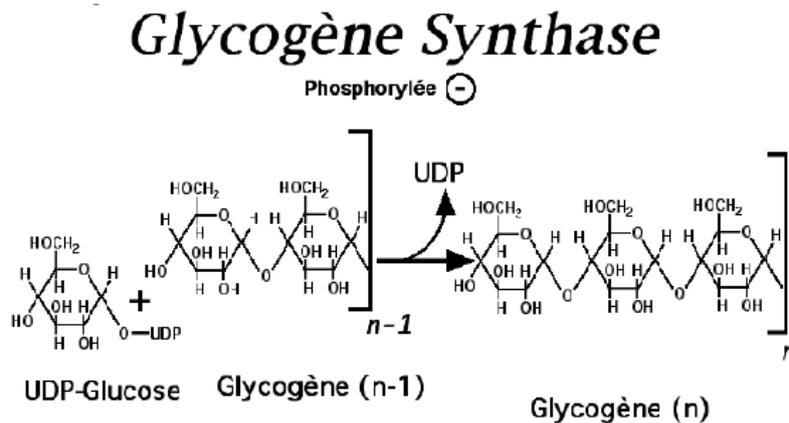


Figure 13 : Dégradation du galactose (Hames et al, 2006).

Le glucose est le carburant métabolique principal de la plupart des tissus. Suite à son absorption, il est transporté par la circulation dans tous l'organisme. Le glucose est métabolisé en pyruvate par la voie de la glycolyse. Les cellules aérobies métabolisent le pyruvate en acétyl-CoA, qui peut entrer dans le cycle de l'acide citrique pour l'oxydation complète en CO<sub>2</sub> et en H<sub>2</sub>O, avec formation d'ATP par le processus de phosphorylation oxydative. La glycolyse en condition anaérobie produit le lactate au lieu du pyruvate (Bender et al, 2008) (Hames et al, 2006).

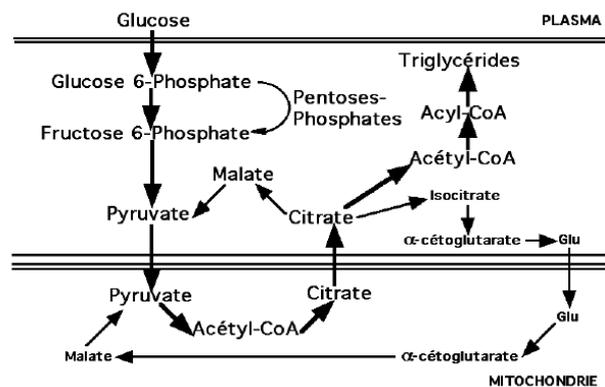
Le glucose, contrairement au fructose et au galactose, est stocké dans le foie (environ 100 g) et le muscle (entre 350 et 500 g) (Raisonnier, 2004). La

polymérisation du glucose en glycogène (molécule de stockage) se fait par la voie de la glycogénogénèse (Figure 14) (Raisonnier, 2004).



**Figure 14 :** La glycogénogénèse (Raisonnier, 2004).

Lors d'une alimentation enrichie en sucres, le surplus de glucose est stocké dans les adipocytes par un processus appelé la lipogénèse. Ce processus est la deuxième source importante d'acides gras à longue chaîne, principalement dans le tissu adipeux et dans le foie (Figure 15) (Raisonnier, 2004).



**Figure 15 :** Schéma général de la lipogénèse (Raisonnier, 2004).

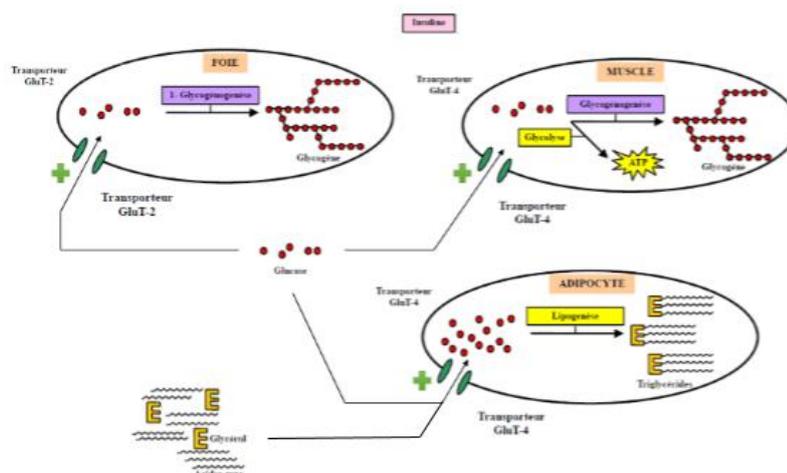
## 6. Régulation hormonale

Le rôle des adipocytes est de stocker les calories (énergie) sous forme de triglycérides. Lorsque le corps a besoin d'énergie, des signaux de régulations spécifiques ordonnent au tissu adipeux de libérer les lipides stockés (Bender et al, 2008).

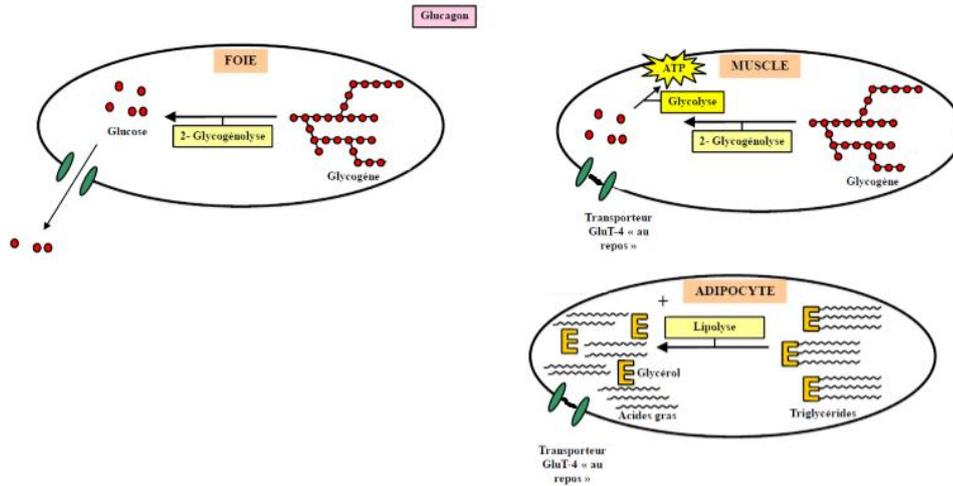
### 6.1. L'insuline et le glucagon

L'insuline et le glucagon sont les deux hormones principales de la régulation du stockage et de l'utilisation de l'énergie. L'insuline, hormone sécrétée par la partie endocrine du pancréas, plus précisément, les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans, est la plus connue des hormones de stockages, son rôle principal est de médier le stockage des carbohydrates et des lipides dans les cellules hépatiques et musculaires pour le glucose sous forme de glycogène, et adipocytaires pour les lipides sous forme de triglycérides. Inversement, la libération de l'énergie stockée est médiée par le glucagon, qui est quant à elle, sécrétée par les cellules  $\alpha$  des îlots de Langerhans (Malaisse et al, 1982) (Oberley, 1988).

Le mode d'action de ces hormones est très complexe, il passe par divers étapes, allant de la réception de l'hormone par des récepteurs qui reconnaissent spécifiquement chaque hormone, passant par la transduction du signal à l'accomplissement de l'ordre donné par cette dernière (Figure 16 ; Figure 17) (Malaisse et al, 1982) (Oberley, 1988).



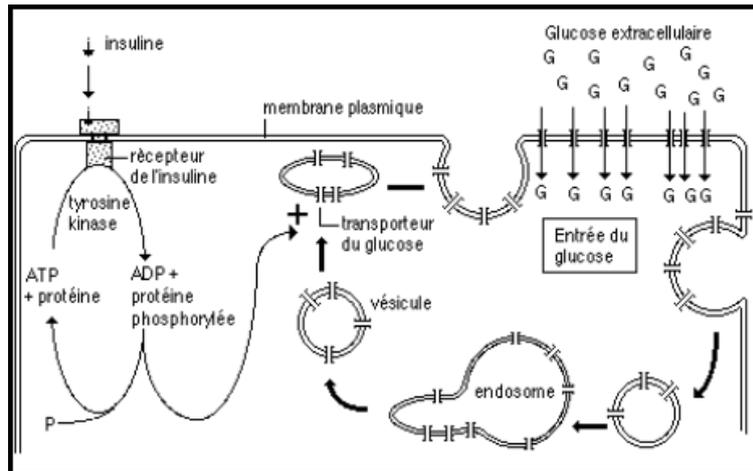
**Figure 16 :** Mécanisme biochimique de l'action de l'insuline (Oberley, 1988).



**Figure 17 :** Mécanisme biochimique de l'action du glucagon (Oberley, 1988).

Au niveau des cellules cibles, l'insuline facilite la pénétration du glucose dans les cellules en augmentant la perméabilité de leur membrane via des récepteurs au glucose, exemple GLUT 4. Au niveau du foie, elle stimule la glycogénogenèse (Malaisse et al, 1982) (Oberley, 1988).

La capacité de l'insuline à favoriser l'utilisation du glucose par les tissus périphériques définit le degré de sensibilité à l'insuline d'une personne. Chez les humains obèses et/ou diabétiques, cette action de l'insuline est fortement réduite et cette perturbation est due à un défaut au niveau du transport du glucose. Les mécanismes par lesquels l'insuline stimule ce processus dans les cellules musculaires et adipeuses sont indiqués dans la (Figure 18) (Buyschaert et la, 1999) (Raccah, 2004) (Weaber, 2007).



**Figure 18** : Stimulation de l'enrichissement de la membrane plasmique en GLUT 4 par l'insuline (Kahn, 1992).

Au cours des années quarante, une nouvelle hormone de la régulation de l'approvisionnement énergétique a été découverte, la Leptine.

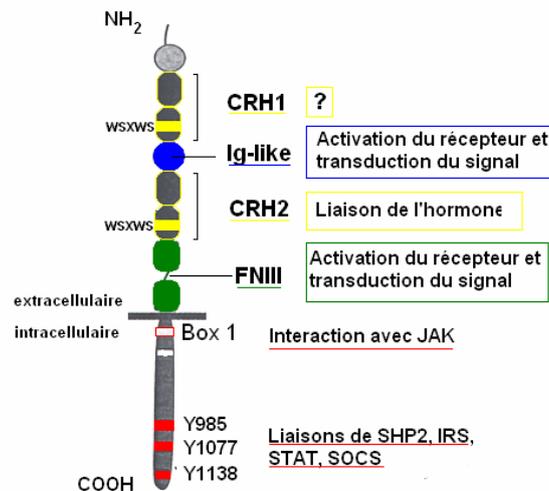
## 6.2. La leptine

La leptine est responsable de la prise alimentaire. C'est une protéine de 147 acides aminés, produit de la traduction du gène *ob*. Elle appartient à la famille des cytokines hélicoïdales de type IL-6. Elle partage une forte homologie de structure avec la GH (Growth hormon). L'hormone est produite par les adipocytes de la graisse blanche, ceux de la graisse brune n'en synthétisent pratiquement pas (Baudin, 2000).

### 6.2.1. Médiation des effets de la leptine

Les effets de la leptine sont médiés par la liaison à des récepteurs situés dans le système nerveux central et les tissus périphériques. Ces récepteurs appartiennent à la classe I des récepteurs des cytokines et résultent d'un épissage alternatif, avec au moins cinq formes dont les principales sont Ob-Ra et Ob-Rb. La mutation d'Ob-Rb est responsable d'obésité chez la souris. Il est probable qu'Ob-Ra est impliqué dans le transport de la leptine à travers de la barrière hémato-encéphalique, alors qu'Ob-Rb qui comprends une longue chaîne intracellulaire (Figure 19), est le médiateur des effets intracellulaires de la leptine. L'expression d'Ob-Ra est ubiquitaire, alors que celle d'Ob-Rb est beaucoup plus restreinte, notamment à l'hypothalamus. Un système complexe de kinases intracellulaires, successivement *janus* kinase, puis kinases

STATS (signal transducers and activators of transcription) est responsable de la médiation intra cellulaire des effets de la leptine (Baudin, 2000) (Combe et al, 2001).



**Figure 19 :** Schéma représentatif et rôles des sous-domaines du récepteur Ob-Rb (Streit G, 2005).

CRH1: Domaine Cytokine Receptor Homology 1; Ig-like: Domaine ig-like; CRH2: Domaine Cytokine receptor homology 2; FNIII: domaine de type Fibronectine; WSXWS: sequence Trp-Ser-X-Trp-Ser; Y: Tyrosine; Box 1: sequence box 1; JAK: Janus kinases; STAT: signal transducers and activators of transcription; SOCS: suppressors of cytokine signaling.

### 6.2.2. Effet de la leptine

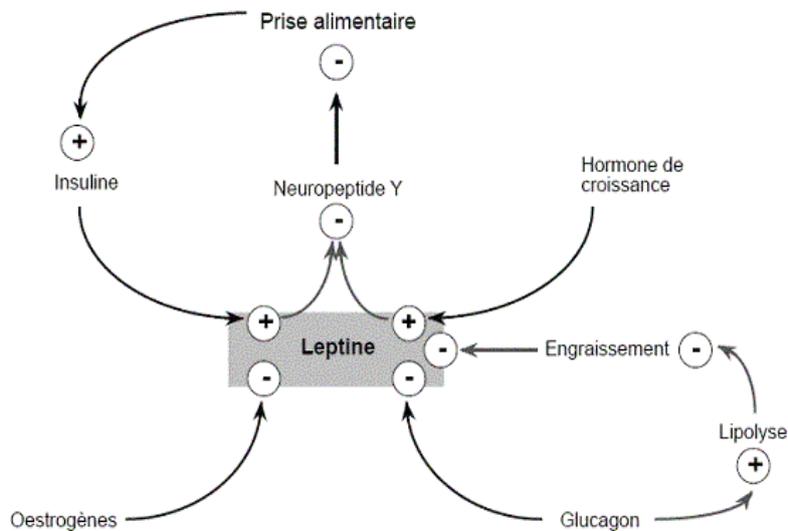
Depuis sa découverte, la leptine a été perçue comme une hormone dont la cible principale était le système nerveux central, par lequel elle régule de nombreuses fonctions comme l'appétit, la reproduction, ainsi que le métabolisme osseux.

Cependant il a été démontré que le récepteur de la leptine n'était pas localisé uniquement dans l'hypothalamus. Au niveau périphérique, il existe de nombreux sites de liaisons pour la leptine sur divers organes : foie, cœur, poumon, reins, pancréas, moelle hématopoïétique et sur les os.

La leptine agit au niveau de l'hypothalamus, régulateur des centres de la satiété et de la faim, ceci par un mécanisme de "rétrocontrôle". La leptine est inhibitrice de l'expression du neuropeptide Y (NPY). Ce neuropeptide agit sur divers paramètres du métabolisme énergétique : il stimule la prise alimentaire et diminue la thermogénèse. La leptine provoque donc une réduction de la prise alimentaire, une augmentation de la thermogénèse et une augmentation du métabolisme basal. Produite par les adipocytes en réponse à une augmentation des réserves de

matières grasses, elle agit comme un adipostat, et permet l'arrêt de la prise de nourriture et l'augmentation de la dépense énergétique. A l'inverse, la diminution des réserves de matières grasses, qui a pour conséquence de réduire la sécrétion de leptine, de stimuler la prise alimentaire et une diminution des dépenses énergétiques (Cortet, 2002).

La synthèse de la leptine est régulée par différents facteurs, tel que l'insuline, la glycémie, d'où on peut citer aussi la masse corporelle (Figure 20).



**Figure 20** : Facteurs régulateur de la leptine (Cassy et al, 2001).

## Physiopathologie des lipides

Les pathologies liées à un dysfonctionnement de la physiologie des lipides sont aujourd'hui considérées comme étant une menace majeure de santé publique, fréquemment et étroitement associée à des complications graves (diabète de type II, maladies cardiovasculaires, cancer...). L'obésité et la dyslipidémie sont les pathologies qui causent les plus grands torts à l'organisme (Bonsergent, 2012) (Boscquier et *al.*, 2006).

### 1. L'obésité

L'obésité est devenue l'une des maladies les plus répandues au monde. Elle est avérée par les professionnels de la santé comme multifactorielle ayant des conséquences diverses sur l'organisme ; touchant des individus sans distinction sexuelle, classe sociale ou catégories d'âges (Boscquier et *al.*, 2006).

Cette pathologie devient une préoccupation majeure pour les pays, principalement pour l'Occident où le niveau de vie est beaucoup plus élevé et est dirigé vers la sédentarisation, et donc, vers l'utilisation majoritairement de produits industriels riches en lipides et glucides en tous genres, favorisant la prise excessive de calories (UMVF, 2011).

#### 1.1. Prévalence

Selon une autre estimation de l'OMS en 2013, 35% des adultes dans le monde sont atteints d'obésité ou de surpoids, dans la quasi-totalité de la planète, y compris les pays émergents (Basdevant, 2014).

