

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES DE LA VIE, SANTE ET
ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE EN SCIENCES
DE LA VIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE OF RESEARCH AND DOCTORAL
TRAINING IN LIFE SCIENCE, HEALTH AND
ENVIRONMENT

RESEARCH UNIT IN LIFE SCIENCE

LABORATOIRE DE NUTRITION ET DE BIOCHIMIE NUTRITIONNELLE

LABORATORY OF NUTRITION AND NUTRITIONAL BIOCHEMISTRY

**Effets des extraits de *Vitex doniana Sweet*, *Trichoscypha acuminata*
et *Detarium microcarpum* sur la santé cardiométabolique chez les
rats**

THESE

Rédigée et présentée comme requis partiel en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat/Ph.D en Biochimie,

Spécialité : Sciences des Aliments et Nutrition, **Option :** Nutrition

YOUOVOP FOTSO Janvier Aimé

Matricule : **07Y004**

Master en Biochimie

Sous la Co-direction de :



NGONDI Judith Laure

Maître de Conférences

OBEN Julius ENYONG

Professeur

Année académique 2023-2024

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix - Travail - Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

B.P. 812 Yaoundé, Cameroun



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace - Work - Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

P.O.BOX 812, Yaoundé, Cameroon

DEPARTEMET DE BIOCHIMIE
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, membres du jury de thèse de Doctorat/Ph.D en Biochimie spécialité Nutrition, soutenue par monsieur **YOUVOVOP FOTSO Janvier Aimé** (matricule **07Y004**), le vendredi 22 mars 2024 à 10 heures dans la salle de conférence du Département de Biochimie (Annexe de la Faculté de Sciences) de l'Université de Yaoundé 1, sous le thème : « **Effets des extraits de *Vitex doniana Sweet, Trichoscypha acuminata* et *Detarium microcarpum* sur la santé cardiométabolique chez les rats** », attestons que le candidat a effectué les corrections conformément aux exigences du jury.

En foi de quoi la présente attestation est établie et délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le **14 OCT 2024**.....

Membres du Jury

Pr N. Agou F. ab.
Pr Actu Mercy B. Lott.
Prof Pr. Ngondi
Pr Garais E.
Julius Oben

Président du jury

Fabrice F. Boyom, ScD
Professor of Biochemistry
Senior Director of Research

REPUBLIQUE DU
CAMEROUN
Paix - Travail - Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

B.P. 812 Yaoundé, Cameroun



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace - Work - Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

P.O.BOX 812, Yaoundé, Cameroon

DEPARTEMET DE BIOCHIMIE
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

ATTESTATION D'ORIGINALITE DES RESULTATS

La présente note atteste que le travail intitulé « **Effets des extraits de *Vitex doniana* Sweet, *Trichoscypha acuminata* et *Detarium microcarpum* sur la santé cardiométabolique chez les rats** », soumis en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D. en Biochimie, option Science des Aliments et Nutrition, spécialité Nutrition, est original à plus d'un titre et les résultats obtenus n'ont jamais fait l'objet d'une soutenance antérieure.


Fait à Yaoundé, le **14 OCT 2024**

Le Candidat :

YOUOVOP FOTSO Janvier Aimé

L'équipe d'encadrement

Pr. Julius Oben

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2024/2025

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 31 NOVEMBRE 2024

ADMINISTRATION

DOYEN : OWONO OWONO Luc, *Professeur*

VICE-DOYEN / DPSAA: NDJIGUI Paul-Désiré, *Professeur*

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : NOUNDJEU Pierre, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS :
 AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BCH) (44)			
N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
4.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
5.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGUEFACK Julienne	Professeur	En poste
7.	NJAYOU Frédéric Nico	Professeur	En poste
8.	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9.	ACHU Merci BIH	Maître Conférences	de	En poste
10.	AKINDEH MBUH NJI	Maître Conférences	de	En poste
11.	ATOUGHO Barbara MMA	Maître Conférences	de	En poste
12.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître Conférences	de	En poste
13.	BEBEE Fadimatou	Maître Conférences	de	En poste
14.	BEBOY EDJENGUELE Sara N.	Maître Conférences	de	En poste
15.	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître Conférences	de	<i>Chef DAF / FS</i>
16.	DAKOLE DABOY Charles	Maître Conférences	de	En poste
17.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Maître Conférences	de	En poste
18.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître Conférences	de	En poste
19.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître Conférences	de	En poste
20.	EFFA ONOMO Pierre	Maître Conférences	de	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>
21.	EWANE Cécile Annie	Maître Conférences	de	En poste
22.	FONKOUA Martin	Maître Conférences	de	En poste
23.	KENGNE NOUEMSI Anne Pascale	Maître Conférences	de	En poste

24.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître Conférences	de	En poste
25.	LUNGA Paul KEILAH	Maître Conférences	de	En poste
26.	MANANGA Marlyse Joséphine	Maître Conférences	de	En poste
27.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître Conférences	de	En poste
28.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître Conférences	de	<i>Doyen FS / UDs</i>
29.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître Conférences	de	En poste
30.	NGONDI Judith Laure	Maître Conférences	de	En poste
31.	Palmer MASUMBE NETONGO	Maître Conférences	de	En poste
32.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Maître Conférences	de	En poste
33.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître Conférences	de	En poste
34.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours		En poste
35.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours		En poste
36.	MBOUCHE FANMOE Marceline J.	Chargé de Cours		En poste
37.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours		En poste
38.	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours		En poste
39.	BAKWO BASSOGOG Christian B.	Chargé de Cours		En Poste
40.	ELLA Fils Armand	Chargé de Cours		En Poste
41.	EYENGA Eliane Flore	Chargé de Cours		En Poste

42.	MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée	Chargé de Cours	En Poste
43.	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Chargé de Cours	En Poste
44.	WOGUIA Alice Louise	Chargé de Cours	En Poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (50)

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
4.	DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
5.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>CD et Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
6.	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	<i>Chef de Département</i>
7.	MEGNEKOU Rosette	Professeur	En poste
8.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9.	NOLA Moïse	Professeur	En poste
10.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
11.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service / Coord.Progr./MINSANTE</i>
12.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste
13.	ALENE Désirée Chantal	Maître Conférences	de <i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
14.	ATSAMO Albert Donatien	Maître Conférences	de En poste

15.	BILANDA Danielle Claude	Maître Conférences	de	En poste
16.	DJIOGUE Séfirin	Maître Conférences	de	En poste
17.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épouse FOTSING	Maître Conférences	de	En poste
18.	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître Conférences	de	En Poste
19.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Maître Conférences	de	En poste
20.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître Conférences	de	En poste
21.	MAHOB Raymond Joseph	Maître Conférences	de	En poste
22.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître Conférences	de	En poste
23.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître Conférences	de	En poste
24.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître Conférences	de	En poste
25.	MONY Ruth épouse NTONE	Maître Conférences	de	En Poste
26.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Maître Conférences	de	En poste
27.	NGUEGUIM TSOFACK Florence	Maître Conférences	de	En poste
28.	NGUEMBOCK	Maître Conférences	de	En poste
29.	TAMSA ARFAO Antoine	Maître Conférences	de	En poste

30.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
31.	YEDE	Maître de Conférences	En poste

32.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Chargé de Cours	En poste
33.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
34.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
35.	FEUGANG YOUMSSI François	Chargé de Cours	En poste
36.	FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE	Chargé de Cours	En poste
37.	FOSSI TANKOUA Olivia Epse DJEUTCHOUANG SAYANG	Chargé de Cours	En poste (transfert Uté de Dla)
38.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
39.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
40.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
41.	MAPON NSANGOU Indou	Chargé de Cours	En poste
42.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
43.	NDENGUE Jean De Matha	Chargé de Cours	En poste
44.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
45.	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
46.	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En poste
47.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste

48.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste
49.	ZEMO GAMO Franklin	Chargé de Cours	En poste
50.	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (32)

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	BIYE Elvire Hortense	Professeur	En poste
3.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6.	NDONGO BEKOLO	Professeur	En poste
7.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
8.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9.	DJEUANI Astride Carole	Maître de Conférences	En poste
10.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En poste
11.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
12.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC /UDla</i>
13.	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En poste
14.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
15.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
16.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
17.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste
18.	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Chargé de Cours	En poste
19.	GONMADGE CHRISTELLE	Chargé de Cours	En poste

20.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
21.	MANGA NDJAGA JUDE	Chargé de Cours	En poste
22.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24.	NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE	Chargé de Cours	<i>En détachement/UNESCO MALI</i>
25.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
26.	KABELONG BANAHOU Louis-Paul- Roger	Chargé de Cours	En poste
27.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
28.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
29.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
30.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
31.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
32.	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (27)

1.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
2.	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En poste
3.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
4.	NENWA Justin	Professeur	En poste
5.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
6.	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Professeur	En poste

7.	NJOYA Dayirou	Professeur	En poste
8.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
9.	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
11.	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
12.	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
13.	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
14.	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
15.	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
16.	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
17.	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
18.	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
19.	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
20.	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En poste
21.	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En poste
22.	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Chargé de Cours	En Poste
23.	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
24.	NCHIMI NONO KATIA	Chargée de Cours	En poste
25.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
26.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
27.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste

6- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (33)			
1.	Alex de Théodore ATCHADE	Professeur	<i>DEPE/Univ. Bertoua</i>
2.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UYI</i>
3.	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Recteur UBertoua/ Chef de Département</i>
5.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste
6.	MKOUNGA Pierre	Professeur	En poste
7.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
8.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
9.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
10.	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
11.	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
12.	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
13.	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
14.	NGOMO Orléans	Maître de Conférences	En poste
15.	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
16.	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>Dir ENS/Uté Bertoua</i>
17.	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
18.	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
19.	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
20.	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Maître de Conférences	En poste

21.	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste
-----	-----------------------	-----------------------	----------

22.	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
23.	MUNVERA MFIFEN Aristide	Chargé de Cours	En poste
24.	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
25.	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En poste
26.	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En poste
27.	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
28.	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
29.	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En poste
30.	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
31.	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste
32.	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En poste
33.	NGUEMDJO CHIMEZE Valery Wilfried	Assistant	En poste

6- DEPARTEMENT DES ENERGIES RENOUVELABLES (ER) (1)

1.	BODO Bertrand	Professeur	<i>Chef de Département</i>
----	---------------	------------	----------------------------

7- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division des SI/ MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général Académique/MINESUP</i>

3.	NDOUNDAM René	Professeur	En poste
4.	ABESSOLO ALO'O Gislain	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
5.	MELATAGIA YONTA Paulin	Maître de Conférences	En poste
6.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste
7.	AMINO HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
8.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
9.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
10.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
11.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Chargé de Cours	En poste
12.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
13.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
14.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
15.	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En poste
16.	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
17.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En poste
18.	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Directeur Adjoint ENSET Ebolowa</i>
19.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
20.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
21.	MAKEMBE S. Oswald	Assistant	<i>Directeur CUTI</i>
22.	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (34)

1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	<i>Chef de Division/ENSPY</i>
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	<i>Chef de Département de modélisation et applications industrielles/ENSPY</i>
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>VDRC/FS/UYYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste
10.	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11.	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En poste
12.	BITYE MVONDO Esther Claudine	Chargé de Cours	En poste
13.	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14.	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
15.	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
16.	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17.	KOKOMO AYISSI Eric Brice	Chargé de Cours	En poste (transfert de l'université de Douala)
18.	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En poste
19.	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
20.	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En poste

21.	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
22.	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En poste
23.	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
24.	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
25.	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
26.	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
27.	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Chargé de Cours	En poste
28.	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
29.	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En poste
30.	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
31.	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En poste
32.	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En poste
33.	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
34.	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistant	En poste

9- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Professeur	En poste
3.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>Vice-Doyen / DSSE</i>
4.	RIWOM Sara Honorine	Professeur	En poste
5.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Professeur	En poste
6.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
7.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste

8.	MUNE MUNE Martin Alain	Maître de Conférences	En poste
9.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En poste
10.	TCHIKOUA Roger	Maître de Conférences	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>
11.	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
12.	EHETH Jean Samuel	Chargé de Cours	En poste
13.	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
14.	MEYIN A EBONG Solange	Chargé de Cours	En poste
15.	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargé de Cours	En poste
16.	NGOUE NAM Romial Joël	Chargé de Cours	En poste
17.	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Chargé de Cours	En poste
18.	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
19.	NKOUE TONG Abraham	Chargé de Cours	En poste
20.	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargé de Cours	En poste
21.	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Chargé de Cours	En poste
22.	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste
23.	EZO'O MENGO Fabrice Télésfor	Assistant	En poste
24.	MAYI Marie Paule Audrey	Assistant	En poste

10. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PHY) (42)			
1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	BIYA MOTTO Frédéric	Professeur	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
3.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
4.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Ute Ngaoundéré</i>

5.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
6.	EYEBE FOU DA Jean sire	Professeur	En poste
7.	HONA Jacques	Professeur	En poste
8.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
9.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
10.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
11.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
12.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
13.	SIMO Elie	Professeur	En poste
14.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FS Univ/Bda</i>
15.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
16.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Professeur	En poste
17.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
18.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
19.	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	<i>Chef de Division de la formation continue et à distance/ENSPY</i>
20.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21.	FOUEJIO David	Maître de Conférences	<i>Chef Cell/ MINADER</i>
22.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
23.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
24.	MELI'I Joelle Larissa	Maître de Conférences	En poste
25.	MVOGO ALAIN	Maître de Conférences	En poste
26.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste

27.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
28.	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UIYI</i>
29.	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférences	<i>En stage depuis février 2023</i>
30.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
32.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
33.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En poste
34.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
35.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En poste
36.	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En poste
37.	NGA ONGODO Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
38.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	<i>Directeur Unité de production des réactifs/IMPM</i>
39.	SOUFFO TAGUEU Merimé	Chargé de Cours	En poste
40.	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En poste
41.	TOGUEU MOTCHEYO Alain Bertrand	Chargé de Cours	En poste
42.	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En poste

11- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (34)

1.	BISSO Dieudonné	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	EKOMANE Emile	Professeur	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>
3.	GANNO Sylvestre	Professeur	En poste

4.	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Vice-Doyen /DPSAA</i>
5.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7.	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
8.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>

9.	Elisé SABABA	Maitre de Conférences	En poste
10.	EYONG John TAKEM	Maître de Conférences	En poste
11.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT(ai)</i>
12.	MBIDA YEM	Maitre de Conférences	En poste
13.	MBESSE Cécile Olive	Maitre de Conférences	En poste
14.	METANG Victor	Maître de Conférences	En poste
15.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
16.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
17.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
18.	NOMO NEGUE Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
19.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Maître de Conférences	En poste
20.	TCHAKOUNTE Jacqueline épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
21.	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
23.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
24.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

25.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
26.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
27.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
28.	KOAH NA LEBOGO Serge P.	Chargé de Cours	En poste
29.	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En poste
30.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste
31.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
32.	NGO'O ZE ARNAUD	Chargé de Cours	En poste
33.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
34.	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO	Chargée de Cours	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé

I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
Département	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	08 (01)	25 (15)	11 (05)	00 (00)	44 (21)
BPA	12 (01)	19 (08)	18 (06)	01 (01)	50 (16)
BPV	07 (02)	10 (02)	14 (07)	01 (00)	32 (09)
CI	07 (01)	14 (03)	06 (01)	00 (00)	27 (05)
CO	06 (01)	15 (05)	10 (03)	02 (00)	33 (09)
ER	01 (00)		/	/	01 (0)
IN	03 (00)	03 (00)	13 (01)	03 (00)	22 (01)
MAT	01 (00)	08 (00)	20 (01)	05 (01)	34 (02)
MIB	05 (03)	05 (01)	12 (05)	02 (01)	24 (10)
PHY	18 (01)	11 (04)	13 (01)	00 (00)	42 (06)
ST	07 (00)	16 (04)	10 (03)	00 (00)	34 (07)
Total	75 (10)	126 (42)	127 (33)	14 (03)	342 (88)

Soit un total de **342 (88)** dont :

- Professeurs **75 (10)**
- Maîtres de Conférences **126 (42)**
- Chargés de Cours **127 (33)**
- Assistants **14 (03)**

() = Nombre de Femmes **88**

DEDICACE

Je dédie ce travail :

A

Dieu Tout-Puissant

REMERCIEMENTS

Ce travail a été accompli avec l'aide des personnes en vers qui je suis entièrement reconnaissant. Je tiens à témoigner mes sincères remerciements aux personnalités et personnes ci-après.

Pr. OBEN Julius ENYONG, je vous suis reconnaissant d'avoir mis à ma disposition le nécessaire pour la réalisation de mes travaux. Vous serez toujours pour moi un modèle ;

Pr. NGONDI Judith Laure, qui n'a ménagé aucun effort pour que ce travail puisse être une œuvre scientifique. Votre sacrifice, implication et engouement pour ce travail m'ont permis de renforcer mes capacités intrinsèques. Vous resterez pour moi une source d'inspiration ;

Chef de Département de Biochimie de la Faculté des Sciences, de l'Université de Yaoundé I, pour son management et au corps enseignant de ce même Département ;

Enseignants du Laboratoire de Nutrition et de Biochimie Nutritionnelle pour leur assistance et suivi ;

Mes camarades de Laboratoire, merci pour votre assistance et collaboration ;

Laboratoire de biologie humaine de l'Institut Médical et de recherche sur les Plantes Médicinales du Ministère de la Recherche Scientifique et de l'Innovation du Cameroun, pour la réalisation des analyses hématologiques ;

Laboratoire de Pathologie et Anatomie de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales pour la réalisation de l'analyse histopathologique ;

Laboratoire de Chimie de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé pour la caractérisation de l'extrait ;

Mes ami(e)s et camarades pour leur collaboration et encouragement ;

Aux familles, **YOUOVOP, FOTSO, KUIE, TAGNE TEGA, FOKWA** et **TCHOUTEDJEM** pour leur encouragement ;

Mon épouse **MOGUE FOKWA Charlaine Vanéna** pour son soutien et ses encouragements.

