

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET DE TOXICOLOGIE ENVIRONNEMENTALE

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT
Spécialité : Biochimie-Immunologie

THEME

Étude phytochimique et évaluation des effets protecteurs de
Matricaria pubescens sur la variation des paramètres
biochimiques et du stress oxydatifs chez des rats mâles de la
souche Wistar recevant un régime hypergras

Présentée par : M. CHENNA Housseem

Directeur de thèse : M. MESSARAH Mahfoud Prof., Université Badji Mokhtar- Annaba

Co-Directeur de thèse : M. KHELEF Yahia MCB, Université Chahid Hamma Lakhdar El-Oued

Membres de Jury:

Président : M. KECHRID Zine Professeur, Université Badji Mokhtar- Annaba

Examineurs : M. ABDENNOUR Cherif Professeur, Université Badji Mokhtar- Annaba

Mme SLIMANI Souheila Professeure, Université 20 août 1955-Skikda

REMERCEIMENTS

Remerciements

Tout d'abord, الحمد والشكر لله العلي القدير, le Tout-Puissant, qui nous a dotés de volonté, de courage, de force et de patience pour pouvoir continuer dans les moments les plus difficiles, de nous avoir aidé à franchir tous les obstacles, nous permettant de mener à terme ce travail.

Je tiens alors à remercier les personnes suivantes :

Mes remerciements vont en premier lieu à mon directeur de thèse, Mr. **MESSARAH Mahfoud**, Professeur à l'université Badji Mokhtar d'Annaba, qui m'a fait l'honneur d'accepter la réalisation de cette thèse. Je vous remercie pour votre soutien et votre confiance en toutes circonstances, pour vos conseils pratiques, techniques et scientifiques avisés, ainsi que pour votre précieuse aide tout au long de ce travail. Je voudrais également souligner votre disponibilité, vos qualités scientifiques et votre intérêt pour la recherche, qui ont été pour moi une source de motivation supplémentaire. Je vous exprime mes sincères reconnaissances.

De même Je tiens à adresser un remerciement particulier à mon co-directeur de thèse, Mr **KHELEF Yahia**, maître de conférences classe « B » à l'université Chahid Hamma Lakhdar El-Oued, pour son intérêt, son soutien, ses conseils tout au long de ces années.

Je remercie Mr **KECHRID Zine**, Professeur à l'université Badji Mokhtar d'Annaba, merci de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance. Je tiens à adresser mes sincères remerciements aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger ce travail : Mr **ABDENNOOUR Cherif**, Professeur à l'université Badji Mokhtar d'Annaba, et Mme **SLIMANI Souheila**, Professeur à l'université 20 août 1955 de Skikda.

Je remercie également Mme **MESSARAH - BOUMENDJEL Amel**, Professeure à l'université Badji Mokhtar d'Annaba pour son aide précieuse et sa présence.

Je tiens à remercier Mr **BOUMENDJEL Mahieddine**, Professeur à l'université Badji Mokhtar d'Annaba pour son amical accueil, sa gentillesse et son aide très précieuse.

Je remercie également Mme **ABDI Akila**, Professeure à l'université Badji Mokhtar d'Annaba pour son aide, son écoute et sa compréhension tout au long de ces années.

Je souhaite également exprimer mes sincères et profonds remerciements à Mr **Mustafa Abdullah Yilmaz, Oguz Çakir, Abbas Tarhan**, Professeurs à l'université Dicle-Turquie pour son accueil chaleureux et bienveillant au sein de son laboratoire.

Je remercie mes collègues et mes amies, tout particulièrement les doctorants de laboratoire LBTE, **Bezzah Radi, Djouder Chaouki, Triki Ramzi, Djahoudi heythem, Halimi Imen, Charef Maysoune, Djendi Manel Lina, Allala Ilhem, Nouar, Nissem, Trad Boutheina, Chahi Khouloud et Nasri Rofia** qui m'ont accompagné tout au long de la réalisation de ce travail de recherche et pour votre aide, soutien et amitié.

Je souhaite également exprimer mes sincères et profonds remerciements à **Dr KHALDI Taha, Dr Kherouf Marwa et Dr Kherouf Amel**, pour leurs aides illimitées, leurs précieux conseils, leurs encouragements et soutien moral, leurs disponibilités tout au long de la partie pratique.

Je remercie **Housseem** et je lui dis continue.

DÉDICACE



Dédicace

Je dédie ce travail au plus beau cadeau que le bon
dieu nous a offert, ceux que je due à
Leurs faveurs tous ce que je suis maintenant, ceux
qui m'ont aidé d'achever mon chemin
D'affranchir la vie, ceux qui ont toujours été là
pour moi ; à mes très chers parents.

A mes frères : **Badr Essalem et Yahia.**

A mes oncles et tantes Chacune son nom.

A toute ma famille **CHENNA et KHARFI.**



RÉSUMÉS

RÉSUMÉ

L'objectif de la présente étude consistait à l'identification des composés phytochimiques et l'évaluation des activités antioxydantes et biologiques *in vitro* présents dans l'extrait aqueux et éthanolique de *Matricaria pubescens*, et de mettre en évidence l'effet protecteur de la supplémentation de la poudre de *M. pubescens* sur l'obésité et ses complications chez des rats recevant un régime hypergras (HFD).

L'analyse phytochimique des extraits de *M. pubescens* a révélé sa richesse en produits de métabolisme secondaire tels que les polyphénols et les flavonoïdes et possédait de nombreuses activités biologiques à savoir antioxydante, anti-inflammatoire et antidiabétique.

Ainsi, dans le premier volet de cette thèse a été consacré à l'étude de la composition chimique et les propriétés antioxydante, anticholinestérases, anti-tyrosinase et antidiabétique des extraits de *M. pubescens in vitro*. La composition chimique de l'extrait éthanolique et aqueux a été déterminée par LC-MS/MS. Cette analyse a mis en évidence la présence de 30 composés phytochimiques dans l'extrait éthanolique de *M. pubescens* et 17 composés phytochimiques dans l'extrait aqueux. Ces extraits étaient dotés d'activités antioxydantes chélatantes et neutralisantes très importantes. De plus, les deux extraits présentaient une activité anticholinestérases et anti-tyrosinase et l'extrait éthanolique présentait une activité antidiabétique.

Le deuxième volet de cette thèse a été consacré à l'étude *in vivo* de l'effet protecteur de la supplémentation de la poudre de *M. pubescens* sur l'obésité et ses complications chez des rats recevant un régime hypergras. Les résultats ont montré que le régime hypergras induisait une augmentation du poids corporel, de l'indice de masse corporelle, de la circonférence thoracique et abdominale, associée à une hypertrophie du foie et du tissu adipeux, ainsi qu'à une atrophie des reins et du cœur. Ce régime hypergras conduisait également à une augmentation des biomarqueurs hépatiques (ASAT, ALAT, ALP, bilirubines totales et directes) et rénaux (créatinine et acide urique) avec une hypertriglycémie et une hyperglycémie associée à une résistance à l'insuline. La lipotoxicité induite par le régime HFD a été associée à une perturbation du statut oxydant/antioxydant avec une augmentation des teneurs en MDA et en AOPP et une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes (GSH-Px, GST, SOD et catalase) ainsi que des niveaux de GSH réduits observés au niveau des organes étudiés. De plus, le régime HFD a conduit à une augmentation du niveau de TNF- α hépatique comparativement au groupe témoin. Ces modifications biochimiques et

oxydatives ont été confirmées par les données histologiques où l'on observait la présence de gouttelettes lipidiques, un gonflement et un ballonnement cellulaire avec une migration du noyau vers les périphéries et des hémorragies tissulaires au niveau hépatique. L'étude histologique rénale révélait la présence de dépôts lipidiques, une dilatation tubulaire et une atrophie glomérulaire avec dilatation de l'espace de Bowman. Tandis que l'histologie du tissu adipeux révélait une augmentation de la surface des adipocytes avec une diminution du nombre d'adipocytes par rapport au groupe témoin. Cependant, la supplémentation de la poudre de *M. pubescens* dans le groupe HFD a montré une amélioration considérable de tous les paramètres mentionnés précédemment.

En conclusion, cette étude a indiqué que la poudre de *M. pubescens* avait un effet bénéfique contre l'obésité et ses complications grâce à sa richesse en composés phytochimiques qui lui conféraient un pouvoir hypolipidémiant, antioxydant et anti-inflammatoire.

Mot clés : *Matricaria pubescens*, LC-MS/MS, Régime hypergras, Antioxydant, Anti-inflammatoire.

ABSTRACT

This study aimed to identify phytochemical compounds and evaluate the antioxidant and biological activities *in vitro* present in the aqueous and ethanolic extracts of *Matricaria pubescens*, and to investigate the protective effects of supplementing *M. pubescens* powder on obesity and its complications in rats receiving a high-fat diet (HFD).

Phytochemical analysis of *M. pubescens* extracts revealed that it was rich in secondary metabolites such as polyphenols and flavonoids, and possessed numerous biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, and anti-diabetic Activities.

Thus, the first part of this thesis focused on studying the chemical composition and antioxidant, anticholinesterase, anti-tyrosinase, and anti-diabetic properties of *M. pubescens* extracts *in vitro*. The chemical composition of the ethanolic and aqueous extracts was determined by LC-MS/MS. This analysis revealed the presence of 30 phytochemical compounds in the ethanolic extract of *M. pubescens* and 17 phytochemical compounds in the aqueous extract. These extracts had very significant chelating and neutralizing antioxidant activities. In addition, both extracts have capacity anticholinesterase and anti-tyrosinase activities, while the ethanolic extract showed anti-diabetic activity.

The second part of this thesis was devoted to the *in vivo* study of the protective effect of *M. pubescens* powder supplementation on obesity and its complications in rats fed a high-fat diet. The results showed that the high-fat diet increased body weight, body mass index, thoracic and abdominal circumference, associated with liver and adipose tissue hypertrophy, as well as kidney and heart atrophy. HFD led to increased hepatic (AST, ALT, ALP, total and direct bilirubin) and renal (creatinine and uric acid) biomarkers, along with hypertriglyceridemia and hyperglycemia associated with insulin resistance. HFD-induced lipotoxicity was associated with a disruption of the oxidant/antioxidant status, with increased levels of MDA and AOPP and decreased activities of antioxidant enzymes (GSH-Px, GST, SOD, and catalase), as well as reduced GSH levels observed in the studied organs. Additionally, the HFD led to an increase in hepatic TNF- α levels compared to controls. These biochemical and oxidative modifications were confirmed by histological data showing the presence of lipid droplets, cellular swelling, and ballooning with nuclear migration towards the peripheries, and tissue hemorrhages in the liver. Renal histological examination revealed lipid deposits, tubular dilation, and glomerular atrophy with Bowman's space dilation. Adipose tissue histology showed increased adipocyte surface area with a decrease in the number of adipocytes

compared to controls. However, supplementation with *M. pubescens* powder in the HFD group showed a significant improvement in all previously mentioned parameters.

In conclusion, this study indicated that *M. pubescens* powder had beneficial effects against obesity and its complications due to its richness in phytochemical compounds, which conferred hypolipidemic, antioxidant, and anti-inflammatory properties.

Keywords: *Matricaria pubescens*, LC-MS/MS, high-fat diet, Antioxidant, Anti-inflammatory.

المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد المركبات الفيتوكيميائية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط البيولوجي *in vitro* للمستخلص المائي والإيثانولي لنبات القرطوفة (*Matricaria pubescens*) من جهة، وتقييم التأثيرات الوقائية لنبات القرطوفة على السمنة ومضاعفاتها عند الجرذان التي تتلقى نظام غذائي عالي الدهون (HFD) من جهة أخرى.

كشف التحليل الكيميائي النباتي لمستخلصات نبات القرطوفة أنه غني بمنتجات الأيض الثانوية مثل البوليفينولات والفلافونويدات، وله عدد من الأنشطة البيولوجية، بما في ذلك الخواص المضادة للأكسدة، المضادة للالتهابات والمضادة للسكري.

الجزء الأول من هذه الأطروحة يهدف لدراسة التركيب الكيميائي والخواص المضادة للأكسدة، مضادات الكولينستيراز، مضادات التيروزيناز ومضادات السكري لمستخلصات نبات القرطوفة *in vitro*. تم تحديد التركيب الكيميائي للمستخلصات الإيثانولية والمائية بواسطة LC-MS/MS. وقد كشف هذا التحليل عن وجود 30 مركباً كيميائياً نباتياً في المستخلص الإيثانولي من نبات القرطوفة و17 مركباً كيميائياً نباتياً في المستخلص المائي. تمتلك هذه المستخلصات نشاطاً معتبراً مضاداً للأكسدة مخلياً ومعدلاً للتفاعلات. وبالإضافة إلى ذلك، تبين بأن كلا المستخلصين يمتلكان نشاطاً مضاداً للكولينستيراز ومضاداً لأنزيم التيروزيناز وأن المستخلص الإيثانولي يمتلك نشاطاً مضاداً لمرض السكري.

حُصص الجزء الثاني من هذه الأطروحة لدراسة التأثير الوقائي *in vivo* لمسحوق نبات القرطوفة على السمنة ومضاعفاتها عند الفئران التي تتغذى على نظام غذائي عالي الدهون. أظهرت النتائج أن النظام الغذائي العالي الدهون زاد من وزن الجسم، مؤشر كتلة الجسم، ومحيط الصدر والبطن، بالإضافة إلى تضخم الكبد والأنسجة الدهنية، وكذلك تقلص الوزن النسبي للكلى والقلب.

أدى النظام الغذائي العالي الدهون أيضاً إلى زيادة في المؤشرات البيوكيميائية للكبد (ASAT، ALAT، ALP، البيليروبين الكلي والمباشر) والكلى (الكرياتينين وحمض اليوريا)، إلى جانب زيادة في مستويات الدهون الثلاثية والسكر في الدم يرافقها مقاومة للأنسولين. كما أن التسمم الدهني المحفز بواسطة النظام الغذائي العالي الدهون مرتبط باختلال في الحالة المؤكسدة/مضاد الأكسدة، مع زيادة في مستويات MDA وAOPP وانخفاض في نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة (SOD، GST، GSH-Px)، بالإضافة إلى انخفاض في مستويات GSH الملاحظة في الأعضاء المدروسة. زيادة على ذلك، أدى النظام الغذائي العالي الدهون إلى زيادة في مستويات TNF- α في الكبد مقارنة بالمجموعات الشاهدة.

تم تأكيد هذه التغيرات البيوكيميائية والتأكسدية من خلال البيانات النسيجية التي تبين وجود تكتلات دهنية وتورم خلوي وانتفاخ مع تحرك النواة نحو الحواف الخارجية ونزيف في أنسجة الكبد. كشف الفحص النسيجي للكلى عن وجود ترسبات دهنية وتوسع الأنابيب الكلوية وضمور في الكبيبات مع توسع في تجويف بومان. كما كشفت هستولوجيا النسيج الدهني عن زيادة في مساحة سطح الخلية الدهنية مع انخفاض في عدد الخلايا الدهنية مقارنة بالشاهد.

ومع ذلك، أظهرت إضافة مسحوق نبات القرطوفة في مجموعة النظام الغذائي الغني بالدهون تحسناً ملموساً في جميع المعايير المذكورة سابقاً.

في الختام، بينت هذه الدراسة أن مسحوق نبات القرطوفة له تأثير فعال ضد السمنة ومضاعفاتها بفضل وجود العديد من المركبات النباتية المضادة للدهون، المضادة للأكسدة، والمضادة للالتهابات.

الكلمات الدالة: القرطوفة، LC-MS/MS، نظام غذائي غني بالدهون، مضاد للأكسدة، مضاد للالتهابات.

TABLE DES MATIÈRES

Table des matières

RÉSUMÉ	I
ABSTRACT	III
الملخص	V
LISTE DES ABREVIATIONS :	VIII
LISTE DES FIGURES :	VIII
LISTE DES TABLEAUX :	IX
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : OBESITE	4
1.1 OBESITE	4
1.2 ASPECTS PHYSIOPATHOLOGIQUES DE L'OBESITE.....	4
1.2.1 Excès d'apports énergétiques	4
1.2.2 Facteurs génétiques et environnementaux.....	5
1.2.3 Facteurs psychologiques	5
1.2.4 Médicaments	5
1.2.5 Adipokines	5
1.2.6 Inflammation	6
1.3 COMPLICATION LIEE A L'OBESITE.....	6
1.3.1 Diabète de type 2.....	6
1.3.2 Complication hépatique.....	7
1.3.3 Complication rénale	8
1.3.4 Complication cardiovasculaire	8
1.3.5 Complication respiratoire	10
1.4 STRESS OXYDATIF ET OBESITE.....	10
1.5 OBESITE EXPERIMENTALE	12
1.5.1 Régime hyper gras.....	13
1.5.2 Régime riche en sucre	13
1.5.3 Régime cafétéria (RC).....	13
CHAPITRE II : <i>Matricaria pubescens</i>	14
1.1 FAMILLE DES ASTERACEAE (COMPOSEAE).....	14
1.2 GENRE MATRICARIA	14
1.3 ESPECE <i>MATRICARIA PUBESCENS</i>	15
1.4 DESCRIPTION BOTANIQUE	16
1.5 UTILISATIONS TRADITIONNELLES DE LA PLANTE	16
1.6 PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES ET ACTIVITES BIOLOGIQUES	16
CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES	18
1. ETUDE PHYTOCHIMIQUE.....	18
1.1 Matériel végétal.....	18
1.2 Préparation des extraits bruts	19
1.3 DOSAGES COLORIMETRIQUES DES COMPOSES PHENOLIQUE	19

1.3.1	Dosage des polyphénols totaux	19
1.3.2	Dosage des flavonoïdes totaux	20
1.4	IDENTIFICATION DES COMPOSES PHYTOCHIMIQUE PAR LC-MS/MS	20
1.5	EVALUATION DE L'ACTIVITES ANTIOXYDANTE	21
1.5.1	Méthode de DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl)	21
1.5.2	Méthode ABTS ⁺	21
1.5.3	Méthode du pouvoir réducteur (FRAP)	21
1.5.4	Méthode de CUPRAC	21
1.5.5	Capacité antioxydante totale (CAT).....	22
1.5.6	Activité de chélation des métaux (ACM).....	22
1.6	EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES IN VITRO	22
1.6.1	Activité inhibitrice des cholinestérases	22
1.6.2	Activité inhibitrice de la tyrosinase.....	23
1.6.3	Activité inhibitrice de l'α-amylase	23
1.6.4	Activité inhibitrice de l'α-glucosidase.....	23
2.	ETUDE BIOLOGIQUE.....	24
2.1	Animaux et conditions d'élevage	24
2.2	TRAITEMENT DES RATS.....	24
2.2.1	Protocole expérimental.....	24
2.2.2	Sacrifice des rats et prélèvement des échantillons	25
2.2.3	Récupération du sang	25
2.2.4	Prélèvement des organes et préparation des homogénats de tissus.....	25
2.3	DOSAGES BIOCHIMIQUES	27
2.4	ETUDE DES PARAMETRES DU STRESS OXYDATIF	27
2.4.1	Dosage des protéines	27
2.4.2	Détermination du taux de peroxydation lipidique.....	27
2.4.3	Détermination du taux des produits d'oxydation avancée des protéines (AOPP).....	27
2.4.4	Dosage du glutathion réduit (GSH).....	27
2.4.5	Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px).....	27
2.4.6	Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GST) ..	28
2.4.7	Détermination de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD).....	28
2.4.8	Détermination de l'activité enzymatique de la catalase	28
2.4.9	Dosage du facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-α)	28
2.5	EXAMEN HISTOLOGIQUE.....	28
2.6	ANALYSE STATISTIQUE.....	28
IV.1	RESULTATS.....	30
1.	ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION DES ACTIVITES ANTIOXYDANTE ET BIOLOGIQUE IN VITRO DE <i>M. PUBESCENS</i>	30
1.1	DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES.....	30
1.2	ACTIVITE ANTIOXYDANTE IN-VITRO.....	30
1.3	ACTIVITES BIOLOGIQUES IN VITRO	31
1.4	IDENTIFICATIONS QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES COMPOSES PHENOLIQUES DE L'EEMP ET L'EAMP PAR LC-MS/MS	32
2.	IMPACT DU REGIME HYPER GRAS SUR LA VARIATION DES PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES, BIOCHIMIQUES, STRESS OXYDATIF ET HISTOLOGIQUE : EFFETS PROTECTEURS DE LA SUPPLEMENTATION EN <i>M. PUBESCENS</i>	35

2.1	ETUDE PONDERALE	35
2.1.1	Variation du poids corporel.....	35
2.1.2	Variation de l'IMC, Circonférence thoracique et abdominale.....	35
2.2	EFFET DU TRAITEMENT SUR LA CONSOMMATION QUOTIDIENNE D'EAU DE BOISSON ET D'ALIMENT.....	36
2.3	POIDS ABSOLU ET RELATIF DES ORGANES	36
2.4	ETUDES DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES SANGUINES	37
2.4.1	Bilan hépatique.....	37
2.4.1.1	Aminotransférases.....	37
2.4.1.2	Phosphatases alcalines.....	37
2.4.1.3	Bilirubine.....	38
2.4.2	Bilan lipidique	38
2.4.3	Glycémie et insulino-résistance.....	38
2.4.4	Bilan rénal	38
2.5	ETUDE DES PARAMETRES DU STRESS OXYDATIF	39
2.5.1	Malondialdéhyde.....	39
2.5.2	Taux des produits d'oxydation avancée des protéines.....	40
2.5.3	Glutathion réduit	40
2.5.4	Glutathion peroxydase.....	41
2.5.5	Glutathion S transférase	42
2.5.6	Superoxyde dismutase.....	43
2.5.7	Catalase	44
2.6	TAUX DU TNF-A HEPATIQUE.....	45
2.7	ETUDE HISTOLOGIQUE.....	46
2.7.1	Etude histologique du foie.....	46
2.7.2	Etude histologique du rein.....	47
2.7.3	Etude histologique du tissu adipeux.....	48
IV.2	DISCUSSION	49
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	63
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	66
	ANNEXE	88

***LISTE DES
ABRÉVIATIONS***

Liste des abréviations :

AChE	Acétylcholinestérase
ACM	Activité de chélation des métaux
AGALA	Galanthamine
AGL	Acide gras libre
AK	Acide kojique
BChE	Butyrylthiocholine estérase
DFG	Débit de filtration glomérulaire
DT2	Diabète de type 2
DTNB	Acide 5,5-dithio-bis 2-nitrobenzoïque
EAC	Equivalents d'acarbose
EAG	Equivalents d'acide gallique
EAMP	Extrait aqueux de <i>Matricaria pubescens</i>
EEMP	Extrait éthanolique de <i>Matricaria pubescens</i>
ER	Equivalent rutine
HFD	High fat Diet
HSD	High sucre Diet
IR	Insulinorésistance
MCV	Maladie cardiovasculaire
MMADs	Motifs moléculaires associés au danger
MMAPs	Motifs moléculaires associés aux pathogènes
MRM	Multiple réaction monitoring
NASH	Stéatose hépatique non alcoolique
NF-κB	Facteur nucléaire kappa B
SRAA	Système rénine-angiotensine-aldostérone
TyG	Triglycéride-glucose

LISTE DES FIGURES

Liste des figures :

Figure 1. Mécanisme impliqué dans l'apparition du DT2 chez les personnes obèse (Tenenbaum <i>et al.</i> , 2018).....	7
Figure 2. Dépôts ectopiques de tissu adipeux et liens avec les comorbidités	9
Figure 3. Processus physiopathologiques impliqués dans complication pulmonaires liées à l'obésité (Siqueira <i>et al.</i> , 2023).....	10
Figure 4. Obésité et stress oxydant (Bonfont-Rousselot 2014).	12
Figure 5. Photo de la plante <i>M. pubescens</i> (Atlas-Sahara 2008).	15
Figure 6. Carte géographique de la région d'Elhamraya montrant la station de Récolte.....	18
Figure 7. Protocole d'extraction des composés phénoliques de <i>M. pubescens</i>	19
Figure 8. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	26
Figure 9. Chromatogrammes des standards phytochimiques et des extraits de <i>M. pubescens</i> identifiés par LC-MS/MS : (A) chromatogramme des standards phytochimiques, (B) chromatogramme de l'extrait aqueux et (C) chromatogramme de l'extrait éthanolique de <i>M. pubescens</i>	34
Figure 10. Variation de l'activité enzymatique de la GSH-Px (nmol de GSH/min/mg de protéine) dans le foie (A), les reins (B) et le cœur (C) chez les rats témoins et rats traités.	41
Figure 11. Variation de l'activité enzymatique de la GST (nmol de CDNB/min/mg de protéine) dans le foie (A), les reins (B) et le cœur (C) chez les rats témoins et rats traités.	42
Figure 12. Variation de l'activité enzymatique de la SOD (U/min/mg de protéine) dans le foie (A), les reins (B), le cœur (C) et le TA (D) chez les rats témoins et rats traités.	43
Figure 13. Variation de l'activité enzymatique de la catalase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/mg}$ de protéine) dans le foie (A), les reins (B), le cœur (C) et le TA (D) chez les rats témoins et rats traités.	44
Figure 14. Variation du taux du TNF- α hépatique chez les rats témoins et rats traités.	45
Figure 15. Coupes histologiques du foie colorées à H & E ($\times 100$). (A) : Témoin ; (B) : HFD ; (C) : MP ; (D) : HFD+MP après 16 semaines de traitement. Ballonnement des hépatocyte (flèche rouge), gouttelette lipidique (flèche noire), et hémorragé (cercle rouge).	46
Figure 16. Coupes histologiques du rein colorées à H & E ($\times 100$). (A) : Témoin ; (B) : HFD ; (C) : MP ; (D) : HFD+MP après 16 semaines de traitement. Dépôts lipidique (flèche rouge), dilatation tubulaire (flèche noire), atrophie glomérulaire (flèche jaune), dilatation de l'espace de Bowman (étoile rouge).	47
Figure 17. Coupes histologiques du TA colorées à H & E ($\times 100$). (A) : Témoin ; (B) : HFD ; (C) : MP ; (D) : HFD+MP après 16 semaines de traitement. Hypertrophie des adipocytes (double flèche).....	48

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux :

Tableau 1. Classification botanique de <i>M. pubescens</i> (Quezel et Santa, 1963).....	15
Tableau 2. Rendement d'extraction et teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux de l'EEMP et l'EAMP.....	30
Tableau 3. Activité antioxydante des extraits de <i>M. pubescens</i>	31
Tableau 4. Activités biologiques <i>in vitro</i> des extraits de <i>M. pubescens</i>	31
Tableau 5. Composés phénoliques identifiés par LC-MS/MS de l'EEMP et de l'EAMP.....	33
Tableau 6. Variation du poids corporel, circonférence thoracique, abdominal et de l'IMC chez les rats témoins et rats traités.	35
Tableau 7. Consommation quotidienne d'aliments et d'eau de boisson chez les rats témoins et rats traités.	36
Tableau 8. Variation du poids absolu (PA) (g) et du poids relatif (PR) des organes étudiés chez les rats témoins et rats traités.	37
Tableau 9. Variation des paramètres biochimiques sérique chez les rats témoins et rats traités.	39
Tableau 10. Variation du taux du MDA (nmol/mg de protéine) dans le foie, les reins, le cœur et le TA chez les rats témoins et rats traités.	39
Tableau 11. Variation du taux d'AOPP (nmol/mg de protéine) dans le foie, les reins et le cœur chez les rats témoins et rats traités.	40
Tableau 12. Variation du taux du GSH (nmol/mg de protéine) dans le foie, les reins, le cœur et le TA chez les rats témoins et rats traités.	40

INTRODUCTION

Introduction

L'obésité est une maladie chronique et complexe caractérisée par un excès anormal ou excessif de graisse corporelle, représentant l'un des plus grands défis mondiaux en matière de santé publique (**Papamargaritis et al., 2023**). Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), en 2022, plus de 2,5 milliards de personnes âgées de 18 ans et plus étaient en surpoids, parmi lesquelles 890 millions étaient obèses. De plus, plus de 390 millions de personnes âgées de 5 à 19 ans étaient en surpoids, parmi lesquelles 160 millions étaient obèses. En outre, 37 millions d'enfants de moins de 5 ans sont en surpoids. Cela représente 43 % des personnes en surpoids et 16 % des personnes obèses dans le monde. Cette proportion a augmenté par rapport à 1990, où elle était de 25 % (**OMS, 2024**).

L'obésité peut avoir une influence sur la qualité de vie, affectant plusieurs aspects tels que le sommeil ou la mobilité, et contribuant à la pathogenèse de multiples complications métaboliques et mécaniques. Parmi celles-ci figurent le diabète de type 2 (DT2), l'hypertension, la dyslipidémie, la néphropathie chronique, les maladies cardiovasculaires (MCV), la stéatose hépatique non alcoolique (NASH), l'infertilité, l'ostéoarthrite et certains cancers (**Rahman et al., 2017 ; Bai et al., 2019 ; Wang et al., 2022**). Le développement de ces pathologies est désormais associé au stress oxydatif, qui constitue une perturbation des tissus incapables de gérer les dommages causés aux cellules par les radicaux libres en raison d'un manque de défense antioxydante (**Kurutas, 2015**). Plusieurs mécanismes, tels que le système de la xanthine oxydase, le système du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase (NADPH), et le système de la myéloperoxydase, sont impliqués dans la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les tissus (**Chowdhury et al., 2022**). De plus, la lipotoxicité provoquée par l'accumulation de graisses dans l'organisme altère la membrane mitochondriale et perturbe la fonction de la chaîne de transport d'électrons, entraînant une augmentation du niveau des ERO. Ces derniers réagissent de manière excessive avec les macromolécules, ce qui augmente la peroxydation lipidique et protéique, et diminue l'activité des enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase (GSH-Px), la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (**Ulla et al., 2017 ; Nassir, 2022**).

L'obésité peut être contrôlée par des changements de mode de vie, notamment par l'augmentation des activités physiques et la consommation d'aliments sains et équilibrés. Cependant, ces approches ne fournissent pas de résultats rapides, c'est pourquoi de nombreuses personnes choisissent l'utilisation de médicaments pour obtenir des résultats

Introduction

efficaces et rapides, bien que ceux-ci aient tous des effets secondaires (Urbatzka *et al.*, 2018). Ce problème a conduit les personnes obèses à remplacer les médicaments par des plantes médicinales pour prévenir et traiter l'obésité (Molina-Tijeras *et al.*, 2023). Les composés phytochimiques tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les phytostérols présents dans les plantes ont montré un potentiel en tant qu'agents anti-obésité. Ils peuvent moduler les processus inflammatoires, oxydatifs et prolifératifs cellulaires, qui sont responsables de l'initiation de plusieurs troubles métaboliques associés à l'obésité (Singh *et al.*, 2020).

Matricaria pubescens est une plante de la famille des Asteraceae, connue sous le nom de camomille du Sahara. Il s'agit d'une espèce endémique d'Afrique du Nord (Cherif *et al.*, 2017). Dans le sud-est algérien, cette plante est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies, telles que les douleurs rhumatismales et musculaires, les piqûres de scorpion, la dysménorrhée, la déshydratation, la toux, les allergies, les affections oculaires et les maux de dents. La partie aérienne de cette plante est préparée sous forme d'infusion ou de poudre dans les aliments et utilisée en interne (Laouini *et al.*, 2016). Des études phytochimiques antérieures ont mis en évidence la présence de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins dans *M. pubescens*. Ignatiadou *et al.* (2022) ont identifié 25 composés phytochimiques dans l'extrait méthanolique de *M. pubescens*. Des recherches antérieures ont montré que l'extrait aqueux de *M. pubescens* (EAMP) présente un effet hypoglycémique et antidyslipidémique chez les rats diabétiques (Amssayef *et al.*, 2020 ; Amssayef *et al.*, 2021), tandis que l'extrait méthanolique de *M. pubescens* peut prévenir les lésions hépatiques induites par le tétrachlorure de carbone chez les rats Wistar (Boubellouta *et al.*, 2021).

Malgré la richesse de cette plante en composés phytochimiques, peu d'études ont été rapportées sur ses activités biologiques. C'est pourquoi l'objectif de cette étude est, tout d'abord, d'identifier les composés phytochimiques présents dans *M. pubescens* et d'évaluer les activités antioxydantes et biologiques *in vitro* de cette plante. Ensuite, il s'agit de mettre en évidence les effets protecteurs de *M. pubescens* sur certains paramètres physiologiques, biochimiques, inflammatoires, de stress oxydatif et histologiques dans différents organes chez des rats obèses recevant un régime hypergras.

Pour ce faire, un plan de recherche a été élaboré, subdivisé en deux parties :

La première partie présente une synthèse bibliographique des données actuelles concernant l'obésité et *M. pubescens*.