En Algérie, selon une enquête de l'ONS (organisation nationale de la santé) en 2006, le taux de l'obésité avoisine les 22 %, avec une proportion de 30% pour les Algériennes et de 9% pour le sexe masculin, et selon une autre enquête tenue par l'OMS (organisation mondiale de la santé) en 2007, ce taux est plus alarmant, en classant 53% des femmes et 36% d'hommes dans la catégorie des personnes présentant, selon les normes établies, un excès de poids ou carrément de l'obésité. Concernant les enfants, l'étude de l'ONS susmentionnée a révélé que 9.3% d'enfants de moins de 5 ans sont obèses ou en surpoids (Dr Lahlou, 2007).

## 1.2. L'indice de masse corporelle

Chez l'adulte (après 18 ans), l'obésité est définie par un IMC  $\geq 30\text{kg/m}^2$ , associé à une augmentation du risque de morbidité et de mortalité. Les seuils sont les mêmes chez les deux sexes (tableau I) (Ciangura et *al.*, 2011).

**Tableau I** : Définition et classification des obésités de l'adulte d'après l'OMS (Ciangura et *al.*, 2011).

Classification	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Risque de morbidité
Valeurs de référence	18.5 à 24.9	Moyen
Surpoids	25.0 à 29.9	Légèrement augmenté
Obésité		
Type I (modérée)	30.0 à 34.9	Modérément augmenté
Type II (sévère)	35.0 à 39.9	Fortement augmenté
Type III (massive, morbidité)	$\geq 40$	Très fortement augmenté

## 1.3. Les causes de l'obésité

L'obésité est une maladie de la mutation économique. Elle est le résultat d'un déséquilibre énergétique ; les apports dépassant les dépenses pendant une durée prolongée. De nombreux facteurs, à la fois environnementaux et individuels peuvent être à l'origine de ce déséquilibre. Ils peuvent être regroupés dans trois groupes de déterminants du surpoids et de l'obésité (Bonsergent, 2012):

- Les déterminants génétiques,
- Les déterminants physiologiques,
- Les déterminants environnementaux ;

### 1.3.1 Déterminants génétiques

La génétique n'intervient que comme un facteur de susceptibilité. L'illustration la plus explicite de l'interaction gènes-environnement est fournie par des expériences de suralimentation et par l'étude des jumeaux. Des individus soumis à une même suralimentation pendant trois mois diffèrent dans leur capacité à prendre du poids :

certaines gagneront 2 kg, d'autres plus de 10 kg, mais la prise de poids de jumeaux homozygotes est parfaitement corrélée (Bonsergent, 2012).

L'hypothèse du « gène d'épargne » (*thrifty gene*) est actuellement au cœur de la conception physiopathologique de l'obésité humaine. Ces gènes prédisposeraient certains individus à une meilleure efficacité métabolique, à une capacité de stockage particulière en cas d'excès d'apport ou de défaut de dépenses énergétiques. Cette prédisposition pourrait également provenir d'une empreinte laissée par les conditions intra-utérines ou post-natales sur le système de régulation de la balance énergétique. L'objet de cette susceptibilité génétique varie : certains individus peuvent être susceptibles aux effets de la sédentarité, d'autres aux effets de l'alimentation enrichie (hyper-glucidique et lipidique) (Bonsergent, 2012).

D'autres facteurs touchant le gène Ob peuvent intervenir dans l'apparition d'une obésité. En effet, des déficiences du récepteur Ob-Rb causées par des mutations au niveau des domaines de liaison à la leptine, causeraient la leptine-résistance, en référence à l'insulino-résistance (Combe et *al.*, 2001).

Si la génétique joue manifestement un rôle dans le développement de l'obésité, la spectaculaire progression de la prévalence de la maladie dans le monde ne peut s'expliquer par une modification des caractéristiques génétiques des populations, mais plutôt par l'interaction des propriétés génomiques de l'individu avec son environnement, sous l'influence des évolutions comportementales de la société (Bonsergent, 2012).

### **1.3.2. Déterminants physiologiques**

Ces déterminants s'appliquent principalement au cours de l'adolescence, qui est une phase vulnérable pour le développement d'un surpoids ou d'une obésité. En effet, cette période est très importante dans le développement humain, caractérisée par une croissance somatique significative et la maturation des caractères sexuels secondaires (puberté). C'est donc, lors de la puberté, que ces déterminants s'appliquent, car elle est associée aux gains de masse maigre et de masse grasse (Bonsergent, 2012).

### 1.3.3. Déterminants environnementaux

Le concours vers une vie meilleure et simple accessible à tous, a orienté le marché mondiale vers l'industrialisation et à une économie basée sur les échanges commerciaux. Cette orientation s'est accompagnée d'une amélioration du niveau de vie, mais elle a eu également, diverses conséquences négatives ayant conduit, directement ou indirectement, à l'apparition de modes alimentaires et d'activités favorisant le développement du surpoids et de l'obésité (Bonsergent, 2012).

- La nourriture est désormais plus abondante, attirante et accessible à tous, plus riche en sucres et lipides, ce qui induit l'excès des apports énergétiques (ANIA, 2004).
- La diminution de l'activité physique est aussi plus répandue, résultante d'un penchement vers des métiers de bureaux plutôt qu'aux métiers manuels ; le développement de systèmes de transports de plus en plus motorisés et modernes favorisant le repos (pas d'effort conséquent) ; le développement de loisirs sédentaires (Télévision, ordinateurs, jeux vidéo ...) (ANIA, 2004).
- L'évolution des comportements sociaux-psychologiques (l'alimentation au travail ; remise en cause de l'autorité familiale ...) (ANIA, 2004).

## 2. Les dyslipidémies

Une dyslipidémie est une anomalie caractérisée par une concentration anormalement élevée ou diminuée de lipide (cholestérol, triglycérides, acides gras libres ou phospholipides) dans le sang. Dans le sens médical pratique, la dyslipidémie caractérise uniquement une augmentation du taux de ces éléments, une diminution étant très rare. Ces lipides sont transportés dans le sang en association avec des protéines (apolipoprotéines) formant des complexes appelés les lipoprotéines. Cette pathologie est un facteur de risque de maladies athéromateuses (calcification de cholestérol dans les artères) (Reiner et *al.*, 2011).

Il existe deux types principaux de dyslipidémies :

- L'hypercholestérolémie ;
- L'hypertriglycéridémie.

### 2.1. L'hypercholestérolémie

Elle est caractérisée par un taux élevé de cholestérol sanguin. Elle est considérée comme un trouble métabolique plutôt que comme une maladie en soi (Glasziou et *al.*, 2008).

Il existe trois types d'hypercholestérolémie décrite par *Fredrickson*, et sont illustrés dans le tableau II.

**Tableau II** : Classification des hyperlipidémies (Glasziou et *al.*, 2008).

<b>Classification de <i>Fredrickson</i></b>	<b>Taux de cholestérol</b>	<b>Taux de triglycérides</b>	<b>Classification de <i>De Gennes</i></b>
Type IIa	Elevé	Normal	Hypercholestérolémies essentielles
Type IIb		Elevé	
Type III		Légèrement élevé	Hyperlipidémies mixtes

Ces hyperlipidémies sont dues à l'augmentation du cholestérol contenu dans les lipoprotéines LDL (lipoprotéines à faible densité) et VLDL (lipoprotéines à très faible densité), qui transporte le cholestérol du foie vers les tissus périphériques.

### 2.2. L'hypertriglycéridémie

L'hypertriglycéridémie désigne l'élévation du taux de triglycérides dans le sang. L'origine de cette pathologie est diverse : héréditaire ; une consommation excessive d'alcool, de graisses ou de sucres alimentaires ; la sédentarité, le diabète et les maladies rénales (Dunbar et Rader, 2005).

Les hypertriglycéridémies sont souvent associée à d'autres facteurs de risque comme l'obésité abdominale, l'hypertension, un haut taux de glucose sanguin et un taux de HDL-cholestérol trop bas (Dunbar et Rader, 2005).

L'anomalie favorise l'apparition de maladies cardiovasculaires par dépôt d'athérome sur les parois des principaux axes artériels et dans les vaisseaux coronaires, réduisant ainsi leur fonctionnement et augmentant de fait le risque de maladie cardiovasculaire (Sarwar et *al.*, 2007).

### **3. Athérosclérose**

Elle représente le type le plus courant de durcissement des artères, est caractérisés par un épaissement des artères riches en cholestérol (athéromes). C'est une maladie progressive qui débute par le dépôt intracellulaire de lipides (principalement des esters de cholestérol) dans les cellules de la paroi artérielle des muscles lisses. Ces liaisons deviennent fibreuses et se calcifient en plaques qui rétrécissent les artères pouvant même les obstruer. Des caillots de sang peuvent se former et bloquent le passage du sang et l'alimentation de l'organisme en oxygène. Si les obstructions se produisent dans les artères coronaires, un infarctus du myocarde ou une attaque cardiaque peuvent se produire, principale cause de mortalité dans les pays industrialisés (Hames et *al.*, 2006).

### **4. Complications associées à l'obésité :**

L'obésité influence directement le pronostic fonctionnel et vital, notamment dans les situations d'obésité dite « morbide », est-ce du fait de ses nombreuses complications.

La masse grasse, chez les individus normaux, du point de vue du corps de la santé, représente 15 à 25 kg, pouvant atteindre chez les sujets obèses 25,100 voire 200 kg. Une inflation de 100 à 200% d'un organe n'est pas sans conséquences. Le tissu est un organe très actif, étant donné ses nombreuses fonctions. A l'accroissement des demandes métaboliques doit répondre l'adaptation de la fonction cardiaque, ventilatoire et hémodynamique. L'obésité rend cette adaptation très difficile en particulier en raison des contraintes mécaniques (Ciangua et *al.*, 2011).

L'adaptation de l'organisme à cette situation, pour satisfaire les besoins, impose une augmentation du réseau vasculaire, des volumes plasmatiques et du débit cardiaque. Ceci aboutit à un accroissement du travail ventriculaire. L'augmentation de la consommation d'oxygène et de la production de gaz carbonique impose, aussi, une augmentation de la ventilation alvéolaire et du travail ventilatoire. Or ceux-ci sont altérés par la diminution de la compliance de la paroi thoracique et de la compliance pulmonaire (liée à l'augmentation du volume sanguin pulmonaire et à l'infiltration graisseuse) (Ciangua et *al.*, 2011).

Les nombreuses complications physiologiques de l'obésité sont résumées dans le tableau III. Parmi les complications psychosociales, la discrimination envers les individus obèses ainsi que la dépression peuvent altérer significativement la qualité de vie. La norme « idéal de minceur » de la société contemporaine peut participer au développement de troubles du comportement alimentaire, qui favorise la prise de poids (Dubot-Guais, 2005).

**Tableau III** : Principales complications physiologiques de l'obésité (Ciangura et *al.*, 2011).

<b>Cardiovasculaires</b>	Hypertension artérielle <sup>a</sup> Insuffisance coronarienne <sup>a</sup> , accidents vasculaires cérébraux <sup>a</sup> Insuffisance cardiaque Thromboses veineuses profondes, embolie pulmonaire
<b>Respiratoires</b>	Dyspnée, syndrome restrictif Syndrome d'apnées du sommeil Hypoventilation alvéolaire Asthme
<b>Mécaniques</b>	Gonarthrose, coxarthrose, lombalgies
<b>Digestives</b>	Hernie hiatale, lithiase biliaire, reflux gastro-œsophagien Stéatose hépatique, NASH
<b>Cancers</b>	Homme : prostate, côlon Femme : sein, ovaire, endomètre, col
<b>Métaboliques-endocriniennes</b>	Insulinorésistance <sup>a</sup> , diabète de type 2 <sup>a</sup> Hypertriglycéridémie <sup>a</sup> , hypo HDLémie <sup>a</sup> Hyperuricémie <sup>a</sup> , goutte Dysovulation, syndrome des ovaires polykystiques Hypogonadisme (homme, obésité massive)
<b>Cutanées</b>	Mycoses des plis, lymphœdème
<b>Rénales</b>	Protéinurie, hyalinose segmentaire et focale
<b>Urologiques</b>	Incontinence urinaire
<b>Risque opératoire</b>	
<b>Autres</b>	Hypertension intracrânienne, complications obstétricales

NASH : *non alcoholic steato-hepatite* ; HDL : *high density lipoprotein*.

<sup>a</sup> Lié(e)s à l'adiposité abdominale.

***Rhamnus alaternus* L.**

**1. Description du le *Rhamnus alaternus* L (Nerprun alaterne):**

*Rhamnus alaternus* L. appartenant à la famille des « Rhamnaceae », c'est un arbrisseau de 1 à 5 mètre, formant des buissons épais d'un vert brillant ; il est caractéristique des garrigues méditerranéennes. C'est l'un des divers représentants du genre *Rhamnus*. *Rhamnus alaternus* L. a de minuscules fleurs jaunâtres, dioïques, mono-sexuées, qui apparaissent au mois de mars, parfois avant. Ses fruits sont des baies d'abord rouges, puis noires à maturité et sont qualifiés de drupes car ce sont des fruits charnus à noyaux, tel que les cerises. Quant à ses feuilles, elles sont alternes, ovales, courtement pétiolés, épaisses et coriaces (Figure 21). Sa croissance est lente, cependant sa durée de vie peut aller jusqu'à 100 ans (Ait Youssef, 2006) (Bas et al, 2009) (Stocker et al, 2004).



**Figure 21** : *Rhamnus alaternus* L (feuilles, fleurs, fruits).

*Rhamnus alaternus* L. se développe spontanément sur les coteaux calcaires à une altitude comprise entre 0 et 1000 mètres, principalement en nord Afrique (Algérie, Tunisie, Maroc ...), et sur le littoral de l'Europe méridionale (Aronne et al, 1995).

## 2. Classification botanique et nomenclature:

La classification de *Rhamnus alaternus* L. est détaillée dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Classification botanique et phylogénique de *Rhamnus alaternus* (Yi-ling C et Pan-Kai C, 1982).

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Rhamnales
<b>Famille</b>	Rhamnaceae
<b>Genre</b>	Rhamnus
<b>Nom binominal (espèce)</b>	<i>Rhamnus alaternus</i>

Selon la classification phylogénique, *Rhamnus alaternus* appartient au genre des Rosales et à la famille des Rhamnaceae. On distingue ainsi deux sous espèces : *R. alaternus alaternus* et *R. alaternus myrtifolia* (Yi-ling C et Pan-Kai C, 1982).

Selon le pays, *Rhamnus alaternus* L. possède plusieurs noms vernaculaires:

En arabe : Am'lile'ce (امليليس), M'lila (مليلة), Soitfaïr (سواتفير), Oud El-khir (ود الخير) (Tunisie) ou bien Safir (سفير). En Kabyle : Mélilés (Algérie) (Bhourri et al. 2012) (Debeaux, 1984). En anglais : Buckthorn. En Français : Nerprun, En Allemand : Kreülzdorn. En Espagnol : Aladierna, CoscoUnia, Sanguino de Andalucia. En Italien : Alaterno, LegnoPuzzo (Gubb, 1913).

### 3. Les métabolites secondaires du *Rhamnus alaternus* :

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches dans le domaine thérapeutique, in-vivo et in-vitro. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires, en particulier les flavonoïdes et les proanthocyanidines (Bahorun, 1997). Les métabolites secondaires sont souvent considérés comme n'étant pas essentiels à la vie de la plante. Ils sont biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (Tran et al., 2004) (Raven et al., 2000). Leur fonction dans les plantes est liée à la régulation métabolique, la croissance, le processus de lignification, la coloration de certaines parties et la protection contre l'attaque des organismes pathogènes. Ce sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction (Croteau et al., 2000).