TABLE DE MATIERES

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS	i
DEDICACE.....	xxi
REMERCIEMENTS	xxii
TABLE DE MATIERES.....	xxiii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xxix
LISTE DES FIGURES.....	xxxii
LISTE DES TABLEAUX.....	xxxiv
RESUME.....	xxxvi
ABSTRACT	xxxviii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE.....	4
I.1. Généralités sur les maladies non transmissibles	4
I.1.1. Facteurs de risque	4
I.2. Maladies cardiovasculaires	5
I.2.1. Généralités	5
I.2.2. Epidémiologie	5
1.2.2. Système cardiovasculaire	6
1.3. Athérosclérose	8
1.3.1. Généralités.....	8
I.3.2. Physiopathologie.....	9
I.3.2.1. Initiation.....	9
I.3.2.2. Formation des cellules spumeuses	15
I.3.2.3. Formation de la chape fibreuse	17
I.3.2.4. Evolution et rupture de la plaque	18
I.4. Hyperglycémie et troubles métaboliques.....	21
I.4.1. Voie des polyols.....	21
I.4.2. Voies de formation des produits avancés de glycation.....	22
I.4.3. Voie de la protéine kinase C	23
I.5. Stress oxydatif.....	24
I.5.1. Agents oxydants.....	24
I.5.2. Mécanismes de défense contre l'action des pro-oxydants.....	25
I.5.2.1. Antioxydants enzymatiques	25

I.5.2.2. Antioxydants non enzymatiques	25
I.6. Prise en charge	26
I.6.1. Approche non pharmacologique	27
I.6.1.1. Contrôle du poids	27
I.6.1.2. Activité physique	27
I.6.1.3. Prise en charge nutritionnelle.....	27
I.6.2. Approche pharmacologique	27
I.6.2.1. Hypolipémiants	28
I.6.2.2. Hypoglycémiantes	34
I.6.2.3. Antiagrégats plaquetaires	39
I.6.2.4. Hypotenseurs.....	41
I.7. Modèles d'induction des désordres métaboliques.....	44
I.7.1. Modèles alimentaires	44
I.7.1.1. Diète enrichie en hydrates de carbone ou glucides	44
I.7.1.2. Diète enrichie en graisses.....	48
I.7.1.3. Diète enrichie en glucide et en graisse.....	49
I.7.2. Modèles transgéniques.....	51
I.7.3. Modèles chimiques	52
I.7.4. Modèles combinés	53
I.8. Prédiction des modes d'action par l'approche <i>in silico</i> ou amarrage moléculaire.....	53
I.8.1. Généralités	53
I.8.2. Méthode <i>structure-based</i>	54
I.8.3. Amarrage moléculaire.....	55
I.8.3.1. Principe du <i>docking</i> ou de l'amarrage moléculaire.....	55
I.8.3.2. Types de <i>docking</i> ou d'amarrage moléculaire	56
I.8.3.3. Algorithme du <i>docking</i> ligand-protéine	58
I.8.3.4. Fonction de notation ou <i>scoring</i>	60
I.8.3.5. Programmes de <i>docking</i> ou amarrage moléculaire	62
I.9. Généralités sur les composés bioactifs.....	63
I.9.1. Polyphénols.....	63
I.9.1.1. Définition et classification	63
I.9.1.2. Bioactivités des polyphénols.....	64
I.9.2. Alcaloïdes	66

I.9.3. Fibres alimentaires	67
I.10. Etude de toxicité	67
I.10.1. Etude de la toxicité aiguë	68
I.10.2. Etude de toxicité subaiguë	68
I.11. Généralités sur les plantes d'études	69
I.11.1. <i>Trichoscypha acuminata</i>	69
I.11.2. <i>Vitex doniana</i> Sweet	70
I.11.3. <i>Detarium microcarpum</i>	70
CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES	75
II.1. Organisation générale de l'étude	75
II.2. Matériel.....	76
II.2.1. Matériel végétal	76
II.2.2. Matériel animal.....	76
II.2.3. Matériel informatique	76
II.3. Extraction.....	76
II.3.1. Préparation de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i>	76
II.3.2. Préparation de l'extrait hydroéthanolique des fruits de <i>Vitex doniana Sweet</i>	77
II.3.3. Préparation de l'extrait aqueux des fruits de <i>Trichoscypha acuminata</i>	77
II.4. Evaluation de la teneur d'extraits en composés phénoliques	77
II.4.1. Evaluation de la teneur en polyphénols totaux	77
II.4.2. Evaluation de la teneur en flavonoïdes totaux.....	78
II.5. Partie I : Identification de l'extrait le plus actif sur la base des effets sur quelques marqueurs du stress oxydant, l'homéostasie glucidique et lipidique	79
II.5.1. Evaluation des effets des extraits chez les rats hyperglycémiques.....	79
II.5.1.1. Induction de l'hyperglycémie	79
II.5.1.2. Plan expérimental	80
II.5.1.3. Sacrifice des animaux	80
II.5.1.4. Préparation du plasma et hémolysât d'érythrocytes	80
II.5.1.5. Préparation des homogénats de foie et cœur	81
II.5.1.6. Evaluation des effets des extraits sur quelques marqueurs du stress oxydatif chez les rats hyperglycémiques	81
II.5.1.7. Evaluation des effets des extraits sur l'homéostasie lipidique chez les rats hyperglycémiques.....	83

II.5.1.8. Evaluation des effets des extraits sur l'homéostasie glucidique chez les rats hyperglycémiques.....	87
II.5.2. Evaluation <i>in vitro</i> de quelques propriétés antioxydantes et hypoglycémiantes des extraits	87
II.5.2.1. Evaluation des propriétés antioxydantes des extraits	87
II.5.2.2. Evaluation des propriétés hypoglycémiantes des extraits	89
II.6. Partie II : Détermination de l'effet cardioprotecteur sur des rats soumis à une diète athérogène et quelques modes d'action de l'extrait le plus actif.....	91
II.6.1. Evaluation des effets cardioprotecteurs du meilleur extrait chez les rats athérogéniques.....	91
II.6.1.1. Induction de l'athérogénicité	91
II.6.1.2. Composition et valeur énergétique de la diète athérogénique	91
II.6.1.3. Protocole expérimental	93
II.5.1.4. Préparation du plasma, et des homogénats du cœur et foie.....	93
II.5.1.5. Evaluation des effets cardioprotecteurs du meilleur extrait chez les rats athérogéniques.....	93
II.6.1.6. Evaluation des effets du meilleur extrait sur les dyslipidémies et le risque athérogène chez les rats athérogéniques.....	96
II.6.1.7. Evaluation des effets du meilleur extrait sur la cytolyse hépatique et la fonction rénale	99
II.6.2. Caractérisation et prédiction de quelques modes d'action de l'extrait le plus actif	102
II.6.2.1. Caractérisation de l'extrait le plus actif.....	102
II.6.2.2. Recherche des solutions d'amarrage protéines-ligands.....	103
II.7. Partie III : Détermination de la dose létale 50 et les effets sur les paramètres hématologiques, l'architecture des organes vitaux, et les fonctions rénales et hépatique de l'extrait le plus actif.....	110
II.7.1. Détermination de la dose létale 50 de l'extrait le plus actif : étude de la toxicité aiguë	110
II.7.2. Détermination des effets sur les paramètres hématologiques, l'architecture des organes vitaux, et les fonctions rénales et hépatique de l'extrait le plus actif : évaluation de la toxicité subaiguë	111
II.7.2.1. Protocole expérimental	111

II.7.2.2. Calcul des poids relatifs d'organes	112
II.7.2.3. Examens hématologique et histopathologique	112
II.7.2.4. Evaluation des paramètres biochimiques associés à la toxicité.....	112
II.8. Traitement et analyses des données	114
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	115
III.1. Résultats	115
III.1.1. Résultats partiels I	115
III.1.1.1. Teneur en composés phénoliques des extraits.....	115
III.1.1.2. Effets des extraits sur l'homéostasie glucidique chez des rats hyperglycémiques.....	115
III.1.1.3. Effets des extraits sur l'homéostasie lipidique chez des rats hyperglycémiques	118
III.1.1.4. Effets des extraits sur le stress oxydant chez des rats hyperglycémiques...	119
III.1.1.5. Modes d'actions des extraits	121
III.2. Discussion	124
III.2.1. Discussion partielle I.....	124
III.1.2. Résultats partiels II	129
III.1.2.1. Evolution du poids corporel des rats pendant l'induction de l'athérogénicité	129
III.1.2.2. Effets de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i> sur le poids corporel chez les rats athérogéniques.....	130
III.1.2.3. Effets de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i> sur la prise alimentaire chez les rats athérogéniques	130
III.1.2.4. Effets cardioprotecteur de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i> chez les rats athérogéniques.....	131
III.1.2.5. Effets antiathérogène de l'extrait aqueux d'écorce de <i>Detarium microcarpum</i> chez les rats athérogéniques	133
III.1.2.6. Effets de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i> sur la fonction hépatique et rénale chez les rats athérogéniques	137
III.1.2.7. Composition chimique et prédiction de quelques modes d'action de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i>	138
III.1.2.7.1. Composition chimique de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i>	138

III.1.2.7.2. Interactions ligand-protéine résultant du <i>docking</i>	140
III.2.2. Discussion partielle II.....	145
III.1.3. Résultats partiels III	149
II.1.3.1. Résultats de l'évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i>	149
II.1.3.2. Résultats de l'évaluation de la toxicité subchronique de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i>	150
III.1.3.2.1. Effets de l'extrait sur le changement des habitudes et les signes de toxicités	150
III.1.3.2.2. Effets de l'extrait sur la croissance pondérale.....	151
III.1.3.2.3. Effets de l'extrait sur le poids relatif des organes	152
III.1.3.2.4. Effets de l'extrait sur les paramètres hématologiques.....	153
III.1.3.2.5. Effets de l'extrait sur l'architecture tissulaire	154
III.1.3.2.6. Effets de l'extrait sur les marqueurs biochimiques de toxicité	154
III.2.3. Discussion partielle III	155
CONCLUSION	159
PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS.....	160
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	161
ANNEXES	a