Introduction

La deuxième partie, expérimentale qui consiste d'une :

- ❖ Etudes *in vitro*, consacré à l'identification des composés phytochimiques présents dans *M. pubescens* et à évaluer les activités antioxydantes et biologiques de cette plante.
- ❖ Etudes *in vivo*, réservée à explorer les effets protecteurs de *M. pubescens* chez des rats obèses recevant un régime hypergras, au niveau des fonctions vitales étudiées (foie, rein, cœur et tissu adipeux (TA)) en évaluant :
 - Les paramètres physiologiques (poids corporel, IMC, circonférences thoracique et abdominale, consommation d'aliments et poids relatifs des organes étudiés) ;
 - L'analyse de quelques paramètres biochimiques (fonction hépatique, fonction rénal, bilan lipidique et glycémie) ;
 - L'évaluation du système pro/anti-oxydant par la détermination de quelques éléments non enzymatiques comme le malondialdéhyde (MDA), les produits protéiques d'oxydation avancés (AOPP) et le glutathion réduit (GSH) ;
 - L'exploration du statut des antioxydants enzymatiques : la glutathion peroxydase (GSH-Px), la glutathion-S-transférase (GST), la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase ;
 - La détermination du niveau hépatique du marqueur inflammatoire TNF- α ;
 - L'étude histologique des organes cibles (foie, rein et tissu adipeux).
- ❖ Enfin, nous discutons l'ensemble des résultats obtenus dans ce manuscrit et proposons quelques perspectives sur ce travail de recherche.

***PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE***

CHAPITRE I :
OBESITE

Chapitre I : Obésité

1.1 Obésité

L'obésité et le surpoids sont devenus des problèmes de santé majeurs dans le monde entier. L'obésité est actuellement classée comme la cinquième cause de décès dans le monde (**Safaei et al., 2021**). C'est une véritable épidémie, qui frappe aussi bien les pays à revenu élevé que les pays à faible revenu. Elle est devenue la première maladie « inflammatoire » non infectieuse de l'histoire de l'humanité (**Mabele et al., 2018**). Bien que multifactorielle, la cause fondamentale de l'obésité et du surpoids est le déséquilibre énergétique entre les calories consommées et dépensées (**Sadaf et al., 2021**).

L'indice de masse corporelle (IMC) est un marqueur de substitution de l'adiposité défini comme le poids d'une personne en kilogrammes divisé par le carré de sa taille en mètres (kg/m^2). C'est une référence internationale pour classer les adultes en situation de surpoids et d'obésité. Un IMC compris entre 25 et 29,9 kg/m^2 est considéré comme un surpoids, et un IMC de 30 kg/m^2 ou plus est considéré comme une obésité. En plus de l'IMC, il y a d'autres mesures supplémentaires comme la circonférence thoracique et abdominale qui peuvent aider à diagnostiquer l'obésité (**OMS, 2024**).

Les personnes qui souffrent de l'obésité sont classées dans une situation d'obésité qui peut être répartie en 3 sous-catégories :

- Classe I ou modérée ($30 \text{ kg}/\text{m}^2 \leq \text{IMC} < 35 \text{ kg}/\text{m}^2$) ;
- Classe II ou sévère ($35 \text{ kg}/\text{m}^2 \leq \text{IMC} < 40 \text{ kg}/\text{m}^2$) ;
- Classe III ou morbide ($\text{IMC} \geq 40 \text{ kg}/\text{m}^2$) (**OMS, 2024**).

1.2 Aspects physiopathologiques de l'obésité

1.2.1 Excès d'apports énergétiques

La prise alimentaire est un comportement régulé par des mécanismes biologiques complexes et redondants permettant un apport adapté en nutriments nécessaires à la vie. Des modifications de la prise alimentaire, en termes de structure ou de composition, peuvent aboutir à une prise de poids. Parmi ces modifications, on retrouve des modifications quantitatives, telles que l'augmentation de la densité calorique de l'alimentation, et des modifications qualitatives, comme la diminution de la consommation de glucides complexes,

l'augmentation de l'apport lipidique et la déstructuration des rythmes alimentaires (**Faucher et Poitou 2016**).

1.2.2 Facteurs génétiques et environnementaux

La prise de poids diffère d'une personne à l'autre, même si elles ont le même mode de vie. L'hérédité d'un phénotype quantitatif est régulée et modifiée par un ensemble d'allèles au niveau des différents locus génétiques appelés variants polygéniques, qui modifient également l'expression d'un caractère qualitatif. Ces variantes varient d'un individu à l'autre et jouent un rôle dans la régulation du poids corporel (**Antúnez-Ortiz et al., 2017**). L'obésité se développe lorsque de nombreux variants polygéniques chez un individu augmentent son poids corporel. Il convient de noter ici que chaque polygène ne contribue qu'en partie à l'apparition de l'obésité. Quelques-uns de ces variants se retrouvent chez les personnes obèses, ainsi que chez les personnes de poids normal et les personnes maigres à un faible niveau (**Suleiman et al., 2020**). De plus, l'environnement nutritionnel et familial (conditionnements et habitudes alimentaires, etc.) et social s'associent aux modes de vie pour développer l'obésité chez les individus prédisposés (**Drummond et Gibney, 2013**).

1.2.3 Facteurs psychologiques

Ces facteurs influencent le comportement alimentaire, qui est très sensible aux émotions et au stress. Par exemple, la dépression peut entraîner des problèmes alimentaires, tels qu'une augmentation ou une diminution de la consommation d'aliments. De même, le stress peut provoquer des conséquences néfastes au niveau du métabolisme adipocytaire (**Wharton et al., 2020**).

1.2.4 Médicaments

Plusieurs médicaments, tels que les corticoïdes (qui favorisent l'adipogenèse), couramment utilisés, peuvent provoquer une prise de poids. Par conséquent, cela est considéré comme un effet secondaire de ces traitements, ce qui nécessite d'être pris en compte afin de l'éviter ou de le gérer au mieux en limitant la consommation de sel, de sucres et de graisses (**Bonhomme, 2013**).

1.2.5 Adipokines

La fonction endocrine du tissu adipeux est capable d'influer sur l'homéostasie énergétique, l'hémodynamique et la réponse inflammatoire grâce à la synthèse et à la sécrétion d'adipokines et de peptides bioactifs par ce tissu (**da Silva et al., 2019**). Le déséquilibre exacerbé de la production d'adipokines est associé aux maladies liées au mode de vie, telles

que l'hyperlipidémie, le diabète et l'hypertension. Parmi les adipokines, les principales sont la leptine, l'adiponectine, la résistine, le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), l'interleukine-6 (IL-6) et l'IL-10 (**Francisco et al., 2019**).

1.2.6 Inflammation

L'obésité est décrite comme un état d'inflammation chronique fortement associé à un excès de graisse corporelle. Elle se caractérise par l'infiltration et l'activation de macrophages pro-inflammatoires et d'autres cellules immunitaires dans le tissu adipeux. Ces cellules produisent et sécrètent des cytokines et des chimiokines pro-inflammatoires, qui jouent un rôle essentiel dans le développement de l'insulinorésistance (IR) et des maladies métaboliques associées à l'obésité. Le déclenchement initial de l'inflammation dans l'obésité reste incertain. Cependant, l'expansion et le dysfonctionnement du tissu adipeux fournissent une variété de stimuli directs capables d'initier une réponse inflammatoire, tels que l'hypoxie et l'altération du profil des macrophages (**Zatterale et al., 2020**).

1.3 Complication liée à l'obésité

La liste des complications cliniques associées à l'obésité est assez longue. Cependant, la gravité de ces complications semble dépendre de la présence excessive de graisse, connue sous le nom de dépôt ectopique de graisse, autour de tissus lisses tels que le cœur, le foie, les reins et les poumons (**González-Muniesa et al., 2017**). Cet état survient lorsque la capacité des dépôts de graisse est surchargée, ce qui ralentit la conversion des lipoprotéines de très faible densité, provoquant une hypertriglycémie, une accumulation de lipides dans d'autres tissus et un processus inflammatoire dans l'environnement cellulaire, entraînant une déficience fonctionnelle de l'organe affecté (**Monteiro et Azevedo, 2010, González-Muniesa et al., 2017**).

1.3.1 Diabète de type 2

L'obésité présente une relation complexe avec le diabète, en particulier avec le DT2 (**Osman et al., 2018**). L'obésité peut être un précurseur ou un facteur de risque du DT2, après l'IR (**Abubakar et al., 2017**). De nos jours, le DT2 chez les enfants et les adolescents représente un problème de santé publique dans le monde entier. Les taux alarmants de DT2 chez les jeunes correspondent aux taux croissants d'obésité, qui est un facteur de risque affectant la sensibilité à l'insuline. Quelques études ont établi un lien entre l'IR et l'accumulation de graisse intra-abdominale (obésité viscérale). L'adiposité viscérale est suggérée comme un facteur de risque de DT2 chez les adultes également (**Yamamoto et al., 2016**). Les adipokines

et les hormones libérées par les adipocytes viscéraux induisent un état de IR et un état inflammatoire chronique qui va souvent de pair avec l'obésité viscérale ou l'adiposité viscérale. L'adiposité viscérale est également un facteur de risque de IR chez les enfants. En raison de l'IR, les enfants adipeux peuvent souffrir de troubles métaboliques et d'hypertension. La graisse viscérale présente une activité lipolytique favorisée avec une forte libération d'acide gras libre (AGL), ce qui peut nuire à l'action de l'insuline. Chez la plupart des personnes obèses, les taux plasmatiques d'AGL sont élevés, ce qui contribue de manière significative et essentielle à la pathogenèse de l'IR (Fig. 1) (Yaturu, 2011).

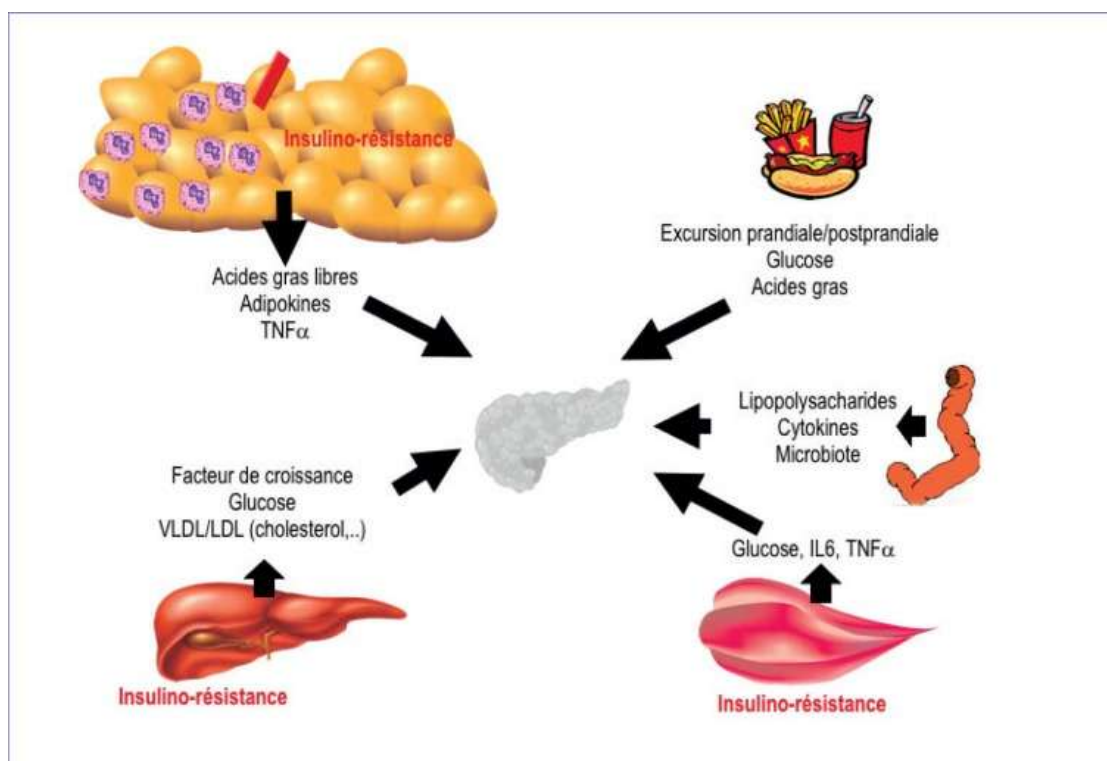


Figure 1. Mécanisme impliqué dans l'apparition du DT2 chez les personnes obèses (Tenenbaum *et al.*, 2018).

1.3.2 Complication hépatique

L'accumulation des graisses dans le foie, communément appelée maladie du foie gras ou stéatose hépatique non alcoolique. Elle est associée à l'obésité et aux composants du syndrome métabolique tels que l'IR, du DT 2 et la dyslipidémie (Dietrich et Hellerbrand, 2014). Parmi les principaux processus impliqués dans la pathogenèse de NASH, le scénario obésogène entraîne un dysfonctionnement du métabolisme énergétique. La disponibilité élevée des substrats énergétiques tels que le glucose et les AGL provenant de l'alimentation, ainsi que l'inflammation et le stress oxydatif dus à l'expansion excessive du TA, favorisent le stress pancréatique endocrinien, altérant la production et la libération d'hormones régulatrices

telles que l'insuline et le glucagon, et peuvent déclencher l'IR et l'hypertriglycéridémie (Divella *et al.*, 2019). L'état d'IR induit la lipogenèse *de novo* dans le foie et contribue à l'inflammation, entraînant une augmentation du flux d'AGL hépatiques, la libération des lipoprotéines de très faible densité et de la dyslipidémie athérogène (Lambertucci *et al.*, 2018). De plus, la réduction de la libération d'insuline par le pancréas et d'adiponectine par le TA dysfonctionnel diminue la capture du glucose et l'oxydation des acides gras par le foie, intensifiant le scénario de dysfonctionnement métabolique, ce qui peut précéder les maladies chroniques telles que le diabète et les dyslipidémies (Godoy-Matos *et al.*, 2020).

1.3.3 Complication rénale

Parmi les facteurs contribuant au développement des maladies rénales, on trouve l'obésité et ses complications associées telles que le diabète sucré, l'hypertension et les modifications du profil adipokinique. Une adiposité accrue peut avoir un impact direct sur les reins, en modifiant l'hémodynamique rénale, en augmentant la protéinurie et en réduisant le débit de filtration glomérulaire (DFG) (Foster *et al.*, 2008). L'hypertension et l'hyperfiltration dues à une demande métabolique plus élevée jouent un rôle important dans la physiopathologie de la dysfonction rénale. Initialement, il y a une augmentation du DFG, de l'hypertrophie glomérulaire et de la microalbuminurie, qui évolue ensuite vers la protéinurie, les lésions tubulointerstitielles et la réduction du DFG (D'Agati *et al.*, 2016). De plus, la surstimulation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) contribue à la vasoconstriction en raison de la rétention accrue de sodium et de l'hypertension. La surproduction d'aldostérone due au SRAA contribue à la dysfonction endothéliale par différents mécanismes tels que l'hyperleptinémie et l'IR (Stasi *et al.*, 2022).

1.3.4 Complication cardiovasculaire

Dans une condition d'obésité, l'accumulation de TA nécessite des demandes métaboliques plus importantes, entraînant une circulation hyperdynamique, caractérisée principalement par une augmentation du volume sanguin proportionnel au poids corporel excessif et au débit cardiaque, en raison d'une surcharge hémodynamique dans le cœur (Vasan, 2003). Les maladies cardiovasculaires liées à l'obésité sont associées à un déséquilibre entre l'expression de cytokines pro et anti-inflammatoires, le profil des adipokines, les facteurs pro et antioxydants, IR et par conséquent la fibrose cardiaque, l'hypertrophie et la dysfonction cardiaque (Gutiérrez-Cuevas *et al.*, 2021).

La circulation excessive des lipides entraîne une lipotoxicité pouvant induire une dysfonction des cardiomyocytes et altérer l'intégrité des tissus vasculaires, provoquant une dysfonction endothéliale chez les individus obèses et une inflammation consécutive sur le site des lésions, un composant athérogène important, favorisant un état pro thrombotique et pro-inflammatoire (Symons et Abel 2013). De plus, les AGL activent la réponse inflammatoire dans les macrophages situés dans le TA épiqueardique, contribuant à l'IR. En conséquence d'une utilisation réduite du glucose, il y a une augmentation de l'oxydation des acides gras et de la consommation d'oxygène myocardique ce qui provoque la génération des ERO (Sacks et Fain, 2011). L'activité du NADPH oxydase contribue au remodelage et à la dysfonction myocardique par génération des ERO par les cardiomyocytes, les cellules endothéliales et les neutrophiles dans le cœur en raison d'un manque d'adaptation. De plus, la génération des produits finaux de glycation avancée (AGE) contribue au remodelage et à la dysfonction cardiaque systolique et diastolique en modifiant la fonction des canaux calciques (Turer *et al.*, 2012). De plus, l'excès d'aldostérone dû à une régulation excessive du SRAA est associé à une inflammation systémique, une dysfonction endothéliale, une rigidité artérielle, une hypertension et une hypertrophie cardiaque (Fig. 2) (Sowers *et al.*, 2009).

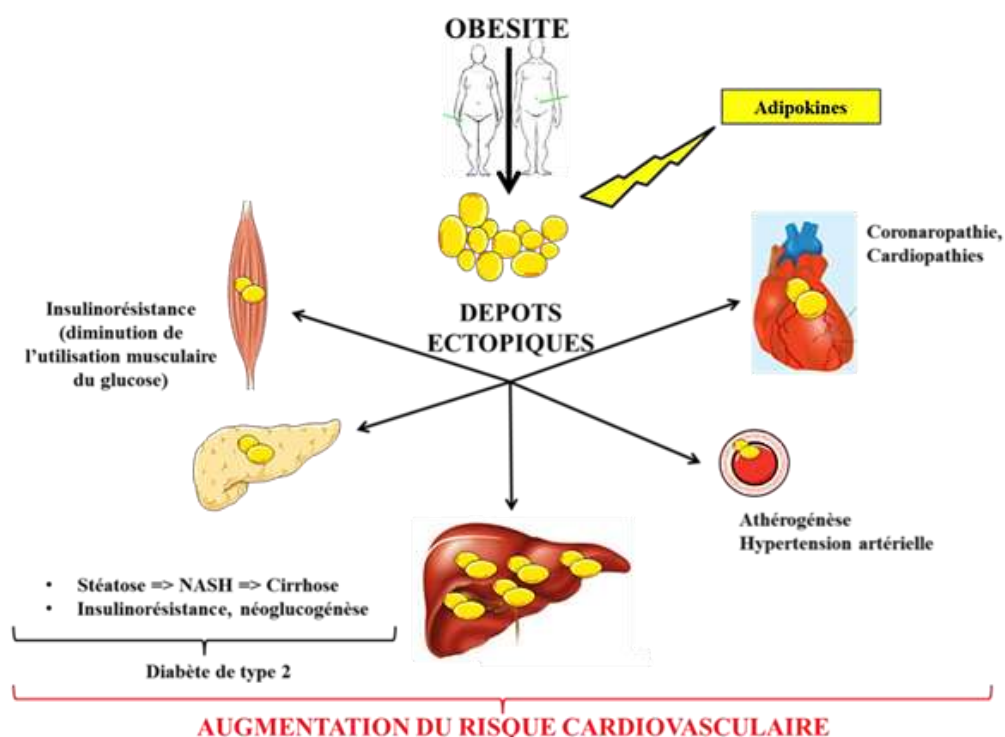


Figure 2. Dépôts ectopiques de tissu adipeux et liens avec les comorbidités (Faucher et Poitou, 2016).

1.3.5 Complication respiratoire

La masse adipeuse excessive, en particulier la graisse viscérale dans le thorax et l'abdomen, peut altérer la fonction pulmonaire telle qu'une demande accrue en ventilation et une exposition accrue aux maladies respiratoires (**Palma et al., 2022**). Chez les personnes obèses, la surcharge mécanique due au TA entraîne une réduction du débit expiratoire et des volumes pulmonaires, contribuant à un stress dans le système respiratoire en raison de la constriction des voies respiratoires (**Grassi et al., 2020**). En conséquence de l'expansion du TA, le facteur de transcription induit par l'hypoxie est activé et induit la production de ERO qui sont associés à une défense antioxydante réduite, jouent un rôle important dans la dysfonction endothéliale dans différents types de tissus, conduisant à des maladies pulmonaires et athérosclérotiques (Fig. 3) (**Peters et al., 2018**).

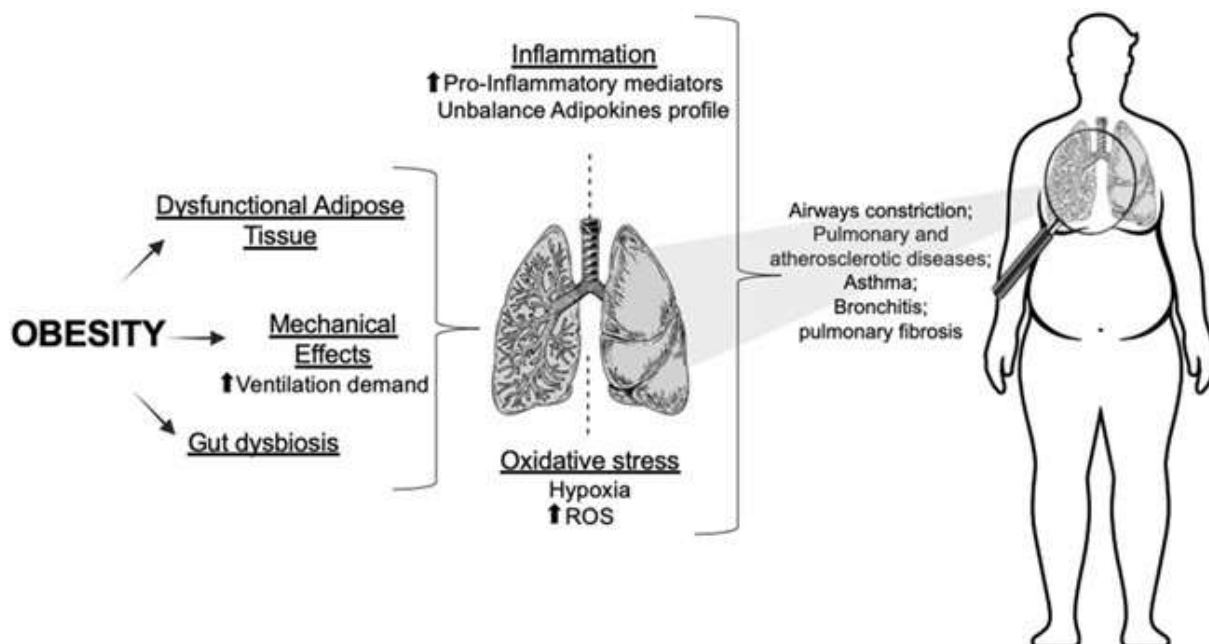


Figure 3. Processus physiopathologiques impliqués dans complication pulmonaires liées à l'obésité (**Siqueira et al., 2023**).

1.4 Stress oxydatif et obésité

Le déséquilibre entre les oxydants et antioxydants est appelé déséquilibre de l'état Redox ou stress oxydatif, un pilier physiopathologique important dans le développement des comorbidités associées à l'obésité. Les facteurs oxydants sont principalement représentés par les ERO. Chez les personnes obèses, la production d'ERO augmente en raison de l'augmentation du métabolisme et du dysfonctionnement des adipocytes, de l'hyperleptinémie, de l'inflammation chronique et de la diminution de la défense antioxydante (**Francisqueti et**

al., 2017). Les adipocytes peuvent directement déclencher un stress oxydatif chez les personnes obèses, car l'irrigation de TA devient insuffisante en raison de la forte augmentation du nombre d'adipocytes, ce qui peut entraîner la mort cellulaire par nécrose. Afin d'éliminer les cellules nécrosées, la phagocytose se produit, entraînant une infiltration inflammatoire et un stress oxydatif avec libération de radicaux libres tels que le monoxyde d'azote (NO) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Bhattacharya et al.**, 2015). En outre, la surcharge en AGL augmente la β -oxydation et l'activité de la chaîne de transport d'électrons dans la membrane interne des mitochondries, ce qui peut générer une hypoxie relative, entraînant une augmentation des ERO en tant que sous-produits du métabolisme (**Schofield et Schafer**, 2021).

Les ERO sont également capables de stimuler la voie du facteur nucléaire kappa B (NF- κ B) pour produire des cytokines pro-inflammatoires, générant un cercle vicieux de rétroaction entre le stress oxydatif et l'inflammation, déclenchant une inflammation chronique de bas niveau et l'oxydation de biomolécules telles que les lipides (peroxydation lipidique) et le glucose (glycation) (**Hurrell et Hsu**, 2017). Les produits de la peroxydation lipidique comprennent le MDA, le glyoxal, l'acroléine et le 4-hydroxy-nonéanal, tandis que les produits générés par la glycation comprennent le glyoxal et le méthylglyoxal. La liaison de ces composés avec le groupe amine donne lieu à des AGEs et à des produits finaux de peroxydation lipidique, qui sont très réactifs et qui, lorsqu'ils réagissent avec les protéines provoquent une perte de fonction, ce qui entraîne un dysfonctionnement des organes et l'apparition de maladies. Les ERO peuvent directement oxyder les protéines, y compris les molécules d'ADN, ce qui entraîne une perte de fonction biologique, un dysfonctionnement cellulaire et une défaillance des systèmes et des organes (**Vistoli et al.**, 2013).

D'autre part, afin d'atténuer le stress oxydatif, l'activation de différents mécanismes qui régule le stress oxydatif, augmente la production d'antioxydants endogènes, composés principalement d'enzymes antioxydantes, notamment la SOD, la GSH-Px et la catalase qui empêchent et contrôlent la production de radicaux libres et les dommages qu'ils causent (**Francisqueti-Ferron et al.**, 2019). Il a été observé que la consommation excessive de régimes riches en sucres et en graisses est associée à une défense antioxydante inadéquate, étant donné que ces régimes sont déficients en vitamines et en minéraux (**Monteiro et Azevedo**, 2010). Les taux sériques d'antioxydants alimentaires et d'oligo-éléments, tels que le zinc et le sélénium, qui sont des cofacteurs des enzymes antioxydantes, ont été réduits chez

les personnes obèses. En outre, il existe un lien entre des niveaux insuffisants de caroténoïdes plasmatiques, de vitamine C et de vitamine E et l'IMC (Fig. 4) (Kaidar-Person *et al.*, 2008).

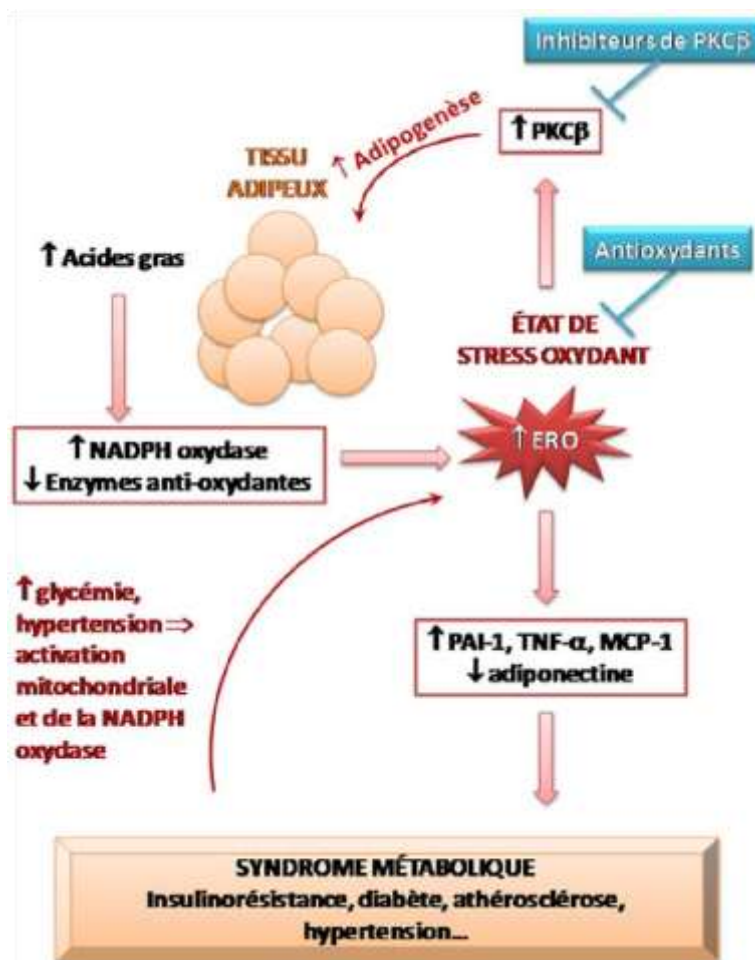


Figure 4. Obésité et stress oxydant (Bonnefont-Rousselot 2014).

1.5 Obésité expérimentale

Les modèles animaux d'obésité induite par l'alimentation sont utiles pour étudier les causes polygéniques de l'obésité, car ils permettent de reproduire la cause la plus fréquente de cette maladie chez l'homme : les déséquilibres alimentaires (Kleinert *et al.*, 2018). Les animaux, généralement des rongeurs de laboratoire (rats et souris), sont exposés à des régimes alimentaires spécifiquement conçus pour induire l'obésité. En outre, différents régimes peuvent être utilisés, tels qu'un régime riche en graisses (HFD), un régime riche en sucres (HSD) et la combinaison des deux derniers, appelés régimes occidentaux ou cafétéria (RC) (Preguiça *et al.*, 2020).

1.5.1 Régime hyper gras

Après avoir consommé une alimentation riche en graisses, les animaux développent une obésité, une forte accumulation d'adiposité, une RI, une hyperglycémie, une hyperlipidémie et une hypertension. Ils sont également susceptibles de développer une stéatose hépatique non alcoolique et des lésions de l'endothélium, généralement associées aux maladies cardiovasculaires. Toutes les caractéristiques décrites ci-dessus se retrouvent chez les humains atteints du syndrome métabolique complexe (**Ibeh 2018, Kleinert et al., 2018**).

1.5.2 Régime riche en sucre

Chez les rongeurs, ce régime induit un syndrome métabolique. La source de graisse peut être animale ou végétale, et le fructose et le saccharose sont les glucides les plus courants présents dans ces régimes, dont les quantités varient également (**Panchal et Brown, 2011**). Lorsqu'ils sont nourris avec des régimes riches en graisses et en saccharose, les rongeurs ont tendance à augmenter leur poids corporel et à déposer de la graisse abdominale, ainsi qu'à développer une hyperglycémie, une hyperinsulinémie, une hyperleptinémie, une stéatose hépatique et une augmentation des enzymes lipogéniques du foie (**Lai et al., 2014, Eng et Estall, 2021**). L'ingestion de fructose chez les animaux induit une augmentation du poids corporel et un dépôt de graisse abdominale, augmente les taux plasmatiques de triglycérides, de cholestérol, d'acides gras libres et de leptine, induit une RI, une hyperglycémie et est associée à une stéatose hépatique et à une inflammation (**Wong et al., 2016**).

1.5.3 Régime cafétéria (RC)

Le régime cafétéria est un régime varié et savoureux (**Lutz et Woods, 2012**). Dans ce régime, l'animal choisit lui-même sa nourriture. Il se compose principalement d'aliments à forte teneur en sodium, en graisse et en sucre (biscuits, sucreries, fromages et saucisses). L'un de ses principaux inconvénients est que sa composition n'est pas définie et que les animaux peuvent faire des choix alimentaires différents, ce qui en fait un régime imprécis et peu fiable pour les études sur l'obésité (**Bastías-Pérez et al., 2020**). Chez les rats nourris au RC, le poids corporel augmente considérablement et reste très élevé, ce qui rend ces animaux obèses. L'hyperphagie, l'hyperinsulinémie, l'intolérance au glucose et l'hyperglycémie sont exagérément élevées par rapport à d'autres modèles de HFD. Ce modèle montre une augmentation de l'adiposité et de stéatose hépatique, de la graisse blanche et de l'inflammation dans le tissu adipeux (**Ibeh, 2018**).

Chapitre II :
Matricaria pubescens

Chapitre II : *Matricaria pubescens*

1.1 Famille des *Asteraceae* (Composeae)

La famille des astéracées est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs, avec plus de 1600 genres et 2500 espèces dans le monde (Rolnik et Olas, 2021). En Algérie, on en recense 109 genres et 408 espèces (Quezel et Santa, 1963). Les membres de cette famille sont largement répandus dans le monde entier, dans des habitats écologiques variés, à l'exception de l'Antarctique. La morphologie des astéracées est également variée. Certaines espèces sont des arbres atteignant plus de 30 m, d'autres sont des arbustes, et la plupart sont des herbes vivaces ou annuelles (Bohm et Stuessy, 2001).