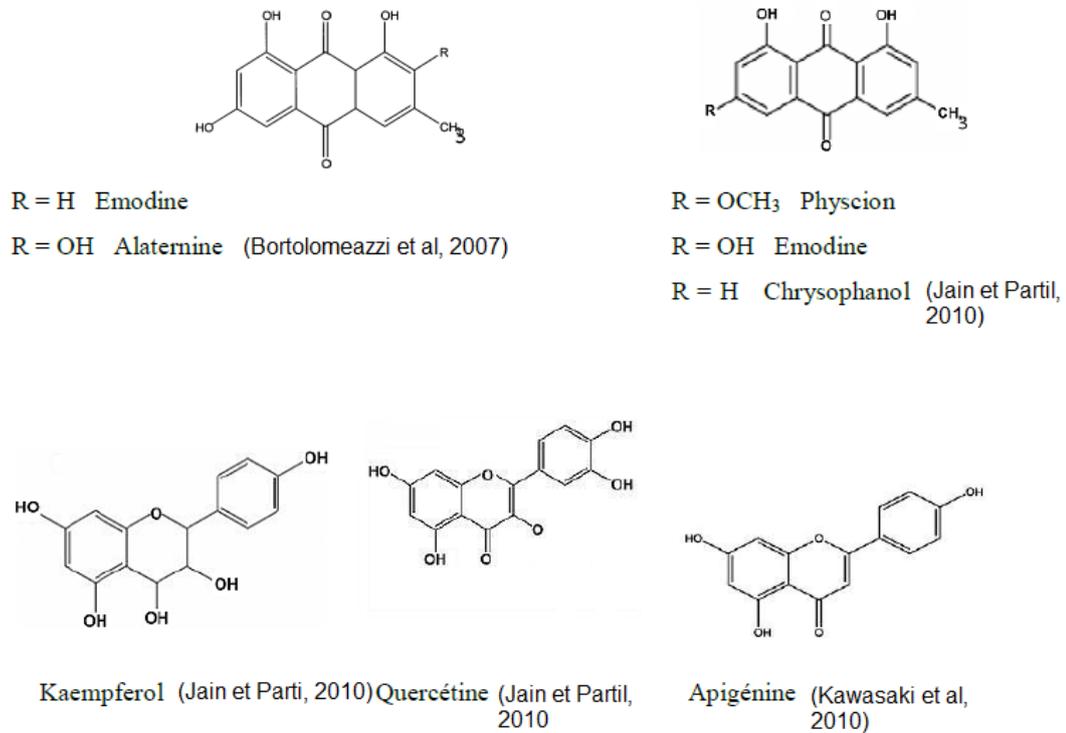
Les métabolites secondaires se classent en trois grands groupes chez les plantes :

- Polyphénols : tanins, lignine, flavonoïdes, acides phénoliques.
- Alcaloïdes
- Terpènes : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sésquiterpènes (C15), Diterpènes (C20), triterpènes (C30), tétraterpènes (C40).

Plusieurs études de caractérisation des extraits des parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) et sous terraines (racines) du *R. alaternus* ont révélé la présence de différents types de métabolites secondaires : Anthraquinones, coumarines, tanins et principalement des flavonoïdes (Ben Ammar et al, 2008).

L'étude phytochimique sur les extraits des parties aériennes et les racines de *R. alaternus* a révélé qu'il contient dans ses fleurs, feuilles et racines, des anthraquinones telles que l'Emodine ou Chrysophanol (sous leur formes réduites ou glycosylées), physcione et alaternine (anthraquinones aglycones) (Ben Ammar et al,

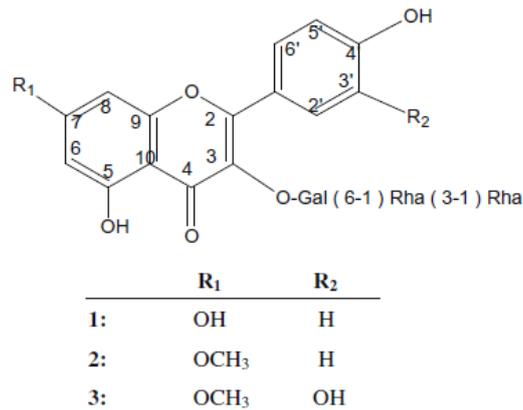
2007), tandis que certains sont riches en flavonoïdes (Figure 22). Leur richesse en ces composés, explique leurs facultés, ou pouvoirs cités précédemment.



---

**Figure 22:** Structures chimiques de quelques polyphénols de *R. alaternus* L (Harrar, 2012).

*R. alaternus* fait partie de l'une des espèces riches en flavonoïdes. Il contient de la quercétine, l'alaternine et le kaempférol, Kaempférol -3-O-isorhamnoside, rhamnocitrin-3-O-isorhamnoside et rhamnetin-3-O-isorhamnoside, ces derniers glycosylées, ont un grand pouvoir antioxydant (Figure 23) (Ben Ammar et al, 2009).



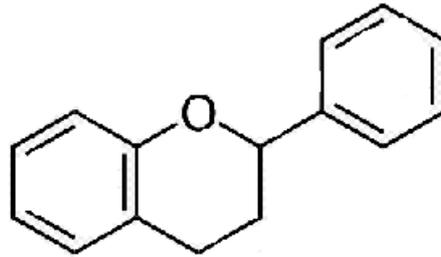
**Figure 23:** Structure de Kaempférol -3-O-isorhamnoside, rhamnocitrin-3-O-isorhamnoside et rhamnetin-3-O-isorhamnoside (Ben Ammar et *al*, 2009).

### 3.1. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ce sont des pigments (quasi) universels des végétaux, presque toujours hydrosolubles (Chira et *al*, 2008) (Erlund, 2004) (Havsteen, 2002).

Ils sont présents d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans différents organes, rencontrés à la fois sous forme libre ou glycosylée. Ces composés sont reconnus pour leur nombreuses activités biologiques tel-que : Antivirale ; anti-inflammatoire et anticancéreuse (Chira et *al*, 2008).

Les flavonoïdes sont le produit de l'une des deux voies du métabolisme secondaire, la voie de l'acide shikimique (Elicoh-Middleton, 2000) (Hollman et *al*, 1999). Le squelette de base des flavonoïdes est formé de deux cycles aromatiques (benzéniques) A et B liés par un pont tri-carboné formant un hétérocycle oxygéné avec le cycle A comprenant 15 atomes de carbones avec la participation d'un atome d'oxygène formant une structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Figure 24). L'élément qui diffère entre les différentes classes de flavonoïdes est l'hétérocycle (Chira et *al*, 2008).



**Figure 24:** Structure de base des flavonoïdes (Kebieche, 2009).

#### 4. Propriétés pharmacologiques et toxicologique de *Rhamnus alaternus* L :

Traditionnellement, *R. alaternus* a été employé en tant que digestif, diurétique, laxatif, hypotenseur et pour le traitement des complications hépatiques et dermatologiques. Les baies de la plante ont une action purgative, d'une saveur âpre, elles sont employées en médecine vétérinaire. Les feuilles en infusion constituent des gargarismes astringents.

Des études sur les extraits bruts de *R. alaternus* ont permis de mettre à jour des activités ou des pouvoirs antioxydants, anti-mutagénique (Ben Ammar et al, 2005), anti-hyperlipidémique (Hechache et Khelloufi, 2013) et antimicrobienne (Harrar, 2012).

Hechache et Khelloufi(2013), ont démontré que les extraits méthanoliques des feuilles de *Rhamnus alaternus* L. sont très tolérables, étant donnée qu'à la dose de 5000 mg/kg, il n'y a eu aucun effets indésirable, donc toxique décelable, ce qui les a poussé à conclure que la plante est considérée comme étant presque non toxique (5000 mg/kg < DL<sub>50</sub> orale < 15000 mg/kg).

## Matériel et méthodes

### I. Matériel

#### 1. Matériel végétal

Dans cette étude, les feuilles de *Rhamnus alaternus* L. ont été récoltées dans une région ombrée de la commune de TALA HAMZA (36° 42' 19" Nord ; 5° 02' 15" Est) de BEJAIA (Algérie) en Février 2014.

Les feuilles saines de *R. alaternus*, après êtres cueillies, ont été lavées pour éliminer toutes traces de poussières. Elles ont été séchées dans une étuve à 40 °C pendant une semaine.

Après le séchage, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique, en fine poudre homogène après plusieurs passages. La poudre obtenue a été conservée dans un bocal fermé, à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité, jusqu'à utilisation.

#### 2. Matériel animal

Dans cette étude, 27 souris Swiss albinos âgées d'environ deux mois, obtenues de l'Institut Pasteur d'Alger. Les individus pesés de 24 à 35 grammes. Elles sont issues de portées différentes.

Les animaux ont été placés dans des cages transparentes, à une température ambiante de  $19 \pm 2$  °C, avec un cycle moyen de 10/14 h (lumière/ obscurité). Ils ont été alimentés par des granules provenant de SARL SICAGRI (Société d'Intérêt Collectif des Agriculteurs) de Kherrata (Bejaia) et de l'eau du robinet. Le confort des souris dans chacune des boites a été assuré par une litière constitué de sciure de bois changée tous les 3 jours pour une hygiène optimale.

### II. Méthode

#### 1. Extraction méthanolique

La procédure d'extraction a été accomplie en suivant la méthode de MARKHAM (1982), avec quelques modifications, afin d'obtenir un extrait riche en polyphénols, en utilisant comme solvant d'extraction le méthanol. Elle consiste à extraire avec du méthanol par épuisement de l'échantillon, suivit d'une délipidation à l'hexane.

L'échantillon est épuisé par l'ajout de méthanol à 85% et cela trois fois de suite. Cette pratique épuise l'échantillon de ses molécules qui ont une affinité particulière avec le solvant utilisé, ici le méthanol. Le méthanol est à 85% (15% d'eau distillé) cela pour augmenter la polarité du milieu et ainsi augmenter l'extraction et donc le rendement.

20 grammes de poudre des feuilles de *R. alaternus* ont été mélangés à 200 ml du méthanol/eau distillée (85/15%). Le mélange est laissé sous agitation magnétique pendant une nuit à température ambiante, puis ils ont été mis au repos quelques heures au réfrigérateur. Le macérât est filtré sur papier filtre Wattman. Le filtrat (1) obtenu a été conservé au réfrigérateur. Le résidu (1) résultant a été re-mélangé avec 200 ml de solution de méthanol 85% et a été remis à une agitation magnétique pendant une nuit. Le lendemain, il a été filtré et le filtrat (2) a été mélangé avec le premier. Une dernière macération a été faite au résidu (2) suivant le même enchainement que les deux premières macérations, et le filtrat (3) obtenu est rajouté aux deux premiers.

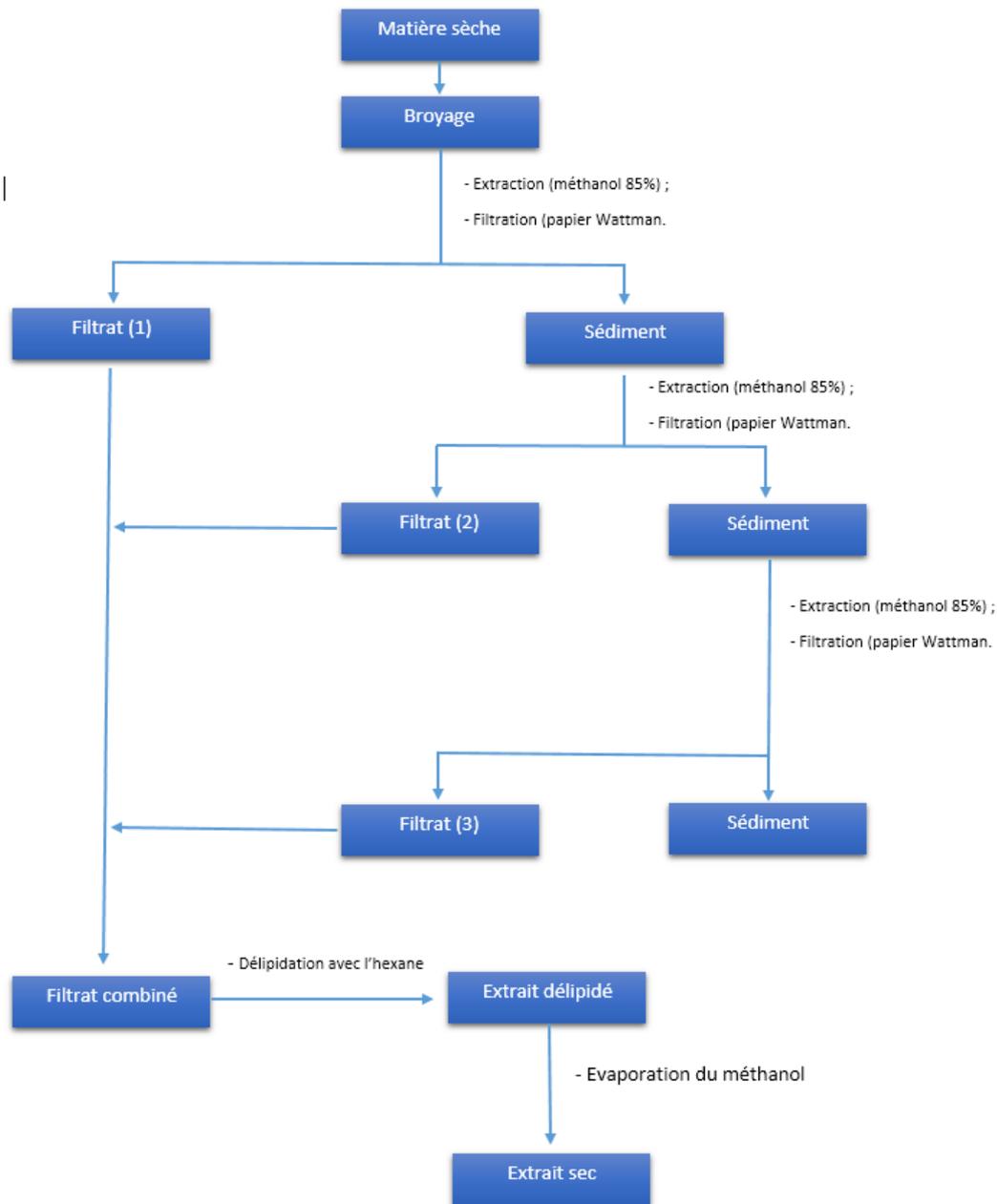
Le filtrat total des trois macérations successives a subi trois lavages successifs avec de l'hexane afin de le débarrasser l'extrait des cires, des lipides et de la chlorophylle. Après cela, la solution a été soumise à une évaporation sous une hotte à température ambiante pendant plusieurs jours afin d'obtenir l'extrait sec (Figure 25).

Le taux d'extraction est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rd (\%)} = \text{P/P}_0 \times 100$$

Avec :

- Rd (%) : Rendement exprimé en pourcentage ;
- P : Poids en gramme de l'extrait sec après extraction ;
- P<sub>0</sub> : Poids de la poudre avant extraction.



**Figure 25** : Schéma de l'extraction méthanolique de la poudre des feuilles de *R. alaternus* par épuisement (Kebieche, 2009).

## 2. Dosage des polyphénols totaux

La teneur de l'extrait méthanolique en polyphénols totaux a été déterminée en suivant le protocole d'Owen et Johns, (1999).

Cette méthode de quantification des composés phénoliques totaux, exploite la propriété du réactif de Follin-ciocalteu, constitué par un mélange d'acide

**phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ )** et d'acide **phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ )** de couleur jaune, à être réduit lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxydes bleus de **tungstène ( $W_8O_{23}$ )** et de **molybdène ( $Mo_8O_{23}$ )**. La couleur est mesurée par spectrophotométrie. La coloration est proportionnelle à la teneur de l'extrait végétal en polyphénols totaux.

250  $\mu$ l d'extrait de *R. alaternus* de 0.5 et 0.25 mg/ml solubilisé dans du méthanol ont été ajoutées, à température ambiante, à 1.25 ml du réactif de Follin-ciocalteu (0.1 N). Après agitation, on laisse incuber pendant 5 min la solution, puis on ajoute 1 ml d'une solution de monohydrate carbonate de sodium (7.5% p/v). Le mélange est laissé à incubation pendant une heure à l'obscurité et à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 740 nm contre un blanc préparé suivant les mêmes conditions, sauf que l'extrait est remplacé par le même volume de solvant d'extraction.

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage réalisée avec différentes concentrations d'acide gallique (0-90  $\mu$ g/ml) dans les mêmes conditions que le dosage de l'échantillon (Figure 26). La teneur en polyphénols totaux est exprimée en équivalents milligramme d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/ g d'extrait).

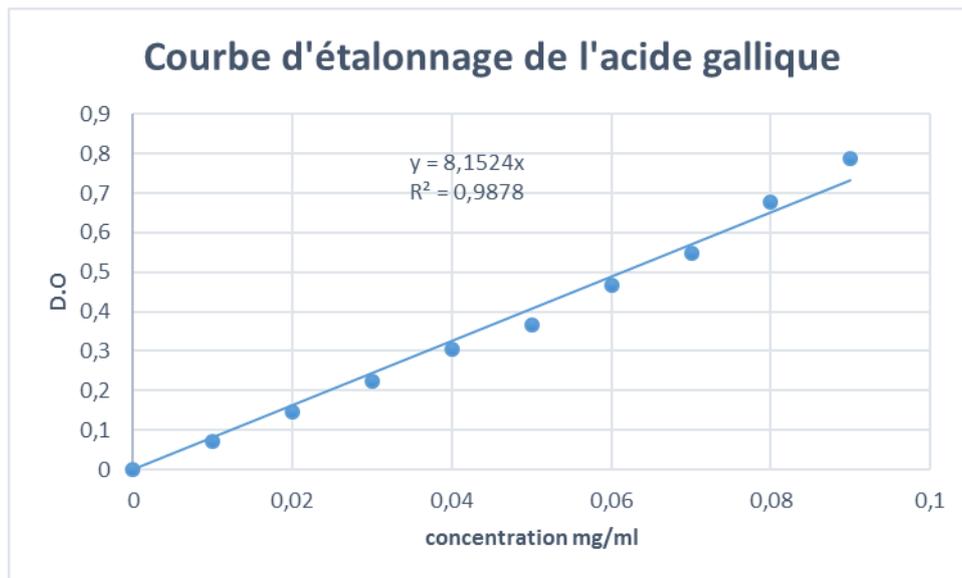


Figure 26 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### 3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage de la teneur de l'extrait méthanolique de *R. alaternus* en flavonoïdes a été accompli en suivant la méthode décrite par QUETTIER-DELEU et al (2000).