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AC	:	Coefficient athérogénique
ACLY	:	ATP citrate lyase
AIP	:	Indice athérogénique du plasma
ALAT	:	Alanine aminotransférase
AGE	:	Produits Terminaux de Glycation Avancée
ASAT	:	Aspartate aminotransférase
BHT	:	Buthyl Hydroxytoluène
CAM	:	<i>Cellular adhesion molecules</i>
CETP	:	<i>Cholesterol ester transfer protein</i>
CML	:	Cellules musculaires lisses
CRP	:	Protéine C réactive;
DESG/DESF	:	Diète enrichie en sucrose et en graisse/ Diet enriched with sucrose and fat ;
DPPH	:	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil
DTNB	:	Acide 5,5-dithiobis-(2-nitrobenzoïque)
GLUT	:	Transporteur de Glucose
GPT	:	Glutamate Pyruvate Transférase
GPx	:	Glutathion Peroxydase
GR	:	Glutathion Réductase
GSH	:	Glutathion Réduit
GSSG	:	Glutathion Oxydé
HDL	:	Lipoprotéine de haute densité
ICP/CPI	:	Indice cardioprotecteur/ <i>Cardioprotective index</i>
IFN	:	Interféron
IR	:	Insulinorésistance
IRS	:	Substrats des Recepteurs de l'insuline
LDL	:	Lipoprotéine de faible densité
MCP-1	:	Protéine-1 Chimioattractrice pour les Monocytes
MCV	:	Maladies Cardiovasculaires
MS	:	Matière Sèche
MNFAG	:	Maladies Non Alcooliques du Foie Gras
MMP	:	Métalloprotéases matricielles.

NADPH	:	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NFκB	:	Facteur Nucléaire kappa B
NO	:	Oxyde nitrique
NOS	:	Oxyde Nitrique Synthétase
PAI-1	:	Inhibiteur des activateurs du plasminogène de type I;
POD	:	Péroxydase
PPARγ	:	<i>Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ</i>
QSAR	:	<i>Quantitative Structure-Activity Relation</i>
RRC	:	Rapport du risque cardiaque
TBARS	:	Substances Réactives à l'acide Thiobarbiturique (SRATB)
VLDL	:	Lipoprotéine de très faible densité

LISTE DES FIGURES

Figure 1	: Représentation schématique du cœur.....	6
Figure 2	: Capillaires sanguins	7
Figure 3	: Représentation des composantes des veines	7
Figure 4	: Représentation des composantes d'une artère	8
Figure 5	: Initiation de la formation de la plaque d'athérome	10
Figure 6	: Mécanisme de production du NO par les cellules endothéliales	12
Figure 7	: Activités biologiques du NO.....	13
Figure 8	: Mécanisme de recrutement des leucocytes	15
Figure 9	: Mécanisme de transformation des macrophages en cellules spumeuses	17
Figure 10	: Migration des CML, prolifération et formation de la chape fibreuse ou plaque. 18	
Figure 11	: Structure de la plaque stable et instable ou vulnérable	19
Figure 12	: Rupture de la plaque	20
Figure 13	: Voie des polyols et désordre associés	21
Figure 14	: Mécanisme de formation des produits de glycation avancée.....	22
Figure 15	: Activation cellulaire secondaire à la liaison des produits de glycation avancée aux récepteurs pour les produits de glycation avancée	23
Figure 16	: Voie de la PKC	24
Figure 17	: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.....	26
Figure 18	: Mécanismes d'action des hypolipémiants.....	28
Figure 19	: Mécanismes d'action hépatique des statines.....	29
Figure 20	: Mécanismes d'action endothélial des statines.....	30
Figure 21	: Effets pléiotropes vasculaires des statines	31
Figure 22	: Mécanismes d'action des fibrates	32
Figure 23	: Mécanismes d'action de l'ézétimibe.....	33
Figure 24	: Mécanismes d'action de la cholestyramine	33
Figure 25	: Mécanismes d'action de la metformine	34
Figure 26	: Mécanismes d'action des sulfonyles et glinides	35
Figure 27	: Mécanismes d'action des thiazolidinediones	36
Figure 28	: Mécanisme d'action des alpha –glucosidases	37
Figure 29	: Mécanismes d'action des analogues d'incrétines	38

Figure 30 : Mécanismes d'action des agonistes du GLP, des inhibiteurs du DPP- 4 et SGLT 2	39
Figure 31 : Mécanismes d'action des anti-agrégats plaquetaires	40
Figure 32 : Site d'action des hypotenseurs	41
Figure 33 : Mécanismes et site d'actions des diurétiques.....	42
Figure 34 : Mécanismes cellulaires de la stimulation β 1 adrénergique myocardique.....	43
Figure 35 : Résumé des effets des différents régimes alimentaires sur le métabolisme.....	49
Figure 36 : Syndrome métabolique induit par un régime riche en glucides et en graisses....	51
Figure 37 : Classification de l'approche <i>in silico</i>	54
Figure 38 : Principe général du <i>docking</i>	55
Figure 39 : Eléments caractéristiques du <i>docking</i> protéine-ligand.....	56
Figure 40 : Modèle d'amarrage rigide et flexible	57
Figure 41 : Méthode de <i>docking</i> moléculaire	57
Figure 42 : Principe de <i>docking</i> par algorithme génétique	59
Figure 43 : Différentes catégories de scores utilisés en amarrage moléculaire.....	61
Figure 44 : Classification et structures chimiques des polyphénols	64
Figure 45 : Fruits de <i>T. acuminata</i>	69
Figure 46 : Fruits de <i>V. doniana</i> Sweet	70
Figure 47 : <i>Detarium microcarpum</i> : écorce , feuilles, fruits et fleurs	71
Figure 48 : Organigramme du travail	75
Figure 49 : Interface d'accueil de la pdb	104
Figure 50 : Interface d'accueil de PubChem	104
Figure 51 : Interface d'accueil de ChemDraw 3D.....	105
Figure 52 : Interface d'accueil et de visualisation d'AutoDock	106
Figure 53 : Interface graphique de <i>Biovia Discovery Studio Visualizer</i>	106
Figure 54 : Interface de CASTp	108
Figure 55 : Positionnement de la boîte dans le site actif en fonction de ses coordonnées .	109
Figure 56 : Principe schématique du <i>scoring</i>	110
Figure 57 : Evolution du poids corporel des rats tout au long de l'induction de l'athérogénicité	129
Figure 58 : Influence de l'administration de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i> sur le poids corporel des rats soumis à l'alimentation athérogène	130
Figure 59 : Coupe histologique du foie et du cœur	135

Figure 60 : Chromatogramme résultant de l'analyse HPLC-DAD de l'extrait de <i>D. microcarpum</i>	138
Figure 61 : Représentation 3D et 2D des interactions entre la cathéchine et la CETP	141
Figure 62 : Représentation 3D et 2D des interactions entre l'épicathéchine et la CETP	142
Figure 63 : Représentation 3D et 2D des interactions entre la quercétrine et la CETP.....	142
Figure 64 : Représentation 3D et 2D des interactions entre la catéchine et l'ATP Citrate-lyase	143
Figure 65 : Représentation 3D et 2D des interactions entre l'épicatéchine et l'ATP Citrate-lyase	144
Figure 66 : Représentation 3D (a) et 2D (b) des interactions entre la quercetrine et l'ATP Citrate-lyase	144
Figure 67 : Coupes histologiques du poumon, reins, foie et cœur	154

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	: Quelques programmes de <i>docking</i>	62
Tableau II	: Noms vernaculaires de <i>Detarium microcarpum</i>	71
Tableau III	: Utilisations pharmacologiques de <i>Detarium microcarpum</i>	73
Tableau IV	: Activités biologiques de <i>Detarium microcarpum</i>	74
Tableau V	: Rendements d'extraction.....	77
Tableau VI	: Composition et valeur énergétique des diètes expérimentales.....	92
Tableau VII :	Préparation des tubes pour l'étalonnage ASAT	95
Tableau VIII	: Préparation des tubes pour l'étalonnage ALAT	100
Tableau IX	: Conditions de réalisation de la HPLC	103
Tableau X	: Code cristallographique des protéines et leur résolution	107
Tableau XI	: Coordonnées centrale de positionnement des boîtes dans le site actif de différentes protéines	109
Tableau XII	: Teneur en composés phénoliques des extraits.....	115
Tableau XIII	: Effets des extraits sur la glycémie post-prandiale chez les rats hyperglycémiques.....	116
Tableau XIV	: Effets des extraits sur la glycémie à jeun chez les rats hyperglycémiques	117
Tableau XV	: Effets des extraits sur l'insulinorésistance chez les rats hyperglycémiques	118
Tableau XVI	: Effets des extraits sur le profil lipidique chez les rats hyperglycémiques	119
Tableau XVII	: Effets des extraits sur les taux de SRATB chez les rats hyperglycémiques	120
Tableau XVIII	: Effets des extraits sur l'activité de la catalase chez les rats hyperglycémiques.....	121
Tableau XIX	: Pouvoir antiradicalaire des extraits	122
Tableau XX	: Capacité Antioxydante Totale des extraits.....	122
Tableau XXI	: Pouvoir glucophagique des extraits.....	123
Tableau XXII	: Effets des extraits sur l'absorption musculaire du glucose	124
Tableau XXIII	: Influence de l'administration de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i> sur la consommation de la diète athérogène	131