Malgré leur grande diversité, la plupart des membres de cette famille partagent une composition chimique similaire. Par exemple, toutes les espèces sont de bonnes sources d'inuline, un polysaccharide naturel aux fortes propriétés prébiotiques. Elles sont utilisées dans l'alimentation et la médecine depuis des siècles. Elles présentent également une forte activité antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne, ainsi que des propriétés diurétiques et cicatrisantes. Leurs effets pharmacologiques peuvent être attribués à leur gamme de composés phytochimiques, notamment les polyphénols, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les acétylènes et les triterpènes (Rolnik et Olas, 2021).

1.2 Genre *Matricaria*

Matricaria est un genre de plantes à fleurs appartenant à la famille des *Asteraceae*. La plupart des espèces de ce genre sont couramment présentes dans les régions tempérées d'Europe, d'Asie et d'Amérique, ainsi qu'en Afrique du Nord et du Sud (Miraj et Alesaeidi, 2016). Il s'agit d'herbes aromatiques annuelles qui poussent sur des terres riches en nutriments ainsi que sur les bords des routes. Ces plantes sont très ramifiées, avec de nombreuses tiges prostrées à érigées, glabres et feuillues (Singh *et al.*, 2011). Les fleurs sont radialement symétriques, les têtes solitaires, soit hétérogames avec des fleurs femelles à rayons blancs, soit homogames et dépourvues de fleurs à rayons. Les feuilles sont 2 à 3 fois pennées et divisées à plusieurs reprises en segments étroitement linéaires. Le réceptacle est conique, creux et dépourvu d'écailles réceptaculaires. Les akènes sont obovoïdes et quelque peu aplatis latéralement, obliquement tronqués sur le dessus, avec discrètement 3 à 5 nervures sur la face postérieure et sans glandes à huile sur la face antérieure. Le pappus peut être en forme de couronne et court ou absent (Sharifi-Rad *et al.*, 2018).

1.3 Espèce *Matricaria pubescens*

M. pubescens est une espèce appartenant à la famille des Asteraceae, bien connue dans la région sud-ouest de l'Algérie (Fig. 5, Tableau 1). Appelée localement Guertoufa ou Ouazouaza, elle se rencontre particulièrement dans tout le Sahara septentrional et central. C'est une plante endémique très connue en Afrique du Nord (Quezel et Santa, 1963).



Figure 5. Photo de la plante *M. pubescens* (Atlas-Sahara, 2008).

Tableau 1. Classification botanique de *M. pubescens* (Quezel et Santa, 1963).

Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Astérales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Matricaria</i>
Espèce	<i>Matricaria pubescence</i>

1.4 Description botanique

M. pubescens est une petite plante annuelle mesurant de 7 à 15 cm de hauteur (plus longue lorsque la plante s'aplatit sur le sol), pouvant atteindre 40 cm dans le cas des plantes cultivées, avec de nombreuses tiges fines, ramifiées et de couleur vert foncé. C'est une plante à nombreuses tiges en forme de touffes, couchées puis redressées. Les feuilles sont légèrement charnues, jaunâtres, de 1 à 3 cm de long, profondément découpées, avec des lobes. Les fleurs sont tubulaires jaunes, groupées en têtes discoïdes hémisphériques. Le capitule mesure de 4 à 8 mm de diamètre, attaché aux extrémités des tiges, surmonté d'une chaîne d'écaillés longues, membraneuses, rejetées d'un côté, ayant l'aspect d'une ligule. Cette plante présente des variations dans ses caractéristiques morphologiques, telles que la longueur, le nombre et la position des tiges. Dans les variétés sauvages, les tiges sont ramifiées et prostrées, se terminant par un certain nombre de fleurs composées. En revanche, dans les cultivars, les tiges sont ramifiées et érigées dès le début, se terminant par un grand nombre de fleurs complexes. Dans les régions où les conditions climatiques sont très difficiles, en particulier dans les déserts et sur les sols sablonneux, la longueur des tiges est très courte et le nombre de branches est réduit. Le manque d'eau entraîne une réduction de la surface des feuilles, une diminution de la taille de la plante et un raccourcissement de son cycle de vie (**Metrouh-Amir et al., 2015, Kherraz et al., 2019**).

1.5 Utilisations traditionnelles de la plante

Elle est fréquemment utilisée dans la médecine traditionnelle contre les douleurs rhumatismales et musculaires, les douleurs osseuses et articulaires, la toux, les allergies, les affections oculaires, la dysménorrhée, les piqûres de scorpion, la déshydratation et les maux de dents. Elle est utilisée pour les troubles gastro-intestinaux et le calcul, et c'est une plante médicinale très appréciée. Les tiges et les feuilles broyées sont utilisées comme filtre pour le beurre de chèvre, ce qui donne un arôme agréable au beurre et contribue à sa conservation. La plante entière est récoltée fraîche au printemps dans le sud et le sud-est de l'Algérie (El Oued, Béchar, Djanet, El Golea) (**Laouini et al., 2016**)

1.6 Propriétés pharmacologiques et activités biologiques

L'OMS estime que 80 % de la population mondiale dépend de la médecine traditionnelle et, depuis des milliers d'années, les plantes médicinales constituent une source importante de médicaments, près de 40 % des médicaments étant d'origine végétale. Le rôle des plantes médicinales dans la prévention et la gestion des maladies a été associé aux propriétés pharmacologiques de ces métabolites bioactifs (**OMS, 2022**). Malgré ça riches en composé

phytochimique mais peu d'étude ont rapporté les activités biologiques de *M. pubescens*. Des recherches antérieures ont montré que l'extrait aqueux de *M. pubescens* présente un effet hypoglycémique et anti dyslipidémique chez les rats diabétiques (**Amssayef et al., 2020**, **Amssayef et al., 2021**), tandis que l'extrait méthanolique de *M. pubescens* peut prévenir les lésions hépatiques induites par le tétrachlorure de carbone chez les rats Wistars (**Boubellouta et al., 2021**). **Kherraz et al., (2019)** ont trouvé que l'extrait méthanolique de *M. pubescens* présente une activité antibactérienne puissante contre *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*.

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III :
MATERIEL ET METHODES

Chapitre III : Matériel Et Méthodes

1. Etude phytochimique

1.1 Matériel végétal

La présente étude a été réalisée sur une plante aromatique de la famille des Asteraceae, très abondante dans le Sahara algérienne. La partie aérienne (feuilles, tige et fleur) de *M. pubescens* a été collectée pendant la phase de floraison en avril 2022 dans la région Elhamraya, wilaya d'El-Oued (Fig. 6). Après leur identification par Monsieur HAMEL Tarek, Professeur en biologie végétale (Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar-Annaba). La plante a été nettoyée, séchée dans l'obscurité à température ambiante, et broyée avec un broyeur mécanique pour obtenir une poudre fine et conservés dans un récipient hermétique.



Figure 6. Carte géographique de la région d'Elhamraya montrant la station de Récolte (Web).

1.2 Préparation des extraits bruts

L'extraction des principes actifs est effectuée par la macération, qui est une opération consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour extraire les principes actifs, est une extraction qui se fait à température ambiante. Une quantité de 10g du matériel végétal broyé est macérée dans 100ml de chaque solvant (eau distillée, éthanol absolue) pendant 24h. Après filtration, Les solutions de chaque extrait de la partie aérienne (Fig. 7) ont été évaporées à sec sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (IKA® RV10), relié à une pompe à vide Buchi V-700, à 40°C. Les résidus secs pesés sont stockés à 4°C dans l'obscurité jusqu'au moment de l'analyse phytochimique (Metrouh-Amir *et al.*, 2015).

Les rendements de l'extraction ont été calculés selon l'équation suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de la poudre après l'extraction}}{\text{Masse de la poudre initiale}} \times 100$$

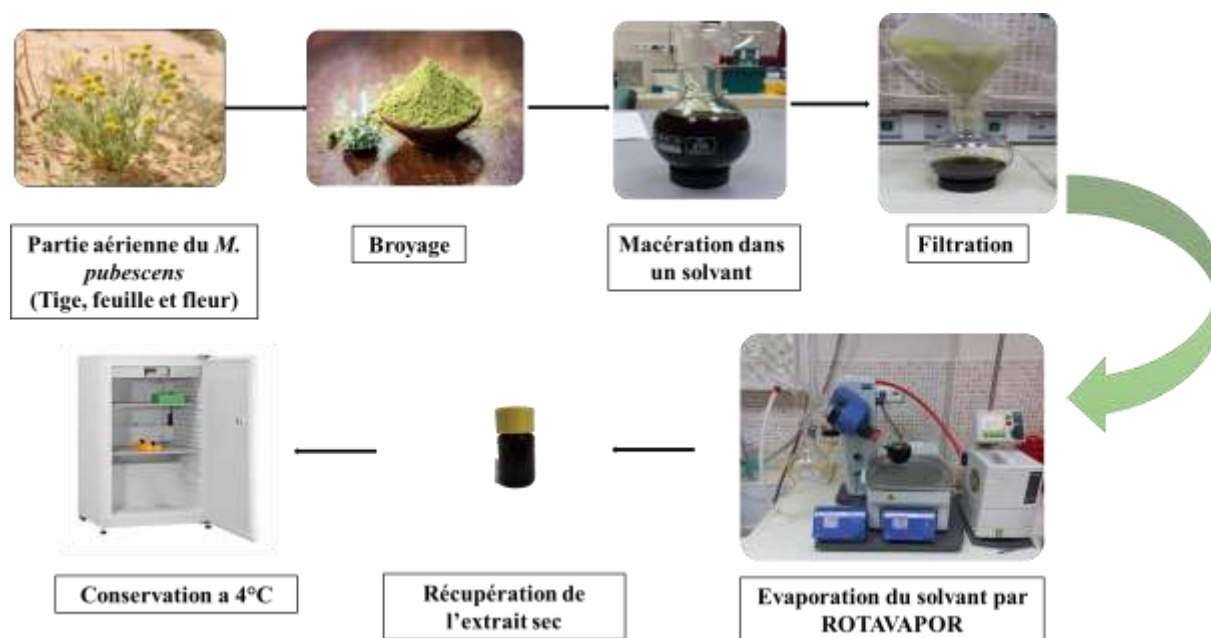


Figure 7. Protocole d'extraction des composés phénoliques de *M. pubescens*

1.3 Dosages colorimétriques des composés phénoliques

1.3.1 Dosage des polyphénols totaux

La concentration des polyphénols totaux des extraits, a été déterminée selon la méthode décrite par Slinkard et Singleton (1977). L'absorbance de l'échantillon a été lue à 760nm après une incubation de 2h à température ambiante. La teneur en polyphénols totaux a été

exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) (**Annexe 1**).

1.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux

La concentration des flavonoïdes totaux des extraits, a été déterminée selon la méthode décrite par **Ak et al., (2020)**. L'absorbance de l'échantillon a été lue à 415nm après 10 min à température ambiante. La teneur en flavonoïdes totaux a été exprimée en milligrammes d'équivalents de rutine par gramme d'extrait (mg ER/g d'extrait) (**Annexe 2**).

1.4 Identification des composés phytochimique par LC-MS/MS

L'identification des composés phytochimique de l'extrait éthanolique et aqueux de *M. pubescens* a été effectuée par une chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à un double spectromètre de masse selon la méthode développée et validée par **Yilmaz (2020)** en utilisant 53 standards phytochimiques comme références. L'UHPLC en phase inversée était équipée d'un échantillonneur automatique (SIL-30AC), d'un four à colonne (CTO-10ASvp), de pompes binaires (LC-30AD) et d'un dégazeur (DGU-20A3R). Les conditions chromatographiques ont été optimisées afin d'obtenir une séparation optimale pour 53 substances phytochimiques et de surmonter les effets de suppression. Par conséquent, la séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne analytique Agilent Poroshell 120 EC-C18 (150mm×2,1 mm, 2,7µm) en phase inversée. La température de la colonne a été réglée à 40°C. Le gradient d'élution était composé de l'éluant A (eau+ formiate d'ammonium (5mM) + acide formique (0,1%)) et de l'éluant B (méthanol + formiate d'ammonium (5mM) + acide formique (0,1%)). Le profil d'élution en gradient suivant a été utilisé : 20-100% B (0-25 min), 100% B (25-35 min), 20% B (35-45 min). En outre, le débit du solvant et le volume d'injection ont été fixés à 0,5ml/min et 5µl, respectivement. La détection par spectrométrie de masse a été réalisée à l'aide d'un double spectromètre de masse Shimadzu LCMS-8040 équipé d'une source d'ionisation par électrospray (ESI) fonctionnant en modes d'ionisation négative et positive. Les données LC-ESI-MS/MS ont été acquises et traitées par le logiciel Lab Solutions (Shimadzu). La méthode multiple réaction monitoring (MRM) a été utilisée pour la quantification des substances phytochimiques. La méthode MRM a été optimisée pour détecter et quantifier sélectivement les composés phytochimiques sur la base du criblage de transitions ioniques précurseurs phytochimiques-fragment spécifiées.

1.5 Evaluation de l'activités antioxydante

1.5.1 Méthode de DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl)

1ml de la solution de l'échantillon (1mg/ml) a été ajouté à 4ml d'une solution de 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) (0,004%) dans le méthanol. L'absorbance de l'échantillon a été lue à 517nm après une incubation de 30 min à température ambiante dans l'obscurité. L'activité de piégeage des radicaux DPPH a été exprimée en millimoles d'équivalents trolox par gramme d'extrait (mg ET/g d'extrait) (**Mahomoodally et al., 2021**).

1.5.2 Méthode ABTS⁺

L'ABTS⁺ a été produit en faisant réagir une solution d'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) (7mM) avec du persulfate de potassium (2,45mM). Le mélange a été laissé reposer pendant 12 à 16 heures dans l'obscurité à température ambiante. Avant de commencer l'essai, la solution d'ABTS a été diluée avec du méthanol jusqu'à obtenir une absorbance de $0,700 \pm 0,02$ à 734nm. Ensuite, 1ml de la solution de l'échantillon (1mg/ml) a été ajouté à 2ml de la solution d'ABTS et mélangé. L'absorbance de l'échantillon a été mesurée à 734nm après une incubation de 30 min à température ambiante. L'activité de piégeage du radical ABTS a été exprimée en millimoles d'équivalents Trolox par gramme d'extrait (mmol ET/g d'extrait). (**AL-Hmadi et al., 2023**).

1.5.3 Méthode du pouvoir réducteur (FRAP)

0,1ml de la solution de l'échantillon (1mg/ml) a été ajouté à 2ml du réactif FRAP, qui contient un tampon acétate (0,3M, pH 3,6), du 2,4,6-tris(2-pyridyl) -S-triazine (10mM) dans HCl (40mM) et du chlorure ferrique (20mM) dans un rapport de 10:1:1 (v/v/v). L'absorbance de l'échantillon a ensuite été mesurée à 593nm après une incubation de 30 min à température ambiante. L'activité FRAP a été exprimée en milligrammes d'équivalents Trolox par gramme d'extrait (mg ET/g d'extrait) (**Ak et al., 2020**).

1.5.4 Méthode de CUPRAC

0,5ml de la solution de l'échantillon (1mg/ml) a été ajouté au mélange réactionnel contenant 1ml du CuCl₂ (10mM), 1ml de la néocuproïne (7,5mM) et 1ml du tampon acétate d'ammonium (1M, pH 7,0). De même, un blanc a été préparé en ajoutant 0,5ml de la solution de l'échantillon au 3ml du mélange réactionnel sans CuCl₂. Ensuite, les absorbances de l'échantillon et du blanc ont été lues à 450nm après une incubation de 30minutes à température ambiante. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon.

L'activité CUPRAC a été exprimée en milligrammes d'équivalents trolox par gramme d'extrait (mg ET/g d'extrait) (Ak *et al.*, 2020).

1.5.5 Capacité antioxydante totale (CAT)

0,3ml de la solution de l'échantillon (1mg/ml) a été combiné avec 3ml du mélange réactionnel contenant de l'acide sulfurique (0,6M), du phosphate de sodium (28mM) et du molybdate d'ammonium (4mM). L'absorbance de l'échantillon a été mesurée à 695nm après une incubation de 90minutes à 95°C. La capacité antioxydante totale a été exprimée en millimoles d'équivalents trolox par gramme d'extrait (mmol TE/g d'extrait) (Uysal *et al.*, 2017).

1.5.6 Activité de chélation des métaux (ACM)

2ml de la solution de l'échantillon (1mg/ml) a été ajouté à 0,05ml de FeCl₂ (2mM). La réaction a été initiée par l'ajout de 0,2ml de ferrozine (5mM). Un blanc a également été préparé en ajoutant 2ml de la solution de l'échantillon à 0,05ml de FeCl₂ (2mM) et 0,2ml d'eau sans ferrozine. Ensuite, les absorbances de l'échantillon et du blanc ont été mesurées à 562nm après 10minutes d'incubation à température ambiante. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon. L'activité chélatrice des métaux a été exprimée en milligrammes d'équivalents EDTA par gramme d'extrait (mg EEDTA/g d'extrait) (Mocan *et al.*, 2015).

1.6 Evaluation des activités biologiques *in vitro*

1.6.1 Activité inhibitrice des cholinestérases

50µl de la solution de l'échantillon (1mg/ml) a été mélangée avec 125µl du DTNB (acide 5,5-dithio-bis 2-nitrobenzoïque), et 25µl d'une solution d'acétylcholinestérase (AChE) ou butyrylthiocholine estérase (BChE) dans un tampon Tris-HCl (pH 8,0) dans une microplaque à 96 puits et incubée pendant 15min à 25°C. La réaction a été ensuite initiée par l'ajout de 25µl d'iodure d'acétylthiocholine ou de chlorure de butyrylthiocholine. De même, un blanc a été préparé en ajoutant la solution d'échantillon à tous les réactifs de réaction sans solution d'enzyme (AChE ou BChE). Les absorbances de l'échantillon et du blanc ont été lues à 405nm après 10min d'incubation à 25°C. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon et l'activité inhibitrice des cholinestérases a été exprimée en équivalents galanthamine par gramme d'extrait (mg EGALA/g d'extrait) (Zengin *et al.*, 2014).

1.6.2 Activité inhibitrice de la tyrosinase

25µl de la solution de l'échantillon (1mg/ml) a été mélangée à 40µl de tyrosinase et au 100µl du tampon phosphate (pH 6,8) dans une microplaque à 96 puits et incubée pendant 15min à 25°C. La réaction a été ensuite initiée par l'ajout de 40µl de L-DOPA. De même, un blanc a été préparé en ajoutant la solution d'échantillon à tous les réactifs de réaction sans solution d'enzyme (tyrosinase). Les absorbances de l'échantillon et du blanc ont été lues à 492nm après une incubation de 10min à 25°C. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon et l'activité inhibitrice de la tyrosinase a été exprimée en équivalents d'acide kojique par gramme d'extrait (mg EAK/g d'extrait) (Zengin *et al.*, 2014).

1.6.3 Activité inhibitrice de l'α-amylase

25µl de la solution de l'échantillon (1mg/ml) a été mélangé à 50µl d'α-amylase dans un tampon phosphate (pH 6,9 avec 6mM de NaCl) dans une microplaque à 96 puits, puis incubé pendant 10minutes à 37°C. Après la préincubation, la réaction a été initiée par l'ajout de 50µl d'amidon (0,05%). Un blanc a été préparé en ajoutant la solution de l'échantillon à tous les réactifs de réaction, à l'exception de la solution d'enzyme. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 10minutes à 37°C. La réaction a ensuite été arrêtée par l'ajout de 25µl de HCl (1M). 100µl de la solution d'iode et d'iodure de potassium a ensuite été ajouté. Les absorbances de l'échantillon et du blanc ont été mesurées à 630nm. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon et l'activité inhibitrice de l'α-amylase a été exprimée en équivalents d'acarbose (mmol EAC/g d'extrait) (Lobine *et al.*, 2021).

1.6.4 Activité inhibitrice de l'α-glucosidase

50µl de la solution de l'échantillon (1mg/ml) a été mélangée avec 50µl du glutathion, 50µl d'α-glucosidase (de *Saccharomyces cerevisiae*, EC 3.2.1.20, Sigma) dans un tampon phosphate (pH 6.8) et 50µl du 4-N-trophényl-α-D-glucopyranoside dans une microplaque à 96 puits et incubée pendant 15min à 37°C. De même, un blanc a été préparé en ajoutant la solution d'échantillon à tous les réactifs de réaction sans solution d'enzyme (α-glucosidase). La réaction a ensuite été arrêtée par l'ajout de 50µl de carbonate de sodium (0,2M). Les absorbances de l'échantillon et du blanc ont été lues à 400nm. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon et l'activité inhibitrice de l'α-glucosidase a été exprimée en équivalents d'acarbose (mmol EAC/g d'extrait) (Lobine *et al.*, 2021).

2. Etude biologique

2.1 Animaux et conditions d'élevage

Vingt-quatre rats mâles de la souche Wistar pesant entre 120 et 150g ont été utilisés dans cette étude. Les animaux ont été obtenus auprès de l'Institut Pasteur (Alger, Algérie). Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de l'animalerie ; à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ et une photopériode naturelle.

2.2 Traitement des rats

2.2.1 Protocole expérimental

Après un mois d'adaptation, les rats ont été répartis en quatre groupes de six chacun.

Groupe 1 (Témoin) : Rats ayant reçu une nourriture normale : concentré équilibré énergétiquement provenant de l'Office national des aliments du bétail (ONAB).

Groupe 2 (HFD) : Rats ayant reçu un régime riche en graisses (régime standard complété par 30% de graisse de mouton). La durée de traitement et la composition du régime ont été choisies selon la littérature (**Affane et al., 2016**).

Groupe 3 (MP) : Rats ayant reçu un régime standard enrichi en poudre de *M. pubescens* (5%). La dose a été choisie selon la littérature (**Ben Moussa et al., 2020**).

Groupe 4 (HFD+MP) : Rats ayant reçu un régime riche en graisses enrichi en poudre de *M. pubescens* (5%). Le traitement de tous les groupes a duré 16 semaines consécutives

Le poids corporel a été enregistré chaque semaine et l'IMC, La circonférence thoracique et la circonférence abdominale ont été calculées à l'aide de la formule décrite par **Novelli et al., (2007)** :

$$\text{IMC} = \text{poids corporel (g)} / \text{longueur (cm}^2\text{)}$$

La circonférence abdominale : est déterminée à l'aide d'un ruban à mesurer autour de taille (entre la dernière des côtes et le dessus).

La circonférence thoracique : est mesurée à l'aide d'un ruban à mesurer autour de la cage thoracique (en dessous de pattes antérieures)

Le poids corporel et la longueur utilisés pour calculer l'IMC ont été enregistrés à la fin de l'expérience. Les mesures de l'apport alimentaire et hydrique ont été enregistrées quotidiennement.

2.2.2 Sacrifice des rats et prélèvement des échantillons

À la fin de l'expérience (16 semaines), après 16h de jeun les rats ont été sacrifiés par décapitation sans anesthésie pour éviter le stress des animaux (Fig. 8).

2.2.3 Récupération du sang

Le sang a été prélevé dans des tubes sec et centrifugés à 3000xg pendant 15minutes. Pour séparer le sérum qui a été conservé à -20°C pour les analyses biochimiques.

2.2.4 Prélèvement des organes et préparation des homogénats de tissus

Le foie, les reins, le cœur et le tissu adipeux épидидymaire ont été prélevés avec soin, pesés, et 1 g de ces tissus a été homogénéisé dans 2 ml de tampon Tris (1:2 p/v ; 1 g de tissu avec 2 ml de TBS : 50 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7,4), puis centrifugé à 9000 x g à 4 °C pendant 15 min. Le surnageant obtenu a été conservé dans un congélateur à -20 °C pour l'analyse des paramètres du stress oxydatif et du TNF- α hépatique. Une partie du foie, des reins, et du tissu adipeux épидидymaire a été fixée dans du formol afin de réaliser des coupes histologiques.

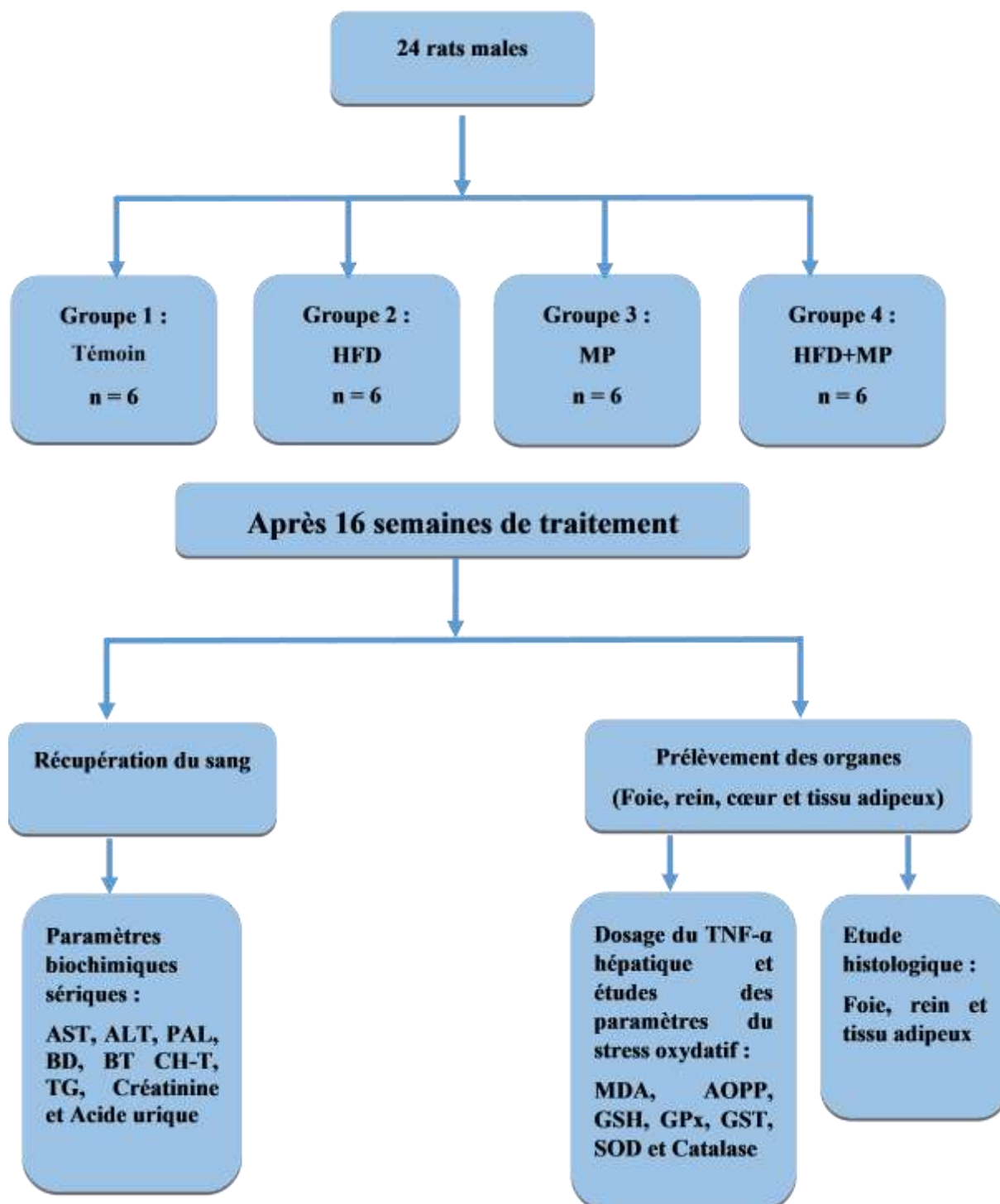


Figure 8. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

2.3 Dosages biochimiques

Les taux plasmatiques de triglycérides, de cholestérol total, de glucose, bilirubine directe, bilirubine totale et les activités de l'alanine aminotransférase, de l'aspartate aminotransférase, de la phosphatase alcaline, de la créatinine et l'acide urique ont été estimés à l'aide d'un analyseur biochimique automatique (COBAS INTEGRA 400).

L'indice triglycérides-glucose (TyG) est un biomarqueur simple de dépistage d'insulinorésistance (IR). Cette dernière a été déterminée à l'aide de l'indice TyG, qui est basé sur l'évaluation du taux de glucose et de TG sériques à jeun, en utilisant la formule décrite par **Simental-Mendía *et al.*, (2008)** :

$$\text{Indice TyG} = \text{Ln} (\text{triglycérides (mg/dl)} \times \text{glycémie (mg/dl)} / 2).$$

2.4 Etude des paramètres du stress oxydatif

2.4.1 Dosage des protéines

La concentration des protéines tissulaire a été déterminée selon la méthode décrite par **Bradford (1976)**. L'absorbance de l'échantillon a été lue à 595nm après une incubation de 5min à température ambiante (voir annexe 3 et 4).

2.4.2 Détermination du taux de peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique a été estimée en mesurant le niveau du MDA dans le tissu selon la méthode de **Buege et Aust (1978)**. L'absorbance de l'échantillon a été lue à 530nm (voir annexe 5).

2.4.3 Détermination du taux des produits d'oxydation avancée *des* protéines (AOPP)

Le niveau du produit protéique d'oxydation avancée a été déterminé selon la méthode de **Kayali *et al.*, (2006)**. L'absorbance de l'échantillon a été lue à 340nm (voir annexe 6).

2.4.4 Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion réduit a été mesuré selon la méthode de **Weckbecker et Cory (1988)**. L'absorbance de l'échantillon a été lue à 412nm après une incubation de 5min à température ambiante (voir annexe 7).

2.4.5 Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

L'activité enzymatique de la GSH-Px a été estimée selon la méthode de **Flohé et Günzler (1984)**. L'absorbance de l'échantillon a été lue à 412nm après une incubation de 5min à température ambiante (voir annexe 8).

2.4.6 Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GST)

L'activité enzymatique de la GST a été estimée selon la méthode de **Habig *et al.*, (1974)**. L'absorbance de l'échantillon a été enregistrée à 340nm chaque minute pendant 5minutes (voir annexe 9).

2.4.7 Détermination de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD)

L'activité enzymatique de la SOD a été estimée selon la méthode de **Beyer Jr et Fridovich (1987)**. L'absorbance de l'échantillon a été mesurée à 560nm (voir annexe 10).

2.4.8 Détermination de l'activité enzymatique de la catalase

L'activité enzymatique de la catalase été estimé selon la méthode de **Aebi (1984)**. L'absorbance de l'échantillon a été enregistrée à 240nm chaque 15seconde pendant 1minute (voir annexe 11).

2.4.9 Dosage du facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α)

Le taux du facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF- α) a été mesuré conformément au protocole du fabricant à l'aide de kits ELISA pour rats (Cat. No 186640000 ; BMS622 ; Invitrogen) (voir annexe 12 et 13).

2.5 Examen histologique

Après sacrifice des animaux et prélèvement du sang, quelques organes : foie, rein et Tissu adipeux épидидymaire ont été prélevés. La fixation des organes prélevés se fait dans une solution du formol à 10%. Puis, les morceaux d'organes sont mis dans des cassettes et placés dans un automate afin d'assurer la déshydratation par des bains d'alcool éthylique 70°, 90° et 100°C suivies par des bains de toluène pour une bonne imprégnation des organes dans de la paraffine. Une étape d'inclusion des fragments dans la paraffine a été effectuée. Par la suite, des coupes sériées étaient réalisées à une épaisseur de 5 μ m. Le colorant utilisé est l'hématoxyline-éosine (**Hould, 1984**). Les lames ont été examinées au microscope optique. Elles sont ensuite observées au microscope optique (Leica DM 1000LED) puis photographiées à l'aide d'un appareil photo monté sur le microscope.

2.6 Analyse statistique

Toutes les données ont été exprimées en tant que moyennes \pm erreur standard de la moyenne (SEM) des 3 répétitions pour la partie *in vitro* et six rats dans chaque groupe pour la partie *in vivo*. La comparaison statistique dans tous les groupes a été effectuée avec une analyse de la variance (ANOVA) suivie d'un test post hoc de Tukey avec le logiciel Graph Pad Prisme 8

(Graph Pad Software, San Diego, CA, USA). $p \leq 0,05$ a été considéré comme statistiquement significatif.

CHAPITRE IV :
RESULTATS ET
DISCUSSION

IV.1 Résultats

1. Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et biologique *in vitro* de *M. pubescens*

1.1 Dosage des composés phénoliques

Le rendement d'extraction et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits aqueux et éthanoliques de *M. pubescens* sont présentés dans le tableau 2. En effet, l'extrait aqueux présente le meilleur rendement d'extraction (17,54%) par rapport à l'extrait éthanolique (7,37%). Les résultats de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique et de rutine par gramme d'extrait sec de plante, respectivement. L'extrait éthanolique présente une richesse en composés phytochimiques par rapport à l'extrait aqueux en termes de polyphénols totaux ($17,67 \pm 0,29$; $12,01 \pm 0,20$ mg EAG/g pour l'extrait éthanolique et aqueux respectivement) et de flavonoïdes totaux ($21,79 \pm 0,02$; $0,16 \pm 0,04$ mg ER/g pour l'extrait éthanolique et aqueux respectivement).