Grâce à leurs groupements hydroxyles libres, les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres en présence du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). La couleur obtenue est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes complexés.

1 ml de différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *R. alaternus* (0.5, 0.25, 0.125, 0.1 mg/ml), à température ambiante, est ajouté à 1 ml d'une solution de trichlorure d'aluminium (2% dans le méthanol). Après une incubation de 15 min, la mesure de l'absorbance est lue à 410 nm contre un témoin préparé suivant la même procédure, sauf que l'extrait est remplacé par le même volume de méthanol.

La concentration des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique est calculé à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec différentes concentrations de quercétine (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30  $\mu\text{g/ml}$ ), en suivant le même mode opératoire que pour l'échantillon (Figure 27). La teneur en flavonoïdes est exprimée en équivalents milligramme de quercétine/ gramme d'extrait (mg EQ/ g d'extrait).

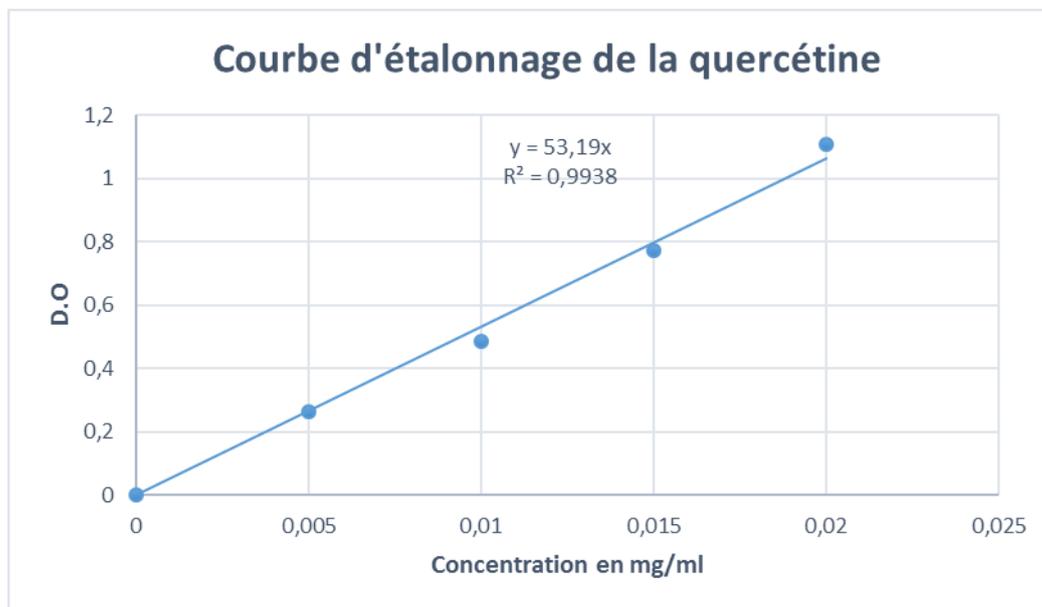


Figure 27 : courbe d'étalonnage de la quercétine.

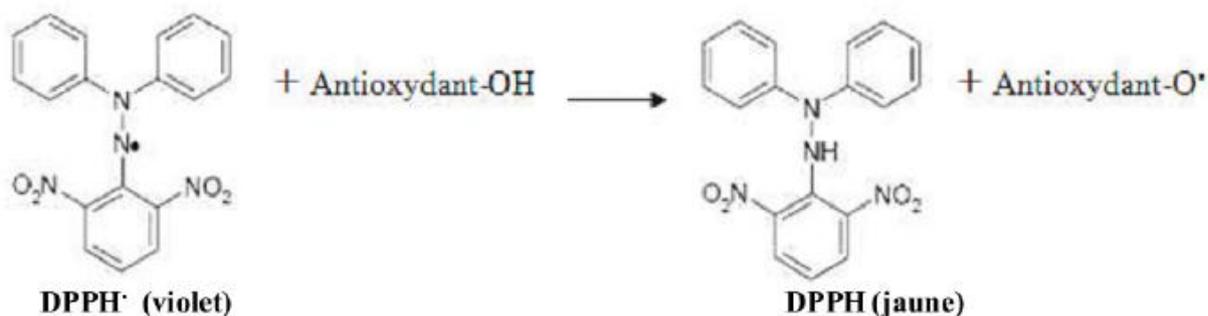
#### 4. Evaluation de l'activité antioxydante

L'extrait méth.anolique des feuilles de *Rhamnus alaternus* L. a été testé sur le pouvoir antioxydant par deux tests, DPPH et ABTS, pour déterminer l'effet anti-radicalaire.

##### 4.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire, test DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (Figure 28) est un radical libre synthétique de couleur violette, qui vire au jaune en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2-diphényl-1-picryl hydrazine. La décoloration du DPPH lors de la réaction de réduction est suivie par mesure de l'absorbance à 517 nm.

L'analyse de l'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique de *R. alaternus* sur le DPPH a été effectuée en suivant le protocole d'ATHAMENA et *al* (2010).



**Figure 28** : Réaction d'un antioxydant avec le DPPH (Bastida et *al.*, 2002)

Une solution de DPPH (5mM) a été préparée. 50  $\mu$ l de la solution DPPH (5 mM) ont été mélangée à 2.5 ml de différentes concentrations de l'extrait méthanolique (0-100  $\mu$ g/ml). Après 30 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm comme cité précédemment. Les résultats obtenus de la mesure de l'activité scavenger du DPPH par l'extrait méthanolique de *R. alaternus* ont été exprimé par rapport à ceux obtenus par la mesure de l'activité de la quercétine, un antioxydant de référence, à différentes concentrations (0, 25, 50, 75, 100  $\mu$ g/ml) réalisée sous les mêmes conditions.

L'activité anti-radicalaire de l'extrait a été exprimée en pourcentage d'inhibition selon la formule :

$$\%I = (A_t - A_e) / A_t \times 100$$

Avec:

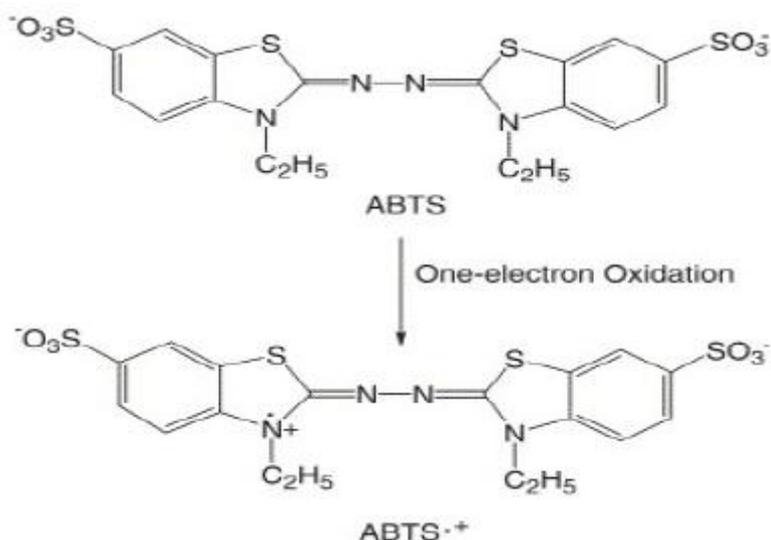
- %I: pourcentage de réduction du radical DPPH;
- $A_t$  : Absorbance du témoin (méthanol + DPPH) ;
- $A_e$  : Absorbance de l'extrait (extrait + DPPH) ;

La concentration effectrice 50 % ( $EC_{50}$ ) a été déterminée à partir de la courbe de pourcentage de réduction de DPPH. L' $EC_{50}$  est exprimé en  $\mu\text{G/ml}$  et est comparée avec celle du standard.

#### **4.2. Détermination de l'activité anti-radicalaire, test ABTS**

Ce test est dit méthode TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity). Le radical cationique ( $ABTS^{\cdot+}$ ) est produit par oxydation de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) après l'addition du persulfate de potassium. De l'ABTS (7mM) est mélangé avec du persulfate de potassium (2.45mM) ( $K_2O_8S_2$ ) et laissé à incubation pendant 16h. Le sel perd un électron pour former le radical cationique de couleur sombre (vert bleu) en solution. En présence de l'agent antioxydant, le radical est réduit pour donner le cation  $ABTS^+$ , ce qui entraîne la décoloration de la solution (Figure 29).

L'analyse de l'activité scavenging du radical  $ABTS^{\cdot+}$  a été réalisée en suivant le protocole de Mighri et *al*, (2010).



**Figure 29** : Oxydation de l'ABTS (Owen et Johns, 1999)

Le radical est préparé de la manière citée précédemment. La solution d'ABTS<sup>•+</sup> obtenue est diluée ensuite avec de l'eau distillée afin d'obtenir une absorbance de 0.7±0.02 à 734 nm.

20 µl de l'extrait à une concentration de 1 mg/ml ont été ajoutés à 2 ml de la solution d'ABTS<sup>•+</sup> diluée. Un standard de Trolox (Annexe I) a été réalisé suivant la même procédure mis à part qu'une gamme de concentration a été utilisée (0- 100 µg/ml). Après 7 min d'incubation dans les conditions adéquates, l'absorbance a été mesuré à 734 nm.

Le pourcentage de l'activité scavenger du radical ABTS<sup>•+</sup> est calculé comme suit :

$$\%I = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

Avec:

- %I: pourcentage de réduction du radical ABTS<sup>•+</sup> ;
- A<sub>0</sub> : Absorbance du contrôle (contenant seulement l'ABTS<sup>•+</sup>) ;
- A<sub>1</sub> : Absorbance de la solution d'ABTS<sup>•+</sup> contenant l'extrait.

## **5. Evaluation de l'effet inhibiteur de l'activité de la lipase pancréatique par l'extrait méthanolique des feuilles de *Rhamnus alaternus* L**

### **5.1. Extraction de la lipase pancréatique de souris**

L'extraction et la purification partielle de la lipase pancréatique de souris a été réalisée suivant le protocole de Shahani et *al* (1975).

Huit pancréas de souris fraîchement récoltés ont été lavés puis placés dans du saccharose glacé (0.01M) à 4°C. Les pancréas sont homogénéisés à l'aide d'un polytron (Kenematica pt 10-35), dans du saccharose froid pendant 90s. L'homogénat obtenu est ensuite centrifugé dans des tubes eppendorf à 15000 g pendant 30 min par une centrifugeuse réfrigérée.

Après centrifugation, le surnageant est soumis à une précipitation au sulfate d'ammonium saturé à 50 % (v/v) (15ml) sous agitation modérée, laissé au repos pendant 30 min à 4 °C, puis centrifugé à 10000 g pendant 30 min. Le culot obtenu a été ensuite dissous dans une solution de saccharose (0.01M) et à nouveau saturé avec du sulfate d'ammonium 50%. Le mélange est une autre fois centrifugé à 10000g pendant 30 min et le culot résultant est dissous dans un tampon phosphate et utilisé comme source d'enzyme.

### **5.2. Mesure de l'activité de la lipase pancréatique en présence et en absence de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* L**

La lipase pancréatique joue un rôle important dans le métabolisme des lipides. Elle est l'un des modèles les plus utilisés pour l'évaluation de l'efficacité de produits naturels en tant qu'agents anti-obésité (Lee et *al.*, 2010). La mesure de l'activité inhibitrice de la lipase pancréatique par l'extrait méthanolique est réalisé par titration avec du NaOH (0.02M).

L'activité de la lipase pancréatique est déterminée en incubant une émulsion contenant 8ml d'huile d'olive, 0.4 ml de tampon phosphate et 1 ml de la solution contenant la lipase pancréatique, pendant une heure sous agitation. A terme, 1.5 ml d'une solution d'acétone et d'éthanol 95 % (v/v) est ajouté au mélange afin de stopper la réaction. La libération des acides gras est déterminée par titration avec du NaOH (0.02M) en utilisant la phénolphthaléine en tant qu'indicateur (Kumar et *al.*, 2011).

Le principe ainsi que le mode opératoire est le même que pour la mesure de l'activité de la lipase pancréatique, mis à part qu'une quantité de 100 µl d'une gamme de concentration (0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 15, 20 mg/ml) de l'extrait méthanolique du *R. alaternus* est ajoutée au mélange. La détermination de la libération des acides gras se fait de la même manière aussi (Kumar et *al.*, 2011).

Le pourcentage d'inhibition de l'activité de la lipase pancréatique est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\%I = (A - B) / A \times 100$$

Avec :

- %I : Pourcentage d'inhibition de la lipase ;
- A : Activité de la lipase ;
- B : Activité de la lipase incubé avec l'extrait.

## **6. Etude de l'effet de régimes enrichis en lipides et en carbohydrates sur la masse corporelle de souris**

### **6.1. Répartition des souris**

Les 27 Souris Swiss albinos ont été réparties selon la modalité des essais randomisés (les sujets sont partagés aléatoirement), entre trois lots distincts :

- Lot T, 6 Souris de poids moyen  $28 \pm 2.26$  g ;
- Lot G, 9 Souris de poids moyen  $32 \pm 1.79$  g ;
- Lot S, 9 Souris de poids moyen  $32 \pm 2.46$  g.

### **6.2. Les régimes alimentaires**

Le régime de base est formé de granulés destinés aux rongeurs. Ces granulés sont constitués d'un mélange de maïs, orge, son de blé tendre, farine basse (3sf),

luzerne, tourteaux de soja, sel, phosphate, mélasse, et de carbonate de calcium. Cependant la composition exacte n'a pas été fournie par le fournisseur.

- **Le lot de souris T**

Les individus de ce lot ont reçu quotidiennement 10 grammes de l'alimentation de base sans aucune modification.

- **Le lot de souris G**

Les souris du lot G ont reçu une alimentation enrichie en lipides à 20 %. Les granules de l'aliment de base ont été broyés en une poudre homogène puis mélangés à de la margarine (Fleurial (CEVITAL)) fondue avec un rapport m/m de 80/20%. La pâte ainsi formée a été mise à cuire dans un four à 180 °C pendant 10 min, puis laissée refroidir.

- **Le lot de souris S**

Les souris du lot S ont reçu une alimentation enrichie en carbohydrates (sucres) à 20%. La procédure de préparation est la même que celle précédemment cité, mis à part qu'au lieu des 20 % en margarine, on a utilisé 20 % de sucres (SKOR (CEVITAL)).

Les souris de chaque lot ont reçu quotidiennement 10 grammes de granules enrichis ou non, pendant 8 semaines. Le poids a été mesuré hebdomadairement. Les résultats seront présentés en moyenne plus ou moins l'écart-type.

**7. Effet de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* L sur la masse corporelle de souris nourries par une alimentation enrichie en sucre**

Les souris ayant reçu une alimentation normale (Lot T) et une alimentation riche en carbohydrates (Lot S) pendant 8 semaines ont été subdivisées en deux sous lots :

- Lot LTt : 3 souris ayant une alimentation quotidienne non enrichie + une dose d'eau physiologique ;
- Lot LTE : 3 souris ayant une alimentation quotidienne non enrichie + une dose d'extrait de *Rhamnus alaternus* dissous dans l'eau physiologique.

- Lot LSt : 4 souris ayant une alimentation quotidienne enrichie en sucre + une dose d'eau physiologique ;  
Lot LSe : 4 souris ayant une alimentation quotidienne enrichie en sucre + une dose d'extrait de *Rhamnus alaternus* dissous dans l'eau physiologique.

Remarque : Les souris du lot G ont été écartées de la suite de l'étude car on a observé l'apparition de comportements très agressifs.

Les souris des lots LTe et LSe ont reçu quotidiennement à la même heure une dose de 10 ml/kg d'extrait à raison de 200 mg/kg (KIM et *al.*, 2007) (MIN et *al.*, 2012) (Hechache et Khelloufi, 2013). Alors que les souris des lots LTt et LSt ont eu à la place 10ml/kg d'eau physiologique (0.9% de NaCl).

L'administration d'eau physiologique ou de l'extrait méthanolique de *R. alaternus* (solubilisé dans de l'eau physiologique) a été réalisée par gavage (voie orale) en utilisant une sonde professionnelle pour souris.

La durée du traitement s'est étendue sur une période de 5 semaines et à la fin de chaque semaine, les souris ont été pesées.

Après 5 semaines de traitement, les souris ont été sacrifiées. Leur sang, ainsi que leurs organes (reins, foies et pancréas) ont été prélevés pour analyse.