Tableau XXIV	: Effets de l'extrait aqueux d'écorces sur le taux d'oxyde nitrique et l'activité de l'ASAT cardiaque.....	132
Tableau XXV	: Effets de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i> sur le ratio du risque cardiaque et l'indice cardioprotecteur	133
Tableau XXVI	: Influence de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i> sur les triglycérides, le cholestérol total, le HDL-c, le LDL-c, le VLDL-c et le non-HDL-c plasmatique	134
Tableau XXVII	: Effets de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i> sur la résistance à l'insuline, les indices d'athérogénicité et la protection vasculaire	136
Tableau XXVIII	: Effets de l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i> sur l'hépatite et la néphrotoxicité	137
Tableau XXIX	: Structures des composés identifiés dans l'extrait aqueux d'écorces de <i>Detarium microcarpum</i>	139
Tableau XXX	: Score d'amarrage des ligands de l'extrait aqueux d'écorces de <i>D. microcarpum</i> sur les protéines	140
Tableau XXXI	: Effets de l'administration de l'extrait aqueux d'écorces de <i>D. microcarpum</i> sur la croissance des rats	150
Tableau XXXII	: Effets de l'administration à dose unique de l'extrait aqueux d'écorces <i>D. microcarpum</i> sur les signes de toxicité et les changements comportementaux	150
Tableau XXXIII	: Paramètres comportementaux et signes généraux en toxicité subaiguë	151
Tableau XXXIV	: Effets de l'administration orale de l'extrait aqueux d'écorces de <i>D. microcarpum</i> sur la croissance pondérale en toxicité subaiguë	152
Tableau XXXV	: Effets de l'administration orale de l'extrait aqueux d'écorces de <i>D. microcarpum</i> sur les poids relatifs d'organes en toxicité subaiguë	152
Tableau XXXVI	: Effets de l'administration orale de l'extrait aqueux d'écorces <i>D. microcarpum</i> sur les paramètres hématologiques en toxicité subaiguë	153
Tableau XXXVII	: Effets de l'administration orale de l'extrait aqueux d'écorces de <i>D. microcarpum</i> sur les marqueurs biochimiques de toxicité.....	155

RESUME

L'obésité et l'hyperglycémie sont à la genèse de plusieurs troubles métaboliques responsables des diverses altérations vasculaires. La présente étude visait à évaluer les effets des extraits de *Vitex doniana* (*V. doniana*), *Trichoscypha acuminata* (*T. acuminata*) et *Detarium microcarpum* (*D. microcarpum*) sur la santé cardiométabolique chez les rats. Au préalable, les extraits hydroéthanolique des fruits de *V. doniana*, et aqueux des fruits de *T. acuminata* et des écorces de *D. microcarpum* ont été préparés suivi de l'évaluation de leur teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux. Ensuite, l'identification de l'extrait le plus actif sur la base des effets sur le stress oxydant, l'homéostasie glucidique et lipidique sur les rats rendus hyperglycémiques par injection de la STZ et l'évaluation de quelques modes d'action *via* le pouvoir antiradicalaire, réducteur et glucophagique ont été effectués. Par la suite, les effets cardioprotecteurs de l'extrait le plus actif ont été évalués sur des rats soumis à la diète athérogène (DESG). Après caractérisation de cet extrait par HPLC-DAD, le *docking* a été utilisé pour prédire quelques modes d'action de celui-ci. Enfin, les études de la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait le plus actif ont été menées. Les teneurs en polyphénols totaux étaient de 737,78 ; 777,50 et 2226,00 µg EC/g de MS respectivement pour les extraits de *T. acuminata*, *D. microcarpum* et *V. doniana*. Celles en flavonoïdes totaux étaient de 6,18 ; 8,06 et 53,62 µg EQ/g de MS respectivement pour l'extrait de *V. doniana*, *T. acuminata* et *D. microcarpum* respectivement. S'agissant de l'effet sur l'homéostasie du glucose, les trois extraits ont entraîné une diminution significative et progressive de la glycémie à jeun, à court et moyen terme. Ce potentiel hypoglycémiant des trois extraits était associé à leur pouvoir glucophagique. Au niveau du stress oxydant, l'extrait de *D. microcarpum* a baissé les taux de Substances Réactives à l'Acide Thiobarbiturique (SRATB) dans le foie, le cœur et le plasma. Tandis que l'extrait de *T. acuminata* a baissé les taux de SRATB uniquement dans le plasma. Concernant, la catalase, les extraits de *T. acuminata* et *V. doniana* ont entraîné une baisse d'activité érythrocytaire de l'enzyme. Tandis que l'extrait de *D. microcarpum* a entraîné une hausse de l'activité érythrocytaire de la catalase. Cette capacité des extraits à protéger les tissus contre l'action des pro-oxydants était associée à leur aptitude à piéger le radical DPPH et à réduire le phosphomolybdène VI en V. Les effets sur l'homéostasie lipidique ont révélé que seul l'extrait de *D. microcarpum* a eu des effets bénéfiques sur le HDL-C et les triglycérides. Tandis que l'extrait de *T. acuminata* a été le seul à diminuer la cholestérolémie totale. De ces résultats, l'extrait de *D. microcarpum* a présenté la meilleure efficacité. Chez les rats soumis à la diète athérogène, l'extrait de *D. microcarpum* a présenté un effet cardioprotecteur *via* l'amélioration de la fonction endothéliale (augmentation

du NO cardiaque et diminution du NO plasmatique), la protection contre la cytolysé cardiaque (augmentation de l'ASAT cardiaque), la diminution du risque cardiaque et l'amélioration de l'indice cardioprotecteur. L'extrait a montré des propriétés hypotriglycéridémiantes, hypocholestérolémiantes, hypo LDL-c, hypo VLDL-c, hypo non-HDL-c et hyper HDL-c. L'extrait a entraîné une réduction du risque athérogène (diminution de l'IR, AC et AIP), de l'accumulation des graisses hépatiques, et une augmentation de la protection vasculaire. La caractérisation de l'extrait a révélé la présence des composés parmi lesquels la catéchine, l'épicatéchine et la quercétin 3-O-rhamnoside. Le *docking* moléculaire a montré que ces composés avaient la capacité de se fixer dans les sites actifs des enzymes ACLY et CETP, et inhiber leurs activités. Enfin, les études de la toxicité de *D. microcarpum* a révélé que la DL₅₀ est > 2000 mg/kg, mais cet extrait a présenté des signes d'hépatotoxicité. Les extraits des fruits de *V. doniana Sweet* et *T. acuminata*, et des écorces de *D. microcarpum* possèdent des effets bénéfiques sur le stress oxydant, l'homéostasie glucidique et lipidique. L'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum* qui était le plus actif a amélioré la santé cardiométabolique. Cependant, il était potentiellement hépatotoxique.

Mots clés : Antiathérogénique, cardioprotecteur, DESG, *D. microcarpum*, hyperglycémie, *T. acuminata*, toxicité, et *V. doniana*.

ABSTRACT

Obesity and hyperglycemia are the genesis of several metabolic disorders responsible for various vascular alterations. The present study aimed at evaluating the effects of *Vitex doniana* (*V. doniana*), *Trichoscypha acuminata* (*T. acuminata*), and *Detarium microcarpum* (*D. microcarpum*) extracts on cardiometabolic health in rats. First, the hydroethanolic extracts of *V. doniana* fruits, aqueous extracts of *T. acuminata* and aqueous extracts of *D. microcarpum* barks were prepared, followed by the evaluation of their total polyphenol and flavonoid contents. Then, the identification of the most active extract based on the effects on oxidative stress, carbohydrate and lipid homeostasis in STZ-induced hyperglycemic rats, and the evaluation of some modes of action *via* the antiradical, reducing and glucophagic power were performed. Subsequently, the cardioprotective effects of the most active extract were evaluated in rats fed with the atherogenic diet (DESf). After characterization of this extract by HPLC-DAD, docking was used to predict some of its modes of action. Finally, acute and subacute toxicity studies of the most active extract were conducted. The contents of total polyphenols were 737.78, 777.50 and 2226.00 $\mu\text{g EC/g DM}$ for the extracts of *T. acuminata*, *D. microcarpum* and *V. doniana* respectively. Those in total flavonoids were 6.18, 8.06 and 53.62 $\mu\text{g EQ/g DM}$ for *V. doniana*, *T. acuminata* and *D. microcarpum* extract respectively. Regarding the effect on glucose homeostasis, all three extracts resulted in a significant and progressive decrease of fasting blood glucose in the short and medium term. This hypoglycemic potential of the three extracts was associated with their glucophagic power. In terms of oxidative stress, *D. microcarpum* extract lowered Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) levels in liver, heart and plasma, while *T. acuminata* extract decreased TBARS levels only in plasma. For catalase, *T. acuminata* and *V. doniana* extract decreased erythrocyte activity of the enzyme, while *D. microcarpum* extract resulted in an increase in erythrocyte catalase activity. The ability of the extracts to protect tissues from the action of pro-oxidants was associated with their ability to scavenge the DPPH radical and to reduce phosphomolybdenum VI to V. The effects on lipid homeostasis revealed that only *D. microcarpum* extract had beneficial effects on HDL-c and triglycerides, while *T. acuminata* extract was the only extract that decreased total cholesterol. From these results, *D. microcarpum* extract showed the best efficacy. In rats subjected to the atherogenic diet, *D. microcarpum* extract showed a cardioprotective effect *via* improvement of endothelial function (increase in cardiac NO and decrease in plasma NO), protection against cardiac cytolysis (increase in cardiac ASAT) and decrease in cardiac risk, and improvement of the cardioprotective index. The extract showed hypotriglyceridemic, hypocholesterolemic, hypo LDL-c, hypo VLDL-c, hypo non-

HDL-c and hyper HDL-c properties. The extract resulted in a reduction of atherogenic risk (decrease of IR, AC and AIP), of hepatic fat accumulation and increase of vascular protection. The characterization of the extract revealed the presence of catechin, epicatechin and quercetin 3-O-rhamnoside. Molecular docking showed that these compounds had the ability to bind to the active sites of ACLY and CETP enzymes, and inhibit their activities. Finally, the toxicity studies of *D. microcarpum* revealed that the LD₅₀ is > 2000 mg/kg, but this extract showed signs of hepatotoxicity. The extracts of *V. doniana* and *T. acuminata* fruits, and *D. microcarpum* bark have beneficial effects on oxidative stress, carbohydrate and lipid homeostasis. The aqueous extract of *D. microcarpum* bark was the most active and improved cardiometabolic health. However, it was potentially hepatotoxic.