Tableau 2. Rendement d'extraction et teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux de l'EEMP et l'EAMP

Extraits	Rendement	Teneur en polyphénols (mg EAG/g ES)	Teneur en flavonoïdes (mg ER/g ES)
EEMP	7.37%	$17,67 \pm 0,29$	$21,79 \pm 0,02$
EAMP	17.54 %	$12,01 \pm 0,20$	$0,16 \pm 0,04$

1.2 Activité antioxydante *in-vitro*

Le pouvoir antioxydant de l'EEMP et de l'EAMP a été effectué par six méthodes DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, activité de chélation des métaux et la capacité antioxydante totale (Tableau 3). Les deux extraits présentent une activité anti radicalaire importante estimée par les tests DPPH et ABTS. On observe que l'EAMP présente une activité anti radicalaire supérieur à celle de l'EEMP (DPPH : $21 \pm 0,77$; $14,19 \pm 0,70$ mg ET/g et ABTS : $76,15 \pm 1,10$; $64,88 \pm 1,41$ mg ET/g, respectivement). En outre, les tests CUPRAC et FRAP ont été utilisés pour évaluer la capacité des extraits à fonctionner comme agents réducteurs. On remarque que l'EEMP présente un pouvoir réducteur plus important que l'EAMP (FRAP : $21 \pm 0,77$; $14,19 \pm 0,70$ mg ET/g et CUPRAC : $76,15 \pm 1,10$; $64,88 \pm 1,41$ mg ET/g, respectivement). Aussi, l'EEMP présente une capacité antioxydante totale ($1,82 \pm 0,02$ mmol ET/g) supérieur par rapport à celle de l'EAMP ($0,6 \pm 0,01$ mmol ET/g).

Concernant l'activité de chélation des métaux, on note que l'EAMP présente une activité ($24,88 \pm 0,28$ mg EEDTA/g) supérieur à ce de L'EEMP ($18,44 \pm 0,27$ mg EEDTA/g).

Tableau 3. Activité antioxydante des extraits de *M. pubescens*.

	DPPH (mg ET/g ES)	ABTS (mg ET/g ES)	FRAP (mg ET/g ES)	CUPRAC (m ET/g ES)	CAT (mmol ET/g ES)	ACM (mg EEDTA/g ES)
EEMP	14,19±0,70	64,88±1,41	44,78±0,12	74,37±1,01	1,82±0,02	18,44±0,27
EAMP	21±0,77	76,15±1,10	35,23±0,60	42,08±0,23	0,6±0,01	24,88±0,28

1.3 Activités biologiques *in vitro*

Les résultats de l'évaluation *in vitro* des activités inhibitrices des cholinestérases, antidiabétique et anti tyrosinase des extraits de *M. pubescens* sont présentés dans le tableau 4.

L'activité inhibitrices des cholinestérases a été évaluée par la capacité des extraits de *M. pubescens* d'inhiber les activités de l'AChE et de la BChE. On observe que l'EEMP présente l'activité d'inhibition la plus élevée pour l'AChE et la BChE ($2,5 \pm 0,30$; $2,85 \pm 0,34$ mg EGALA/g, respectivement) par rapport à l'EAMP ($0,03 \pm 0,01$; $2,14 \pm 0,17$ mg EGALA/g, respectivement).

En outre, l'activité antidiabétique a été évaluée par la capacité d'inhiber α -Amylase et α -Glucosidase. On remarque que l'EEMP est active contre l' α -Amylase et l' α -Glucosidase avec une activité inhibitrice puissante ($0,38 \pm 0,005$; $2,09 \pm 0,1$ mg EACA/g, respectivement). Tandis que l'EAMP présente une faible activité inhibitrice contre l' α -Amylase ($0,04 \pm 0,001$ mg EACA/g) et aucune activité sur l' α -Glucosidase.

Concernant l'évaluation *in vitro* des activités anti tyrosinase des extraits de *M. pubescens*. On observe que l'EEMP présente une activité inhibitrice de la tyrosinase ($41,99 \pm 1,74$ mg EAK/g) supérieur à celle enregistrée par l'EAMP ($31,66 \pm 0,50$ mg EAK/g).

Tableau 4. Activités biologiques *in vitro* des extraits de *M. pubescens*.

	AChE (mg EGALA/g ES)	BChE (mg EGALA/g ES)	Tyrosinase (mg EAK /g ES)	α -Amylase (mmol EACA/g ES)	α -Glucosidase (mmol EACA/g ES)
EEMP	2,5±0,30	2,85±0,34	41,99±1,74	0,38±0,005	2,09±0,1
AEMP	0,03±0,01	2,14±0,17	31,66±0,50	0,04±0,001	N. A

N.A. : Non active

1.4 Identifications qualitative et quantitative des composés phénoliques de l'EEMP et l'EAMP par LC-MS/MS

Vue les intéressante activités antioxydantes, anticholinestéras, antidiabétique et anti-tyrosinase décelées au niveau des fractions aqueuse et éthanolique de la partie aérienne du *M. pubescens*, cette dernière a fait l'objet d'une analyse qualitative et quantitative par LC-MS/MS en utilisant 53 composés phytochimiques comme standards afin d'identifier leur composition chimique.

Nos résultats ont montré que les extraits étaient riches en acides phénoliques bioactifs, flavonoïdes et leurs dérivés. Trente (30) et dix-sept (17) composés phytochimiques ont été identifiés dans l'EEMP et l'AEMP respectivement (Fig. 8), et le Tableau 5 montre la concentration de chaque composé identifié. Les principaux composés détectés dans l'EEMP étaient lutéoline 7-O-glucoside (11,623mg/g), la cosmosiin (5,214mg/g), l'apigénine (3,336mg/g), l'acide quinique (2,659mg/g), la lutéoline (2,467mg/g), l'acide férulique (2,444mg/g), l'acide protocatéchique (0,669mg/g), l'acacétine (0,562mg/g), l'acide chlorogénique (0,504mg/g), l'acide p-coumarique (0,264mg/g), l'acide caféique (0,262mg/g), l'acide 4-oh benzoïque (0,24mg/g), l'isoquercitrine (0,2mg/g), l'astragaline (0,162mg/g), l'acide gallique (0,132mg/g) ainsi que la vanilline, la quercétine, l'acide rosmarinique, l'acide o-coumarique, l'aldéhyde protocatéchique, la coumarine, la rutine, la kaempférol, la naringénine, la nicotiflorine, l'acide salicylique, l'hespéridine, l'acide tannique, la chrysin et la génistéine ont été détectés avec une concentration plus faible. Quinze composés identifiés dans l'EEMP ont été détectés dans l'EAMP, mais les concentrations étaient différentes, et seul l'acide quinique (20,849mg/g) a été détecté à des concentrations élevées. De plus, l'acide aconitique (0,584mg/g) et l'acide fumarique (0,437mg/g) ont été détectés uniquement dans l'EAMP.

En revanche, l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'isoquercitrine, l'astragaline, la quercétine, l'acide rosmarinique, l'acide o-coumarique, la coumarine, la rutine, le kaempférol, la naringénine, la nicotiflorine, l'hespéridine, l'acide tannique et la génistéine trouvés dans l'EEMP n'ont pas pu être identifiés dans l'EAMP.

Tableau 5. Composés phénoliques identifiés par LC-MS/MS de l'EEMP et de l'EAMP

No	Analytes	TR ^a	M.I. (m/z) ^b	F.I. (m/z) ^c	EEMP (mg/g)	EAMP (mg/g)	No	Analytes	RT ^a	M.I. (m/z) ^b	F.I. (m/z) ^c	EEMP (mg/g)	EAMP (mg/g)
1	Acid Quinique	3	190,8	93	2,659	20,849	29	Acid Salicylique	21,8	137,2	65	0,024	0,024
2	Acid Fumarique	3,9	115,2	40,9	N.D.	0,437	30	luteolin 7-O-glucoside	23,7	447	284	11,623	0,018
3	Acid Aconitique	4	172,8	129	N.D.	0,584	31	Miquelianin	24,1	477	150,9	N.D.	N.D.
4	Acid Gallique	4,4	168,8	79	0,132	0,385	32	Rutin-D3-SI ^h	25,5	612,2	304,1	N.A.	N.A.
5	Epigallocatechin	6,7	304,8	219	N.D.	N.D.	33	Rutine	25,6	608,9	301	0,037	N.D.
6	acid Protocatechuique	6,8	152,8	108	0,669	0,865	34	Iso-quercitrin	25,6	463	271	0,2	N.D.
7	Catechin	7,4	288,8	203,1	N.D.	N.D.	35	Hespéridine	25,8	611,2	449	0,018	N.D.
8	acid Gentisique	8,3	152,8	109	N.D.	N.D.	36	Acid o-Coumarique	26,1	162,8	93	0,061	N.D.
9	Acid Chlorogénique	8,4	353	85	0,504	0,012	37	Genistin	26,3	431	239	N.D.	N.D.
10	aldehyde Protocatechuique	8,5	137,2	92	0,051	0,029	38	Acid Rosmarinique	26,6	359	197	0,089	N.D.
11	Acid Tannique	9,2	182,8	78	0,017	N.D.	39	Acid Ellagiques	27,6	301	284	N.D.	N.D.
12	Epigallocatechin gallate	9,4	457	305,1	N.D.	N.D.	40	Cosmosiin	28,2	431	269	5,214	0,027
13	acid 1,5-dicaffeoylquinique	9,8	515	191	N.D.	N.D.	41	Quercitrin	29,8	447	301	N.D.	N.D.
14	acid 4-OH Benzoic	10,5	137,2	65	0,24	0,194	42	Astragalin	30,4	447	255	0,162	N.D.
15	Epicatechin	11,6	289	203	N.D.	N.D.	43	Nicotiflorin	30,6	592,9	255,0/284,0	0,026	N.D.
16	Acid Vanillique	11,8	166,8	108	N.D.	N.D.	44	Fisétine	30,6	285	163	N.D.	N.D.
17	Acid Caféique	12,1	179	134	0,262	N.D.	45	Daidzein	34	253	223	N.D.	N.D.
18	Acid Syringique	12,6	196,8	166,9	N.D.	N.D.	46	Quercetin-D3-IS ^h	35,6	304	275,9	N.A.	N.D.
19	Vanilline	13,9	153,1	125	0,099	0,105	47	Quercétine	35,7	301	272,9	0,093	N.D.
20	Syringic aldehyde	14,6	181	151,1	N.D.	N.D.	48	Naringenin	35,9	270,9	119	0,027	N.D.
21	Daidzin	15,2	417,1	199	N.D.	N.D.	49	Hesperetin	36,7	301	136,0/286,0	N.D.	N.D.
22	Epicatechin gallate	15,5	441	289	N.D.	N.D.	50	Luteolin	36,7	284,8	151,0/175,0	2,467	0,027
23	Piceid	17,2	391	135/106,9	N.D.	N.D.	51	Genistein	36,9	269	135	0,013	N.D.
24	acid p-Coumarique	17,8	163	93	0,264	N.D.	52	Kaempferol	37,9	285	239	0,028	N.D.
25	acid Ferulique -D3-SI ^h	18,8	196,2	152,1	N.D.	N.D.	53	Apigenin	38,2	268,8	151,0/149,0	3,336	0,179
26	Acid Férule	18,8	192,8	149	2,444	1,563	54	Amentoflavone	39,7	537	417	N.D.	N.D.
27	Acid Sinapique	18,9	222,8	193	N.D.	N.D.	55	Chryisine	40,5	252,8	145,0/119,0	0,015	0,012
28	Coumarine	20,9	146,9	103,1	0,045	N.D.	56	Acacétine	40,7	283	239	0,562	0,024

T.R^a: Temp de retention, I.M^b (m/z) : Ions moléculaire des analytes standards (m/z rapport), IF^c (m/z) : Ions de fragment, SI^h: Standard interne, N.A.: Non applicable, N.D.: Non détecté, EAMP : extrait aqueux de *M. pubescens*, EEMP : extrait éthanolique de *M. pubescens*.

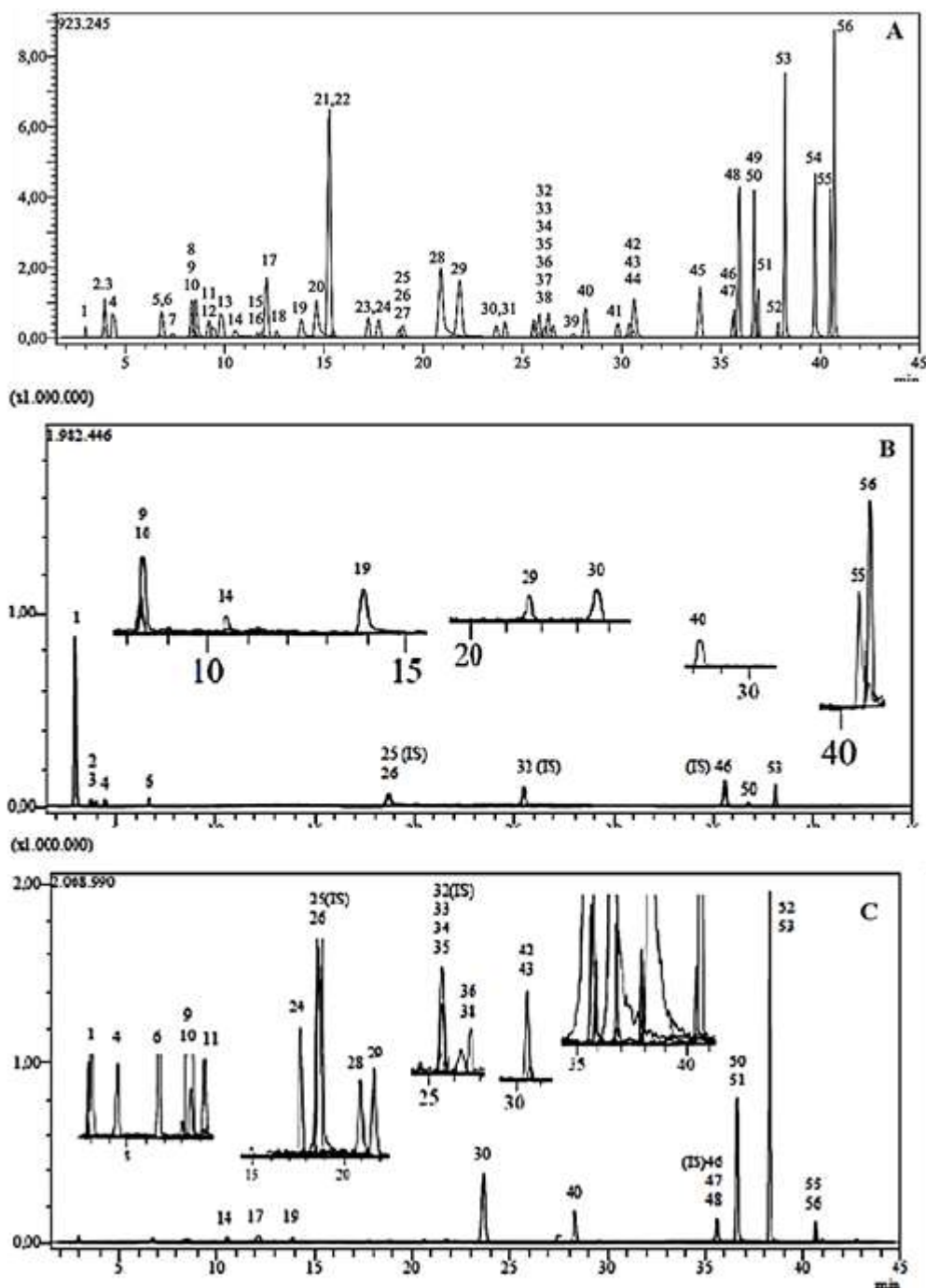


Figure 9. Chromatogrammes des standards phytochimiques et des extraits de *M. pubescens* identifiés par LC-MS/MS : (A) chromatogramme des standards phytochimiques, (B) chromatogramme de l'extrait aqueux et (C) chromatogramme de l'extrait éthanolique de *M. pubescens*.

2. Impact du régime hyper gras sur la variation des paramètres physiologiques, biochimiques, stress oxydatif et histologique : Effets protecteurs de la supplémentation en *M. pubescens*

2.1 Etude pondérale

2.1.1 Variation du poids corporel

Durant les 16 semaines d'expérimentation, les rats ont été pesés chaque semaine pour suivre l'évolution du poids corporel dans chaque groupe (tableau 6). Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du poids dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Le traitement préventif des rats avec *M. pubescens* du HFD+MP a entraîné une diminution hautement significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe HFD.

Aucune différence significative du poids corporel n'a été observée chez les rats traités uniquement avec *M. pubescens* par rapport aux valeurs des rats de groupe témoin.

2.1.2 Variation de l'IMC, Circonférence thoracique et abdominale

L'IMC et la circonférence thoracique et abdominale des rats de chaque groupe ont été mesurés à la fin d'expérimentation (tableau 6). Nos résultats montrent que le régime HFD a induit une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) de l'IMC, Circonférence thoracique et abdominale dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Par contre, la supplémentation de *M. pubescens* chez les rats du groupe HFD+MP a provoqué une diminution hautement significative ($p < 0,01$) de ces paramètres par rapport au groupe HFD.

Tableau 6. Variation du poids corporel, circonférence thoracique, abdominal et de l'IMC chez les rats témoins et rats traités.

Paramètres et Traitement	Groupes expérimentaux			
	Témoin	HFD	MP	HFD+MP
Poids initial (g)	138,6±9,12	134±6,71	148,8±3,17	145,8±4,45
Poids finale (g)	301,3±7,56	458±25,7***	298,5±10,2	359,8±21,15##
IMC (cm/kg ²)	0,633±0,02	0,794±0,02***	0,643±0,01	0,665±0,01##
Circonférence thoracique (cm)	14,92±0,68	18±0,41***	15,25±0,17	15,33±0,3##
Circonférence abdominale (cm)	16,8±0,73	20,00±0,1***	18,00±0,18	17,64±0,26##

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n = 6 rats) ;

(*** $p < 0,001$) : vs groupe Témoin ;

(## $p < 0,01$) : vs groupe HFD.

2.2 Effet du traitement sur la consommation quotidienne d'eau de boisson et d'aliment

La variation de la consommation quotidienne d'eau de boisson et d'aliment durant les 16 semaines d'expérimentation est représenté dans le tableau 7. En effet, la consommation d'aliment est identique dans les 4 groupes étudiés par contre on note une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'eau de boisson chez le groupe HFD et HFD+MP par rapport au groupe témoin.

Tableau 7. Consommation quotidienne d'aliments et d'eau de boisson chez les rats témoins et rats traités.

Paramètres et Traitement	Groupes expérimentaux			
	Témoin	HFD	MP	HFD+MP
Consommation d'aliments (g/J/rat)	23,34±0,61	25,22±0,34	23,89±0,49	23,66±0,43
Consommation d'eau (ml/J/rat)	33,69±1,05	21,18±0,92***	33,57±1,51	20,39±0,37***

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 rats) ;
 (***) $p < 0,001$: vs groupe Témoin.

2.3 Poids absolu et relatif des organes

La variation du poids absolu et relatif dans le foie, reins, cœur et le TA est présentée dans le tableau 8. En effet, on note une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du poids relatif du foie et TA dans groupe HFD par rapport au groupe témoin. Cependant, la supplémentation de *M. pubescens* dans le groupe HFD+MP induit une diminution hautement significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe HFD. Concernant le poids relatif des reins et cœur. L'analyse des résultats obtenus montre une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin.

Par contre la supplémentation en *M. pubescens*, a provoqué chez les rats du groupe HFD+MP une amélioration hautement significative ($p < 0,01$) du poids relatif des reins et cœur par rapport au groupe HFD. Tandis qu'on observe aucune différence du poids relatif des organes étudiés entre le groupe témoin et le groupe MP.

Tableau 8. Variation du poids absolu (PA) (g) et du poids relatif (PR) des organes étudiés chez les rats témoins et rats traités.

Paramètres et Traitement	Groupes expérimentaux			
	Témoin	HFD	MP	HFD+MP
PA du foie (g)	6,92±1,2	14,78±0,02***	7,28±0,08	9,27±0,14 ***
PR du foie (g/ 100 g p.c.)	2,3±0,4	3,048±0,11***	2,44±0,03	2,58±0,04***
PA reins (g)	1,68±0,06	2,037±0,02***	1,7±0,05	1,79±0,03 #
PR rein (g/ 100 g p.c.)	0,56 ±0,02	0,42±0,006***	0,57±0,02	0,50±0,01#
PA cœur (g)	1,02±0,02	1,26±0,006***	0,95±0,02	1,11±0,02#
PR cœur (g/ 100 g p.c.)	0,34±0,008	0,26±0,006***	0,32±0,009	0,31±0,006#
PA tissu adipeux (g)	4,21±0,3	16,53±1,01***	4,62±0,53	8,26±0,14***
PR tissu adipeux (g/ 100 g p.c.)	1,4±0,1	3,24±0,21***	1,55±0,18	2,3±0,04***

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n = 6 rats) ;

(*p<0,05 ; **p<0,01 ; ***p<0,001) : vs groupe Témoin ;

(#p<0,05 ; ##p<0,01) : vs groupe HFD.

2.4 Etudes des paramètres biochimiques sanguines

Le tableau 9 présente quelques paramètres biochimiques des rats témoins et HFD après 16 semaines de traitement.

2.4.1 Bilan hépatique

2.4.1.1 Aminotransférases

Dans nos conditions expérimentales, les rats traités par un régime HFD pendant 16 semaines, présentent une élévation très hautement significative (p<0,001) des taux sériques en ASAT et en ALAT, respectivement de 158±5,58U/ml et 54,23±1,64U/ml par rapport aux témoins.

Le traitement des rats HFD par la poudre de la partie aérienne de *M. pubescens* (5%) permet de diminuer de façon très hautement significative les dommages hépatiques. En effet, la diminution de ces deux paramètres ASAT et ALAT par rapport à ceux des rats traités par le régime HFD est respectivement de 111,7±5,65U/ml et 38,62±1,32U/ml (Tableau 9).

2.4.1.2 Phosphatases alcalines

On a observé une augmentation hautement significative (p<0,01) du taux sérique du PAL dans groupe HFD par rapport au groupe témoin.

Par contre supplémentation de *M. pubescens* dans le groupe HFD+MP induit une diminution hautement significative (p<0,01) par rapport au groupe HFD (Tableau 9).

2.4.1.3 Bilirubine

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du taux sérique en bilirubine direct et totale dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin mais la supplémentation de *M. pubescens* dans le groupe HFD+MP a induit une diminution hautement significative ($p < 0,01$) du taux sérique en bilirubine direct et totale par rapport au groupe HFD (Tableau 9).

2.4.2 Bilan lipidique

Une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) a été observé du taux du TG sérique dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. En revanche, on note un rétablissement par une diminution hautement significative du TG sérique chez les rats supplémentés par *M. pubescens* comparativement aux rats recevant le régime HFD. Aucune différence significative n'est enregistrée concernant le taux du cholestérol sérique dans les groupes traités comparativement au groupe témoin (Tableau 9).

2.4.3 Glycémie et insulino-résistance

On observe une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) de la glycémie à jeun et de l'IR estimée par l'indice TyG dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Cependant, on observe une diminution hautement significative ($p < 0,01$) de la glycémie à jeun et une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'IR dans le groupe HFD+MP par rapport au groupe HFD (Tableau 9).

2.4.4 Bilan rénal

Nos résultats indiquent une augmentation très hautement significative ($p < 0,01$) des taux sériques de créatinine et de l'acide urique dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Tandis que chez les rats supplémentés par *M. pubescens*, on enregistre une amélioration significative ($p < 0,05$) et hautement significative ($p < 0,01$) des taux sériques de créatinine et de l'acide urique respectivement comparativement aux rats du groupe HFD (Tableau 9).

Tableau 9. Variation des paramètres biochimiques sérique chez les rats témoins et rats traités.

Paramètres et Traitement	Groupes expérimentaux			
	Témoin	HFD	MP	HFD+MP
AST (U/l)	100,3±3,85	158±5,58***	102,6±4,95	111,7±5,65###
ALT (U/l)	34,75±1,49	54,23±1,64***	33±1,47	38,62±1,32###
PAL (U/l)	161,7±9,82	230,4±14,13**	155,8±4,07	161,2±11,42##
BD (mg/l)	0,44±0,06	0,93±0,05***	0,46±0,06	0,48±0,08##
BT (mg/l)	0,86±0,13	1,98±0,06***	0,92±0,07	1,07±0,1##
CH- T (g/l)	0,71±0,05	0,78±0,02	0,74±0,01	0,75±0,04
TG (g/l)	0,92±0,08	1,82±0,10***	0,97±0,02	0,92±0,05###
Glucose (g/l)	0,95±0,04	1,45±0,03***	0,97±0,02	1,28±0,03##
Indice TyG	8,37±0,11	9,49±0,03***	8,46±0,03	8,66±0,07###
Créatinine (mg/l)	3,66 ±0,04	4,2±0,03**	3,68±0,08	3,75±0,12#
Acide urique (mg/dl)	17,90±1,34	32,75±3,68**	13,84±1,72	15,82±1,10##

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 rats) ;

(**p<0,01 ; ***p<0,001) : vs groupe Témoin ;

(#p<0,05 ; ##p<0,01 ; ###p<0,001) : vs groupe HFD.

2.5 Etude des paramètres du stress oxydatif

2.5.1 Malondialdéhyde

La variation du taux du MDA dans le foie, reins, cœur et TA est représentée dans le tableau 10. En effet, on observe une augmentation très hautement significative ($p<0,001$) du taux du MDA au niveau du foie, rein et TA et hautement significative ($p<0,01$) au niveau du cœur dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Par contre, après la supplémentation de *M. pubescens* on observe une amélioration par diminution significative du taux du MDA au niveau du foie, du cœur, des reins et de TA chez les rats HFD+MP par rapport aux rats du groupe HFD.

Tableau 10. Variation du taux du MDA ($\mu\text{mol/mg}$ de protéine) dans le foie, les reins, le cœur et le TA chez les rats témoins et rats traités.

Paramètres et Traitement	Groupes expérimentaux			
	Témoin	HFD	MP	HFD+MP
Foie	1,02±0,09	1,76±0,08***	0,79±0,13	1,22±0,06##
Rein	1,65±0,06	2,67±0,08***	1,71±0,09	1,91±0,08##
Cœur	2,19±0,14	3,083±0,07**	2,161±0,12	2,362±0,15#
TA	3,11±0,16	7,20±0,44***	3,084±0,45	4,165±0,23##

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 rats) ;

(**p<0,01 ; ***p<0,001) : vs groupe Témoin ;

(#p<0,05 ; ##p<0,01) : vs groupe HFD.

2.5.2 Taux des produits d'oxydation avancée des protéines

La consommation du régime HFD pendant 16 semaines a provoqué une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du teneur cellulaire en AOPP au niveau du foie, reins et cœur dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Par ailleurs, la supplémentation de *M. pubescens* dans le groupe HFD+MP provoque une diminution hautement significative du taux des produits d'oxydation avancée des protéines ($p < 0,01$) par rapport au groupe HFD (tableau 11).

Tableau 11. Variation du taux d'AOPP (nmol/mg de protéine) dans le foie, les reins et le cœur chez les rats témoins et rats traités.

Paramètre et traitement	Groupes expérimentaux			
	Témoin	HFD	MP	HFD+MP
Foie	2,52±0,15	4,75±0,21***	3,19±0,2	3,41±0,16*##
Rein	2,72±0,17	4,45±0,16***	3,08±0,24	3,19±0,15##
Cœur	0,74±0,04	1,77±0,04***	0,64±0,06	1,09±0,03*##

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 rats) ;

(* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$) : vs groupe Témoin ;

(## $p < 0,01$) : vs groupe HFD.

2.5.3 Glutathion réduit

Le taux du GSH hépatique, rénal, cardiaque et adipocytaire est présenté dans le tableau 12. On observe une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) au niveau du foie, rein et TA et hautement significative ($p < 0,01$) au niveau du cœur dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Cette diminution est améliorée d'une façon hautement significative ($p < 0,01$) par la supplémentation de *M. pubescens* dans le groupe HFD+MP au niveau du foie, reins, cœur et TA par rapport au groupe HFD.

Tableau 12. Variation du taux du GSH (nmol/mg de protéine) dans le foie, les reins, le cœur et le TA chez les rats témoins et rats traités.

Paramètre et traitement	Groupes expérimentaux			
	Témoin	HFD	MP	HFD+MP
Foie	82,07±4,09	48,95±3,64***	78,68±2,31	76,19±4,44##
Rein	62,40±2,88	40,70±1,53***	51,26±1,51*	57,09±1,92*##
Cœur	143,9±5,77	100,1±5,32**	126±5,67	129,1±4,46##
TA	276±14,4	81,93±10,93***	219±11,65*	195,9±9,03*##

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 rats) ;

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) : vs au groupe Témoin ;

(## $p < 0,01$) : vs groupe HFD.

2.5.4 Glutathion peroxydase

D'après les résultats obtenus (Fig. 10), on observe une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité enzymatique de la GSH-Px dans le foie et le rein et une diminution hautement significative ($p < 0,01$) dans le cœur chez le groupe HFD par rapport au groupe témoin. En revanche, on enregistre une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de l'activité de la GSH-Px dans les organes étudiés chez les rats du groupe HFD+MP par rapport aux rats du groupe HFD seule.

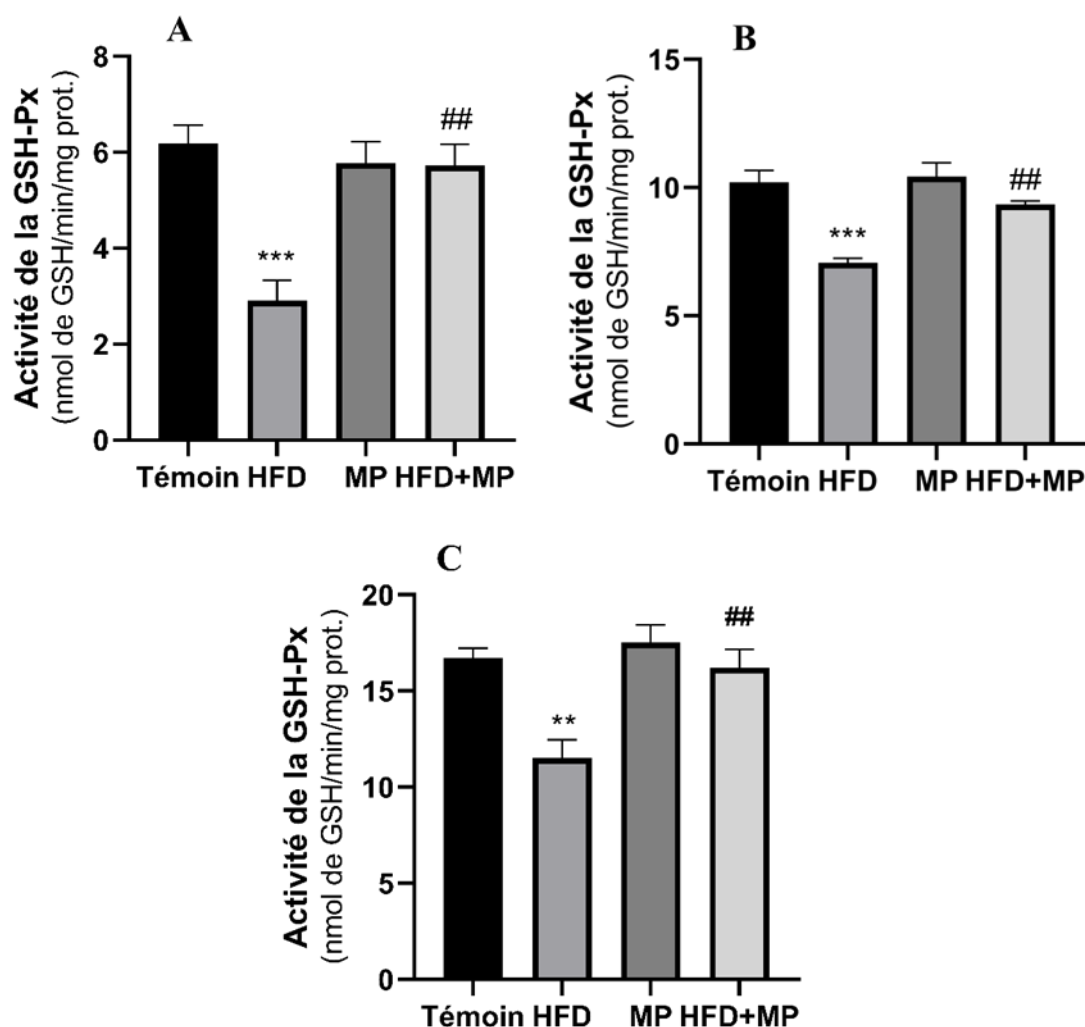


Figure 10. Variation de l'activité enzymatique de la GSH-Px (nmol de GSH/min/mg de protéine) dans le foie (A), les reins (B) et le cœur (C) chez les rats témoins et rats traités.