### **7.1. Dosage sérique de quelques molécules du métabolisme des lipides, cholestérol et HDL-cholestérol**

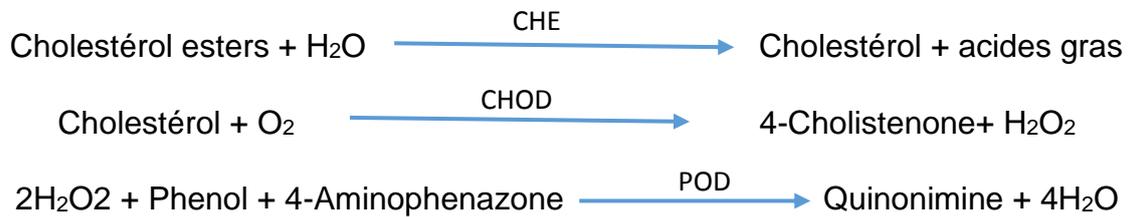
Le sang fraîchement récolté dans des tubes héparines a été centrifugé à 3000 g pendant 10 min. Le sérum a été récupéré et mis dans des tubes eppendorf.

#### **a) Dosage du cholestérol total**

Afin de doser le cholestérol total, nous avons utilisé le kit de dosage (SPINREACT). La méthode utilisée est celle prescrite dans la notice du kit.

Le dosage du cholestérol sanguin suit un procédé enzymatique couplé. Tout d'abord, le cholestérol sanguin est libéré par la cholestérol estérase à partir des esters de cholestérol, puis oxydé par la cholestérol oxydase en cholestenone. Simultanément, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produit est utilisé par la peroxydase afin de transformer l'aminiphenazone en quinonimine. L'intensité de la couleur formée est

proportionnelle à la concentration de cholestérol du sérum. L'origine de la coloration est due à la formation du quinonimine selon la réaction suivante :



1 ml de réactif RP (constitué de R1 et R2 (Annexe II)) a été mélangé avec 10 µl de sérum. Après 10 min d'incubation à 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 200 mg/dl) réalisé sous les mêmes conditions.

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

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

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

### **b) Dosage du HDL-cholestérol**

Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de faible densité (LDL) présentes dans le sérum, se précipitent par l'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium. Après avoir mélangé 100 µl de réactif R (Annexe II) avec 1 ml de sérum, il a été laissé au repos pendant 10 min. le mélange a été centrifugé, puis le surnagent, contenant les HDL (lipoprotéines de haute densité), a été utilisé pour doser les HDL-cholestérol suivant le même protocole que pour le dosage du cholestérol total.

L'absorbance et le taux de HDL-cholestérol ont été respectivement lu et calculé suivant la procédure citée précédemment.

## 7.2. Analyse histologique

### a) Prélèvement d'organes

Après la récolte du sang, les organes (foie, rein et pancréas) des souris ont été prélevés après la dissection des corps. Une petite incision au niveau du bas ventre a été réalisée afin de permettre l'insertion de la sonde d'incision. Suite à cela, une dissection de la cavité abdominale a été effectuée et les organes ont été prélevés (Figure 30).



**Figure 30** : Dissection de souris.

### b) Fixation

Ce procédé consiste à figer les structures des organites cellulaires tout en conservant les constituants cellulaires et tissulaires dans un état proche du vivant. L'agent fixateur solidifie le gel protéique qui circule entre les mailles du réseau membranaire limitant le hyaloplasme et les organites. Les organes récupérés sont lavés avec de l'eau physiologique et immédiatement immergés dans du formol (10%) afin d'éviter leur dégradation et obtenir une rigidité tissulaire suffisantes. Les organes sont coupés en petits fragments et déposés dans des cassettes spéciales en plastiques.

### c) Lavage, déshydratation et éclaircissement

Avant de procéder à la déshydratation, les pièces fixées sont lavées à l'eau courante pendant 30 minutes ou plus, afin d'éliminer l'excès de fixateur. Les pièces fixées et lavées sont ensuite placées dans l'automate constitué de 12 cylindres, réparties en : 6 cylindres d'alcool (éthanol 100°) pour déshydrater les échantillons (étape de déshydratation), 4 cylindres de xylène pour les purifier de l'alcool (étape

d'éclaircissement) et 2 cylindres de paraffine-xylène pour éliminer le xylène, chaque bain prend 1h30 dans chaque cylindre (Figure 31).



**Figure 31:** Les étapes d'inclusion par l'automate (STP 120).

#### **d) Imprégnation, enrobage à la paraffine et confection des blocs**

Après avoir laissé les cassettes dans les deux derniers bains de paraffine-xylène de l'automate, elles ont été immergées dans deux bains chauds successifs de paraffine pure pendant 2 heures dans le distributeur de paraffine. L'enrobage et la confection des blocs, consiste à placer le fragment d'organe dans un moule métallique remplis préalablement par de la paraffine fondue pure, couvert d'une cassette. Après l'enrobage, les cassettes sont mises dans un réfrigérateur jusqu'à refroidissement et durcissement de la paraffine, les blocs démoulés sont prêts à être coupés (Figure 32).



**Figure 32:** Distributeur de paraffine à gauche et réfrigérateur à droite.

### e) Coupe et étalement

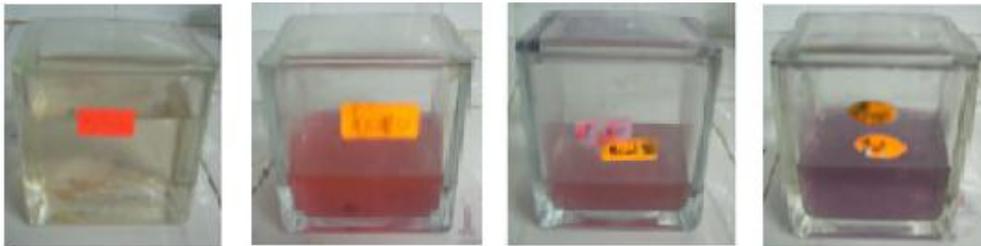
Les coupes ont été réalisées avec un microtome à l'Hôpital FRANTZ FANON BEJAIA. L'épaisseur des coupes ( $2\mu\text{m}$ ) permet aux rayons lumineux du microscope de traverser le prélèvement et d'éviter les superpositions cellulaires. Ces dernières ont été recueillies sur des lames de verre et étalées à l'aide d'une solution d'eau gélatinée à 0.4 % (annexe), puis laissées sécher pendant une heure à  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figure 33).



**Figure 33 :** Microtome (Leica RM 2125RT).

### f) Déparaffinage des coupes

Avant la coloration, les coupes ont été débarrassées de la paraffine. Les lames ont été lavées dans deux bains successifs de xylène pendant 15 minutes, suivi de 3 bains d'éthanol à degrés décroissant (100°, 90°, 70°) pendant 3 minutes. Ils ont été ensuite rincés avec de l'eau distillée pendant 1 minute (Figure 34).



**Figure 34** : les étapes de déparaffinage.

### g) Coloration

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 (rouge) (Figure 35).

Les lames ont été mises dans un bain d'hématoxyline pendant 3 minutes, suivi d'un rinçage à l'eau courante pendant 5 minutes. Les lames ont été par la suite mises dans un bain d'éosine pendant 30 minutes, puis rincées rapidement avec de l'eau. Elles ont ensuite subi une déshydratation à l'éthanol à des concentrations croissantes (70°, 90° et 100°) de 2 minutes chacune. La coloration a été finalisée avec un bain de xylène durant 2 minutes, puis laissées à sécher dans une étuve.



**Figure 35** : les étapes de coloration.

**h) Observation sous microscope**

Les coupes ont été analysées sous un microscope optique à différents grossissements, puis photographiées grâce à un appareil photos numérique.

## Résultats et discussions

### 1. Rendement d'extraction

L'extraction méthanolique des feuilles de *Rhamnus alaternus* a donnée 6.98 g d'extrait sec, avec un rendement de 34.9 %. Le taux d'extraction est assez important en comparaison aux résultats obtenus par des étudiants en fin de cycle Master au sein du même laboratoire en 2012 (Messaoudi) et en 2013 (Hechache et Khelloufi), qui ont eu des taux d'extractions de 7.5% et de 13.12% respectivement. Cette différence peut être expliquée par la précision de la méthode utilisée, la nature des solvants utilisés et leur polarité, la durée et le nombre de macération, la technique utilisée pour l'évaporation des solvants, les conditions du milieu et principalement, la région et la période de récolte de la partie utilisée pour l'extraction.

### 2. Teneur de l'extrait de *R. alaternus* en polyphénols totaux

Le taux de polyphénols totaux de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus*, exprimé en mg EAG/g d'extrait, est déterminé à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. La quantité en polyphénols totaux obtenue est de  $150 \pm 9.71$  mg EAG/ g d'extrait.

Comparativement aux résultats obtenus par Ben Ammar et ses collaborateurs (2007) en travaillant sur les feuilles de *R. alaternus* récoltées en Tunisie, la teneur en polyphénols de notre extrait est en moyenne basse, avec 294 mg EAG/g d'extrait. Cette différence peut être expliquée, tout d'abord, par la méthode et le solvant utilisés, ainsi que la région de développement des deux plantes. Cependant, l'étude de Hechache et Khelloufi en (2013) (Fin de cycle Master, Université Abderrahmane Mira de BEJAIA) a eu des taux faibles par rapport à ceux de cette étude, 43.98 mg EAG/g d'extrait, qui est due certainement à la méthode d'extraction utilisée.

### 3. Teneur de l'extrait de *R. alaternus* en flavonoïdes

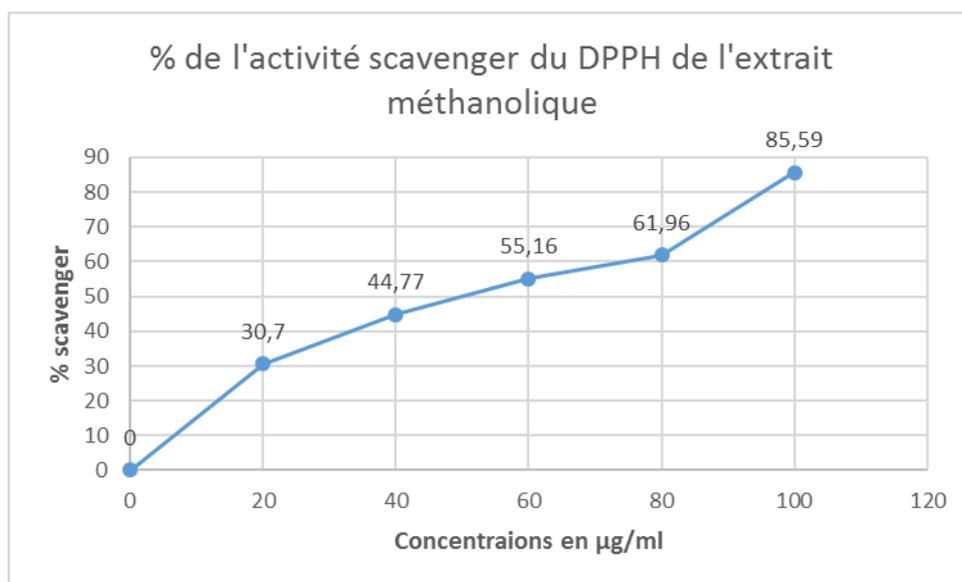
La proportion en flavonoïdes de l'extrait méthanolique est de  $91.6 \pm 14.31$  mg EQ/ g d'extrait. La concentration en flavonoïdes de l'extrait pourrait être due à la méthode d'extraction utilisé qui a permis une bonne séparation et purification des flavonoïdes polaires grâce à l'utilisation d'un solvant adéquat. Ce résultat indique que les feuilles de *R. alaternus* sont riches en flavonoïdes.

Ben Ammar et ses collaborateurs (2007) ont démontré que *Rhamnus alaternus* (Tunisie) contient  $423 \pm 19$  mg EQ/g E d'oligomères flavonoïdiques totaux, alors que son extrait méthanolique n'en contenait que  $283 \pm 11$  mg EQ/g E. les résultats de cette présente étude sont inférieures à celle de (Ben Ammar et al., 2007).

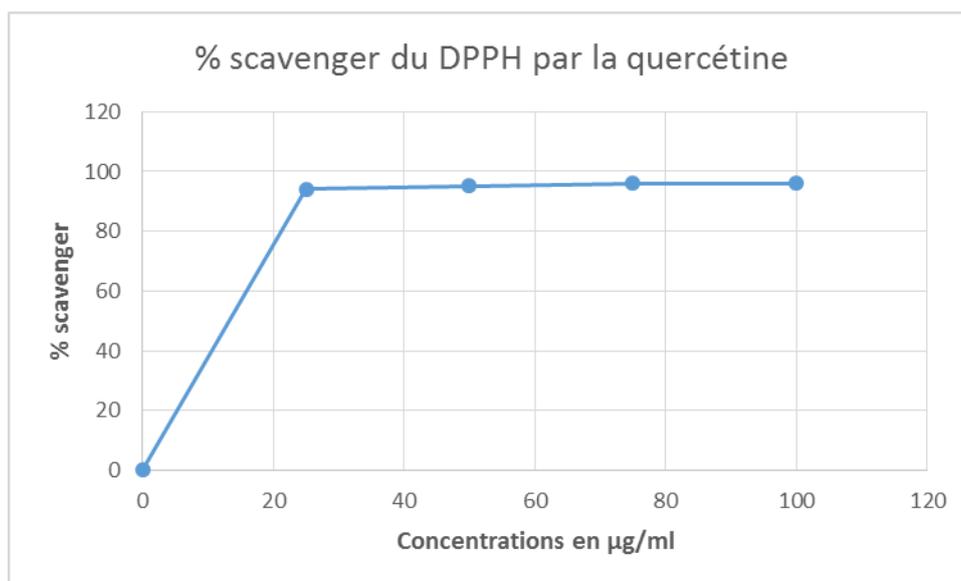
#### 4. Activité antioxydante

##### 4.1. Activité anti-radicalaire ; test DPPH

L'estimation de l'activité anti-radicalaire in-vitro de l'extrait de *Rhamnus alaternus* et de la quercétine a été réalisée en mesurant le taux de DPPH<sup>+</sup> après l'addition de l'extrait méthanolique et de la quercétine à différentes concentrations. Les résultats de l'effet de plusieurs concentrations de l'extrait de *R. alaternus* contre le DPPH sont illustrés sur la figure 36 et le tableau V :



**Figure 36:** Activité scavenger du DPPH<sup>+</sup> par l'extrait des feuilles de *Rhamnus alaternus* à différentes concentrations.



**Figure 37:** Activité scavenger de la quercétine contre le DPPH<sup>+</sup>.

Les EC<sub>50</sub> sont calculées et les résultats sont présentés sur le tableau V :

**Tableau V:** Les différentes EC<sub>50</sub> de la quercétine et l'extrait méthanolique de *R. alaternus*.

Echantillons	Quercétine	Extrait méthanolique
EC <sub>50</sub> µg/ml	10.29	54

L'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique est dépendante de la dose. Le pouvoir scavenger du DPPH de l'extrait des feuilles de *Rhamnus alaternus* le plus élevé (85.59%) a été observé à une concentration de 100 µg/ml, alors que l'effet le plus faible (30.70%) a été constaté pour une concentration de 20 µg/ml. L'EC<sub>50</sub> de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* est de 54 µg/ml, ce qui est meilleur que les résultats obtenus par Messaoudi, (2012) avec une EC<sub>50</sub> de 150 µg/ml.

Ben Ammar et ses collaborateurs (2009) ont démontré que trois composés de *Rhamnus alaternus*, le rhamnetin-3-O-isorhamnoside, rhamnocitrin-3-Oisorhamnoside et le kaempférol-3-O-isorhamnoside possèdent des EC<sub>50</sub> de l'ordre de 1.5 µg/ml, 38 µg/ml et 23 µg/ml respectivement. Nous constatons ici que l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* a une EC<sub>50</sub> proche de celle des molécules

pures utilisées par Ben Ammar et ses collaborateurs (2009), ce qui montre que l'extrait devrait contenir des molécules à pouvoir antioxydant plus important.

Des études sur les relations entre la structure chimique des flavonoïdes et leur pouvoir antioxydant (Bors et al, 2001 ; Cai et al, 2006 ; Cotelle et al, 1996) ont été réalisés. Les composés les plus actifs sont ceux qui combinent trois structures : La structure ortho-dihydroxy du cycle B (groupement catéchol), la double liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> adjacente à la fonction cétonique du C<sub>4</sub> (4-oxo) et à la présence du groupement 3-OH en combinaison avec le C<sub>3</sub> (Rice-Evans et al., 1997 ; Furuno et al., 2002). Ces critères sont tous regroupés chez la quercétine, ce qui explique son utilisation comme un antioxydant de référence.

La richesse de l'extrait méthanolique en flavonoïdes peut-être responsable de cette activité anti-radicalaire.