Keywords: Antiatherogenic, cardioprotective, DESF, *D. microcarpum*, hyperglycemia, *T. acuminata*, toxicity and *V. doniana*.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La nutrition est une fonction vitale pour l'Homme. Elle lui permet de puiser dans son environnement les nutriments dont il a besoin pour assurer le bon fonctionnement de son organisme. Cependant, une surnutrition ou suralimentation associée à la sédentarité est responsable de l'installation de l'obésité. En 2016, plus de 1,9 milliard d'adultes en surpoids dont plus de 650 millions obèses a été enregistré dans le monde (**Mohammed et al., 2020**). Si ces tendances se poursuivent, près de 20 % de la population adulte mondiale (soit 1,2 milliard d'individus) devrait être obèses d'ici 2030 (**Julibert et al., 2019**).

Physiologiquement, l'obésité entraîne un dérèglement de nombreux processus métaboliques, notamment l'action de l'insuline sur le métabolisme des lipides, du glucose, et affecte gravement les voies contrôlant la tension artérielle, le flux sanguin du glucose et des lipides. Ainsi, s'en suit un ensemble de conditions telles l'hyperglycémie, les dyslipidémies, l'hypertension, l'état pro-inflammatoire et procoagulant, responsables du syndrome métabolique (SM) dont l'incidence devrait atteindre environ 53 % à l'horizon 2035 (**Engin, 2017**). Le SM est une accumulation de plusieurs troubles métaboliques augmentant le risque de développer la résistance à l'insuline ou insulino-résistance (IR), l'inflammation, le dysfonctionnement endothélial, le diabète sucré et les maladies cardiovasculaires (MCV) (**Robberecht et Hermans, 2016 ; Sigit et al., 2020**). Il peut également déclencher un éventail de lésions hépatiques en provoquant une stéatose pouvant évoluer vers une stéatohépatite non alcoolique, une fibrose, une cirrhose et un carcinome hépatocellulaire (**Zhao et al., 2022**). En général, le SM est lié à la survenue des maladies cardiométaboliques. Ces dernières autrement connues comme maladies de civilisation occidentale, sont de nos jours un véritable problème de santé publique dans les pays à faibles et moyens revenus (**OMS, 2018**). Ces pathologies regroupent les MCV, les maladies non alcooliques du foie gras (MNAFG), les maladies respiratoires, le diabète de type 2, l'hypertension et certains cancers (**OMS, 2018**). En 2016 au Cameroun, 35 % de décès étaient attribuables aux maladies non transmissibles avec les MCV comme principales causes (**OMS, 2018**). En 2017, ces MCV à elles seules ont entraîné 11,85 % de décès au sein de la population camerounaise (**Dzudie et al., 2020**).

L'athérosclérose qui est centrale dans la survenue de MCV, est caractérisée par un durcissement et un rétrécissement simultané des artères, dû à un déséquilibre et une accumulation anormale de lipides, de cellules inflammatoires, de dépôts matriciels et de prolifération de cellules musculaires lisses (**Ganguly et Bhattacharjee, 2019**). Selon

l'hypothèse d'un dysfonctionnement endothélial, une quantité élevée de lipides circulant (notamment les LDL-c petites et denses) dans la lumière artérielle pénètre et s'accumule dans l'intima (**Prasad et al., 2014 ; Ganguly et Bhattacharjee, 2019**). La libération de plusieurs espèces oxygénées réactives (EORs) suite à l'activité de certaines enzymes (xanthine oxydase, oxyde nitrique synthase inductible et NADPH oxydase) va entraîner l'oxydation de ces LDL en LDL-ox (LDL oxydées). Ces EORs entraînent également une dysfonction endothéliale caractérisée par la réduction de la biodisponibilité de l'oxyde nitrique (NO) et une activation des cellules endothéliales (**Incalza et al., 2017**). Les cellules endothéliales activées exprimeront à leur surface des récepteurs ou molécules d'adhésion ce qui contribuera à la migration ou à l'attraction des monocytes circulants dans l'intima (**Prasad et al., 2014**). Après la migration, ces monocytes vont se différencier en macrophages et commencer à se nourrir de LDL-ox pour former les cellules spumeuses qui vont s'accumuler. L'accumulation des cellules spumeuses suivie de leur mort progressive entraînent la libération d'une grande quantité de lipides (**Ganguly et Bhattacharjee, 2019**). Cette libération de lipides associée à la production de cytokines pro-inflammatoires et d'EORs, conduit à une inflammation de l'artère, un agrandissement de la plaque athérosclérotique et une restriction de la circulation sanguine normale de l'artère (**Moss et Ramji, 2015 ; Otsuka et al., 2016**). Outre le milieu vasculaire, l'obésité a également une manifestation hépatique se traduisant par la survenue des maladies non alcoolique du foie gras (MNAFG). Ces dernières sont caractérisées par une accumulation accrue de lipides hépatiques en l'absence de consommation excessive d'alcool (**Shabalala et al., 2020**). Selon certains travaux, les MNAFG augmentent le risque des MCV et ont l'inflammation et l'IR comme facteurs clés impliqués dans leur pathogénèse (**Atchan et al., 2022**).

Des travaux ont montré l'importance d'une alimentation durable sur la santé cardiométabolique. Riche en fruits et légumes, l'alimentation durable a été associée à une diminution de la prévalence des facteurs de risque cardiométabolique et les maladies associées (**Finicelli et al., 2022**). **Aros et Estruch, (2013)** ont montré que ce type d'alimentation réduisait de 30% la survenue d'un évènement cardiovasculaire. Cet effet bénéfique des fruits résulte de la présence des composés bioactifs à l'instar des polyphénols (**Tussing-Humphreys et al., 2022**). En Afrique, les fruits sont généralement retrouvés en zone forestière. De couleur vive, ces produits forestiers non ligneux sont des sources potentielles de composés phénoliques. Ces derniers notamment les flavonoïdes ont la capacité d'inhiber les actions délétères des EORs et réguler les désordres cardiométaboliques (**Hawana et Alraei, 2019**). **Atchan et al. (2022)** ont

plutôt montré le potentiel des extraits riches en polyphénols à réduire l'accumulation des lipides hépatiques chez les souris obèses. *Vitex doniana*, *Trichoscypha acuminata* et *Detarium microcarpum* sont des plantes dont l'utilisation de leurs produits non ligneux serait bénéfique dans la prise en charge des maladies cardiométaboliques. En effet, les diverses parties de ces plantes sont traditionnellement utilisées pour traiter l'essoufflement, la fatigue, les troubles du rythme cardiaque, l'hyperglycémie, le gonflement articulaire, et la perte de poids (Annexe 2). Au regard de ce qui précède, ces trois plantes pourraient-elles avoir un effet pléiotrope sur l'ensemble des facteurs associés à l'installation des maladies cardiométaboliques ?

Hypothèse

Les extraits des fruits de *Vitex doniana* et *Trichoscypha acuminata*, et d'écorces de *Detarium microcarpum*, sont riches en composés phénoliques capables de moduler les troubles métaboliques associés à l'altération de la santé cardiométabolique.

Objectif général

Rechercher les effets des extraits de *Vitex doniana*, *Trichoscypha acuminata* et *Detarium microcarpum* sur la santé cardiométabolique chez les rats.

Objectifs spécifiques

Il a été question de :

- ❖ Identifier l'extrait le plus actif sur la base des effets sur le stress oxydant, l'homéostasie glucidique et lipidique sur un modèle de rats rendu hyperglycémique ;
- ❖ Déterminer l'effet cardioprotecteur sur des rats soumis à une diète athérogène et quelques modes d'action de l'extrait le plus actif ;
- ❖ Déterminer la dose létale 50 et les effets sur les paramètres hématologiques, l'architecture des organes vitaux, et les fonctions rénales et hépatique de l'extrait le plus actif.

**CHAPITRE I: REVUE DE LA
LITTERATURE**

CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Généralités sur les maladies non transmissibles

Les maladies non transmissibles (MNTs) ou maladies non contagieuses ou maladies chroniques peuvent être considérées comme étant des pathologies/maladies causées par des agents non infectieux et qui ne peuvent être transmises d'un individu à un autre. Elles représentent un véritable problème de santé public dans les pays développés (**Yamada et al., 2013**) ainsi que dans les pays à revenu faible et intermédiaire (**OMS, 2017**).

Les MNTs sont responsables de plus de 40 millions de décès dans le monde chaque année soit environ 70 % du nombre total des décès (**OMS, 2017**). Les maladies cardiovasculaires (accidents vasculaires cardiaques ou cérébraux "AVC"), les cancers, les maladies respiratoires (comme la broncho-pneumopathie chronique obstructive ou l'asthme) et le diabète avec respectivement 17,7 ; 8,8 ; 3,9 et 1,6 millions de décès par an, en sont les principaux types (**OMS, 2017**). L'Afrique n'étant pas en reste, ces maladies ne cesseront d'augmenter dans les prochaines décennies et seront la principale cause de décès en Afrique Sub-Saharienne d'ici 2030 (**Reshma et Toshiko, 2015**) ; devenant ainsi pour cette région du monde, un véritable challenge pour son développement.