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM ($n = 6$ rats) ;
(** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) : vs groupe Témoin ;
(## $p < 0,01$) : vs groupe HFD.

2.5.5 Glutathion S transférase

Nos résultats montrent une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité enzymatique de la GSH-Px dans le foie et le rein et une diminution significative ($p < 0,05$) dans le cœur du groupe HFD par rapport au groupe témoin. De plus, la supplémentation de *M. pubescens* provoque une amélioration très hautement significative ($p < 0,001$) dans le rein, hautement significative ($p < 0,01$) dans le foie et significative ($p < 0,05$) dans le cœur chez les rats du groupe HFD+MP par rapport aux rats du groupe HFD seule (Fig. 11).

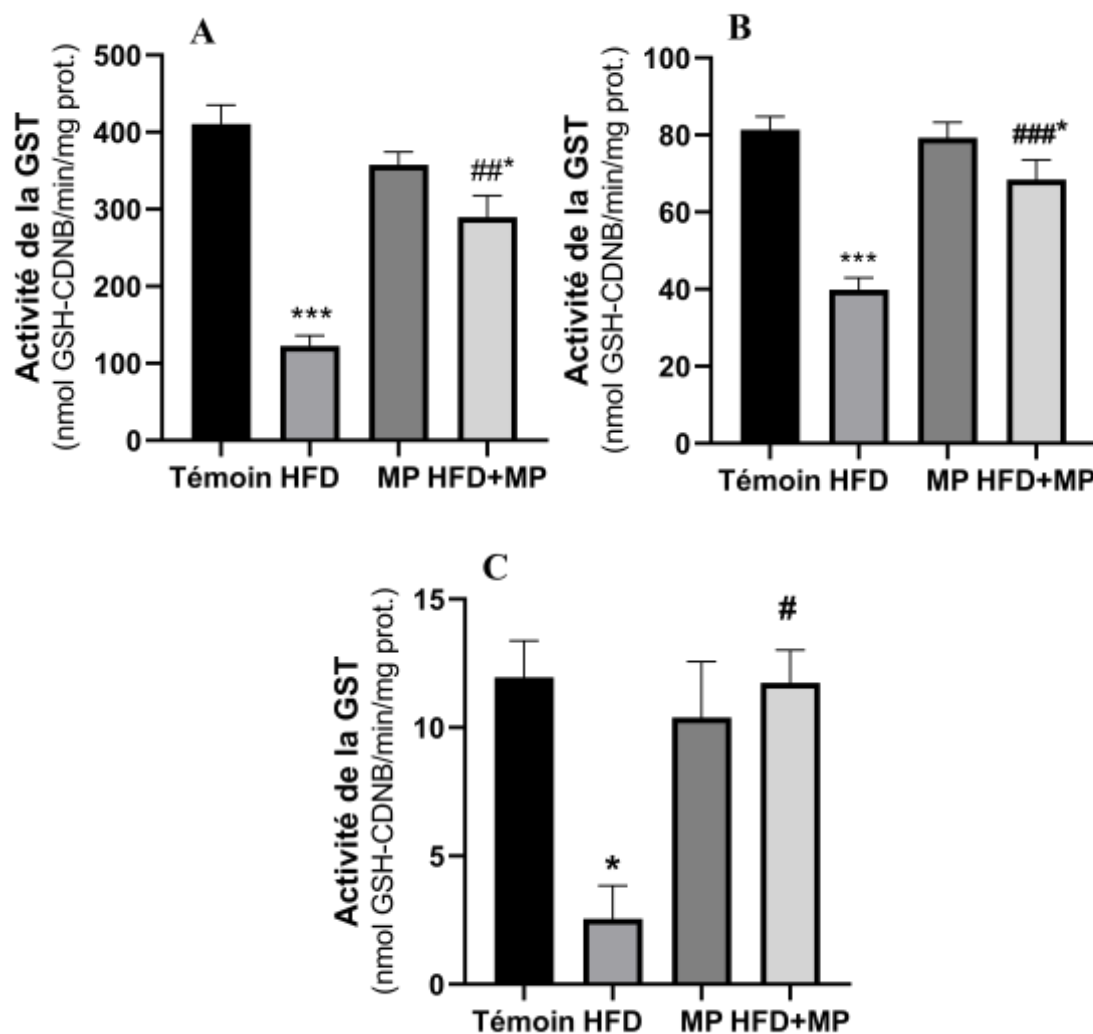


Figure 11. Variation de l'activité enzymatique de la GST (nmol de CDNB/min/mg de protéine) dans le foie (A), les reins (B) et le cœur (C) chez les rats témoins et rats traités.

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 rats) ;

(* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$) : vs groupe Témoin ;

(# $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$) : vs groupe HFD.

2.5.6 Superoxyde dismutase

Les résultats présentés dans la figure 12 montrent une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité enzymatique de la SOD au niveau du foie, rein, cœur et le TA dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Cette diminution est améliorée d'une manière significative au niveau du foie, des reins, du cœur et du TA par la supplémentation en *M. pubescens* chez les rats du groupe HFD+MP par rapport aux rats du groupe HFD seule.

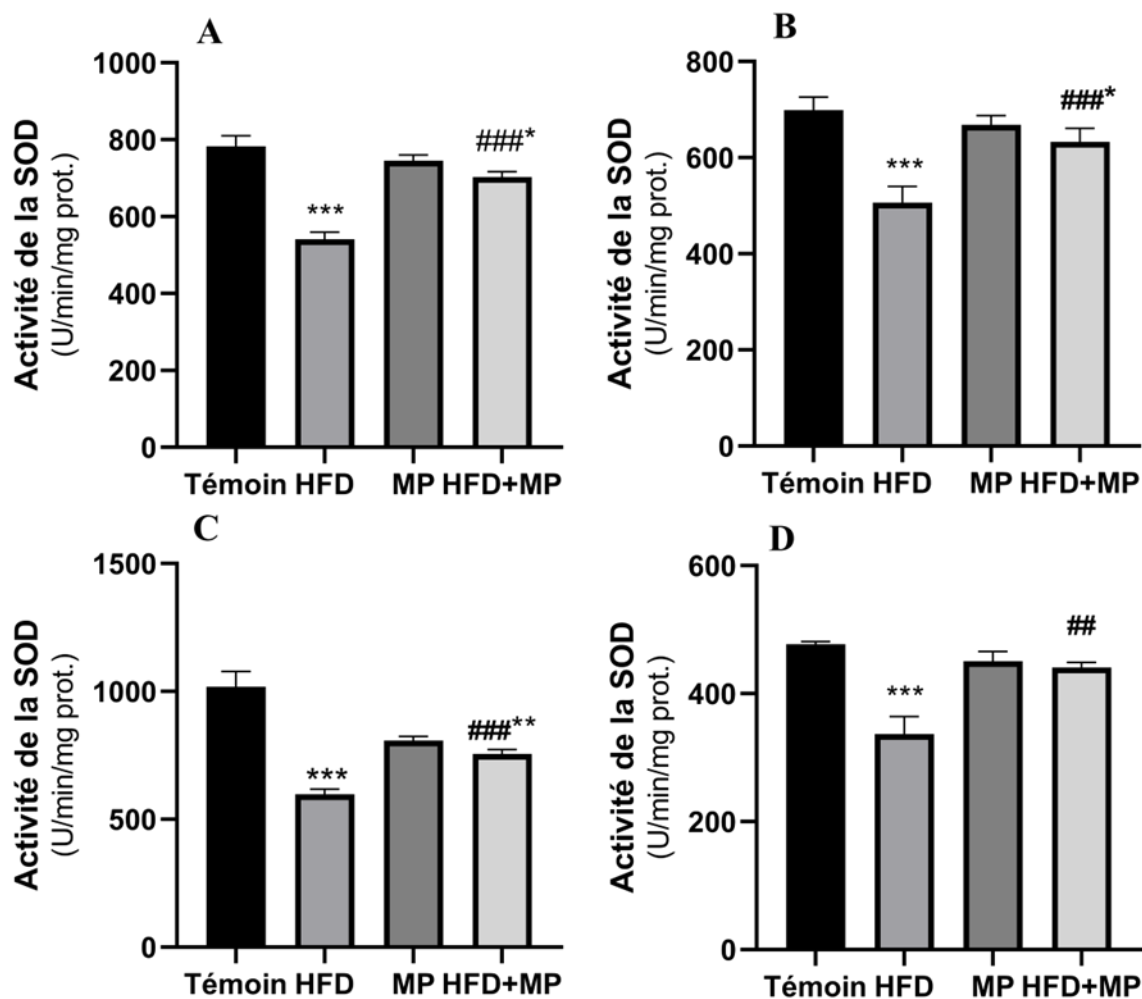


Figure 12. Variation de l'activité enzymatique de la SOD (U/min/mg de protéine) dans le foie (A), les reins (B), le cœur (C) et le TA (D) chez les rats témoins et rats traités.

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 6 rats) ;

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) : vs groupe Témoin ;

(## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$) : vs groupe HFD.

2.5.7 Catalase

La figure 13, montre que la consommation du régime HFD pendant 16 semaines HFD a induit une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité catalasique au niveau du foie, reins et TA et hautement significative ($p < 0,01$) au niveau du et cœur dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Cependant, la supplémentation en *M. pubescens* a provoqué une amélioration très hautement significative ($p < 0,001$) dans le rein, hautement significative ($p < 0,01$) dans le foie, cœur et TA dans le groupe HFD+MP par rapport au groupe HFD (Fig.13).

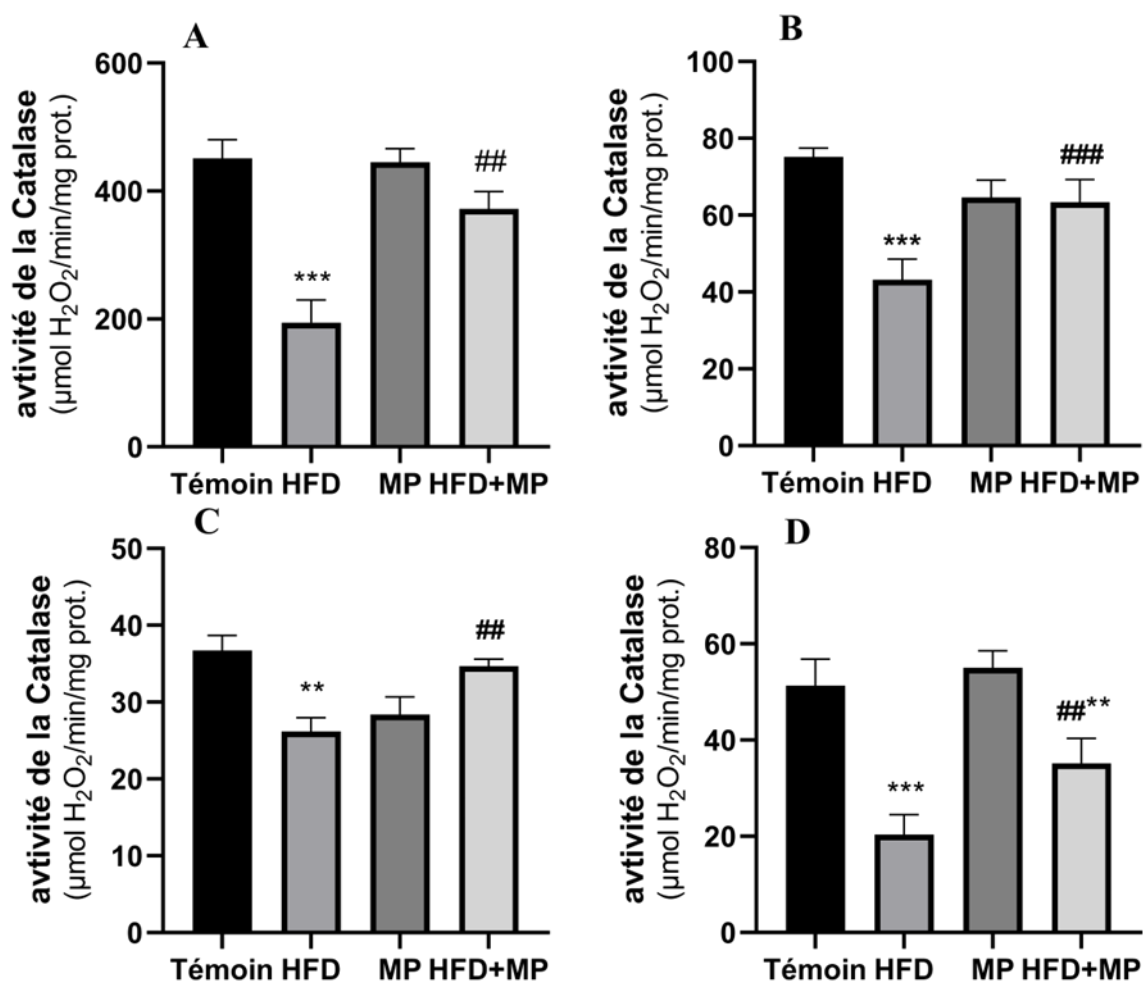


Figure 13. Variation de l'activité enzymatique de la catalase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans le foie (A), les reins (B), le cœur (C) et le TA (D) chez les rats témoins et rats traités.

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM ($n = 6$ rats) ;

(** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) : vs groupe Témoin ;

(## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$) : vs groupe HFD.

2.6 Taux du TNF- α hépatique

La consommation du régime HFD a induit une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du taux du TNF- α hépatique dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Cependant, la supplémentation de *M. pubescens* provoque une amélioration hautement significative ($p < 0,01$) du taux du TNF- α hépatique dans le groupe HFD+MP par rapport au groupe HFD (Fig. 14).

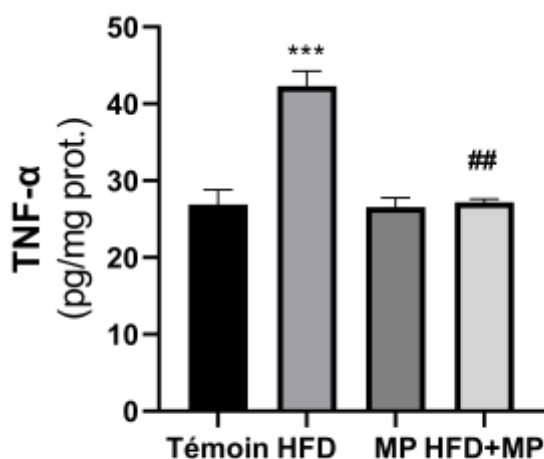


Figure 14. Variation du taux du TNF- α hépatique chez les rats témoins et rats traités.

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM ($n = 6$ rats) ;

(*** $p < 0,001$) : vs groupe Témoin ;

(## $p < 0,01$) : vs groupe HFD.

2.7 Etude histologique

2.7.1 Etude histologique du foie

L'observation microscopique du foie chez le groupe témoin et chez le groupe MP a montré une architecture cellulaire normale avec des cellules hépatiques distinctes, des espaces sinusoidaux et une veine centrale sans aucun signe de dépôt lipidique ou d'hémorragie (Fig. 15 A&C). En revanche, l'observation microscopique du foie chez le groupe HFD a montré de nombreuses caractéristiques dégénérées telles que des hémorragies, des gouttelettes lipidiques, un gonflement et un ballonnement des hépatocytes avec une augmentation volumétrique, un espace clair avec de nombreuses vacuoles, une migration du noyau vers les périphéries et un cytoplasme pâle (Fig. 15 B). Cependant, On observe une amélioration de l'architecture des hépatocytes avec diminution des dépôts lipidique chez les rats traités par la poudre de *M. pubescens* comparativement aux rats recevant le régime HFD (Fig. 15 D).

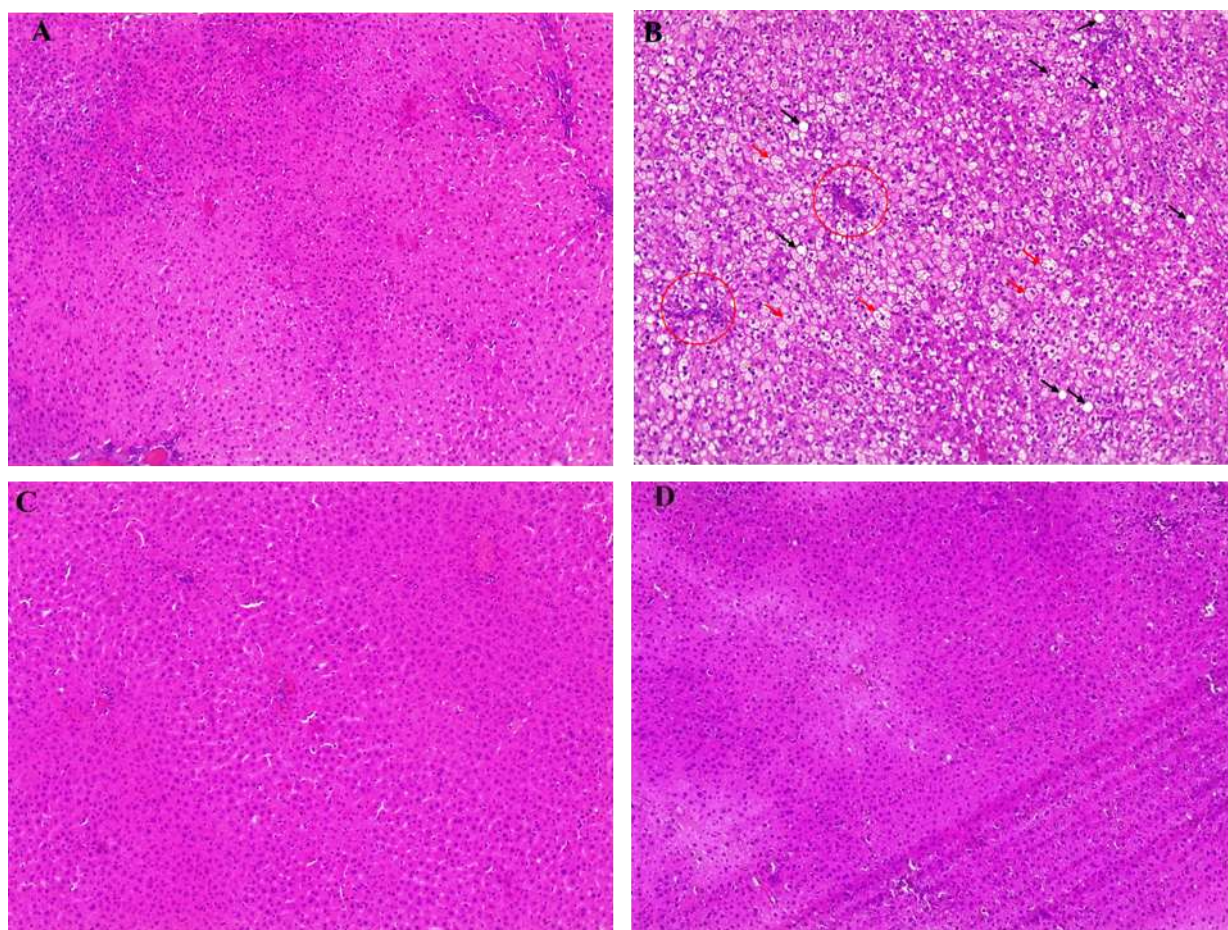


Figure 15. Coupes histologiques du foie colorées à H & E ($\times 100$). (A) : Témoin ; (B) : HFD ; (C) : MP ; (D) : HFD+MP après 16 semaines de traitement. Ballonnement des hépatocyte (flèche rouge), gouttelette lipidique (flèche noire), et hémorragé (cercle rouge).

2.7.2 Etude histologique du rein

L'examen histopathologique des reins a montré une histologie rénale normale avec une architecture glomérulaire et tubulaire normale dans le groupe témoin et le groupe MP (Fig. 16 A&C). En revanche, l'observation des reins du groupe HFD révèle la présence de dépôts lipidiques, une dilatation tubulaire et une atrophie glomérulaire avec dilatation de l'espace de Bowman (Fig. 16 B). En revanche, ces altérations tissulaires sont rétablies par la supplémentation de *M. pubescens* avec une régénération du glomérule et une réduction de l'espace de Bowman par rapport au groupe HFD (Fig. 16 D).

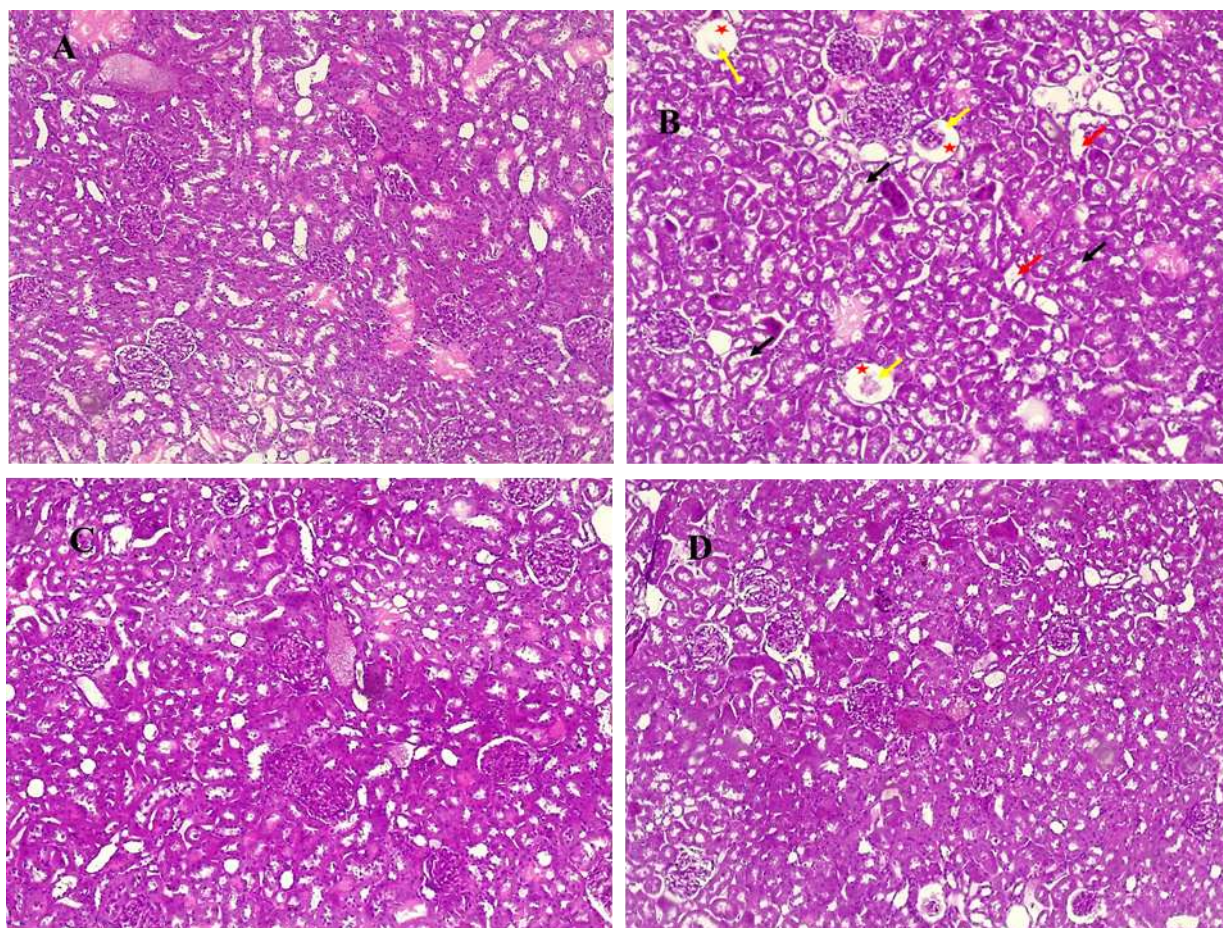


Figure 16. Coupes histologiques du rein colorées à H & E ($\times 100$). (A) : Témoin ; (B) : HFD ; (C) : MP ; (D) : HFD+MP après 16 semaines de traitement. Dépôts lipidique (flèche rouge), dilatation tubulaire (flèche noire), atrophie glomérulaire (flèche jaune), dilatation de l'espace de Bowman (étoile rouge).

2.7.3 Etude histologique du tissu adipeux

L'étude histologique du tissu adipeux épididymaire du groupe témoin et du groupe MP a montré une taille normale des adipocytes (Fig. 17 A&C). En revanche, le groupe HFD a révélé une augmentation de la surface des adipocytes (hypertrophie) avec une diminution du nombre d'adipocytes par rapport au groupe témoin (Fig. 17 B). En outre, l'hypertrophie des adipocytes est améliorée par la supplémentation en *M. pubescens* chez les rats du groupe HFD+MP comparativement au groupe HFD. (Fig. 17 D).

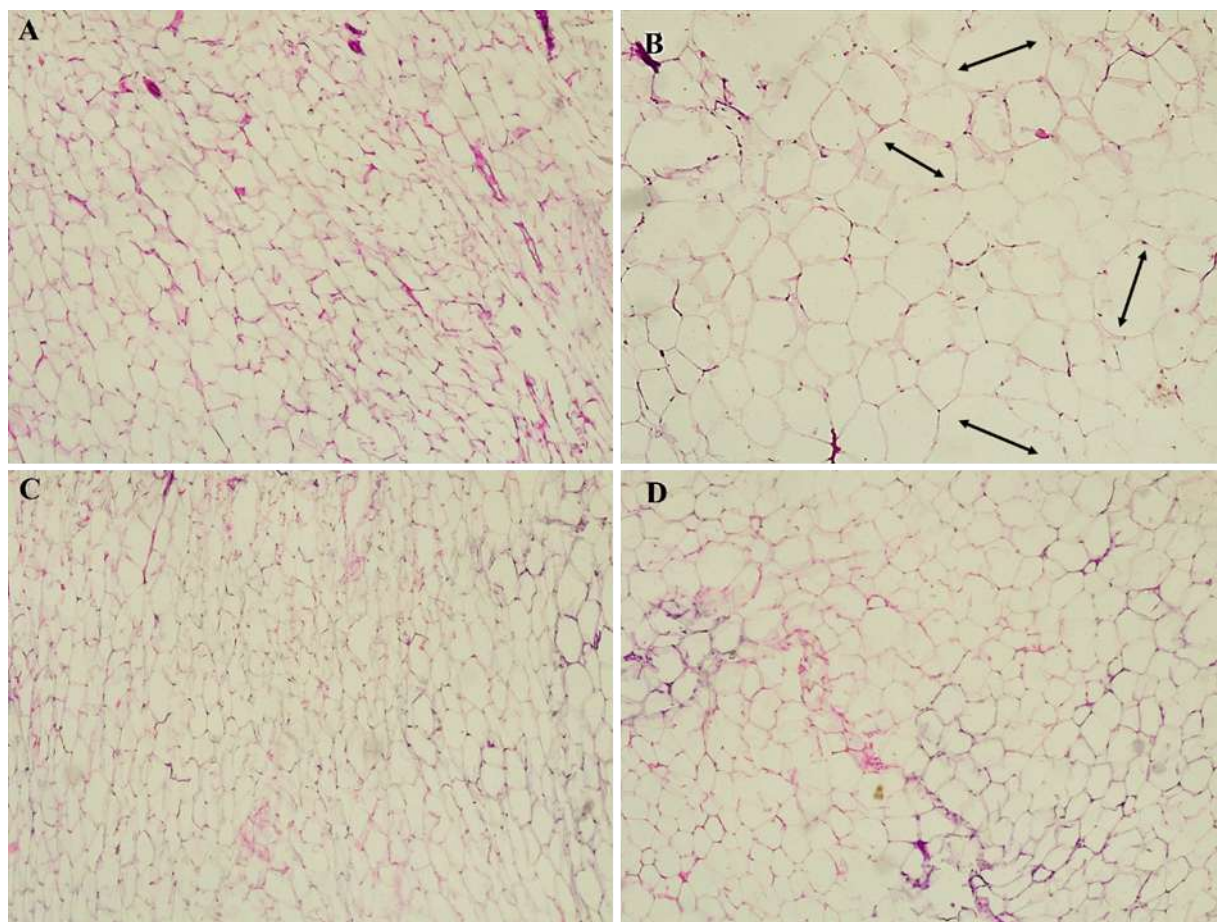


Figure 17. Coupes histologiques du TA colorées à H & E ($\times 100$). (A) : Témoin ; (B) : HFD ; (C) : MP ; (D) : HFD+MP après 16 semaines de traitement. Hypertrophie des adipocytes (double flèche)

IV.2 Discussion

L'obésité est devenue une épidémie croissante associée à diverses maladies non transmissibles, notamment les maladies cardiovasculaires, le diabète, la stéatose hépatique, le syndrome métabolique, ainsi que d'autres affections comorbides et cancers. Elle résulte d'un déséquilibre entre l'apport énergétique et la dépense énergétique, (Liu *et al.*, 2023). Ces dernières années, plusieurs médicaments contre l'obésité sont apparus sur le marché, mais ils présentent tous des effets secondaires. Ce problème a conduit les personnes obèses à se tourner vers les plantes médicinales pour prévenir et traiter l'obésité (Molina-Tijeras *et al.*, 2023). Les plantes médicinales jouent un rôle majeur dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques et ont attiré beaucoup d'attention en tant que sources de composés phytochimiques, en particulier les polyphénols, les flavonoïdes et les coumarines, qui pourraient être utiles contre l'hyperlipidémie et réduire le risque de maladies dégénératives (Hajinezhad *et al.*, 2023).

Les objectifs de cette étude sont :

- ❖ L'identification des composés phytochimiques présents dans *M. pubescens* et évaluer les activités anti oxydantes et biologique *in vitro* de cette plante.
- ❖ Mettre en évidence les effets protecteurs de *M. pubescens* sur certains paramètres physiologiques, biochimiques, inflammatoire, stress oxydatif et histologique au niveau de quelques organes notamment le foie, les reins, le cœur et le tissu adipeux chez des rats obèses recevant un régime hyper gras.

Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et biologique *in vitro* de *M. pubescens*

L'extraction des composés phytochimiques présents dans les extraits aqueux et éthanolique de *M. pubescens* a été effectuée par macération à froid pendant 24h. En effet, il a été observé que l'extrait aqueux présente un rendement supérieur à celui de l'extrait éthanolique (17,54% ; 7,37%, respectivement). Ces résultats sont différents par rapport à ceux obtenus par **Metrouh-Amir *et al.*, (2015)** qui ont trouvé que l'extrait éthanolique présente un rendement supérieur à celui de l'extrait aqueux. De plus, les résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux révèlent que l'extrait éthanolique présente la concentration la plus élevée en polyphénols et flavonoïdes totaux ($17,67 \pm 0,29$ mg EAG/g ; $21,79 \pm 0,02$ mg ER/g, respectivement) par rapport à l'extrait aqueux ($12,01 \pm 0,20$ mg EAG/g ; $0,16 \pm 0,04$ mg ER/g, respectivement). Nos résultats sont en accord avec les études menées par **Metrouh-Amir *et***

al., (2015). Ces auteurs ont rapporté que l'extrait éthanolique est riche en polyphénols et en flavonoïdes par rapport à l'extrait aqueux.

La différence du rendement d'extraction dépend de nombreux paramètres, tels que le temps d'extraction, l'espèce végétale, l'organe utilisé pour l'isolement et la composition des métabolites secondaires, la zone et la période de récolte de la plante (Pinelo *et al.*, 2005). En plus de ces paramètres, la méthode et le solvant d'extraction appliquée influence la qualité et la quantité de l'extrait obtenu. Dans la présente étude, la méthode de macération sous agitation à température ambiante et pression réduite permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants afin d'obtenir le maximum des composés phytochimiques (Hellal *et al.*, 2020). Les solvants de différentes polarités ont la capacité de solubiliser et de récupérer différents composés, et le ratio du solvant utilisé a un impact sur la quantité des composés phénoliques extraits ce qui pourrait expliquer la différence dans le rendement d'extraction et les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux présents dans nos extraits (Dai et Mumper, 2010).

LC-MS/MS a été largement utilisée dans les analyses qualitative et quantitative pour l'identification des composés phytochimiques, offrant une sélectivité et une sensibilité élevées par rapport à d'autres méthodes chromatographiques (Yilmaz, 2020). Dans cette étude, l'analyse des extraits éthanolique et aqueux de *M. pubescens* a été réalisée par LC-MS/MS, conduisant à l'identification de 32 composés phytochimiques. Il est à noter que l'extrait éthanolique contient 30 composés phytochimiques, tandis que l'extrait aqueux en contient 17, confirmant ainsi les résultats précédents concernant la teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes dans les deux extraits. Parmi ces composés, on note la présence des Benzopyrone (Coumarine), des acides non phénoliques (acide quinique, acide fumarique et l'acide aconitique), des aldéhydes phénoliques (aldéhyde protocatéchique et vanilline), des acides phénoliques (acide gallique, acide protocatéchique, acide chlorogénique, acide tannique, acide 4-oh benzoïque, acide caféique, acide p-coumarique, acide o-coumarique, acide férulique, acide salicylique et l'acide rosmarinique) et des flavonoïdes (lutéoline 7-O-glucoside, rutine, isoquercitrine, hespéridine, génistéine, cosmosiin, astragaline, nicotiflorine, quercétine, naringénine, lutéoléine, kaempférol, apigénine, chrysine et l'acacétine) (Yilmaz, 2020).