#### 4.2. Activité anti-radicalaire ; test ABTS

L'activité anti-radicalaire est réalisée par la méthode du radical ABTS<sup>•+</sup>. L'effet piègeur de l'extrait méthanolique des feuilles de *Rhamnus alaternus* est calculé à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage du Trolox (un antioxydant de référence) (Figure 38). Les résultats sont exprimés en mg ET/g d'extrait.

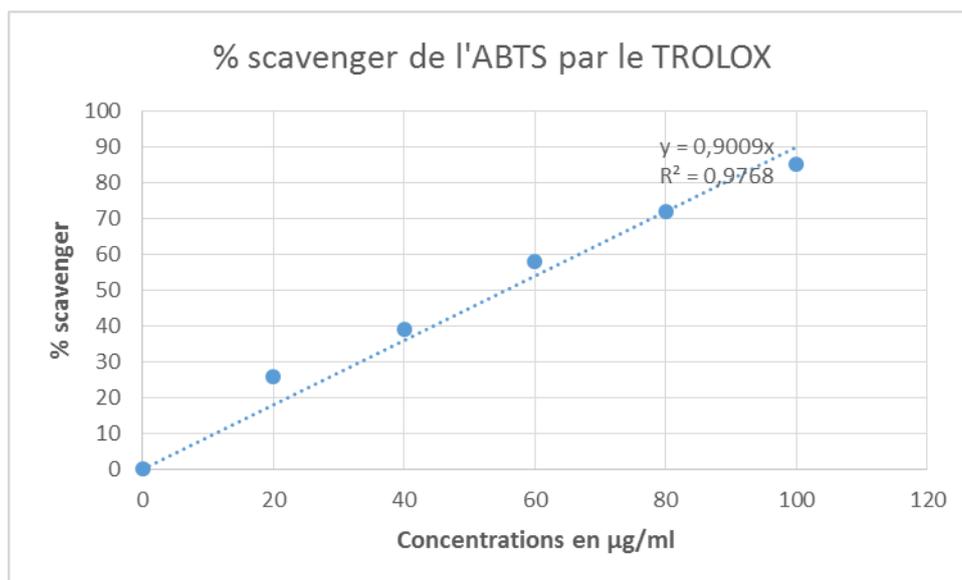


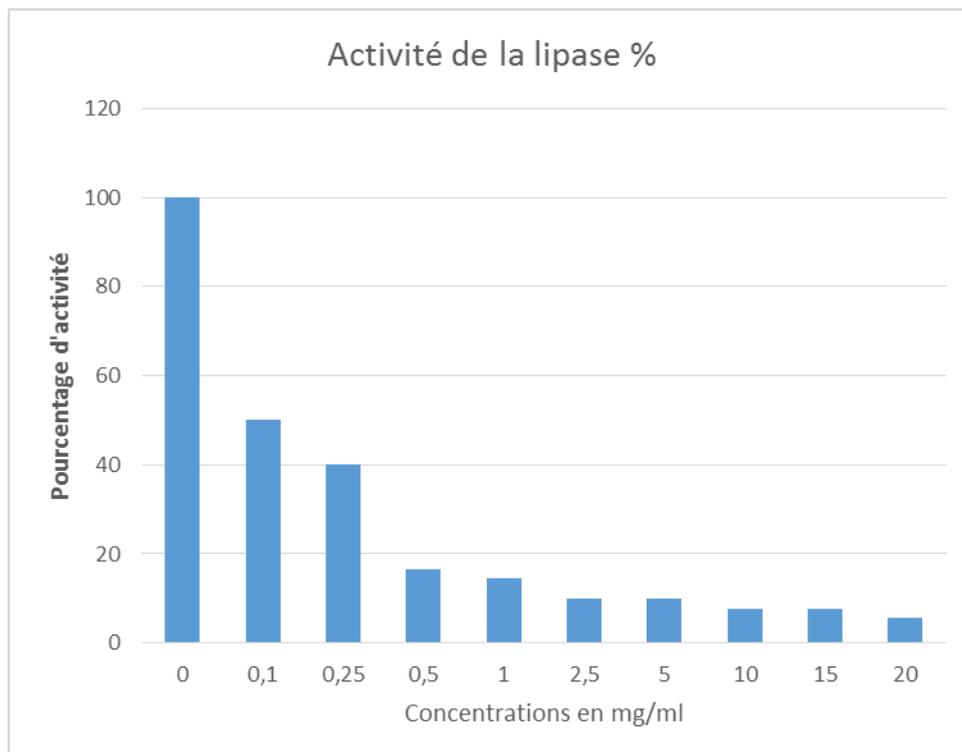
Figure 38: Courbe d'étalonnage du TROLOX.

L'extrait des feuilles de *R. alaternus* à la concentration de 1 mg/ml, a donné une activité de  $30.43 \pm 0.45$  % de réduction du radical ABTS<sup>•+</sup>. Ce taux a permis d'avoir une activité équivalente à une concentration de 33.77 mg ET/ g d'extrait.

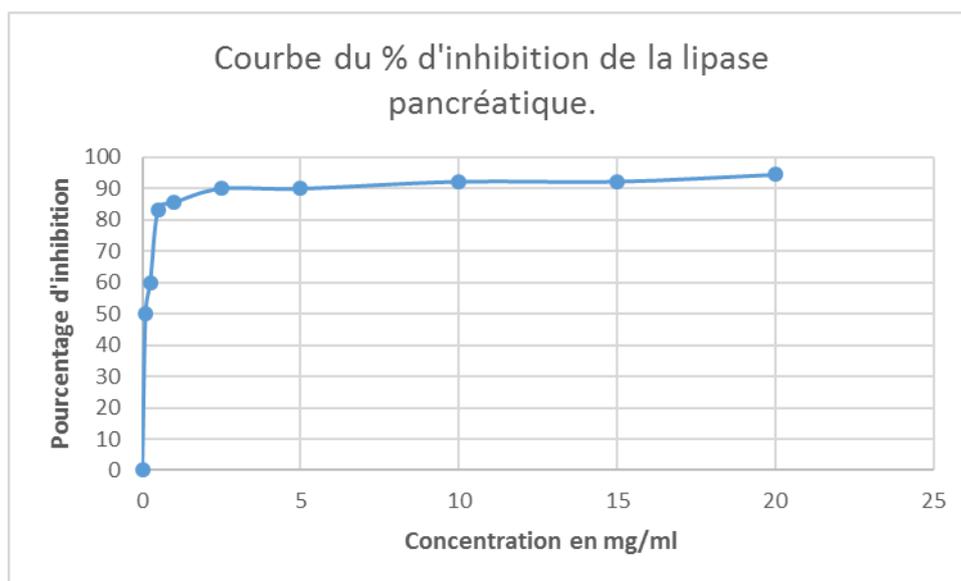
### 5. Activité anti-lipase de l'extrait méthanolique des feuilles de *Rhamnus alaternus* L

L'activité inhibitrice de différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *R. alaternus* a été testée en utilisant la lipase pancréatique de souris et l'huile d'olive comme substrat. L'activité de la lipase a été vérifiée sans extrait.

L'évaluation a montré que l'activité de la lipase a été très affectée par l'extrait méthanolique végétal. En effet, plus de 90% de l'activité a été réduite à une concentration de 20 mg/ml. L'EC<sub>50</sub> (concentration qui inhibe 50% de la lipase) a été déterminé à partir de la courbe d'inhibition représentée dans la figure 40. Elle est égale à 0.1 mg/ml et montre que l'extrait méthanolique présente une très grande efficacité d'inhibition.



**Figure 39:** Graphe de l'activité résiduel de la lipase pancréatique avec et sans extrait méthanolique du *R. alaternus*.



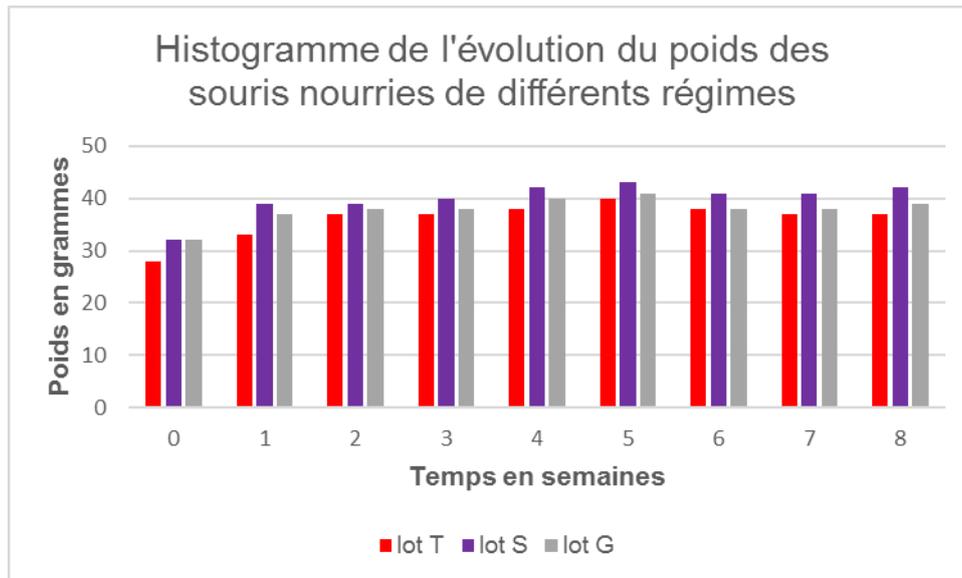
**Figure 40** : Courbe du pourcentage d'inhibition de l'activité de la lipase pancréatique par l'extrait méthanolique des feuilles de *Rhamnus alaternus* L.

Anil Kumar et ses collaborateurs (2011) ont mis en évidence l'activité inhibitrice de la lipase pancréatique du poulet par l'extrait méthanolique d'*Everniastrum cirrhatum*, une algue riche en alcaloïdes et en terpènes, et très pauvre en flavonoïdes. Ils ont obtenues une  $IC_{50}$  égal à 12 mg/ml, ce qui est moins important que l' $IC_{50}$  obtenue lors de cette étude. Cette différence peut être expliquée par la richesse des feuilles de *Rhamnus alaternus* en flavonoïdes.

En effet, (Lee et *al.*, 2010) ont démontré que 9 composés flavonoidiques (lutéolin 6-C- $\beta$ -D- boivinopyranoside ; orientin ; isoorientin ; derhamnosylmaysin ; isoorientin 2-O- $\alpha$ -L- rhamnoside ; lutéolin ; acide chlorogénique ; acide méthyl chlorogénique ; acide caféique) avait une pouvoir inhibiteur de l'activité de la lipase pancréatique. Ils ont observé que plus il y avait de groupements hydroxyles libres, plus l' $IC_{50}$  était petite, et plus l'effet inhibiteur était élevé.

## 6. Effet des régimes enrichis sur la masse corporelle de souris

L'effet des différents régimes sur la masse corporelle des souris Swiss albinos a été évalué par la mesure du poids à la fin de chaque semaine. Les résultats des 8 semaines sont présentés dans la figure 41 et le tableau VI.



**Figure 41:** Histogramme de l'évolution du poids des souris nourries de différents régimes.

**Tableau VI:** Gains de poids des souris.

	Gains de poids (g)		% de gains de poids	
	30 jours	60 jours	30 jours	60 jours
<b>Lot T</b>	10	9	26	24
<b>Lot S</b>	10	10	24	24
<b>Lot G</b>	8	7	20	18

Au cours de l'évolution du test, il a été observé que les souris nourries avec un régime enrichi en sucres ont grossi plus rapidement (max=43±3.25 g) que les souris

alimentées par un régime enrichie en lipides ( $\max=41\pm 3.37$  g). L'augmentation du poids des deux lots (lot S et G) n'a pas été significative par rapport au lot T ( $\max 40\pm 0.9$  g). Néanmoins, la différence entre les moyennes des poids des lots S et G au cours des 8 semaines, montre qu'à 20% d'enrichissement, les régimes enrichis en sucres font plus grossir que les régimes enrichis en lipides. Ce résultat peut être expliqué, d'un côté, par la vitesse et la facilité d'absorption des glucides contrairement aux lipides, ainsi qu'à la capacité de l'organisme à transformer par lipogénèse le surplus de glucose en acides gras, et d'un autre côté, par l'éventualité que les graisses contenues dans la margarine ne sont pas adéquat à l'induction d'un surpoids expérimental.

Il a été observé qu'au bout de la cinquième semaine, le poids des trois lots a baissé légèrement pour se stabiliser, ce qui pourrait être le signe d'une vieillesse des sujets.

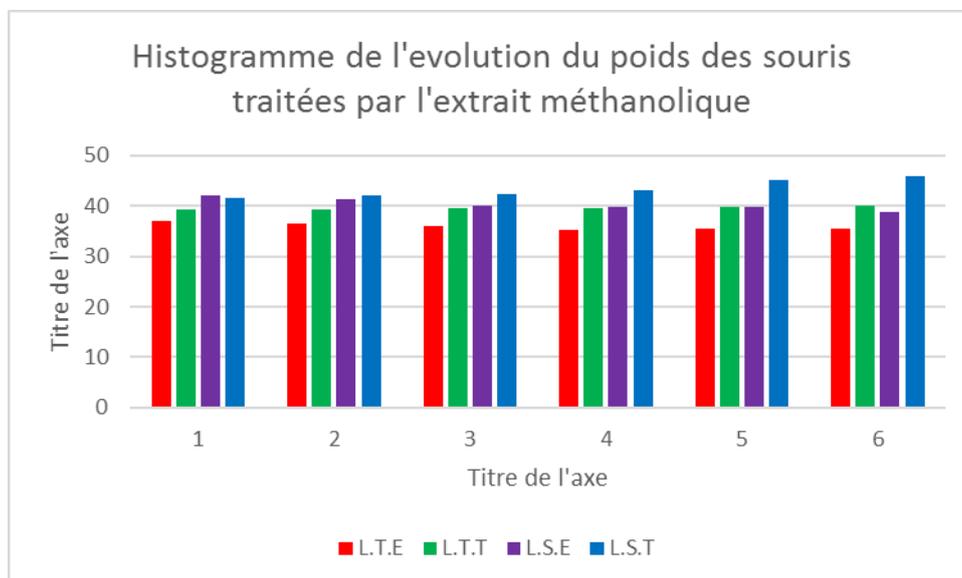
La consommation en eau des souris ayant reçus un régime enrichi en sucre est en moyenne de 5ml/S/J et leur comportement était semblable à ceux du lot témoin. Par contre, les souris nourries par un régime enrichi en lipides, ont eu un comportement très agressif, avec une consommation quotidienne en eau de 6ml/S en moyenne. Cette agressivité peut-être expliquée par le dérèglement de l'expression des gènes des récepteurs D<sub>2</sub> (baisse) et D<sub>1</sub> (augmentation) de la dopamine lors d'une prise alimentaire riche en lipide (Alsiö et al, 2014).

### **7. Effet de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* L sur la masse corporelle de souris nourries par une alimentation enrichie en sucres**

L'évaluation de l'impact de l'extrait méthanolique sur la masse corporelle des souris sélectionnées a été réalisée par la mesure du poids des différents individus au cours de 5 semaines, contre des témoins ayant reçus de l'eau physiologique afin d'éliminer l'effet placebo. Les résultats sont représentés sur la figure 42 et le tableau VII.

**Tableau VII** : résultats de l'évolution des poids de souris traité ou pas avec l'extrait de *Rhamnus alaternus*.

Poids des souris				
Semaines	L.S.E	L.S.T	L.T.E	L.T.T
0	42,09±1.62	41,53±1.43	36,96	39,24±1.37
1	41,35±2.25	41,98±1.69	36,58	39,37±0.73
2	40,07±1.67	42,28±1.71	35,92	39,58±2.05
3	39,85±1.38	43,09±1.41	35,21	39,62±1.25
4	39,78±1.51	45,04±1.67	35,45	39,77±1.04
5	38,92±1.96	45,95±2.22	35,42	40,08±0.87



**Figure 42:** Histogramme de l'évolution du poids des souris traitées par l'extrait méthanolique des feuilles de *Rhamnus alaternus*.

Le gain de poids corporel des lots LSe et LTe a été sensiblement bloqué au cours des 5 semaines de traitement. Le poids moyen des souris du lot LSe a baissé de 3.17 g alors que celui du lot LSt a continué d'augmenter (de 4.6g). Le même constat a été observé chez les souris du lot LTe, avec une baisse de 1.54 g. Alors que pour le lot LTt, l'augmentation du poids n'a été que de 0.84 g. Nous avons noté aussi que les souris nourries avec un régime enrichi en sucre ont eu une baisse de poids plus

importante que les souris nourries par une alimentation normale. Les résultats ont montré que l'extrait avait une activité amaigrissante.

A partir des résultats obtenus lors du test de l'effet inhibiteur de l'extrait méthanolique sur l'activité de la lipase pancréatique, il est possible que l'un des mécanismes de cet amaigrissement puisse être la diminution d'absorption des graisses alimentaires.