I.1.1. Facteurs de risque

Plusieurs facteurs peuvent selon l'Organisation Mondiale de la Santé, concourir à l'installation des MNTs. De manière individuelle ou synergique, ces facteurs augmentent l'incidence ou le risque de survenu de ces maladies. Ils sont constitués de facteurs non-modifiables et facteurs modifiables (**OMS, 2017**).

- **Facteurs de risque non-modifiables** : l'âge, le sexe et les antécédents familiaux ;
- **Facteurs de risque modifiables** :
 - ✓ **Facteurs de risque comportementaux**

Cette catégorie regroupe les facteurs liés à l'environnement ou au comportement. Ils regroupent : le tabagisme, l'usage abusif d'alcool, la sédentarité et la mauvaise alimentation

✓ **Facteurs de risques métaboliques/physiologiques**

Ces facteurs influencent sur le fonctionnement adéquat de l'organisme augmentant ainsi le risque de survenu des maladies non transmissibles. Il s'agit notamment de l'hypertension artérielle, le surpoids, l'obésité, l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie (OMS, 2017).

I.2. Maladies cardiovasculaires

I.2.1. Généralités

Les maladies cardiovasculaires (MCV) sont définies comme étant des pathologies ou troubles affectant le système cardiovasculaire (cœur et vaisseaux sanguins) (OMS, 2017). Elles comprennent plusieurs pathologies :

- **Cardiopathies coronariennes** : elles affectent les vaisseaux sanguins qui alimentent le muscle cardiaque ;
- **Maladies cérébro-vasculaires** ou **accidents vasculaires cérébraux (AVC)** : elles affectent les vaisseaux sanguins alimentant le cerveau ;
- **Artériopathies périphériques** : elles affectent les vaisseaux sanguins qui alimentent les bras et les jambes ;
- **Thromboses veineuses profondes** et **embolies pulmonaires** : elles se manifestent par une obstruction des veines des jambes par un caillot sanguin, susceptible de se libérer et de migrer vers le cœur ou les poumons ;
- **Cardiopathies rhumatismales** : elles affectent le muscle et les valves cardiaques. Elles résultent d'un rhumatisme articulaire aigu causé par des bactéries à l'instar des streptocoques ;
- **Malformations cardiaques congénitales** : elles concernent des déficiences de formation de la structure du cœur. Elles sont généralement innées (OMS, 2017).

I.2.2. Epidémiologie

Les MCV sont la première cause de décès dans le monde. En 2015, elles étaient responsables de 17,7 millions de décès soit 31 % de la mortalité mondiale totale. Parmi ces 17,7 millions de décès, 7,4 millions étaient dus à une cardiopathie coronarienne et 6,7 millions aux AVC (OMS, 2017). En 2019, les maladies cardiaques ou cardiopathies à elles seules ont causé 9 millions de décès (OMS, 2020). La majorité de ces décès a été répertoriée dans les pays à revenus faibles et intermédiaires (OMS, 2017). Selon la Société Camerounaise de Cardiologie, les MCV sont en hausse au Cameroun et touchent près de 35 % de la population adulte, soit

près de 17 000 cas officiellement recensés chaque année (Mohamed, 2016). Elles affectent principalement le système cardiovasculaire.

1.2.2. Système cardiovasculaire

- **Cœur**

Le cœur, centre du système circulatoire est un puissant muscle qui pompe le sang à travers le corps en réponse aux contractions. Ce muscle a deux principales fonctions :

- Collecter le sang des tissus riches en déchets (CO_2) pour les diriger vers les poumons ;
- Collecter le sang des poumons riches en oxygène (O_2) vers les tissus (Whitaker, 2014).

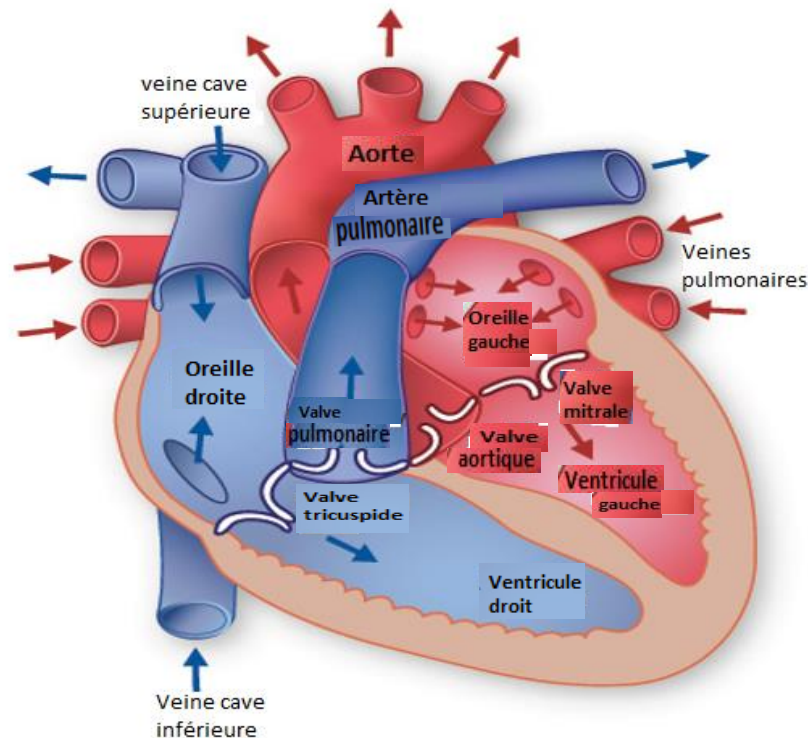


Figure 1 : Représentation schématique du cœur (Whitaker, 2014)

- **Vaisseaux sanguins**

Ils sont constitués des artères, veines et capillaires sanguines, les vaisseaux sanguins sont des conduits appartenant à la circulation sanguine, responsable du transport du sang dans l'organisme.

- ✓ **Capillaires sanguins**

Ce sont les plus petits vaisseaux sanguins. Ils relient les veines et les artères. C'est dans les capillaires que le sang livre l'oxygène, les aliments dans les cellules et ramasse les déchets. Les capillaires communiquent entre elles et forment un réseau anastomotique.

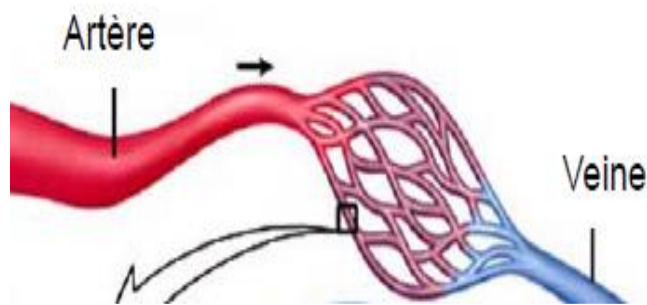


Figure 2 : Capillaires sanguins (Whitaker, 2014)

✓ Veines

Elles sont des vaisseaux sanguins dont le rôle est de drainer le sang rempli de déchets des capillaires vers le cœur puis les poumons. Ces dernières possèdent des valvules (petites valves) qui empêchent le sang de redescendre aux extrémités du corps ce qui facilite la progression du sang à sens unique.

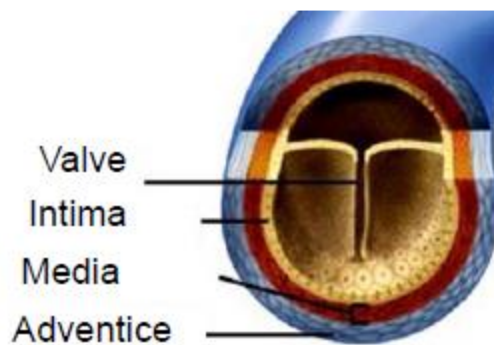
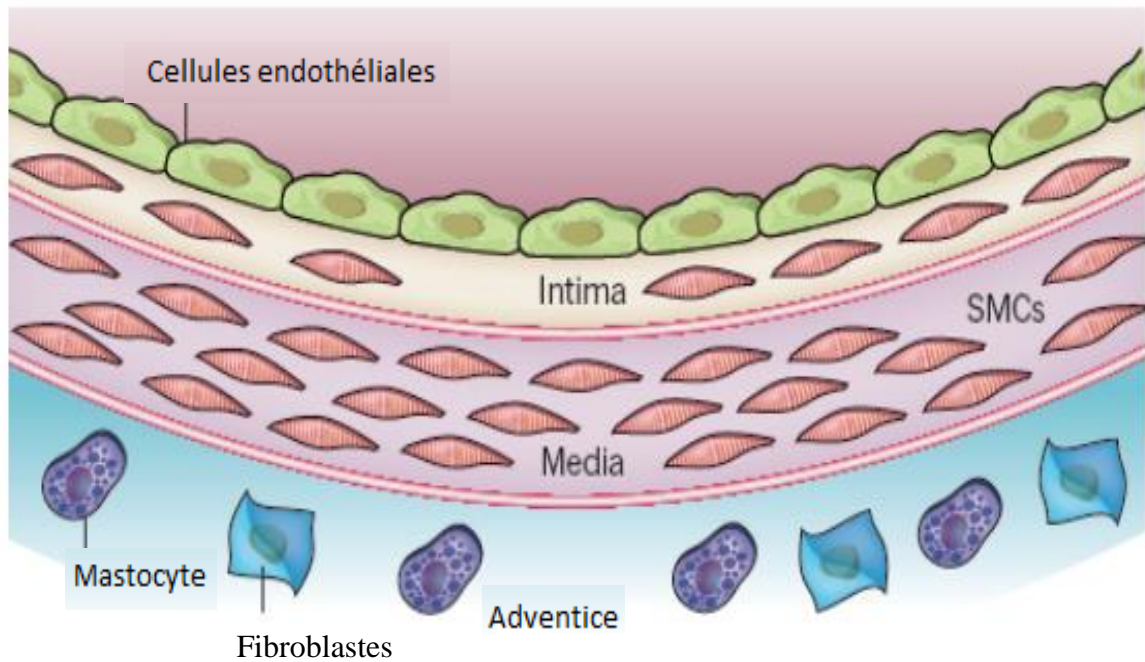