D'autre part, Ignatiadou *et al.*, (2022) révèlent la présence de 25 composés phytochimiques dans l'extrait méthanolique de *M. pubescens*, parmi lesquels l'acide chlorogénique, la cosmosiin, la quercétine, la lutéoline et l'apigénine ont été identifiés.

Cette richesse en composés phytochimiques entraîne nécessairement une activité antioxydante puissante, car ces composés sont capables de neutraliser les radicaux libres en fournissant un électron ou un atome d'hydrogène à un certain nombre d'espèces réactives de l'oxygène, de l'azote ou du chlore. Cela réduit les dommages moléculaires causés par le stress oxydatif et préserve la santé humaine (**Altay et al., 2022 ; Karatas et al., 2022**). Pour cela, l'activité antioxydante des extraits de *M. pubescens* a été évalué *in-vitro* par six méthodes, y compris DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, activité de chélation des métaux et la capacité antioxydante totale, qui nous permet de mieux apprécier le potentiel antioxydant de ces composés.

Le DPPH et l'ABTS sont parmi les radicaux libres stables les plus utilisés pour Tester l'activité antiradicalaire des antioxydants en raison de leur rapidité et de leur simplicité. Le principe de cette technique repose sur la réduction du radical DPPH, de couleur violette, et de l'ABTS, de couleur bleue, en composés non radicalaires. La décoloration du mélange est proportionnelle à la concentration de l'antioxydant (**Karagecili et al., 2023**). Nos résultats montrent que les extraits aqueux et éthanolique de *M. pubescens* présentent une activité antiradicalaire puissante (DPPH : $21 \pm 0,77$; $14,19 \pm 0,70$ mg ET/g et ABTS : $76,15 \pm 1,10$; $64,88 \pm 1,41$ mg ET/g, respectivement), avec une forte activité antiradicalaire dans l'extrait aqueux.

Le pouvoir réducteur des extraits aqueux et éthanolique de *M. pubescens* a été évalué par la méthode FRAP et CUPRAC. Ces méthodes sont basées sur la capacité des antioxydants de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en ferreux (Fe^{2+}) et le et les ions cuivriques (Cu^{2+}) en cation cuivrique (Cu^{+}) (**AL-Hmadi et al., 2023**). Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique et aqueux de *M. pubescens* présentent un pouvoir réducteur puissant (FRAP : $44,78 \pm 0,12$; $35,23 \pm 0,60$ mg ET/g et CUPRAC : $74,37 \pm 1,01$ mg ET/g ; $42,08 \pm 0,23$ mg ET/g, respectivement), avec un pouvoir réducteur puissant dans l'extrait éthanolique.

La chélation des ions métalliques est également une méthode courante pour empêcher la libération d'espèces réactives de l'oxygène pendant la catalyse des métaux redox-actifs. Cette activité est considérée comme un mécanisme antioxydant intéressant puisqu'elle diminue la production des radicaux hydroxyles à partir des ions métalliques lors de la peroxydation des lipides. En raison de leur capacité à déplacer des électrons simples, le fer et d'autres métaux de transition sont des pro-oxydants cruciaux dans le processus d'oxydation, facilitant ainsi l'initiation et la propagation d'une grande variété de réactions radicalaires (**Yener et al., 2020 ; Izol et al., 2021**). L'évaluation de l'activité de chélation des métaux des extraits de *M.*

pubescens montre que l'extrait aqueux présente une activité ($14,88 \pm 0,28$ mg EEDTA/g) supérieur à ce de l'extrait éthanolique ($18,44 \pm 0,27$ mg EEDTA/g).

La mise en évidence de la capacité antioxydante totale de nous extraits a été estimée en utilisant le phosphomolybdène. L'activité antioxydante totale est exprimée en équivalent mmol de trolox /g d'extrait sec. On note que l'extrait éthanolique de *M. pubescens* présent une capacité antioxydante totale ($1,82 \pm 0,02$ mmol ET/g) supérieur à ce de l'extrait aqueux de *M. pubescens* ($0,6 \pm 0,01$ mmol ET/g).

D'après ces tests, on peut dire que l'extrait aqueux et éthanolique de *M. pubescens* sont dotés de forte activité antioxydante qui lui permette de neutraliser les radicaux libres grâce à leur richesse en composés phytochimiques, ce qui concorde avec les résultats de l'activité antioxydante de *M. pubescens* obtenu par des études antérieures (**Metrouh-Amir et al., 2015 ; Laouini et al., 2016 ; Kherraz et al., 2019 ; Metrouh-Amir et Amir 2023**).

De plus, dans la recherche de nouveaux agents thérapeutiques, les chercheurs se tournent de plus en plus vers l'utilisation des substances naturelles dotées d'activités biologiques, principalement en raison de leur grande efficacité, mais aussi de leur faible nombre d'effets secondaires (**Yilmaz et al., 2023**). Pour cela, Jusqu'à présent, il n'y a pas d'étude sur l'activité inhibitrice enzymatique de *M. pubescens* dans la littérature. Par conséquent, nous rapportons ici les propriétés d'inhibition enzymatique des d'extraits aqueux et éthanolique de *M. pubescens* sur l'AChE et BChE, la tyrosinase, l' α -glucosidase et l' α -amylase.

L'Alzheimer est une maladie neurodégénérative la plus répandue et la principale cause de démence chez les personnes âgées. Cette maladie neurologique résulte d'un manque d'acétylcholine et se caractérise par une dégénérescence accrue du tissu cérébral. Les cholinestérases (AChE et BChE) sont identifiés comme les acteurs clés de l'hydrolyse d'acétylcholine dans le corps humain. (**Anil et al., 2022**). De ce fait, on note que l'extrait éthanolique et aqueux de *M. pubescens* présentent une activité inhibitrice de l'AChE et BChE (AChE : $2,5 \pm 0,30$; $0,03 \pm 0,01$ mg EGALA/g, BChE : $2,85 \pm 0,34$; $2,14 \pm 0,17$ mg EGALA/g, respectivement) avec une forte activité inhibitrice dans l'extrait éthanolique.

La tyrosinase joue un rôle essentiel dans la biosynthèse de la mélanine, entraînant ainsi le phénomène de brunissement observé dans les fruits, les légumes et les champignons en cas de meurtrissure ou de stockage prolongé. Chez les mammifères, la tyrosinase contribue non seulement à la pigmentation des cheveux et de la peau, mais elle influence également les conditions cutanées, donnant lieu à une hypopigmentation (comme le vitiligo) ou à une

hyperpigmentation (se manifestant par des taches ou des taches de rousseur). Cela a conduit à un intérêt accru pour la recherche d'inhibiteurs puissants de la tyrosinase, en faisant ainsi une priorité dans les domaines de l'agriculture, de l'alimentation, de la médecine et de la cosmétique (Del Marmol et Beermann, 1996 ; Cohen *et al.*, 2020 ; Mermer et Demirci, 2023). Notre résultat montre que l'extrait éthanolique et aqueux de *M. pubescens* présentent une activité inhibitrice de la tyrosinase ($41,99 \pm 1,74$; $31,66 \pm 0,50$ mg EAK/g) avec une forte activité inhibitrice dans l'extrait éthanolique.

Le diabète est un problème de santé courant qui s'accompagne d'une élévation de la glycémie pouvant entraîner des complications graves, notamment une néphropathie, une neuropathie et des maladies cardiovasculaires. Dans la prise en charge du DT2, l'inhibition du α -amylase pancréatiques et α -glucosidase intestinale qui sont responsables de la dégradation des glucides alimentaires, peut retarder l'absorption du glucose, réduire la digestion des glucides et diminuer le taux de sucre dans le sang (Amalfitano *et al.*, 2001 ; Ademiluyi et Oboh, 2013). Les résultats de la recherche actuelle révèlent que l'extrait éthanolique de *M. pubescens* est active contre l' α -Amylase et l' α -Glucosidase avec une activité inhibitrice puissante ($0,38 \pm 0,005$; $2,09 \pm 0,1$ mg EACA/g, respectivement) par contre l'extrait aqueux de *M. pubescens* présente une faible activité inhibitrice contre l' α -Amylase ($0,04 \pm 0,001$ mg EACA/g) et aucune activité sur l' α -Glucosidase.

Cette variabilité quantitative et qualitative en composés phytochimique est à l'origine des activités antioxydantes et inhibitrices exercées par l'extrait éthanolique et aqueux de *M. pubescens*. De plus, plusieurs études ont signalé que la majorité de ces composés phytochimiques ont des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, hypoglycémiques, hypolipidémiques, antivirale, antibactérienne, antifongique, antiproliférative et neuroprotecteur (Asgari-Kafrani *et al.*, 2020 ; Miah *et al.*, 2021 ; Siddiqua *et al.*, 2021 ; Alyahya *et al.*, 2023 ; Lekmine *et al.*, 2023).

Impact du régime hyper gras sur la variation des paramètres physiologiques, biochimiques, stress oxydatif et histologiques : Effets protecteurs de la supplémentation en *M. pubescens*

Nos résultats montrent que le régime HFD provoque une augmentation significative du poids corporel, poids du TA épididymaire, l'IMC, circonférence thoracique et abdominale dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin après 16 semaines de traitement. Cette prise de poids pourrait être attribuée au niveau élevé des acides gras saturés et la densité d'énergie dans le régime HFD qui ont été impliqués dans l'accumulation de graisse et l'augmentation du poids aussi bien chez l'homme que chez le rat (**Sampey et al., 2011 ; Shang et al., 2017**).

L'augmentation du poids du TA est une caractéristique essentielle de l'obésité et décrit son niveau de gravité. Cette augmentation résulte du déséquilibre énergétique provoqué par le régime HFD qui favorisant le stockage des acides gras dans les cellules adipeuses. Ce stockage se produit d'abord par l'augmentation de la taille des cellules (hypertrophie), puis par leur multiplication (hyperplasie) (**Li et al., 2015**). Les observations histologiques du TA épididymaire dans le groupe HFD ont révélé une augmentation de la surface des adipocytes (hypertrophie), confirmant ainsi cette hypertrophie.

De plus, l'augmentation du poids corporel et du TA est associée avec l'augmentation de l'IMC, une méthode pratique et standard pour évaluer la quantité des graisses corporelle et offre une mesure plus précise que le poids corporel seul (**Novelli et al., 2007**). Par conséquent, il existe une corrélation entre la circonférence thoracique et abdominale et le risque de développer des maladies cardiovasculaires liées à l'obésité. Des recherches ont montré qu'une diminution de 1 cm de la circonférence thoracique et abdominale correspond à une réduction de 1 kg de graisse viscérale. De plus, chaque augmentation de 1 cm de la circonférence thoracique et abdominale multiplie le risque de développer une hypertension (**Michishita et al., 2010**).

Cependant, le traitement par *M. pubescens* a entraîné une diminution du poids corporel, de l'IMC, de la circonférence thoracique et abdominale. Elle a également réduit le poids du TA épididymaire et la surface des adipocytes dans le groupe HFD+MP par rapport au groupe HFD, sans modifier la quantité de nourriture consommée. Cette diminution peut être attribuée à la présence d'acide chlorogénique et d'acide caféique. Ces composés inhibent l'expression des gènes impliqués dans la synthèse des acides gras, ainsi que l'adipogénèse et la prolifération des adipocytes (**Liu et al., 2021 ; Liang et al., 2022**).

D'autre part, le groupe HFD a développé une hyperglycémie et une RI, ce qui est observé par les niveaux élevés du glucose sérique et l'indice TyG par rapport au groupe témoin. Ces résultats sont similaires aux résultats rapportés par **Fki *et al.*, (2020)** et **Miah *et al.*, (2021)**. L'IR désigne la capacité réduite de l'insuline à favoriser l'absorption du glucose. Elle peut également être définie comme une situation dans laquelle les cellules sont incapables de s'adapter aux niveaux d'insuline circulant dans le sang (**Kahn *et al.*, 2006**).

L'alimentation riche en acides gras saturés est un facteur important dans la pathogenèse de l'IR (**Sampey *et al.*, 2011**). De plus, des études récentes menées sur des humains et des souris suggèrent que le responsable du développement de l'IR est l'hypertrophie cellulaire des adipocytes (**Johnson et Olefsky, 2013**). Ces dernières contiennent des macrophages, qui sécrètent un excès de cytokines pro-inflammatoires, en particulier le TNF- α . Ces cytokines agissent sur les cellules cibles de l'insuline par un mécanisme paracrine, conduisant directement à l'IR (**Orliaguet *et al.*, 2020**). Le TNF- α active des kinases intracellulaires telles que la c-Jun N-terminal kinase et l'I-kB kinase. Ces kinases inhibent la signalisation du récepteur à l'insuline en phosphorylant le substrat du récepteur à l'insuline 1 au niveau de la sérine. De plus, l'activation des facteurs de transcription AP-1 et NF- κ B entraîne un mécanisme d'auto-alimentation par lequel la production des cytokines pro-inflammatoires est exacerbée. Si l'ampleur de la sécrétion de cytokines est suffisamment grande, elles peuvent s'échapper du tissu, élevant les niveaux circulants, pour produire des effets endocriniens sur les systèmes d'organes distants, tels que les muscles et le foie, provoquant ainsi la résistance systémique à l'insuline (**Johnson et Olefsky, 2013 ; Behl *et al.*, 2021**).

Le régime HFD augmente également l'accumulation des lipides et l'inflammation hépatique, inhibant ainsi la néoglucogenèse en réduisant la sensibilité à l'insuline et en augmentant la libération de glucose, provoquant l'hyperglycémie (**Samuel et Shulman, 2012**). Cependant, l'administration de *M. pubescens* a réduit l'hyperglycémie et l'IR dans le groupe HFD+MP par rapport au groupe HFD. Ces effets bénéfiques peuvent être dus à l'acide quinique, à la lutéoline et à la cosmosiin, dont l'effet hypoglycémiant a été signalé (**Bakaç *et al.*, 2023**). Ce résultat est confirmé par **Amssayef *et al.*, (2020)** qui a examiné l'effet hypoglycémiant de *M. pubescens* chez des rats diabétiques.

En outre, le régime HFD a augmenté les niveaux de triglycérides dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Cependant, le taux de cholestérol total est resté inchangé dans tous les groupes expérimentaux. Nos données sont cohérentes avec les résultats obtenus par

Gasparini et al., (2021) et **Huang et al., (2017)** qui ont trouvé que le régime HFD ne modifiait pas le taux de cholestérol chez les rats nourris avec un régime riche en graisses. Les niveaux élevés de triglycérides peuvent être directement attribués à la composition de la graisse de mouton, qui est principalement composée d'acides gras saturés et monoinsaturés ou d'AGL libérés par le TNF- α à partir des adipocytes suite à l'activation de l'enzyme lipase hormono-sensible (**Ventura et al., 2017 ; Garcia et al., 2019**). Néanmoins, la supplémentation de *M. pubescens* dans le groupe HFD+MP a amélioré l'hypertriglycéridémie par rapport au groupe HFD. Nos résultats sont également en accord avec l'étude menée par **Amssayef et al., (2021)** qui ont rapporté que *M. pubescens* peut réduire les niveaux élevés de triglycérides et présenter un effet hypolipidémiant chez les rats diabétiques. Cet effet hypolipidémiant peut être dû à la présence des flavonoïdes tels que la quercétine et des acides phénoliques tels que l'acide gallique et l'acide caféique, qui modifient l'expression du récepteur actif de prolifération peroxysomale γ et réduisent les niveaux de TG et d'AGL non estérifiés (**Asgari-Kafrani et al., 2020 ; Liang et al., 2022**).

Dans notre étude expérimentale, la concentration en TNF- α hépatique a été significativement augmentée dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Ces résultats sont en accord avec **Felemban et al., (2023)** et **Sena et al., (2018)** qui ont rapporté que le régime HFD induit l'augmentation de la concentration des marqueurs de l'inflammation chez les rats. En effet, l'inflammation chronique est considérée comme une caractéristique fréquente de l'obésité et du syndrome métabolique, marquée par des niveaux élevés de cytokines pro-inflammatoires, principalement le TNF- α (**Andersen et al., 2016**). Ce dernier pourrait être produit dans le foie par les cellules de Kupffer qui répondent à deux principaux types de stimuli : les motifs moléculaires associés au danger intra-hépatique (MMADs), qui sont libérés par les infiltrations lipidiques et les hépatocytes endommagés, et les antigènes bactériens d'origine intestinale, également connus sous le nom de motifs moléculaires associés aux pathogènes (MMAPs), qui se transloquent de l'intestin vers le foie en raison d'une barrière épithéliale intestinale altérée (**Alisi et al., 2011**). À la fois les MMADs et les MMAPs se lient aux récepteurs de type Toll à la surface des cellules de Kupffer et activent la voie intracellulaire du NF- κ B, qui est la voie de signalisation clé pour la transcription du TNF- α , ainsi que d'autres cytokines et chimiokines (**Liu et al., 2017**). Il est important de noter que la lipotoxicité causée par l'accumulation des graisses dans les hépatocytes contribuent également à la production de TNF- α via l'interaction entre les MMADs /MMAPs et les TLR, bien que dans une moindre mesure (**Alisi et al., 2011**).

De plus, le TNF- α d'origine extra-hépatique, provenant des tissus adipeux dysfonctionnels, est transporté vers le foie via la circulation systémique, accompagné d'autres cytokines et adipokines (**Polyzos et al., 2009 ; Johnson et Olefsky, 2013**). Par contre, le niveau de TNF- α hépatique a été réduit après traitement par *M. pubescens* dans le groupe HFD+MP par rapport au groupe HFD. L'effet anti-inflammatoire de *M. pubescens* peut être dû à la présence de lutéoline 7-O-glucoside et d'apigénine, qui inhibe l'expression de l'ARNm du TNF- α et diminue l'expression d'autres cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 6 et 1 β (**De Stefano et al., 2021 ; Al-Khayri et al., 2022**). En outre, la réduction du niveau de TNF- α pourrait être responsable de la perte du poids corporel, de l'amélioration de l'IR, de l'hyperglycémie et de l'hypertriglycéridémie (**Ventura et al., 2017**).

Nous résultats montrent également une augmentation hautement significative du taux sérique en créatinine et en acide urique associé avec des dépôts lipidique, dilatation tubulaire et d'une atrophie glomérulaire avec dilatation de l'espace de Bowman dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Ce qui est similaire aux résultats trouvés par **Ben Salem et al., (2022)** et **Chowdhury et al., (2022)**. La néphropathie est l'une des complications majeures associée à l'obésité dans le dernier siècle. Une étude à grande échelle portant sur 320 000 personnes a montré que le risque d'apparition d'une néphropathie augmentait de manière progressive à mesure que l'IMC augmentait, après ajustement pour la présence d'hypertension, de diabète, d'antécédents de tabagisme et de maladies cardiovasculaires chez le patient (**Hsu et al., 2006**). Une autre étude expérimentale récente sur des sujets humains a montré que les individus obèses présentaient un risque plus élevé de néphropathie par rapport aux sujets de poids normal (**Alizadeh et al., 2019**).

Le mécanisme par lequel l'obésité contribue aux lésions rénales est le suivant : chez les individus obèses, le TA sécrète du TNF- α , de l'IL-6 et de l'adiponectine. Parmi eux, l'augmentation des facteurs pro-inflammatoires TNF- α et IL-6, ainsi que la diminution du facteur anti-inflammatoire adiponectine, favorisent la réponse inflammatoire et l'IR, et provoquent des lésions rénales (**Reilly et Saltiel, 2017**). Les taux élevés de triglycérides et d'AGL, ainsi que les métabolites toxiques tels que les céramides, induisent une lipotoxicité qui conduit à des dommages glomérulaires et tubulaires (**Adeosun et al., 2018**). De même, le SRAA peut également être activé par l'obésité et favoriser l'infiltration des macrophages, l'inflammation, la vasodilatation rénale et l'ultrafiltration glomérulaire par une réaction en cascade (**Farias Lelis et al., 2019 ; Du et al., 2019**). Le mécanisme physiopathologique décrit

ci-dessus conduit au développement d'une glomérulopathie liée à l'obésité et se caractérise par une glomérulomégalie (**Wang et al., 2022**). Lorsque la taille du glomérule augmente, les podocytes sont contraints d'augmenter de taille et d'étendre leurs processus pour compenser les zones dénudées, maintenant ainsi l'intégrité de la barrière de filtration. Cependant, étant donné que ces cellules ne peuvent pas se diviser et se différencier, et que leur capacité à se dilater ne correspond pas à l'augmentation de la taille du glomérule, cet effort n'est pas suffisant pour maintenir la barrière de filtration. Elles sont donc soumises à des forces de tension et de stress. Cette situation atteindra un point critique pour les podocytes, qui finiront par se détacher et tomber dans l'urine, conduisant ainsi à une atrophie glomérulaire (**D'Agati et al., 2016 ; Corrales Cordón et García Carrasco, 2024**).

Il est intéressant de noter que l'administration de *M. pubescens* dans le groupe HFD+MP a amélioré les niveaux sériques de créatinine et d'acide urique et amélioré l'architecture tissulaire rénale avec régénération du glomérule et réduction de l'espace de Bowman et des tubules par rapport au groupe HFD. Cette amélioration peut être due aux flavonoïdes et polyphénols présentés dans *M. pubescens*.

Nos résultats ont montré une augmentation significative du poids relatif du foie et des taux sériques d'AST, ALT, PAL, de bilirubine directe et totale associée à une perte de l'architecture tissulaire du foie (hémorragies, des gouttelettes lipidiques, un gonflement et un ballonnement des hépatocytes et une migration du noyau vers les périphéries) dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Des études similaires ont suggéré que l'accumulation des triglycérides et d'AGL provenant du TA dans le foie induit une lipotoxicité qui conduit à des lésions hépatiques, des fuites cellulaires et une perte d'intégrité fonctionnelle des hépatocytes, ce qui explique les taux élevés d'AST, ALT et PAL sérique (**Goorani et al., 2018 ; Fki et al., 2020**).

Plusieurs facteurs conduisent à l'accumulation des lipides dans le foie, parmi eux le mode de vie sédentaire, le régime riche en matières grasses, l'obésité et l'IR. Ces facteurs stimulent des cascades inflammatoires, des changements moléculaires et métaboliques se produisant de manière synergique dans le développement et la progression de NASH (**Peeverill et al., 2014, Buzzetti et al., 2016**). La lipotoxicité hépatique se produit lorsque la capacité du foie à utiliser, stocker et exporter les AGL sous forme de triglycérides est submergée par un flux massif d'AGL provenant de la périphérie, principalement des tissus adipeux, ou par une lipogenèse hépatique *de novo* accrue, tous les deux étant des caractéristiques de l'IR et de

NASH (**Rada et al., 2020**). En effet, Les hépatocytes endommagés pendant la lipotoxicité libèrent des cytokines, des chimiokines, des vésicules extracellulaires et d'autres molécules intracellulaires qui peuvent activer les cellules hépatiques non parenchymateuses, y compris les cellules de Kupffer, les cellules étoilées hépatiques et les cellules endothéliales sinusoidales hépatiques, ainsi que le recrutement d'autres populations de cellules immunitaires. Durant la NASH, les cellules Kupffer acquièrent un phénotype pro-inflammatoire et sécrètent plusieurs cytokines et chimiokines, ce qui déclenche à son tour le recrutement d'autres cellules immunitaires, y compris les monocytes, amplifiant l'inflammation hépatique (**Hirsova et al., 2016 ; Koyama et Brenner 2017 ; Kazankov et al., 2019**).

Par ailleurs, la supplémentation de *M. pubescens* dans le groupe HFD+MP a amélioré les changements histologiques et les marqueurs hépatiques sériques avec une réduction significative du poids relatif du foie par rapport au groupe HFD. L'effet hepatoprotecteur de *M. pubescens* est probablement dû à la présence d'acide férulique. Une étude de **Luo et al., (2022)** a révélé que l'acide férulique diminuait l'accumulation des lipides dans le foie et prévenait NASH chez les souris C57BL/6 ayant reçu un régime riche en gras.

Ce résultat est confirmé par **Boubellouta et al., (2021)** qui ont examiné l'effet hepatoprotecteur de *M. pubescens* sur les lésions hépatiques induites par le tétrachlorure de carbone chez les rats Wistars.

Le stress oxydatif est une voie commune qui relie l'obésité et ses complications. Il est défini comme un déséquilibre entre les systèmes de défenses antioxydantes et la production des radicaux libres. Cet environnement oxydatif pourrait être l'un des principaux déterminants qui déclenchent d'autres mécanismes impliqués dans les dommages tissulaires, tels que l'inflammation, la surproduction de la matrice extracellulaire, l'activation du stress du réticulum endoplasmique et la perturbation du flux autophagique (**Martínez-Martínez et Cachofeiro, 2022**).

Les AOPP sont des marqueurs protéiques du stress oxydatif, qui jouent un rôle dans l'obésité. Ils représentent l'état global des protéines dans les cellules. Ils sont connus comme des substances pro-inflammatoires et pro-oxydantes qui s'accumulent chez les patients obèses avec l'IR. Ils augmentent également la prévalence accrue de la dysfonction endothéliale ou des maladies cardiovasculaires chez les patients obèses atteints du syndrome métabolique (**Uribarri et al., 2015, Sanchez et al., 2017**). De plus, l'obésité entraîne augmentation du taux

des lipides dans l'organisme, ce qui rend les cellules plus susceptibles à la peroxydation lipidique. L'augmentation de la peroxydation lipidique peut être survenue en raison d'une glycation accrue des protéines dans l'état d'IR, car les protéines glyquées peuvent également servir comme une source de radicaux libres (**Pérez-Matute *et al.*, 2009**).

Nos résultats ont montré une augmentation significative du niveau d'AOPP et de la peroxydation lipidique estimé par le taux du MDA au niveau des organes étudiés dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Ce qui est en accord avec les résultats de **Nayan *et al.*, (2021)** et **Francisqueti-Ferron *et al.*, (2022)**. En effet, le degré de peroxydation lipidique dépend de la composition lipidique du régime HFD. Cela s'explique par le fait que la composition membranaire est modifiée en fonction de la nature des acides gras consommés. Ainsi, un régime riche en acides gras polyinsaturés augmente le degré d'insaturation des membranes mitochondriales, les rendant plus sensibles aux attaques radicalaires (**Garait, 2006**).

De plus, l'obésité peut provoquer une augmentation de la peroxydation lipidique par des lésions cellulaires progressives et cumulatives résultant de la pression de la grande masse corporelle. Ces lésions cellulaires entraînent la libération de cytokines, notamment le TNF- α , qui génèrent des ERO à partir des tissus, ce qui provoque à son tour la peroxydation lipidique. L'hypertriglycémie observée chez les rats obèses peut également contribuer à l'altération de l'équilibre oxydant-antioxydant, suggérant qu'une augmentation de la biodisponibilité des acides gras libres peut accroître la peroxydation lipidique (**Noeman *et al.*, 2011**).

L'oxydation des protéines est le résultat de l'interaction des produits de la peroxydation lipidique, comprenant le MDA, le glyoxal, l'acroléine et le 4-hydroxy-nonéanal, tandis que les produits générés par la glycation incluent le glyoxal et le méthylglyoxal. La liaison de ces composés avec les groupes amine donne lieu à des AGEs et à des produits finaux de peroxydation lipidique, qui sont très réactifs et provoquent une perte de fonction des protéines, entraînant un dysfonctionnement des organes et l'apparition de maladies. Les ERO peuvent directement oxyder les protéines, y compris les molécules d'ADN, ce qui entraîne une perte de fonction biologique, un dysfonctionnement cellulaire et une défaillance des systèmes et des organes (**Vistoli *et al.*, 2013**).

Le GSH est un puissant antioxydant non enzymatique présent dans le cytoplasme des cellules. Il protège l'intégrité des cellules en piégeant les radicaux libres et agit comme cofacteur de la

GSH-Px et de la GST, qui sont des enzymes importantes dans la protection des organes contre la peroxydation des lipides (**Slama et al., 2020**). Dans cette étude, le niveau de GSH, l'activité de la GSH-PX et la GST ont été significativement réduits au niveau des organes étudiés dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin, ce qui est en accord avec les résultats de **Siddiqua et al., (2021)**. L'hyperglycémie induite par le régime HFD active la voie des polyols et inhibe la glucose-6-phosphate déshydrogénase, qui est la première étape de la voie des pentoses phosphates. Comme la voie des polyols nécessite du NADPH pour la synthèse du sorbitol, une activation de cette voie entraîne la déplétion de ce coenzyme. L'inhibition de la voie des pentoses phosphates entraîne également une réduction de la production de NADPH. Ainsi, la quantité de NADPH disponible pour régénérer le GSSG en GSH est largement diminuée, réduisant considérablement le système de défense antioxydant non enzymatique (GSH) et enzymatique (GSH-Px et GST) (**Garait, 2006**). De plus, l'augmentation de la peroxydation lipidique et les ERO entraînent l'inactivation des deux enzymes (**Slama et al., 2020**).

De plus, la SOD et la catalase sont des enzymes importants impliquées dans la défense contre le radical superoxyde généré lors d'un stress oxydatif. Tout d'abord, la SOD convertit le radical superoxyde par dismutation catalytique en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui est rapidement converti en eau (H_2O) et en oxygène (O_2) par la catalase (**Djaber et al., 2020**). Dans notre étude, l'activité de la SOD et de la catalase est significativement diminuée au niveau des organes étudiés dans le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Ce qui est similaire aux données obtenues par **Siddiqua et al., (2021)** et **Kolsi et al., (2017)**.

En effet, cette réduction pourrait être due à l'augmentation de la peroxydation lipidique et à la génération de ERO. Une consommation excessive d'aliments riches en graisses augmente la β -oxydation mitochondriale des AGL. Cela entraîne un flux excessif d'électrons par le biais de la cytochrome-c oxydase et augmente ainsi la production de ERO. De plus, les mitochondries sont la source cellulaire la plus importante de ERO, qui oxydent les lipides insaturés des dépôts de graisse pour provoquer une peroxydation lipidique. Ces intermédiaires réagissent avec l'oxygène pour former de plus en plus d'anions superoxydes (**Kesh et al., 2016**). Ces derniers interagissent directement avec la SOD et indirectement avec la catalase, selon le mécanisme décrit ci-dessus, ce qui provoque leur diminution.

En revanche, la supplémentation en *M. pubescens* chez le groupe des rats HFD+MP a montré une diminution significative des niveaux de MDA et AOPP et elle a augmenté l'activité des

enzymes antioxydantes (GSH-Px, GST, SOD et catalase) et restaurer l'épuisement des niveaux de GSH par rapport au groupe HFD. Cette amélioration pourrait être attribuée à l'effet antioxydant des polyphénols et des flavonoïdes présents dans *M. pubescens* (**Yilmaz et al., 2023**).

***CONCLUSION ET
PERSPECTIVES***

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la flore du Sahara algérienne, il est réalisé sur une plante appartenant à la famille des Asteraceae : *M. pubescens* reconnue par ses vertus thérapeutiques en Algérie.

Dans la première partie de notre travail, nous sommes intéressés à l'étude et l'identification des composés phytochimique ainsi que l'évaluation des activités antioxydantes et biologique *in vitro* des extraits de *M. pubescens*.

- L'extraction des composés phytochimique a été réalisée par deux solvants (eau, éthanol) qui ont donné des rendements différents, dont le rendement le plus élevé est celui de l'extrait aqueux (17.54 %).
- Le dosage des teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux dans les deux extraits par des méthodes spectrophotométriques révèle de la richesse de ces derniers en composé phytochimiques, dont la teneur la plus élevée est celui de l'extrait éthanolique.
- L'analyse par LC-MS/MS des deux extraits révèle la présence de 30 et 17 composés phytochimique dans l'extrait éthanolique et aqueux, respectivement.
- L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* par six méthodes (DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, activité de chélation des métaux et la capacité antioxydante totale) révèle que les deux extraits testés possèdent une activité antioxydante importante.
- L'évaluation des activités biologique *in vitro* des deux extraits révèle que l'extrait éthanolique présente une activité anticholinestérase, antidiabétique et anti tyrosinase par contre l'extrait aqueux présente une activité anticholinestérase et anti tyrosinase.