Une étude de Zheng et ses collaborateurs (2004) sur l'effet du thé vert et trois de ses composantes sur l'obésité, a montré que ces composés ont bloqué sensiblement le gain de poids, particulièrement pour la caféine (alcaloïde) et la théanine (acide aminé). Par contre, ils n'ont pas noté un blocage important de gain de poids concernant la catéchine (flavonoïdes). Notre étude a démontré que l'extrait enrichi en polyphénols a eu un pouvoir amaigrissant, ce qui est plus important que les résultats de Zheng et ses collaborateurs (2004). Ce qui indique, que l'extrait contient des molécules actives, principalement des polyphénols, qui ont une activité contre le surpoids, supérieur à la caféine et à la théanine.

### 7.1. Taux sérique de cholestérol et HDL-cholestérol

Le dosage du cholestérol et du HDL-cholestérol a été réalisé suivant les directives de SPRINREACT. Les résultats présentés dans le tableau VIII sont exprimés en mg/dL.

**Tableau VIII:** taux sérique de cholestérol et du HDL-cholestérol des souris.

moyenne des lots	Cholestérol (mmol/l)	HDL-cholestérol (mmol/l)
LSt	3.73±21,41	1.34±3,58
LSe	3.09±30,02	1.48±2,48
LTt	4.05±10,77	1.26±2,28
LTe	3.35	1.44

Le niveau de cholestérol total dans le sang observé était très proche, ce qui indique que les régimes utilisés et l'extrait administré n'ont pas eu un impact sur ce taux. Les mêmes constatations ont été faites concernant le taux de HDL-cholestérol.

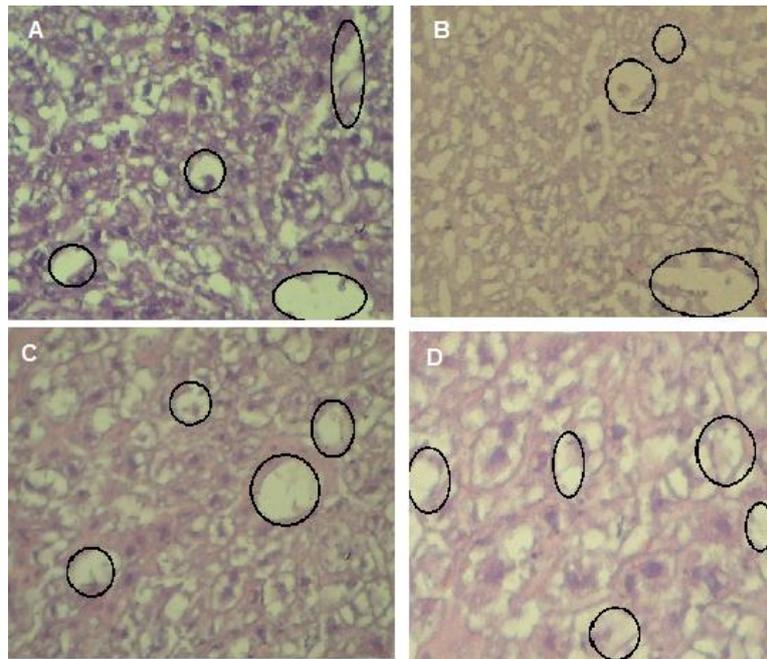
## 7.2. Analyse histologique

Les figures (43, 44, 45) représentent respectivement les coupes histologiques des foies, des pancréas et des reins des souris traitées ou non par l'extrait de *Rhamnus alaternus*.

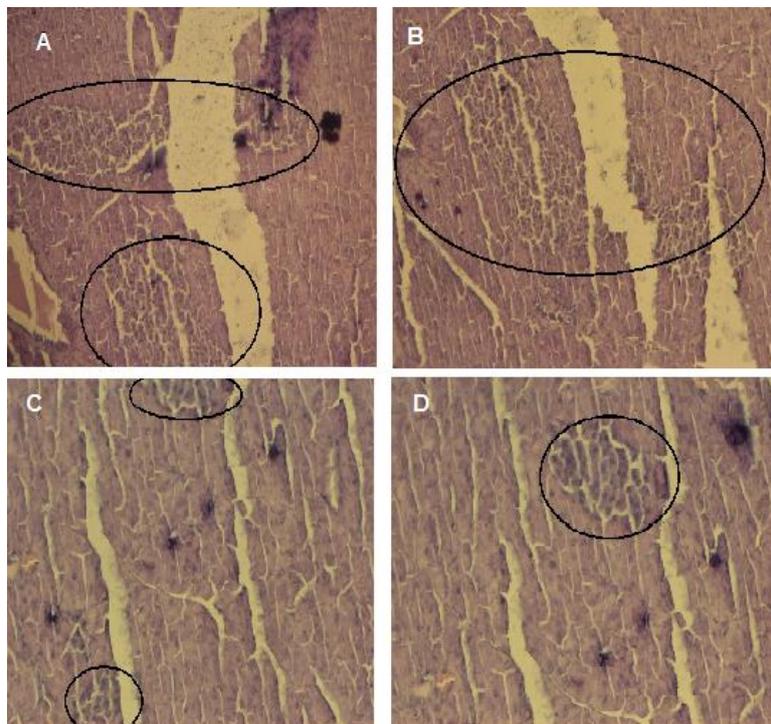
La (Figure 43) représente les coupes des foies de souris des quatre lots (LSe, LSt, LTe et LTt) et révèle la présence de graisses dans des vacuoles intracytoplasmiques. La proportion de graisse chez les lots LT nous indique que l'alimentation de base contient une quantité de lipides élevés, ce qui peut expliquer la différence obtenue lors des observations de l'effet des régimes sur les souris. Aussi, il a été observé qu'il n'y a pas eu de diminution nette de graisses entre les souris traitées par l'extrait et les souris témoins. Cela nous oriente plus à conclure que l'extrait a un effet inhibiteur de l'absorption des graisses, plutôt qu'à l'effet bruleur de graisses. Ce qui coïncide avec les résultats obtenus sur l'activité de la lipase.

La (Figure 44) démontre que les pancréas des quatre lots ne sont pas différents, ce qui indique qu'il n'y a pas d'effet de l'extrait et/ou du régime sur cet organe.

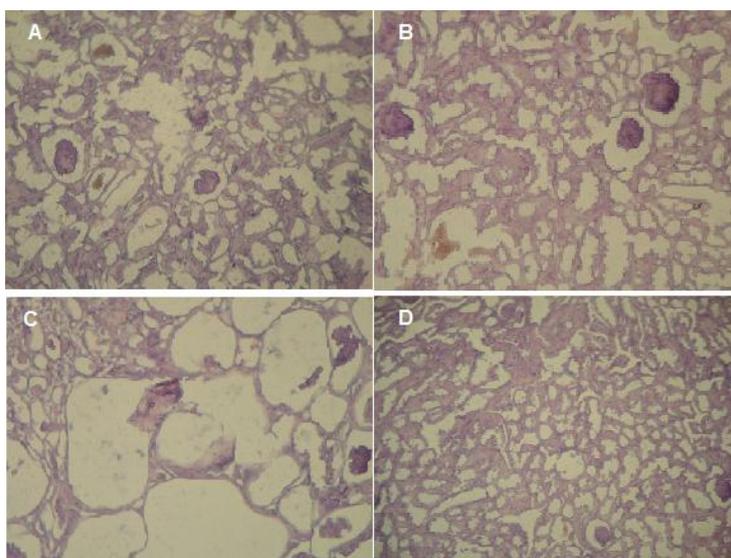
Aussi, nous avons observé que mis à part le rein du lot LTe, qui a subi une nécrose importante, les autres organes n'ont pas eu une détérioration importante, ce qui indique que l'extrait pourrait avoir un effet toxique sur les reins.



**Figure 43** : Photos des coupes histologiques des foies des lots (A : LSe) ; (B : LSt) ; (C : LTe) ; (D : LTt).



**Figure 44** : Photos des coupes histologiques des pancréas des lots (A : LSe) ; (B : LSt) ; (C : LTe) ; (D : LTt).



**Figure 45** : Photos des coups histologiques des reins des lots (A : LSe) ; (B : LSt) ;  
(C : LTe) ; (D : LTt).

### Conclusion

Le pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'étant plus à prouver, la recherche et l'identification des principes actifs et la compréhension des mécanismes intervenant doivent, cependant, se poursuivre.

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes de *R. alaternus* révèle la présence de taux assez importants de ces derniers. L'analyse de ces paramètres démontre que les feuilles de *R. alaternus* sont très riches en polyphénols totaux, particulièrement en flavonoïdes.

Les résultats des tests DPPH et TEAC ont démontré que l'extrait avait un très grand potentiel anti-radicalaire. Ceci conclut que les feuilles contiennent des molécules actives qui sont considérées comme agents antioxydants très puissants, pouvant être employés en thérapeutique.

Les objectifs principaux de cette étude, nous ont amené à réaliser des tests qui nous ont permis de conclure que le régime enrichi en sucre favorise une augmentation rapide et plus importante de la masse corporelle par rapport au régime enrichi en lipides, qui donne aussi une augmentation sensible du poids. Ils démontrent également que les feuilles de *Rhamnus alaternus* contiennent des substances actives induisant l'amaigrissement du corps, ainsi que la capacité d'inhiber la lipase pancréatique, ce qui contribue à la baisse de l'absorption des graisses alimentaires.

Cette étude nous a permis de démontrer que les feuilles de *Rhamnus alaternus* L. contiennent des principes actifs ayant des propriétés (toutes relatives) dans la prévention du surpoids, donc de l'obésité.

Pour une initiative approfondie, des études futures doivent être entreprises afin de mieux comprendre les divers mécanismes ayant engendré ces activités.

# Références Bibliographiques

1. **Ait Youssef M. (2006)**. Plantes médicinales de Kabylies. *Edition Ibis Press*. ISBN : 978-9961-57-259-7 Paris. 18.
2. **Alsjö J., Rask-Andersen M., Chavan R.A., Olszewski P.K., Levine A.S., Fredriksson R., Schiöth H B. (2014)**. Exposure to high-fat high-sugar diet causes strong up-regulation of proopiomelanocortin and differentially affects dopamine D1 and D2 receptor gene expression in the brainstem of rats. *Neuroscience Letters*, 559: 18-23.
3. **André J-M., Catala M., Morère JJ., Escudier E., Katsanis G., Poirier J. (2008)**. Histologie : le tissu adipeux. <http://www.chups.iussieu.fr/polys/histo/histoP1/index.html>.
4. **ANIA (Association Nationale des Industries Alimentaire). (2004)**. Les causes de l'obésité. France.
5. **Aronne G., Wilcock C.C. (1995)**. Reproductive Lability in Pre-Dispersal Biology of *Rhamnus alaternus* L. (*Rhamnaceae*). *Protoplasm*,; 187: 49-59.
6. **Athamena S., Chalghem I., Laouar A.K., Laroui S et Khebri S. (2010)**. Activite antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11 (1) : 69-81.
7. **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. and Pinkas M. (1996)**. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*, 46: 1086-1089.
8. **Bahorun T. (1997)**. Substances naturelles Actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council. Thèse de Doctorat de l'université de l'île de Maurice. p : 83-91.
9. **Basdevant A. (2014)**. Obésité. Inserm (institut national de la santé et de la recherche médical). <http://www.inserm.fr/thematiques/circulation-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/obesite>.

- 10. Bas J.M., Oliveras J., Gomez C. (2009).** Myrmecochory and short-term seed fate in *Rhamnus alaternus*: ant species and seed characteristics. *Acta Oecologica*. 35: 380-384.
- 11. Baudin G. (2000).** La leptine. Description, rôle physiologique, utilité diagnostique et thérapeutique. *Revue de l'ACOMEN*; vol 6, 1.
- 12. Ben Ammar R., Kilani S., Abdelwahed A., Hayder N., Mahmoud A., Chibani J., Chekir-Ghedira L., Ghedira k. (2005).** In vitro mutagenicity, antimutagenicity and free radical scavenging activities of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae) Extracts. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8 (3): 439-445.
- 13. Ben Ammar R., Bouhlef I., Valenti K., Ben Sghaier M., Kilani S., Mariotte A-M, Dijoux- Franca M-G., Laporte F., Ghedira K. et Chekir-Ghedira L. (2007).** Transcriptional response of genes involved in cell defense system in human cells stressed by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and pre-treated with (Tunisian) *Rhamnus alaternus* extracts: Combination with polyphenolic compounds and classic *in-vitro* assays. *Chemico-Biological Interactions*, 168: 171-183.
- 14. Ben Ammar R., Kilani S., Bouhlef I., Ezzi L., Skandrani I., Boubaker J., Ben Sghaier M., Naffeti A., Mahmoud A., Chekir-Ghedira L. and Ghedira K. (2008).** Antiproliferative, Antioxidant, and Antimutagenic Activities of Flavonoid-Enriched Extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L.: Combination with the Phytochemical Composition. *Drug. Chem. Toxicol.*; 31: 61-80.
- 15. Ben Ammar R., Bhourri W., Ben Sghaier M., Boubaker J., Skandrani I., Neffati A., Bouhlef I., kilani S., Mariotte A.M., Chekir-Ghedira L., Dijoux- Franca M.G. et Ghedira K. (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry*, 116 (1): 258–264.
- 16. Bender D.A., Botham K.M., Granner D.K., Keeley F.W., Kennelly P.J., Mayes P.A., Murray R.K., Rand M.L., Rodwell V.W., Weil P.A. (2008).** *Biochimie de Harper*. 3<sup>e</sup> édition française. Edition *De Boeck*. Bruxelles.
- 17. Bhourri W., Boubaker J., Kilani S., Ghedira K. and Chekir-Ghedira L. (2012).** Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoids from *Rhamnus alaternus* L. (*Rhamnaceae*): Kaempferol 3-O-B-isorhamninoside and rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside. *S. Afr. J. Bot.*, 80: 57-62.

- 18. Bocquier A., Boullu-Ciocca S., Verger P., Olivier C. (2006).** Obésité : où en sommes-nous ? *Presse Med*, 35 : 270-6.
- 19. Bonsergent E. (2012).** Efficacité de trois stratégies de prévention du surpoids et de l'obésité à l'adolescence. Un essai avec randomisation en grappes. Thèse de doctorat. *Ecole doctorale Biose*. Université de Lorraine.
- 20. Bors W., Michel C., Stettmaier K. (2001).** Structure–activity relationships governing antioxidant capacities of plant polyphenols. *Methods in Enzymology*, 335: 166–180.
- 21. Bortolomeazzi R., Sebastianutto N., Toniolo R. and Pizzariello A. (2007).** Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chem*, 100: 1481-1489.
- 22. Bouquelet S. (2008).** La matière grasse alimentaire. Université des Sciences et Technologiques de Lille 1. [http://biochim-agro.univ-lille1.fr/lipides/co/Cours\\_C\\_1\\_b.html](http://biochim-agro.univ-lille1.fr/lipides/co/Cours_C_1_b.html).
- 23. Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Médicales internationales Editions Technique & Documentation, Cachan, [S.l.], p. 647-673.
- 24. Buyse M, Aparicio T, Guilmeau S, Goïot H, Sobhani I, Bado A. (2004).** Effets paracrines de la leptine produite par l'estomac. *Médecine/sciences*; 20: 183-8.
- 25. Buyschaert M., Vandeleene B., Parus I., Hermans MP. (1999).** Le diabète sucré d'une réalité d'aujourd'hui à un défi de demain. *Louvain Med*.118: S189-S195.
- 26. Cai Y-Z., Sun M., Xing J., Luo Q., Corke H. (2006).** Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78: 2872–2888.
- 27. Cassy S, Dridi S, Picard M, Taouis M. (2001).** La leptine chez le poulet. *INRA* ; 14,161-169.
- 28. Chira K., Suh J H., Saucier C., et Teissédre P.L. (2008).** Les polyphénols des raisins. *Phytonutrition fondamentale*. 6: 75-82.