Dans la deuxième partie de notre travail, nos résultats ont montré dans un premier lieu que la consommation du régime hyper gras par les rats males de la souche Wistar pendant 16 semaines, a provoqué :

- Une augmentation du poids corporel, l'IMC, la circonférence thoracique et abdominal durant la période du traitement ;
- Une hypertrophie du foie et TA et une atrophie des reins et du cœur ;
- Une hyperglycémie et une hypertriglycéridémie associées avec une insulino-résistance ;

- Une perturbation au niveau de la fonction hépatique et rénale, se traduisant par une augmentation des marqueurs biochimiques liés à la fonction hépatique et rénale ;
- Une augmentation du marqueur pro-inflammatoire TNF- α hépatique ;
- Une perturbation du système de défense antioxydant objectivée par une augmentation de la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines d'une part et par une diminution du système de défense enzymatique d'autre part ;
- Altération de l'architecture tissulaire du foie, rein et TA.

Dans un deuxième lieu, nos résultats montrent que la supplémentation de la partie aérienne de *M. pubescens* dans le régime hypergras consommé par les rats pendant 16 semaines a amélioré la plupart des paramètres étudiés et provoque :

- Une diminution du poids corporelle, l'IMC, la circonférence thoracique et abdominal ;
- Une diminution du poids relatif d'organe étudiés ;
- Une diminution de la glycémie, la triglycéridémie et l'insulinorésistance ;
- Une amélioration de la fonction hépatique par diminution du taux sériques des transaminases (AST, ALT), la phosphatase alcaline, la biturbine total et direct ;
- Une amélioration de la fonction rénale par diminution du taux sériques de la créatinine et de l'acide urique ;
- Une diminution du marqueur pro-inflammatoire TNF- α dans le foie ;
- Une diminution de la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines dans les organes étudiés ;
- Une augmentation du taux du GSH réduit accompagnée par amélioration des activités enzymatique de la GSH-Px, de la GST, de la SOD et de la catalase dans les organes étudiés ;
- Amélioration de l'architecture tissulaire des organes étudiés.

En conclusion et en se basant sur les résultats obtenus, nous pouvons conclure que supplémentation de la partie aérienne de *M. pubescens* peut jouer un rôle préventif empêchant le développement de l'obésité et ses complications. Ceci est grâce à sa richesse en composés phytochimique qui agissent en synergie sur plusieurs sites d'actions et possède un effet bénéfique sur la régulation de la glycémie, profil lipidique, fonction hépatique, rénal et la réparation des dommages oxydatifs et inflammatoire.

En perspective aux travaux présentés dans les différentes parties de cette thèse, nous envisageons de :

- Evaluation d'autres activités biologiques telles que les activités anticancéreuse et antibactérienne ;
- Réaliser une étude *in silico* pour voir quelle est parmi les composés phytochimiques présent dans *M. pubescens* responsable des effet bénéfique cité ci-dessus ;
- Doser par la méthode ELISA de quelques interleukines pro-inflammatoires telles que IL-1, IL-6 et le facteur nucléaire kappa B ;
- Enfin, l'exploration des voies de signalisation telle que le récepteur actif de prolifération peroxysomale γ et les protéines de liaison aux éléments régulateurs du cholestérol qui rentre dans la régulation du métabolisme

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abubakar, B., N. Zawawi, A. R. Omar and M. Ismail (2017). "Predisposition to insulin resistance and obesity due to staple consumption of rice: Amylose content versus germination status." PloS one **12**(7): e0181309.

Ademiluyi, A. O. and G. Oboh (2013). "Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes (α -amylase and α -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) *in vitro*." Experimental toxicologic pathology **65**(3): 305-309.

Adeosun, S. O., D. M. Gordon, M. F. Weeks, K. H. Moore, J. E. Hall, T. D. Hinds Jr and D. E. Stec (2018). "Loss of biliverdin reductase-A promotes lipid accumulation and lipotoxicity in mouse proximal tubule cells." American Journal of Physiology-Renal Physiology **315**(2): 323-331.

Aebi, H. (1984). [13] Catalase *in vitro*. Methods in Enzymol., Elsevier. **105**: 121-126.

Affane, F., N. Boukhari Benahmed Daidj, S. Louala, A. N. Munezero and M. Y. Lamri-Senhadji (2016). "[Effects of an obesogenic diet enriched in sardine by-products on pro-atherogenic markers in Wistar rats]." Ann Cardiol Angeiol (Paris) **65**(3): 214-218.

Ak, G., G. Zengin, K. I. Sinan, M. F. Mahomoodally, M. C. N. Picot-Allain, O. Cakır, S. Bensari, M. A. Yılmaz, M. Gallo and D. Montesano (2020). "A comparative bio-evaluation and chemical profiles of *Calendula officinalis* L. extracts prepared via different extraction techniques." Applied sciences **10**(17): 5920.

AL-Hmadi, H. B., A. Romdhani, S. Majdoub, H. Dhaouadi, G. Zengin and S. Hammami (2023). "Chemical composition, antioxidant and multi-enzymatic inhibitory potential of licorice harvested from wild populations in Iraq." South African Journal of Botany **158**: 56-62.

Al-Khayri, J. M., G. R. Sahana, P. Nagella, B. V. Joseph, F. M. Alessa and M. Q. Al-Mssallem (2022). "Flavonoids as potential anti-inflammatory molecules: A review." Molecules **27**(9): 2901.

Alisi, A., R. Carsetti and V. Nobili (2011). "Pathogen-or damage-associated molecular patterns during nonalcoholic fatty liver disease development." Hepatology **54**(5): 1500-1502.

Alizadeh, S., H. Esmaeili, M. Alizadeh, E. Daneshzad, L. Sharifi, H. Radfar, M. K. Radaei and metabolism (2019). "Metabolic phenotypes of obese, overweight, and normal weight individuals and risk of chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis." Archives of endocrinology **63**: 427-437.

Altay, A., E. Yeniceri, P. Taslimi, T. Taskin-Tok, M. A. Yilmaz and E. Koksak (2022). "A Biochemical Approach for *Hedysarum candidissimum* from Turkey: Screening Phytochemicals, Evaluation of Biological Activities, and Molecular Docking Study." Chemistry Biodiversity **19**(9): e202200348.

Alyahya, A. A. I., M. Asad, M. Alrouji, K. E. A. Abdelsalam, A. M. R. Al-Mutairi and M. A. I. Ahmed (2023). "Hypolipidemic and Antihyperlipidemic Effects of *Holarrhena pubescens* Methanolic Extract Is Mediated through Inhibition of Lipase Activity and Lipid Accumulation." Life (Basel) **13**(7): 14-35.

Amalfitano, A., A. R. Bengur, R. P. Morse, J. M. Majure, L. E. Case, D. L. Veerling, J. Mackey, P. Kishnani, W. Smith and A. McVie-Wylie (2001). "Recombinant human acid α -glucosidase enzyme therapy for infantile glycogen storage disease type II: results of a phase I/II clinical trial." Genetics in Medicine **3**(2): 132-138.

Amssayef, A., M. Ajobli and M. Eddouks (2020). "Antihyperglycemic Potential of *Matricaria pubescens* (Desf.) Schultz. in Streptozotocin-induced Diabetic Rats." Cardiovasc. Hematol. Disord.: Drug Targets **20**(4): 297-304.

Amssayef, A., B. E. Azzaoui, M. Ajobli and M. Eddouks (2021). "Antidyslipidemic and Antioxidant Activities of *Matricaria pubescens* (Desf.) Shultz. in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats." Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem. **19**(1): 62-71.

Andersen, C. J., K. E. Murphy and M. L. Fernandez (2016). "Impact of obesity and metabolic syndrome on immunity." Advances in Nutrition **7**(1): 66-75.

Anil, D. A., M. F. Polat, R. Saglamtas, A. H. Tarikogullari, M. A. Alagoz, I. Gulcin, O. Algul and S. Burmaoglu (2022). "Exploring enzyme inhibition profiles of novel halogenated

chalcone derivatives on some metabolic enzymes: Synthesis, characterization and molecular modeling studies." Computational Biology Chemistry **100**: 107748.

Antúñez-Ortiz, D. L., E. Flores-Alfaro, A. I. Burguete-García, A. Bonnefond, J. Peralta-Romero, P. Froguel, M. Espinoza-Rojo and M. Cruz (2017). "Copy number variations in candidate genes and intergenic regions affect body mass index and abdominal obesity in Mexican children." BioMed Research International **2017**(1): 2432957.

Asgari-Kafrani, A., M. Fazilati and H. Nazem (2020). "Hepatoprotective and antioxidant activity of aerial parts of *Moringa oleifera* in prevention of non-alcoholic fatty liver disease in Wistar rats." South African Journal of Botany **129**: 82-90.

Bai, Y. F., S. W. Wang, X. X. Wang, Y. Y. Weng, X. Y. Fan, H. Sheng, X. T. Zhu, L. J. Lou and F. Zhang (2019). "The flavonoid-rich Quzhou Fructus Aurantii extract modulates gut microbiota and prevents obesity in high-fat diet-fed mice." Nutrition & diabetes **9**(1): 30.

Bakaç, M. S., A. Dogan, M. A. Yılmaz, F. Altındag, F. Donmez and A. Battal (2023). "Ameliorative effects of *Scutellaria Pinnatifida* subsp. *pichleri* (Stapf) Rech. f. Extract in streptozotocin-induced diabetic rats: chemical composition, biochemical and histopathological evaluation." BMC Complementary Medicine and Therapies **23**(1): 410.

Bastías-Pérez, M., D. Serra and L. Herrero (2020). "Dietary options for rodents in the study of obesity." Nutrients **12**(11): 3234.

Behl, T., E. Sharma, A. Sehgal, I. Kaur, A. Kumar, R. Arora, G. Pal, M. Kakkar, R. Kumar and S. Bungau (2021). "Expatriating the molecular approaches of HMGB1 in diabetes mellitus: Highlighting signalling pathways via RAGE and TLRs." Molecular Biology Reports **48**: 1869-1881.

Ben Moussa, M. T. Hadeif, Y., Bouncer, H., Oudjehih, M., Beichi, F., Aouidane, S., & Benaldjia (2020), H. " Enquête ethnobotanique sur *Matricaria pubescens* (DESF.) SCHULTZ (Asteraceae) auprès de la population des régions sud est d'Algérie". Thérapeutique, **35**(88) :1-17.

Ben Salem, M., H. Affes, R. Dhouibi, S. Charfi, M. Turki, S. Hammami, F. Ayedi, Z. Sahnoun, K. M. Zeghal and K. Ksouda (2022). "Preventive effect of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) in kidney dysfunction against high fat-diet induced obesity in rats." Archives of Physiology and Biochemistry **128**(3): 586-592.

Beyer Jr, W. F. and I. Fridovich (1987). "Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions." Analytical biochemistry, **161**(2): 559-566.

Bhattacharya, I., A. P. Domínguez, K. Dräger, E. Haas and E. Battegay (2015). "Hypoxia potentiates tumor necrosis factor- α induced expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in white and brown adipocytes." Biochemical biophysical research communications **461**(2): 287-292.

Bohm, B. A. and T. F. Stuessy (2001). Flavonoids of the sunflower family (Asteraceae), Springer Science & Business Media.

Bonhomme, P. (2013). "Prise de poids iatrogène et gestion à l'officine." Sciences pharmaceutiques 13..

Bonnefont-Rousselot, D. (2014). "Obesity and Oxidative stress." Obésité **9**: 8-13.

Boubellouta, H., F. K. Touhami and D. Mahdi (2021). "*In vivo* and *in vitro* hepatoprotective effect of three endemic plants against carbon tetrachloride-induced liver damage in rats." Acta Scientifica Naturalis **8**(1): 15-36.

Bradford, M. M. (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding." Analytical biochemistry **72**(1-2): 248-254.

Buege, J. A. and S. D. Aust (1978). [30] Microsomal lipid peroxidation. Methods in Enzymol., Elsevier. **52**: 302-310.

Buzzetti, E., M. Pinzani and E. A. Tsochatzis (2016). "The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)." Metabolism **65**(8): 1038-1048.

Therif, H. S., R. Ferrah, A. Bennacer, G. Tail and F. Saidi (2017). "Traditional use of *Matricaria pubescens* (Desf.) Schultz in two regions of southern Algeria and contribution to study the antioxidant activity." *16*(4): 562-567

Chowdhury, F. I., T. Yasmin, R. Akter, M. N. Islam, M. M. Hossain, F. Khan, A. Aldhahrani, M. M. Soliman, N. Subhan, M. A. Haque and M. A. Alam (2022). "Resveratrol treatment modulates several antioxidant and anti-inflammatory genes expression and ameliorated oxidative stress mediated fibrosis in the kidneys of high-fat diet-fed rats." Saudi Pharmaceutical journal **30**(10): 1454-1463.

Cohen, B. E., P. Manga, K. Lin and N. Elbuluk (2020). "Vitiligo and melanoma-associated vitiligo: understanding their similarities and differences." American Journal of Clinical Dermatology **21**: 669-680.

Corrales Cordón, P. and A. García Carrasco (2024). Obesity-Induced Diabetes Can Cost You an Arm and a Leg... or a Kidney. Tales of Discovery: Delving into the World of Biology and Medicine, Springer: 55-68.

D'Agati, V. D., A. Chagnac, A. P. De Vries, M. Levi, E. Porrini, M. Herman-Edelstein and M. Praga (2016). "Obesity-related glomerulopathy: clinical and pathologic characteristics and pathogenesis." Nature Reviews Nephrology **12**(8): 453-471.

da Silva, N. I., H. M. da Rocha Sobrinho, G. T. Blanch, W. M. Cruvinel and C. M. Gomes (2019). "Adipocinas e sua relação com a obesidade." Revista Estudos-Vida e Saúde **46**: 53-64.

Dai, J. and R. Mumper (2010). "Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties." Molecules **15**(10): 7313-7352.

Farias Lelis, D., D. F. de Freitas, A. S. Machado, T. S. Crespo and S. H. S. Santos (2019). "Angiotensin-(1-7), adipokines and inflammation." Metabolism **95**: 36-45.

De Stefano, A., S. Caporali, N. Di Daniele, V. Rovella, C. Cardillo, F. Schinzari, M. Minieri, M. Pieri, E. Candi, S. Bernardini, M. Tesauro and A. Terrinoni (2021). "Anti-Inflammatory and Proliferative Properties of Luteolin-7-O-Glucoside." International journal of molecular sciences, **22**(3): 2827.

Del Marmol, V. and F. Beermann (1996). "Tyrosinase and related proteins in mammalian pigmentation." FEBS letters **381**(3): 165-168.

Dietrich, P. and C. Hellerbrand (2014). "Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome." Best practice research Clinical gastroenterology **28**(4): 637-653.

Divella, R., A. Mazzocca, A. Daniele, C. Sabbà and A. Paradiso (2019). "Obesity, nonalcoholic fatty liver disease and adipocytokines network in promotion of cancer." International journal of biological sciences **15**(3): 610.

Djaber, N., L. S. Ounaceur, B. N. Moubine, T. Khaldi, M. Rouag, S. Berrouague, H. Amara, F. Taibi, M. Boumendjel, A. Boumendjel and M. Messarah (2020). "Roundup-induced biochemical and histopathological changes in the liver and kidney of rats: the ameliorative effects of *Linum usitatissimum* oil." Acta Biochimica Polonica **67**(1): 53-64.

Drummond, E. M. and E. R. Gibney (2013). "Epigenetic regulation in obesity." Current Opinion in Clinical Nutrition Metabolic Care **16**(4): 392-397.

Du, H., Q. Wang and X. Yang (2019). "Fu brick tea alleviates chronic kidney disease of rats with high fat diet consumption through attenuating insulin resistance in skeletal muscle." Journal of agricultural food chemistry **67**(10): 2839-2847.

Eng, J. M. and J. L. Estall (2021). "Diet-induced models of non-alcoholic fatty liver disease: food for thought on sugar, fat, and cholesterol." Cells **10**(7): 1805.

Faucher, P. and C. Poitou (2016). "Physiopathologie de l'obésité." Revue du rhumatisme monographies **83**(1): 6-12.

Felemban, A. H., G. M. Alshammari, A. E. A. Yagoub, L. N. Al-Harbi, M. H. Alhussain and M. A. Yahya (2023). "Activation of AMPK Entails the Protective Effect of Royal Jelly against High-Fat-Diet-Induced Hyperglycemia, Hyperlipidemia, and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Rats." Nutrients **15**(6): 1471.

Fki, I., S. Sayadi, A. Mahmoudi, I. Daoued, R. Marrekchi and H. Ghorbel (2020). "Comparative Study on Beneficial Effects of Hydroxytyrosol- and Oleuropein-Rich Olive

Leaf Extracts on High-Fat Diet-Induced Lipid Metabolism Disturbance and Liver Injury in Rats." BioMed Research International **2020**: 1315202.

Flohé, L. and W. A. Günzler (1984). [12] Assays of glutathione peroxidase. Methods in Enzymol., Elsevier. **105**: 114-120.

Foster, M. C., S.-J. Hwang, M. G. Larson, J. H. Lichtman, N. I. Parikh, R. S. Vasan, D. Levy and C. S. Fox (2008). "Overweight, obesity, and the development of stage 3 CKD: the Framingham Heart Study." American journal of kidney diseases **52**(1): 39-48.

Francisco, V., C. Ruiz-Fernández, J. Pino, A. Mera, M. A. González-Gay, R. Gómez, F. Lago, A. Mobasher and O. Gualillo (2019). "Adipokines: linking metabolic syndrome, the immune system, and arthritic diseases." Biochemical pharmacology **165**: 196-206.

Francisqueti-Ferron, F. V., A. J. T. Ferron, J. L. Garcia, C. C. V. d. A. Silva, M. R. Costa, C. S. Gregolin, F. Moreto, A. L. A. Ferreira, I. O. Minatel and C. R. Correa (2019). "Basic concepts on the role of nuclear factor erythroid-derived 2-like 2 (Nrf2) in age-related diseases." International journal of molecular sciences **20**(13): 3208.

Francisqueti-Ferron, F. V., J. P. d. C. Silva, J. L. Garcia, A. J. T. Ferron, H. T. Kano, C. C. V. d. A. Silva, M. R. Costa, G. A. Nai, F. Moreto and C. R. Corrêa (2022). "Preventive Effect of Gamma-Oryzanol on Physiopathological Process Related to Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Animals Submitted to High Sugar/Fat Diet." Livers **2**(3): 146-157.

Francisqueti, F. V., L. C. T. Chiaverini, K. C. d. Santos, I. O. Minatel, C. B. Ronchi, A. J. T. Ferron, A. L. A. Ferreira and C. R. Corrêa (2017). "O papel do estresse oxidativo na fisiopatologia da síndrome metabólica." Revista da Associação Médica Brasileira **63**(1): 85-91.

Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®, Université Joseph-Fourier-Grenoble I : 39.

Garcia, J. L., F. V. Francisqueti, A. P. Ferraz, A. J. Ferron, M. R. Costa, C. S. Gregolin, D. H. Campos, K. C. Santos, I. O. Minatel and C. R. Corrêa (2019). "High Sugar-Fat Diet Induces Metabolic-Inflammatory Disorders Independent of Obesity Development." Food and Nutrition Sciences **10**(06): 664-677.

Gasparini, P. V., A. M. Matias, S. Torezani Sales, J. Kobi, J. S. Siqueira, C. R. Correa, A. P. Lima Leopoldo and A. S. Leopoldo (2021). "High-Fat and Combined High-Fat and Sucrose Diets Promote Cardiac Oxidative Stress Independent of Nox2 Redox Regulation and Obesity in Rats." Cell Physiol Biochem **55**(5): 618-634.

Godoy-Matos, A. F., W. S. Silva Júnior and C. M. Valerio (2020). "NAFLD as a continuum: from obesity to metabolic syndrome and diabetes." Diabetology metabolic syndrome **12**: 1-20.

González-Muniesa, P., M.-A. Martínez-González, F. B. Hu, J.-P. Després, Y. Matsuzawa, R. J. Loos, L. A. Moreno, G. A. Bray and J. A. Martinez (2017). "Obesity (Primer)." Nature Reviews: Disease Primers **3**(1) :17034.

Goorani, S., M. Zhaleh, M. Hajialiani, R. Moradi, M. K. Koochi, K. Rashidi, M. M. Zangeneh and A. Zangeneh (2018). "Hepatoprotective potential of aqueous extract of *Allium eriophyllum* Boiss in high-fat diet-induced fatty liver diseases." Comparative Clinical Pathology **28**(4): 963-969.

Grassi, L., R. Kacmarek and L. Berra (2020). "Ventilatory mechanics in the patient with obesity." Anesthesiology **132**(5): 1246-1256.

Gutiérrez-Cuevas, J., A. Sandoval-Rodriguez, A. Meza-Rios, H. C. Monroy-Ramírez, M. Galicia-Moreno, J. García-Bañuelos, A. Santos and J. Armendariz-Borunda (2021). "Molecular mechanisms of obesity-linked cardiac dysfunction: an up-date on current knowledge." Cells **10**(3): 62-69.

Flabig, W. H., M. J. Pabst and W. B. Jakoby (1974). "Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation." Journal of Biological Chemistry **249**(22): 7130-7139.

Hajinezhad, M. R., A. Mokhtarpour and A. Mirheidari (2023). "Hypolipidemic and antioxidant effects of aqueous ethanolic extract from *Moringa peregrina* leaves on high-fat diet-induced fatty liver disease in rabbits." Comparative Clinical Pathology **32**(4): 617-628.

Hellal, K., M. Maulidiani, I. S. Ismail, C. P. Tan and F. Abas (2020). "Antioxidant, α -glucosidase, and nitric oxide inhibitory activities of six Algerian traditional medicinal plant

extracts and 1H-NMR-based metabolomics study of the active extract." Molecules **25**(5): 12-47.

Hirsova, P., S. H. Ibrahim, A. Krishnan, V. K. Verma, S. F. Bronk, N. W. Werneburg, M. R. Charlton, V. H. Shah, H. Malhi and G. Gores (2016). "Lipid-induced signaling causes release of inflammatory extracellular vesicles from hepatocytes." Gastroenterology **150**(4): 956-967.

Hould, R. (1984). Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Paris, France, Maloine

Hsu, C.-y., C. E. McCulloch, C. Iribarren, J. Darbinian and A. S. Go (2006). "Body mass index and risk for end-stage renal disease." Annals of internal medicine **144**(1): 21-28.

Huang, C. Z., Y. T. Tung, S. M. Hsia, C. H. Wu and G. C. Yen (2017). "The hepatoprotective effect of *Phyllanthus emblica* L. fruit on high fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in SD rats." Food Function **8**(2): 842-850.

Hurre, S. and W. H. Hsu (2017). "The etiology of oxidative stress in insulin resistance." Biomedical journal **40**(5): 257-262.

*J*beh, B. (2018). Experimental Animal Models of Human Diseases: An Effective Therapeutic Strategy, BoD—Books on Demand.

Ignatiadou, M., M. Kostaki, Z. Kabouche, P. Chatzopoulou, M. C. Rallis and A. Karioti (2022). "HPLC–NMR-based chemical profiling of *Matricaria pubescens* (Desf.) Schultz and *Matricaria recutita* and their protective effects on UVA-exposed fibroblasts." Sci **4**(1): 14.

Izol, E., H. Temel, M. A. Yilmaz, I. Yener, O. T. Olmez, E. Kaplaner, M. Fırat, N. Hasimi, M. Ozturk and A. Ertas (2021). "A detailed chemical and biological investigation of twelve *Allium* species from Eastern Anatolia with chemometric studies." Chemistry and Biodiversity **18**(1): e2000560.

*J*ohnson, A. M. and J. M. Olefsky (2013). "The origins and drivers of insulin resistance." Cell **152**(4): 673-684.

Kahn, S. E., R. L. Hull and K. M. Utzschneider (2006). "Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes." Nature **444**(7121): 840-846.

Kaidar-Person, O., B. Person, S. Szomstein and R. Rosenthal (2008). "Nutritional deficiencies in morbidly obese patients: a new form of malnutrition? Part A: vitamins." Obesity surgery **18**: 870-876.

Karagecili, H., M. A. Yılmaz, A. Ertürk, H. Kiziltas, L. Güven, S. H. Alwasel and İ. Gulcin (2023). "Comprehensive metabolite profiling of Berdav propolis using LC-MS/MS: Determination of antioxidant, anticholinergic, antiglaucoma, and antidiabetic effects." Molecules **28**(4): 1739.

Karatas, D. D., V. Oz, I. Yener, M. Akdeniz, F. Erek, I. Aydin, S. Yigitkan, M. A. Yılmaz and A. Ertas (2022). "Phytochemical Contents of Different Parts of the Seeded Raisins from the South-East Anatolia: Enzyme Inhibitory Potential of Pulp Extracts." Chemistry and Biodiversity **19**(3): e202100844.

Kayali, R., U. Cakatay, T. Akcay and T. Altug (2006). "Effect of alpha-lipoic acid supplementation on markers of protein oxidation in post-mitotic tissues of ageing rat." Cell Biochemistry Function **24**(1): 79-85.

Kazankov, K., S. M. D. Jørgensen, K. L. Thomsen, H. J. Møller, H. Vilstrup, J. George, D. Schuppan and H. Grønæk (2019). "The role of macrophages in nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis." Nature reviews Gastroenterology hepatology **16**(3): 145-159.

Kesh, S. B., D. Sarkar and K. Manna (2016). "High-fat diet-induced oxidative stress and its impact on metabolic syndrome: a review." Asian J Pharm Clin Res **9**(1): 47-52.

Kherraz, K., A. Chouikh, A. Chefrou And D. Ghemam Amara (2019). Estimation of total phenolic and flavonoids content and anti-free radical scavenger, antibacterial and antifungal activities of extract of *Matricaria pubescens* (desf.) Sch. Bip. Collected from south east of algeria. Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie **26**(1): 38-42.

Kherraz, K., G. A. Djilani, C. Atef and C. Azedinne (2019). "Morphological, Anatomical and Environmental Characteristics and the Geographical Distribution of *Matricaria pubscenes* (composées) from Algeria." World **8**(1): 76-80.

Kleinert, M., C. Clemmensen, S. M. Hofmann, M. C. Moore, S. Renner, S. C. Woods, P. Huypens, J. Beckers, M. H. De Angelis and A. Schürmann (2018). "Animal models of obesity and diabetes mellitus." Nature Reviews Endocrinology **14**(3): 140-162.

Kolsi, R. B. A., N. Jardak, F. Hajkacem, R. Chaaben, A. El Feki, T. Rebai, K. Jamoussi, L. Fki, H. Belghith and K. Belghith (2017). "Anti-obesity effect and protection of liver-kidney functions by Codium fragile sulphated polysaccharide on high fat diet induced obese rats." International journal of biological macromolecules **102**: 119-129.

Koyama, Y. and D. A. Brenner (2017). "Liver inflammation and fibrosis." The Journal of clinical investigation **127**(1): 55-64.

Kurutas, E. B. (2015). "The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state." Nutrition journal **15**(1): 1-22.

Lai, M., P. C. Chandrasekera and N. D. Barnard (2014). "You are what you eat, or are you? The challenges of translating high-fat-fed rodents to human obesity and diabetes." Nutrition diabetes **4**(9): e135-e135.

Lambertucci, F., A. Arboatti, M. G. Sedlmeier, O. Motiño, M. de Luján Alvarez, M. P. Ceballos, S. R. Villar, E. Roggero, J. A. Monti and G. Pisani (2018). "Disruption of tumor necrosis factor alpha receptor 1 signaling accelerates NAFLD progression in mice upon a high-fat diet." The Journal of nutritional biochemistry **58**: 17-27.

Laouini , S. E., B. Djamila and O. M. Redha (2016). "Solvent pH extraction effect on phytochemical composition and antioxidant properties of Algerian *Matricaria Pubescens*." Journal of Pharmaceutical Research (Mohali, India) **10**(2): 106-112.

Lekmine, S., O. Benslama, K. Kadi, A. I. Martin-Garcia, M. A. Yilmaz, S. Akkal, A. Boumegoura, A. S. Alhomida, M. S. Ola and A. Ali (2023). "LC/MS-MS Analysis of Phenolic Compounds in *Hyoscyamus albus* L. Extract: *In vitro* Antidiabetic Activity, *In Silico* Molecular Docking, and *In vivo* Investigation against STZ-Induced Diabetic Mice." Pharmaceuticals (Basel) **16**(7).

Li, Y. X., L. Zhang, D. Simayi, N. Zhang, L. Tao, L. Yang, J. Zhao, Y. Z. Chen, F. Li and W. J. Zhang (2015). "Human papillomavirus infection correlates with inflammatory Stat3 signaling activity and IL-17 level in patients with colorectal cancer." PLoS One **10**(2): e0118391.

Liang, M., M. Huo, Y. Guo, Y. Zhang, X. Xiao, J. Xv, L. Fang, T. Li, H. Wang, S. Dong, X. Jiang and W. Yu (2022). "Aqueous extract of *Artemisia capillaris* improves non-alcoholic fatty liver and obesity in mice induced by high-fat diet." Frontiers Pharmacology **13**: 1084435.

Liu, J., J. Cao, Y. Li and F. Guo (2023). "Beneficial flavonoid in foods and anti-obesity effect." Food Reviews International **39**(1): 560-600.

Liu, M., J. Qin, J. Cong and Y. Yang (2021). "Chlorogenic acids inhibit Adipogenesis: implications of Wnt/ β -catenin signaling pathway." International Journal of Endocrinology **2021** (1), e2215274.

Liu, T., L. Zhang, D. Joo and S.-C. Sun (2017). "NF- κ B signaling in inflammation." Signal transduction targeted therapy **2**(1): 1-9.

Lobine, D., B. Pairyanen, G. Zengin, M. A. Yılmaz, R. Ouelbani, S. Bensari, G. Ak, H. H. Abdallah, M. Imran and M. F. J. C. Mahomoodally (2021). "Chemical Composition and Pharmacological Evaluation and of *Toddalia asiatica* (Rutaceae) Extracts and Essential Oil by *in vitro* and *in Silico* Approaches." Chemistry and Biodiversity **18**(4): e2000999.

Luo, Z., M. Li, Q. Yang, Y. Zhang, F. Liu, L. Gong, L. Han and M. Wang (2022). "Ferulic Acid Prevents Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Promoting Fatty Acid Oxidation and Energy Expenditure in C57BL/6 Mice Fed a High-Fat Diet." Nutrients **14**(12): 2530.

Lutz, T. A. and S. C. Woods (2012). "Overview of animal models of obesity." Current protocols in pharmacology **58**(1): 61-65.

*M*abele, G., C. Ekisawa, C. Delecluse, F. Bompeka and A. Matuhoyila (2018). "Effect of a structured physical exercises program on cardiovascular risk factors related to the metabolic syndrome in obese workers of Kinshasa in Democratic Republic of Congo." Science Sports **33**(3): 115-122.

Mahomoodally, M. F., G. Zengin, K. I. Sinan, E. Yıldıztuğay, D. Lobine, R. Ouelbani, S. Bensari, G. Ak, M. A. Yılmaz and M. J. F. r. i. Gallo (2021). "A comprehensive evaluation of

the chemical profiles and biological properties of six geophytes from Turkey: Sources of bioactive compounds for novel nutraceuticals." Food research international **140**: e110068.

Martínez-Martínez, E. and V. Cachofeiro (2022). Oxidative stress in obesity. Antioxidants, MDPI. **11**: 63-69.

Mermer, A. and S. Demirci (2023). "Recent advances in triazoles as tyrosinase inhibitors." European Journal of Medicinal Chemistry. 259: 115655.

Metrouh-Amir, H. and N. Amir (2023). "Impact of extraction method on alkaloid content and antioxidant activity of *Matricaria pubescens*." Croatian journal of food science technology **15**(1): 83-95.

Metrouh-Amir, H., C. M. Duarte and F. Maiza (2015). "Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*." Industrial crops products **67**: 249-256.

Miah, P., S. B. S. Mohona, M. M. Rahman, N. Subhan, F. Khan, H. Hossain, S. M. Sharker and M. A. Alam (2021). "Supplementation of cumin seed powder prevents oxidative stress, hyperlipidemia and non-alcoholic fatty liver in high fat diet fed rats." Biomedicine & Pharmacotherapy **141**: 111908.

Michishita, T., S. Kobayashi, T. Katsuya, T. Ogihara and K. Kawabuchi (2010). "Evaluation of the antiobesity effects of an amino acid mixture and conjugated linoleic acid on exercising healthy overweight humans: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial." Journal of international medical research **38**(3): 844-859.

Miraj, S. and S. Alesaeidi (2016). "A systematic review study of therapeutic effects of *Matricaria recuita chamomile* (chamomile)." Electronic physician **8**(9): 3024.

Mocan, A., L. Vlase, O. Raita, D. Hanganu, R. Păltinean, Ş. Dezsi, A.-M. Gheldiu, R. Oprean and G. Crişan (2015). "Comparative studies on antioxidant activity and polyphenolic content of *Lycium barbarum* L. and *Lycium chinense* Mill. leaves." Pak. J. Pharm. Sci **28**(4): 1511-1515.

Molina-Tijeras, J. A., A. J. Ruiz-Malagon, L. Hidalgo-Garcia, P. Diez-Echave, M. J. Rodriguez-Sojo, M. L. Cadiz-Gurrea, A. Segura-Carretero, J. P. Del Palacio, M. R. Gonzalez-

Tejero, M. E. Rodriguez-Cabezas, J. Galvez, A. Rodriguez-Nogales, T. Vezza and F. Algieri (2023). "The Antioxidant Properties of Lavandula multifida Extract Contribute to Its Beneficial Effects in High-Fat Diet-Induced Obesity in Mice." Antioxidants **12**(4): 83-92.

Monteiro, R. and I. Azevedo (2010). "Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome." Mediators of inflammation **2010** (1): 289645.

Nassir, F. (2022). "NAFLD: Mechanisms, Treatments, and Biomarkers." Biomolecules **12**(6): 824.

Nayan, S. I., F. I. Chowdhury, N. Akter, M. M. Rahman, S. Selim, N. Saffoon, F. Khan, N.

Subhan, M. Hossain, K. S. Ahmed, H. Hossain, M. A. Haque and M. A. Alam (2021). "Leaf powder supplementation of Senna alexandrina ameliorates oxidative stress, inflammation, and hepatic steatosis in high-fat diet-fed obese rats." PLoS One **16**(4): e0250261.

Noeman, S. A., H. E. Hamooda and A. A. Baalash (2011). "Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats." Diabetology metabolic syndrome **3**: 1-8.

Novelli, E. L., Y. S. Diniz, C. M. Galhardi, G. M. Ebaid, H. G. Rodrigues, F. Mani, A. A. Fernandes, A. C. Cicogna and J. L. Novelli Filho (2007). "Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats." Laboratory animals **41**(1): 111-119.

OMS (2022). "Centre mondial de médecine traditionnelle en Inde"(<https://www.who.int/fr/news/item/25-03-2022-who-establishes-the-global-centre-for-traditional-medicine-in-india>)

OMS (2024). "Obésité et surpoids."(<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>)

Orliaguet, L., E. Dalmas, K. Drareni, N. Venteclef and F. Alzaid (2020). "Mechanisms of Macrophage Polarization in Insulin Signaling and Sensitivity." Frontiers of Endocrinology **11**: 516860.

Osman, W., G. K. Tay and H. Alsafar (2018). "Multiple genetic variations confer risks for obesity and type 2 diabetes mellitus in arab descendants from UAE." International Journal of Obesity **42**(7): 1345-1353.

*P*alma, G., G. P. Sorice, V. A. Genchi, F. Giordano, C. Caccioppoli, R. D'Oria, N. Marrano, G. Biondi, F. Giorgino and S. Perrini (2022). "Adipose tissue inflammation and pulmonary dysfunction in obesity." International Journal of Molecular Sciences **23**(13): 7349.

Panchal, S. K. and L. Brown (2011). "Rodent models for metabolic syndrome research." BioMed Research International **2011**: 351982.

Papamargaritis, D., C. W. le Roux, J. J. Holst and M. J. Davies (2023). "New therapies for obesity." Cardiovascular Research **119**(18): 2825-2842.

Pérez-Matute, P., M. A. Zulet and J. A. Martínez (2009). "Reactive species and diabetes: counteracting oxidative stress to improve health." Current opinion in pharmacology **9**(6): 771-779.

Peters, U., B. T. Suratt, J. H. Bates and A. E. Dixon (2018). "Beyond BMI: obesity and lung disease." Chest **153**(3): 702-709.

Peverill, W., L. W. Powell and R. Skoien (2014). "Evolving concepts in the pathogenesis of NASH: beyond steatosis and inflammation." International journal of molecular sciences **15**(5): 8591-8638.

Pinelo, M., M. Rubilar, M. Jerez, J. Sineiro and M. J. Núñez (2005). "Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace." Journal of agricultural food chemistry **53**(6): 2111-2117.

Polyzos, S. A., J. Kountouras and C. Zavos (2009). "Nonalcoholic fatty liver disease: the pathogenetic roles of insulin resistance and adipocytokines." Current molecular medicine **9**(3): 299-314.

Preguiça, I., A. Alves, S. Nunes, R. Fernandes, P. Gomes, S. D. Viana and F. Reis (2020). "Diet-induced rodent models of obesity-related metabolic disorders—a guide to a translational perspective." Obesity Reviews **21**(12): e13081.

Quezel, P. and S. Santa (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et Méridionales, Paris.

Rada, P., Á. González-Rodríguez, C. García-Monzón and Á. M. Valverde (2020). "Understanding lipotoxicity in NAFLD pathogenesis: is CD36 a key driver?" Cell death disease **11**(9): 802.

Rahman, M. M., Alam, A. Ulla, F. A. Sumi, N. Subhan, T. Khan, B. Sikder, H. Hossain, H. M. Reza and M. A. Alam (2017). "Cardamom powder supplementation prevents obesity, improves glucose intolerance, inflammation and oxidative stress in liver of high carbohydrate high fat diet induced obese rats." Lipids Health Diseases **16**(1): 151.

Reilly, S. M. and A. R. Saltiel (2017). "Adapting to obesity with adipose tissue inflammation." Nature Reviews Endocrinology **13**(11): 633-643.

Rolnik, A. and B. Olas (2021). "The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health." International journal of molecular sciences **22**(6): 3009.

Sacks, H. S. and J. N. Fain (2011). "Human epicardial fat: what is new and what is missing?" Clinical Experimental Pharmacology Physiology **38**(12): 879-887.

Sadaf, I., Z. Akram, A. Noreen, M. T. Baig, S. Sheikh, A. Huma, A. Jabeen, M. Lodhi, S. A. Khan and Hudda (2021). "Overweight and obesity prevalence and predictors in people living in Karachi." Pharmaceutical Research International **33**: 194-202.

Safaei, M., E. A. Sundararajan, M. Driss, W. Boulila and A. Shapi'i (2021). "A systematic literature review on obesity: Understanding the causes & consequences of obesity and reviewing various machine learning approaches used to predict obesity." Computers in biology medicine **136**: 104754.

Sampey, B. P., A. M. Vanhoose, H. M. Winfield, A. J. Freerman, M. J. Muehlbauer, P. T. Fueger, C. B. Newgard and L. Makowski (2011). "Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet." Obesity (Silver Spring) **19**(6): 1109-1117.

Samuel, V. T. and G. I. Shulman (2012). "Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links." Cell **148**(5): 852-871.

Sanchez, E., J. A. Baena-Fustegueras, M. C. de la Fuente, L. Gutierrez, M. Bueno, S. Ros and A. Lecube (2017). "Advanced glycation end-products in morbid obesity and after bariatric surgery: When glycemic memory starts to fail." Endocrinología, Diabetes y Nutrición **64**(1): 4-10.

Schofield, J. H. and Z. T. Schafer (2021). "Mitochondrial reactive oxygen species and mitophagy: a complex and nuanced relationship." Antioxidants redox signaling **34**(7): 517-530.

Sena, C. M., M. A. Cipriano, M. F. Botelho and R. M. Seica (2018). "Lipoic Acid Prevents High-Fat Diet-Induced Hepatic Steatosis in Goto Kakizaki Rats by Reducing Oxidative Stress Through Nrf2 Activation." International journal of molecular sciences **19**(9): 2706.

Shang, T., L. Liu, J. Zhou, M. Zhang, Q. Hu, M. Fang, Y. Wu, P. Yao and Z. Gong (2017). "Protective effects of various ratios of DHA/EPA supplementation on high-fat diet-induced liver damage in mice." Lipids Health Diseases **16**(1): 65.

Sharifi-Rad, M., J. Nazaruk, L. Polito, M. F. B. Morais-Braga, J. E. Rocha, H. D. M. Coutinho, B. Salehi, G. Tabanelli, C. Montanari and M. del Mar Contreras (2018). "Matricaria genus as a source of antimicrobial agents: From farm to pharmacy and food applications." Microbiological research **215**: 76-88.

Siddiqua, S., F. H. Jyoti, N. Saffoon, P. Miah, S. Lasker, H. Hossain, R. Akter, M. I. Ahmed and M. A. Alam (2021). "Ethanol extract of *Coccinia grandis* prevented glucose intolerance, hyperlipidemia and oxidative stress in high fat diet fed rats." Phytomedicine **1**(4): 100046.

Simental-Mendía, L. E., M. Rodríguez-Morán and F. Guerrero-Romero (2008). "The product of fasting glucose and triglycerides as surrogate for identifying insulin resistance in apparently healthy subjects." Metabolic syndrom related disorders **6**(4): 299-304.

Singh, M., T. Thrimawithana, R. Shukla and B. Adhikari (2020). "Managing obesity through natural polyphenols: A review." Future Foods **1-2**.

Singh, O., Z. Khanam, N. Misra and M. K. Srivastava (2011). "Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview." Pharmacognosy reviews **5**(9): 82.

Siqueira, J. S., T. L. N. Palacio, T. A. Vieira, E. T. Nakandakare-Maia, N. A. Grandini, A. J. Ferron, F. V. Francisqueti-Ferron and C. R. Correa (2023). "An overview of the complex interaction between obesity and target organ dysfunction: focus on redox-inflammatory state." Nutrire **48**(1): 21.

Slama, K., M. Boumendjel, F. Taibi, A. Boumendjel and M. Messarah (2020). "Atriplex halimus aqueous extract abrogates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity by modulating biochemical and histological changes in rats." Archives of Physiology and Biochemistry **126**(1): 49-60.

Slinkard, K. and V. L. Singleton (1977). "Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods." American journal of enology viticulture **28**(1): 49-55.

Sowers, J. R., A. Whaley-Connell and M. Epstein (2009). "Narrative review: the emerging clinical implications of the role of aldosterone in the metabolic syndrome and resistant hypertension." Annals of internal medicine **150**(11): 776-783.

Stasi, A., C. Cosola, G. Caggiano, M. T. Cimmarusti, R. Palieri, P. M. Acquaviva, G. Rana and L. Gesualdo (2022). "Obesity-related chronic kidney disease: principal mechanisms and new approaches in nutritional management." Frontiers in Nutrition **9**: 925619.

Suleiman, J. B., M. Mohamed and A. B. A. Bakar (2020). "A systematic review on different models of inducing obesity in animals: Advantages and limitations." Journal of advanced veterinary animal research **7**(1): 103.

Symons, J. D. and E. D. Abel (2013). "Lipotoxicity contributes to endothelial dysfunction: a focus on the contribution from ceramide." Reviews in Endocrine Metabolic Disorders **14**: 59-68.

*J*enenbaum, M., A. Bonnefond, P. Froguel and A. Abderrahmani (2018). "Physiopathologie du diabète." Revue Francophone des Laboratoires **2018**(502): 26-32.

Turer, A. T., J. A. Hill, J. K. Elmquist and P. E. Scherer (2012). "Adipose tissue biology and cardiomyopathy: translational implications." Circulation research **111**(12): 1565-1577.

Ulla, A., M. A. Alam, B. Sikder, F. A. Sumi, M. M. Rahman, Z. F. Habib, M. K.

Mohammed, N. Subhan, H. Hossain and H. M. Reza (2017). "Supplementation of Syzygium cumini seed powder prevented obesity, glucose intolerance, hyperlipidemia and oxidative stress in high carbohydrate high fat diet induced obese rats." BMC Complement Alternative Medicine **17**(1): 28-39.

Urbatzka, R., S. Freitas, A. Palmeira, T. Almeida, J. Moreira, C. Azevedo, C. Afonso, M. Correia-da-Silva, E. Sousa, M. Pinto and V. Vasconcelos (2018). "Lipid reducing activity and toxicity profiles of a library of polyphenol derivatives." European Journal of Medicinal Chemistry **151**: 272-284.

Uribarri, J., W. Cai, M. Woodward, E. Tripp, L. Goldberg, R. Pyzik, K. Yee, L. Tansman, X. Chen and V. Mani (2015). "Elevated serum advanced glycation endproducts in obese indicate risk for the metabolic syndrome: a link between healthy and unhealthy obesity?" The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism **100**(5): 1957-1966.

Uysal, S., G. Zengin, M. Locatelli, M. B. Bahadori, A. Mocan, G. Bellagamba and A. Mollica (2017). "Cytotoxic and enzyme inhibitory potential of two *Potentilla* species (*P. speciosa* L. and *P. reptans* Willd.) and their chemical composition." Frontiers in pharmacology **8**: 249316.

Vasan, R. S. (2003). Cardiac function and obesity. *Heart*, BMJ Publishing Group Ltd. **89**: 1127-1129.

Ventura, L. L., N. C. Fortes, H. C. Santiago, M. V. Caliari, M. A. Gomes and D. R. Oliveira (2017). "Obesity-induced diet leads to weight gain, systemic metabolic alterations, adipose tissue inflammation, hepatic steatosis, and oxidative stress in gerbils (*Meriones unguiculatus*)." PeerJ **5**: e2967.

Vistoli, G., D. De Maddis, A. Cipak, N. Zarkovic, M. Carini and G. Aldini (2013). "Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their mechanisms of formation." Free radical research **47**(sup1): 3-27.


Wang, M., Z. Wang, Y. Chen and Y. Dong (2022). "Kidney Damage Caused by Obesity and Its Feasible Treatment Drugs." international journal of molecular sciences **23**(2): 74-87.

Web:www.google.com/maps/place/El+Oued/@34.0999332,6.2329999,4007m/data=!3m1!1e3!4m6!3m5!1s0x1259110e27dc0d5b:0x18e06c3aaedd4496!8m2!3d33.367811!4d6.8516511!16zL20vMDVzN3pk!5m1!1e4?entry=ttu

Weckbecker, G. and J. G. Cory (1988). "Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells *in vitro*." Cancer Letters **40**(3): 257-264.

Wharton, S., D. C. Lau, M. Vallis, A. M. Sharma, L. Biertho, D. Campbell-Scherer, K. Adamo, A. Alberga, R. Bell and N. Boulé (2020). "L'obésité chez l'adulte: ligne directrice de pratique clinique." Cmaj **192**(49): 1757-1775.

Wong, S. K., K.-Y. Chin, F. H. Suhaimi, A. Fairus and S. Ima-Nirwana (2016). "Animal models of metabolic syndrome: a review." Nutrition metabolism **13**: 1-12.

 Yamamoto, S., Y. Matsushita, T. Nakagawa, T. Honda, T. Hayashi, M. Noda and T. Mizoue (2016). "Visceral fat accumulation, insulin resistance, and elevated depressive symptoms in middle-aged Japanese men." PloS one **11**(2): e0149436.

Yaturu, S. (2011). "Obesity and type 2 diabetes." Journal of diabetes mellitus **1**(4): 79-95.

Yener, I., M. A. Yilmaz, O. T. Olmez, M. Akdeniz, F. Tekin, N. Hasimi, M. H. Alkan, M. Ozturk and A. Ertas (2020). "A detailed biological and chemical investigation of sixteen *Achillea* species' essential oils via chemometric approach." Chemistry and biodiversity **17**(3): e1900484.

Yilmaz, M. A. (2020). "Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC–MS/MS method validation." Industrial crops products **149**: 112347.

Yilmaz, M. A., O. Cakir, E. Izol, A. Tarhan, L. Behcet and G. Zengin (2023). "Detailed Phytochemical Evaluation of a Locally Endemic Species (*Campanula baskilensis*) by LC-MS/MS and Its In-Depth Antioxidant and Enzyme Inhibitory Activities." Chemistry and Biodiversity **20**(12): e202301182.

Zatterale, F., M. Longo, J. Naderi, G. A. Raciti, A. Desiderio, C. Miele and F. Beguinot (2020). "Chronic adipose tissue inflammation linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes." Frontiers in physiology **10**: 505887.

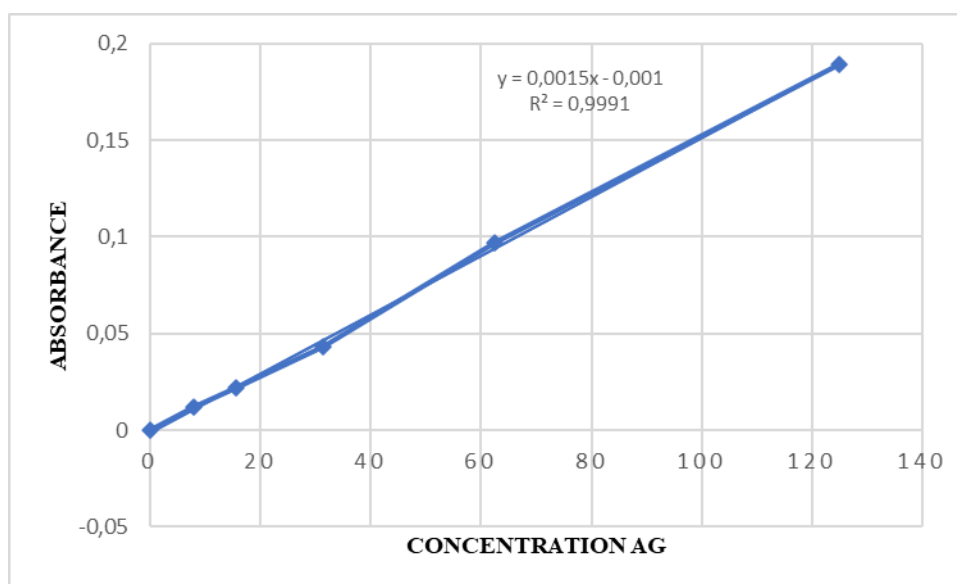
Zengin, G., A. Uysal, E. Gunes and A. Aktumsek (2014). "Survey of phytochemical composition and biological effects of three extracts from a wild plant (*Cotoneaster nummularia* Fisch. et Mey.): A potential source for functional food ingredients and drug formulations." PloS one **9**(11): e113527.

ANNEXE

ANNEXE

Annexe 1 : Dosage des polyphénols totaux

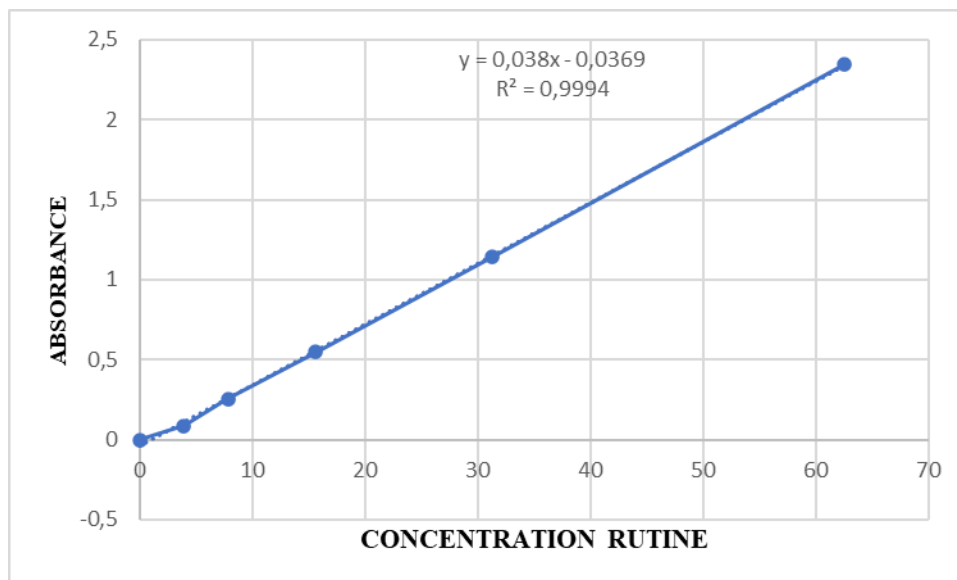
Réactif	Blanc	Échantillon
Extraits	0	0,25ml
Eau / Ethanol	0,25ml	0
Folin-Ciocalteu (1/10)	1ml	1ml
Na ₂ CO ₃ (1%)	0,75ml	0,75ml
Agitation au vortex, incubation 2h et lecture à 760nm		



Annexe 1. Gamme d'étalonnage de l'acide gallique (suite)

Annexe 3 : Dosage des flavonoïdes totaux

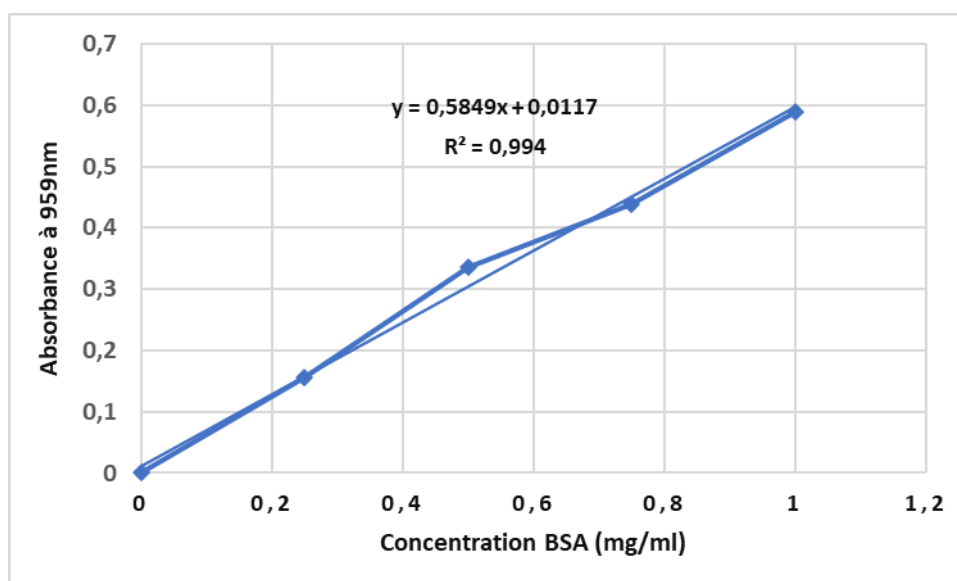
Réactif	Blanc	Échantillon
Extraits	0	1ml
Eau / Ethanol	1ml	0
AlCl ₃ (2%)	1ml	1ml
Agitation au vortex, incubation 10min et lecture à 415nm		



Annexe 2. Gamme d'étalonnage de la rutine (suite)

Annexe 3 : Dosage des protéines par la méthode de Bradford

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	50µl
TBS	50µl	0
Réactif de Bradford	2.5ml	2.5ml
Agitation au vortex, incubation 5min et lecture à 595nm		



Annexe 4 : Gamme d'étalonnage BSA (1mg/ml)

Annexe 5 : Dosage du MDA

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	375µl
TBS	200µl	150
TCA-BHT	375µl	375µl
Agiter au vortex puis centrifuger a 1000 trs/min pendant 10 minutes		
Surnageant	400µl	400µl
HCl (0,6M)	80µl	80µl
Tris-TBA	320µl	320µl
Agitation au vortex et incubation à 80°C pendant 10 minutes et lecture à 530nm		

Annexe 6 : Dosage des taux des AOPP

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	200µl
PBS (0,1M, pH 7,4)	700µl	500µl
Incubation 2min		
KI (1,16M)	100µl	100µl
Acide glaciale	200µl	200µl
Agitation au vortex et lecture à 340nm		

Annexe 7 : Dosage du glutathion

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	800µl
TBS	1000µl	200µl
Acide Sulfosalicylique	200µl	200µl
Incubation 15min dans un bain de glace et centrifugation 1500 trs/min pendant 5minutes		
Surnageant	500µl	500µl
Tris-EDTA (pH 9,6)	1ml	1ml
DTNB (0,01M)	25µl	25µl
Agitation au vortex et incubation 5 minutes et lecture à 412nm		

Annexe 8 : Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	200µl
TBS	400µl	200µl
GSH (0,1mM)	400µl	400µl
Incubation au bain marie à 25°c (5 minutes)		
H₂O₂ (1,3mM)	200µl	200µl
LAISSER 10 MINUTES AU REPOS		
TCA (1%)	1ml	1ml
Mettre le mélange 30 minutes dans la glace centrifugation a 3000 trs/min (10 minutes)		
Surnageant	480µl	480µl
Na₂HPO₄ (0,32M)	2,2ml	2,2ml
DTNB (1mM)	320µl	320µl
Agitation au vortex et incubation 5 minutes et lecture a 412nm		

Annexe 9 : Dosage de l'activité enzymatique de la Glutathion-S-Transférase (GST)

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	200µl
Mélange (GSH 5mM+CDNB 1mM)	1,4ml	1,2ml

Lecture à 340 nm toutes les 1 minute durant 5 minutes

Annexe 10 : Dosage de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD)

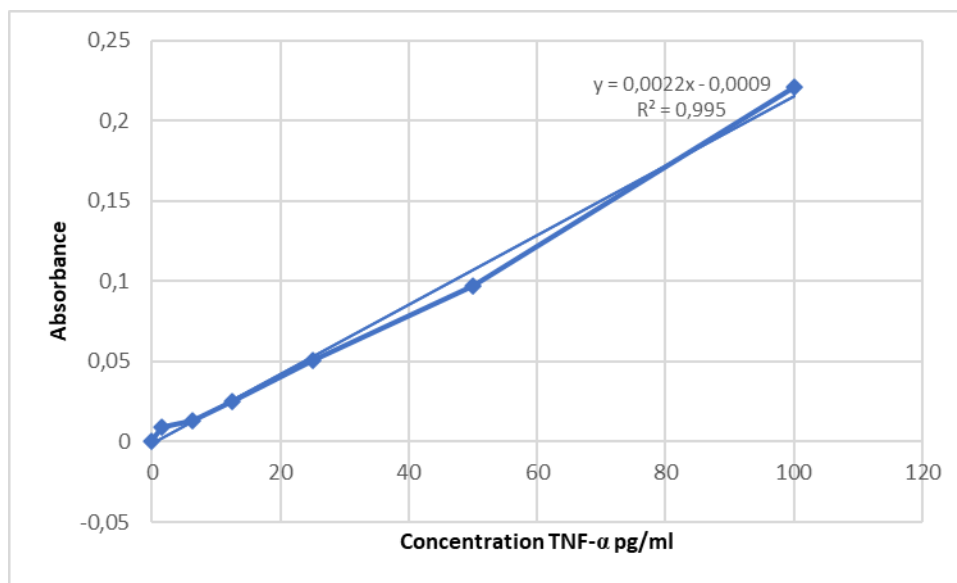
Réactif	Blanc	Etalon	Échantillon
EDTA-Met (0.3mM)	1ml	1ml	1ml
PBS (50mM, pH :7,8)	892,2µl	892,2µl	892,2µl
Surnageant	0	0	50µl
PBS (50mM, pH :7,8)	1ml	1ml	950µl
NBT	85,2µl	85,2µl	85,2µl
Riboflavine	22,6µl	22,6µl	22,6µl
Après incubation a la lumière pendant 20 min et lecture à 580nm			

Annexe 11 : Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	20µl
PBS (0,1M, pH :7,4)	800µl	780µl
H₂O₂ (500mM)	200µl	200µl
Lecture à 240 nm toutes les 15sec durant 60 secondes		

Annexe 12 : Dosage du facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-α)

Réactif	Blanc	Échantillon
Surnageant	0	50µl
Diluant échantillon	100µl	50µl
Anticorps biotinulé anti TNF-α	200µl	200µl
Couvrir, incubation 2h puis lavage 3 fois par solution de lavage		
Streptavidine-HRP	100µl	100µl
Recouvrir, incubation 1h puis lavage 3 fois par solution de lavage		
Chromogène TMB		
Incubation 10 à l'obscurité		
Solution d'arrêt (H₂SO₄)	100µl	100µl
Lecture à 450nm		



Annexe 13. Gamme d'étalonnage du TNF- α

Préparation des solutions

1. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

❖ BSA (1 mg/ml) :

Dissoudre 5 mg BSA dans 5 ml d'eau distillée pour réaliser la gamme d'étalonnage.

❖ Réactif de Bradford :

Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50 ml d'éthanol (95%). Agiter pendant 2 heures, puis ajouter 100 ml d'acide orthophosphorique (85%) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1 L de solution). Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1 mois au maximum à une température de 4°C et à l'abri de la lumière.

2. Dosage du MDA

❖ La solution du tampon TBS (pH 7,4)

0,6057g de Tris (50 mM) et 0,877g Na Cl (150 mM) dans 100 ml d'eau distillé et ajuster le pH par NaOH ou HCl pour avoir un pH de 7,4.

❖ La solution d'H Cl (0,6 M) :

5,1569 ml de H Cl 36% dans 100ml d'eau distillé.

❖ La solution de Tris - TBA :

1,73g de TBA (120 mM) dans 100ml d'une solution Tris (26 mM).

❖ La solution de TCA – BHT :

1g de BHT (Butylehydroxytoluène) dans 100 ml de TCA (acide trichloracétique) à 20%.

3. Dosage des taux des AOPP

- ❖ Tampon phosphate (pH=7.4) :

Na₂HPO₄ (0.1M) : 3,4 g dans 240 ml d'eau distillée

NaH₂PO₄ (0.1M): 4,8 g dans 240 ml d'eau distillée

- ❖ Iodure de potassium (KI, 1.16 M) :

4.46 g dans 23,16 ml de H₂O

4. Dosage du glutathion

- ❖ L'acide salicylique (0,25%) :

Dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100 ml d'eau distillée

- ❖ Solution Tris (0,4 M), EDTA (0,02 M) pH 9,6 :

- ❖ Dissoudre 12,114 g Tris et 1,871 g EDTA dans 250 ml d'eau distillée et ajuster le pH à 9,6. DTNB (0,01 M) :

Dissoudre 20 mg DTNB dans 5 ml de méthanol absolu (préparation le jours meme).

5. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

- ❖ GSH (0.1 mM) :

Dissoudre 3,073 mg GSH dans 100 ml d'eau distillée.

- ❖ TCA (1%) :

Dissoudre 1 g TCA dans 100 ml d'eau distillée.

- ❖ DTNB (1,0 mM) :

Dissoudre 20 mg DTNB dans 50 ml de méthanol absolu.

6. Dosage de l'activité enzymatique de la Glutathion-S-Transférase (GST)

- ❖ Tampon phosphate (0.1 M, pH 6) :

Solution A, dissoudre 3.58g Na₂HPO₄ (12 H₂O) dans 100 ml d'eau distillée.

Solution B, dissoudre 1.38 g NaH₂PO₄ (2 H₂O) dans 100 ml d'eau distillée.

Mélanger 12.3 ml de la solution A avec 87.7 ml de la solution B

- ❖ Mélange CDNB (1mM) GSH (5mM) :

Dissoudre 20,26 mg CDNB et 153.65 mg GSH dans 1 ml d'éthanol absolu puis dans 100 ml de tampon phosphate.

7. Dosage de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD)

- ❖ Le tampon phosphate (50 mM), PH = 7, 8 :

Na₂HPO₄ : 4,476g, NaH₂PO₄ : 1,95g : dans 250ml d'eau distillée

- ❖ La solution de Na₂ – EDTA : 50mg dans 50 ml de tampon phosphate. La solution EDTA – Méthionine (0,1 mM, 13 mM) :

11,16 ml (Na₂ – EDTA) + 580 mg Méthionine et compléter à 100 ml par le tampon phosphate.

- ❖ La solution de NBT (75 µM) :

10,79 mg dans 5ml de tampon phosphate.

- ❖ La solution de Riboflavine (2 µM) :

10 mg dans 100 ml de tampon phosphate.

8. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

- ❖ Tampon phosphate (0.1 M, pH 7.4) :

Solution A, dissoudre 6,24 g NaH₂PO₄ (2 H₂O) dans 200 ml d'eau distillée.

Solution B, dissoudre 14.32 g Na₂HPO₄ (12 H₂O) dans 200 ml d'eau distillée.

Mélanger 16 ml de la solution A avec 84 ml de la solution B.

***ACTIVITES ET RECHERCHE
SCIENTIFIQUE***

Communication International et National



CERTIFICATE

Of

PARTICIPATION

CHENNA HousseM

has participated in 1st International Conference on Engineering, Natural and Social Sciences ICENSOS 2022 on
December 20 - 23, 2022 in Konya, Turkey

PAPER TITLE

*Anti-inflammatory effect of aqueous extract of Matricaria
pubescens in wistar rats treated with difenoconazole*

PRESENTATION TYPE

Oral



ICENSOS 2022 CONFERENCE CHAIRMAN
Asst. Prof. Dr. Umut ÖZKAYA

CERTIFICATE

Of

PARTICIPATION

HousseM Chenna

has participated in 1st International Conference on Innovative Academic Studies on 10-13 September in 2022
at Konya/Turkey.

PAPER TITLE

*Hepatoprotective effect of Matricaria pubescens in difenoconazol
induced hepatotoxicity in male albino rats*

PRESENTATION TYPE

Oral



ICIAS 2022 CONFERENCE CHAIRMAN
Asst. Prof. Dr. Umut ÖZKAYA