- 29. Ciungure C., Poitou-Bernert C. (2011).** Complications des obésités. EMC (Elsivier Masson SAS, Paris), Endocrinologie-Nutrition, 10-506-E-10.
- 30. Combe C, et al. (2001).** La leptine dans l'insuffisance rénale. Flammarion médecine-sciences-Actualités Néphrologiques. ([www.medecine-flammation.com](http://www.medecine-flammation.com)). France.
- 31. Cortet B. (2002).** Prise en charge thérapeutique de l'ostéoporose après 70 ans. Le journal Français de l'orthopédie. Maitrise orthopédique n°114.
- 32. Cotellet N., Bernier J., Catteau J., Pommery J., Wallet J., & Gaydou E. M. (1996).** Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radical Biology and Medicine*, 20: 35–43.
- 33. Croteau R., Kutchan T.M., et Norman G.L. (2000).** Natural products (secondary metabolites). *American society of plant physiologists*. 24: 1250-1318.
- 34. Debeaux JO. (1984).** Flore de la Kabylie du Djurdjura, ou, Catalogue méthodique et raisonné de toutes les plantes vasculaires et spontanées observées jusqu'à ce jour dans cette contrée. Ed. P. Klincksieck, Paris, p. 81-82.
- 35. Dr Lahlou. (2007).** L'obésité gagne du terrain en Algérie. Liberté Algérie. <http://www.zoom-algerie.com/article-1689-L-obesite-gagne-du-terrain-en-Algerie.html>.
- 36. Dunbar R.L., Rader D.J. (2005).** Demystifying triglycerides: a practical approach for the clinician. *Cleve Clin J Med*. 72(8):661-6, 670-2, 674-5.
- 37. Elicoh-Middleton Jr., Chithan K., Theoharis C., (2000).** Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental therapeutics*, 4(52): 673-751.
- 38. Erlund I. (2004).** Review of flavonoides quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutrition Research*. 24 : 851-74.
- 39. Faure P. (2011).** Chapitre 3 : Digestion et absorption des glucides. Université Joseph Fourier de Grenoble. [http://www.uvp5.univ-paris5.fr/WIKINU/docvideos/Grenoble\\_1011/faure\\_patrice/faure\\_patrice\\_P03/faure\\_patrice\\_P03.pdf](http://www.uvp5.univ-paris5.fr/WIKINU/docvideos/Grenoble_1011/faure_patrice/faure_patrice_P03/faure_patrice_P03.pdf).
- 40. Ferran A. (2011).** Digestion et absorption. Ecole National Vétérinaire de Toulouse. <http://www.sanru.cd/images/Digestion.pdf>.

41. **Furuno K., Akasako T., Sugihara N. (2002)**. The contribution of the pyrogallol moiety to the superoxide radical scavenging activity of flavonoids. *Biol. Pharm. Bull.* 25: 19-23.
42. **Glasziou P-P., Irwig L., Heritier S. (2008)**. Monitoring cholesterol levels: measurement error or true change?. *Ann Int Med.* 148:656-661.
43. **Gubb AS. (1913)**. La flore algérienne, naturelle et acquise. Ed. A. Jourdan, Alger, p. 16-17.
44. **Hames B.D., Hooper N. M., Houghton J.D. (2006)**. L'essentiel en biochimie. Edition française. BERTI Editions.
45. **Harrar A. (2012)**. Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Magister Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbas- Sétif.
46. **Havsteen B.H. (2002)**. The biochemistry and medical significance of flavonoides. *Pharmacol therapeutic.* 96: 97-202.
47. **Hechache K., Khelloufi S. (2013)**. Etude de l'effet de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* sur l'hyperlipidémie induite par le triton WR-1339 chez les rats Wistar. Mémoire de fin de cycle Master Pharmacologie moléculaire. UAMB.
48. **Hollman P.C., Bijsman M.N., Van-Gameren V., Gnossen E.P., De Vris J.H., Hatan M.B., (1999)**. The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free radical Res.* 31: 569-573.
49. **Hôpital FRANTZ FANON. (2014)**.
50. **Jain S. and Patil U. K. (2010)**. Phytochemical and pharmacological profile of *Cassia tora* Linn. - An Overview. *Indian J. Nat. Prod. Resour,* 1: 430-437.
51. **Kahn B.B. (1992)**. Facilitative glucose transporters: regulatory mechanisms and dysregulation in diabetes. *J Clin Invest.,* 89: 1367-71.
52. **Kawasaki I., Jeong M. H., Oh B. K. and Shim Y. H. (2010)**. Apigenin inhibits larval growth of *Caenorhabditis elegans* through DAF-16 activation. *FEBS Letters,* 584: 3587-3591.
53. **Kebieche M. (2009)**. Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante de *Ranunculus repens* L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine.

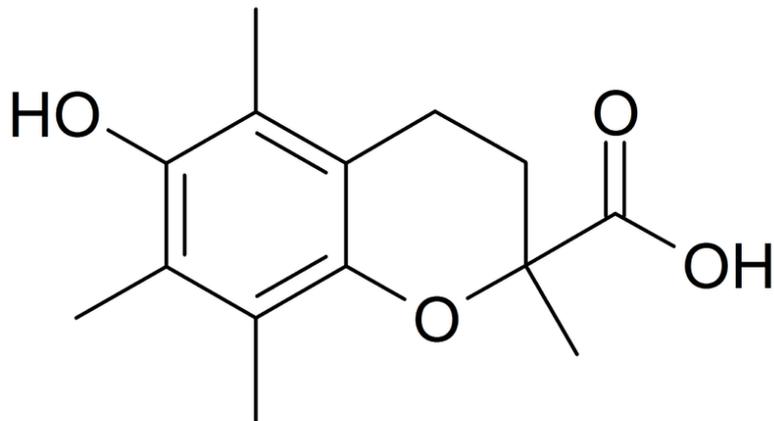
54. Kim E.L., Jung S-N., Son K.H., Kim S.R., Ha T.Y., Park M.G., Jo I.G., Park J.G., Choe W., Kim S-S., Ha J. (2007). Antidiabetes and antiobesity effect of cryptotanshinone via activation of AMP-activated protein kinase. *Molecular Pharmacology*, 72: 62-72.
55. Kumar AHS., Kekuda PTR., Vinayaka KS., Swathi D., Venugopal TM. (2011). Anti-obesity (Pancreatic lipase inhibitory) activity of *Everniastrum cirrhatum* (Fr.) Hale (Parmeliaceae). *Pharmacognosy Journal*, 19: 65-68.
56. Lee E.M., Lee S.S., Chung B.Y., Cho J-Y., Lee I.C., Ahn S.R., Jang S.J., Kim T.H. (2010). Pancreatic lipase inhibition by C-glycosidic flavones isolated from *Eremochloa ophiuroides*. *Molecules*, 15: 8251-8259.
57. Malaisse WJ., Malaisse-Lage F, Sener A, Pipeleers DG. (1982). Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic B-cell. *Proc. Natl Acad Sci USA*, 79: 927-930.
58. Markham KR. (1982). Technics of flavonoids identification. *Academic press* (London); Chap 1 and 2: 1-113).
59. Maurice N. (1997). L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI<sup>e</sup> siècle. Ed. Lavoisier, Paris, p. 12-14.
60. Messaoudi K. (2012). Les flavonoïdes d'*Ajuga iva* et de *Rhamnus alaternus*: Etude de leur effet antioxydant et sur l'alpha glucosidase. Mémoire de fin de cycle Master Biochimie appliquée. UAMB.
61. Mighri H., Hajlaoui H., Akrouit A., Najjaa H., Neffati M. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone C. R. *Chimie*, 13: 380–386.
62. Min SY., Yang H., Seo SG., Shin SH., Chung M-Y., Kim J., Lee SJ., Lee HJ., Lee KW. (2012). Cocoa polyphenols suppress adipogenesis in-vitro and obesity in-vivo by targeting insulin receptor. *International Journal of Obesity*, 1-9.
63. Oberley LW. (1988). Free radicals and diabetes. *Free Radic Biol Med*, 5: 113-124.
64. Owen P.L. et Johns T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacologie*, 64: 149-160.
65. Puhl R. (2009). Stigmatisation de l'obésité : causes, effets et quelques solutions patiques. *Diabetes voice*, 1.

- 66. Quettier-deleu C., Gressier B., Vasseur J., Dine T., Brunet C., Luyckx M., Cazin M., Cazin J. C. Bailleul F. et Trotin F. (2000)** : Phenolic compounds and antioxidants activities of buchwheat hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72: 35-42.
- 67. Raccach D. (2004)**. Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*. 1(1): 29-42.
- 68. Raisonnier A. (2004 a)**. DCEM1 : Digestion – Détoxification. Université Paris- VI. Paris. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/DGbioch/index.html>.
- 69. Raisonnier A. (2004 b)**. PCEM2 : Biochimie métabolique et régulations : Lipides et lipoprotéines. Université Paris- VI. Paris. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/LLbioch/index.html>.
- 70. Raisonnier A. (2004 c)**. PCEM2 : Biochimie métabolique et régulations C1 : Réserves énergétiques. Université Paris- VI. Paris. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/REbioch/index.html>.
- 71. Raven P.H., Evert R.F., et Eichorn S.E. (2000)**. Biologie végétale. Edition De Boeck Université. Paris. 968 p.
- 72. Reiner Z., Catapano A.L., De Backer G. (2011)**. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS) *Eur Heart J*. 32:1769-818.
- 73. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. (1997)**. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Plant Science*. 2: 152-159.
- 74. Sahani KM, Khan IM, Chandan RC. (1975)**. Bovine Pancreatic Lipase: Isolation, Homogeneity, and Characterization. *J Dairy Sci*, 59(3):369-375.
- 75. Sarwar N., Danesh J., Eiriksdottir G. (2007)**. Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10,158 incident cases among 262,525 participants in 29 Western prospective studies . *Circulation*, 115:450-508.
- 76. Stocker P., Yousfi M., Djerridane O., Perrier J., Amziani R., El Boustani S., Moulin A. (2004)**. Effect of flavonoids from various Mediterranean plants on enzymatic activity of intestinal carboxylesterase. *Biochimie*, 86: 919-925.

- 77. Streit G. (2005).** Exploration de la composition corporelle, des adipokines (leptine, adiponectine) et de la ghreline dans la spondylarthrite ankylosante. N°05-044. Besançon.
- 78. Touitou Y. (2005).** Biochimie : structure des glucides et lipides. Université Paris- VI. Paris. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/SGLbioch/index.html>.
- 79. Tran T., Mignard B., Vinter E., Ayala O., Dechaux.C., Lanoue A., et Gontier E. (2004).** Etude de la production d'alcaloïdes tropaniques chez *Datura innoxia*. Cultiver en Hydroponie ; Evaluation d'un procédé générique de la production de métabolites végétaux a usage thérapeutique et /ou cosmétique. Séminaire de l'école doctorale. Nancy. « Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits et Environnement ». pp : 322-329.
- 80. UAMB. Université abderrahmane Mira BEJAIA. (2014).**
- 81. Weaber G. (2007).** Diabétologie expérimentale. *Revue médicale de la Suisse Romande*. 120 : 907-913.
- 82. UMVF (Université Médicale Virtuelle Francophone). (2011).** Item : Obésité de l'adulte. Collège des enseignants de nutrition. France.
- 83. Yi-ling C., Pan-Kai C. (1982).** Ramnaceae. In: Chen Yin-ling, ed, *Fl. Reipubl. Popularis sin*, 48 (1): 1-169.
- 84. Zheng G., Sayama K., Okubo T., Juneja L.R., Oguni I. (2004).** Anti-obesity effects of three major components of green tea, catechins, caffeine and théanine, in mice. *In-vivo*, 18: 55-62.

## Annexe I :

Le Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman-2-carboxylique) est un analogue hydrosoluble de la vitamine E. C'est un antioxydant tel que la vitamine E et il est utilisé dans des applications biologique ou biochimique afin de réduire les dommages ou le stress oxydatifs (Wikipedia, 2013).



**Figure 1 :** Structure du Trolox.

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

### Fiche technique N°1

Réactif pour le dosage du cholestérol total

R1	PIPES ph 6.9	90 mmol/L
Buffer	Phenol	26 mmol/L
R2	Cholestérol estérase (CHE)	300U/L
Enzyme	Cholestérol oxydase (CHOD)	300 U/L
	Peroxydase (POD)	1250 U/L
	4-Aminophenazone (4-AP)	0.4 mmol/L
Cholesterol Cal	Cholestérol primaire standard aqueux	200 mg/dL

## Fiche technique N°2

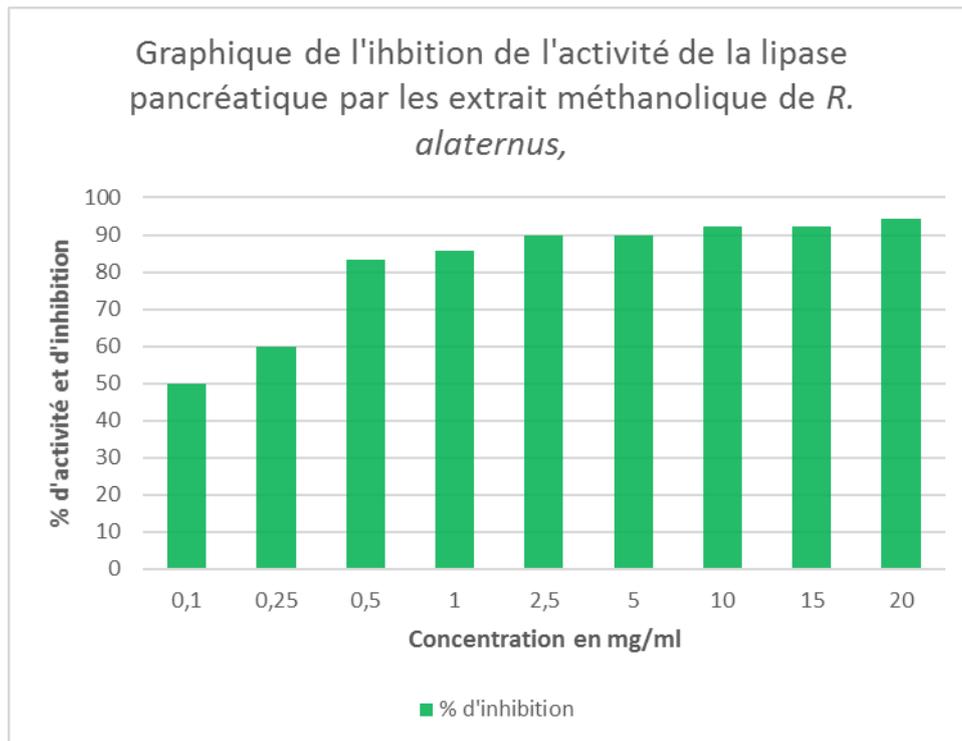
### Réactif pour le dosage du HDL-cholestérol

R1	Acide phosphotungstique	14 mmol/L
Réaction de précipitation	Chlorure de magnésium	2 mmol/L
Etalon	Cholestérol	Ref : 1001092 Ref : 1001093

**Annexe III :** Résultats de l'évaluation de l'effet inhibiteur de l'activité de la lipase pancréatique de l'extrait méthanolique de *Rhamnus alaternus* L.

**Tableau I :** Tableau des résultats de l'activité de la lipase avec ou sans l'extrait méthanolique, et les pourcentages d'inhibition.

Concentration mg/ml	Activité de la lipase %	% d'inhibition
0	100	0
0,1	50	50
0,25	40	60
0,5	16,67	83,33
1	14,55	85,55
2,5	10	90
5	10	90
10	7,78	92,22
15	7,78	92,22
20	5,56	94,44



**Figure 1:** Graphe du pourcentage d'inhibition de la lipase pancréatique.

**Annexe IV :** Résultats des effets des régimes enrichis sur la masse corporelle de souris.

**Tableau 1:** Moyennes du poids des souris nourries par trois régimes différents.

Temps (Semaines)	lot T (g)	lot S (g)	lot G (g)
0	28±2.26	32±2.46	32±1.79
1	33±3.88	39±3.66	38±3.41
2	37±1.63	39±3.90	38±3.29
3	37±3.31	40±3.40	38±3.41
4	38±3.39	42±3.27	40±3.37
5	40±0.9	43±3.25	41±3.37
6	38±1.49	41±3.5	38±4.05
7	37±1.6	41±3.52	38±4.47
8	37±1.72	42±2.85	39±4.59

# Introduction

# Partie

# Bibliographique

# Chapitre I :

# Physiologie des lipides

# Chapitre II :

# Physiopathologie des lipides

# Chapitre III :

*Rhamnus alaternus* L

# Partie Pratique

# Matériel et Méthodes

# Résultats et Discussions

# Conclusion et perspectives

# Références Bibliographiques

# Annexes

## Résumé

Le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique de *R. alaternus* qui est riche en polyphénols, a été déterminé en le testant contre le DPPH et ABTS, obtenant ainsi, respectivement une  $EC_{50}$  = 54  $\mu$ g/ml et un pourcentage de réduction de 30.43% ce qui équivaut à 33.77 mg ET/g d'extrait. Cette étude a mis aussi en évidence la capacité de l'extrait des feuilles de *R. alaternus* à diminuer le poids des souris nourries avec un régime enrichi en sucre, ainsi que son activité inhibitrice sur la lipase pancréatique de souris avec une  $IC_{50}$  égale à 0.1 mg/ml. Ces résultats indiquent que l'extrait de *Rhamnus alaternus* constitue une source de molécules actives ayant une incidence sur le surpoids et/ou l'obésité.

## Abstract

The antioxidant power of the methanol extract of *R. alaternus* which is rich in polyphenols, was determined by testing against DPPH and ABTS, respectively obtaining an  $EC_{50}$  = 54 mg / ml and a reduction percentage of 30.43 % which is equivalent to 33.77 mg / g extract. This study also updated, the slimming power of the extract of the leaves of *R. alaternus* in mice fed by a sugar rich diet and its ability to inhibit the activity of pancreatic lipase of mice with an  $IC_{50}$  equal to 0.1 mg / ml. These results indicate that the extract of *Rhamnus alaternus* is a source of active molecules having activity against overweight or obesity.