Figure 3 : Représentation des composantes des veines (Whitaker, 2014)

✓ Artères

Une artère comporte trois tuniques, de l'intérieur vers l'extérieur :

- **Intima** : monocouche de cellules endothéliales reposant sur un sous endothélium ;
- **Média** : Elle est séparée de l'intima par une limitante élastique interne essentiellement constituée de cellules musculaires lisses et fibres élastiques ;
- **Adventice** : Couche conjonctive protectrice et nourricière, riche en *vasa vasorum* et en filets nerveux. Elle est séparée de la média par la limitante élastique externe (Badimon et Vilahur, 2014).



SMC: cellules musculaires lisse

Figure 4 : Représentation des composantes d'une artère (Libby *et al.*, 2011)

1.3. Athérosclérose

1.3.1. Généralités

L'athérosclérose est la majeure cause des MCV (Johan, 2013). Elle dérive du grec 'athero' qui signifie 'pâte' et de 'Sclérose' qui signifie 'durcissement'. Plusieurs définitions existent et varient selon les auteurs. Ainsi, elle est considérée comme :

- ✓ Un développement des plaques athéromateuses composées de cholestérols et de macrophage à l'intérieur de artères (Libby *et al.*, 2011) ;
- ✓ Une pathologie systémique caractérisée par des lésions inflammatoires de bas bruits se développant pendant la progression de la maladie (Mariarita *et al.*, 2013 ; Badimon et Vilahur, 2014) ;
- ✓ Une maladie inflammatoire chronique des artères conduite par les lipides impliquant le système immunitaire inné et adaptatif (Badimon et Vilahur, 2014 ; Aziz et Yadav, 2016) ;
- ✓ Une maladie des artères se manifestant par son rétrécissement (Srividya, 2017) ;
- ✓ Une maladie immuno-inflammatoire chronique et progressive affectant les vaisseaux sanguins et pouvant entraîner le développement de plaques d'athérome (Javadifar *et al.*, 2021).

Au regard de la multiplicité des définitions, l'athérosclérose peut simplement être considérée comme une maladie vasculaire chronique bénigne caractérisée par un rétrécissement ou un durcissement de la lumière des artères dû à la présence des plaques d'athérome.

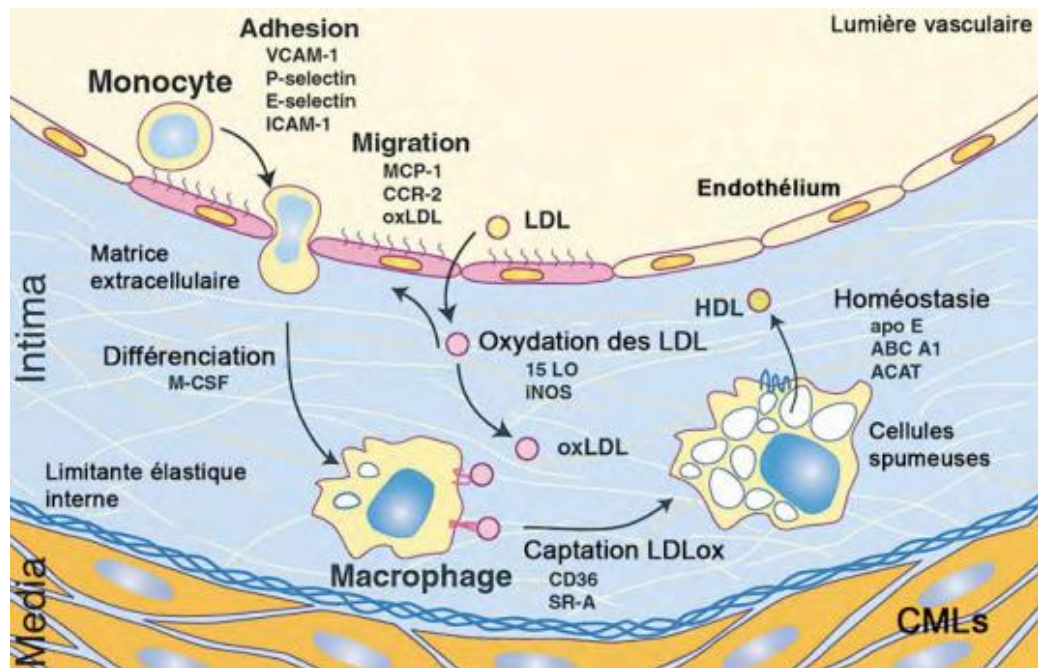
I.3.2. Physiopathologie

L'athérosclérose est une pathologie silencieuse dont son installation à l'intérieur des petites et grosses artères prend plusieurs années. Deux hypothèses sont alors proposées pour décrire les événements impliqués dans l'athérogenèse. La première est "la réponse aux dommages" initiée par le dysfonctionnement de la garniture endothéliale caractérisé par le dépôt des LDL-c (*Low Density Lipoprotein- cholesterol*) dans l'intima suivi par le recrutement et la migration des monocytes. La seconde hypothèse est "la réponse à la rétention" caractérisée par des modifications subies par les LDL-c dans l'intima (**Prasad et al., 2014**). Ces événements peuvent alors être subdivisés en quatre étapes successives :

- Initiation ;
- Formation des cellules spumeuse/stries lipidiques ;
- Formation de la chape fibreuse ;
- Evolution et rupture de la chape fibreuse (**Boamponsem et Boamponsem, 2011**).

I.3.2.1. Initiation

C'est l'étape liminaire de l'athérosclérose (figure 5). Elle est caractérisée par la pénétration et l'accumulation des LDL-c dans l'intima, suivies de l'oxydation de ces LDL-c et le dysfonctionnement endothélial.



SR : scavenger receptor ; LDL : lipoprotéines de basse densité ; oxLDL : LDL oxydé ; HDL : lipoprotéines de haute densité ; iNOS : oxyde nitrique inductible ; CML : cellules musculaires lisses ; apo : apoprotéine ; ABC : cassette de liaison à l'ATP ; ACAT ; MCP-1 : Monocyte Chemoattractant Protein1 ; M-CSF ; Macrophage Colony Stimulating Factor ; ACAT1 : acyl coenzyme A:cholestérol acyltransférase-1 ; VCAM : vascular cell adhesion molecule 1 ; ICAM : intracellular adhesion molecule.

Figure 5 : Initiation de la formation de la plaque d'athérome (Dimastromatteo, 2010)

✚ Pénétration et accumulation des LDL-c dans l'intima

L'obésité, l'insulinorésistance et le diabète sont responsables de plusieurs troubles métaboliques parmi lesquels les dyslipidémies. Ces dernières sont caractérisées par une augmentation du taux circulant de LDL-c petites et grosses, lesquelles vont s'infiltrer dans l'espace sous endothélial et s'accumuler dans l'intima (Johan, 2013 ; Prasad *et al.*, 2014).

L'infiltration et l'accumulation des LDL-c résultent d'une augmentation de la perméabilité vasculaire. Celle-ci fait suite à la réduction de l'expression de la desmogléine 1 (DSG1) et de la desmocolline 2 (DSC2) (Krouwer *et al.*, 2012 ; Li *et al.*, 2015). En effet, la DSG1 dont l'expression est régulée par le calcium, est un composant des desmosomes, impliqué dans la formation de la jonction cellule-cellule. La DSC2 (protéine de type cadhérine se liant au calcium) est également impliquée dans les contacts intercellulaires desmosomaux (Syed *et al.*, 2002).

La régulation positive de la protéine kinase-C (PKC) entraîne l'activation d'une signalisation dépendante de la RhoA/Rho kinase-dépendante et la phosphorylation de l'occludine (composant structurel clé des jonctions serrées), qui affaiblit la barrière endothéliale. La stimulation de la PKC entraîne également l'activation de la sous-unité réglementaire 14A de

la protéine phosphatase 1 (PPP1R14A). La PPP1R14A inhibe la myosine-phosphatase des muscles lisses, entraînant ainsi un réarrangement du cytosquelette, une perturbation des contacts entre les cellules et une augmentation de la perméabilité (Kása *et al.*, 2015). La perméabilité caractérisée par la présence des pores entre les cellules endothéliales (CE) entraînent donc la transcytose (transport vésiculaire à travers les cellules endothéliales) des LDL-c (Dimastromatteo, 2010). Les LDL-c de part la présence de l'apoprotéine B100 (apoB100) à leur surface vont s'associer aux protéoglycanes de l'endothélium, et être plus susceptible à l'oxydation (Boamponsem et Boamponsem, 2011 ; Johan, 2013).

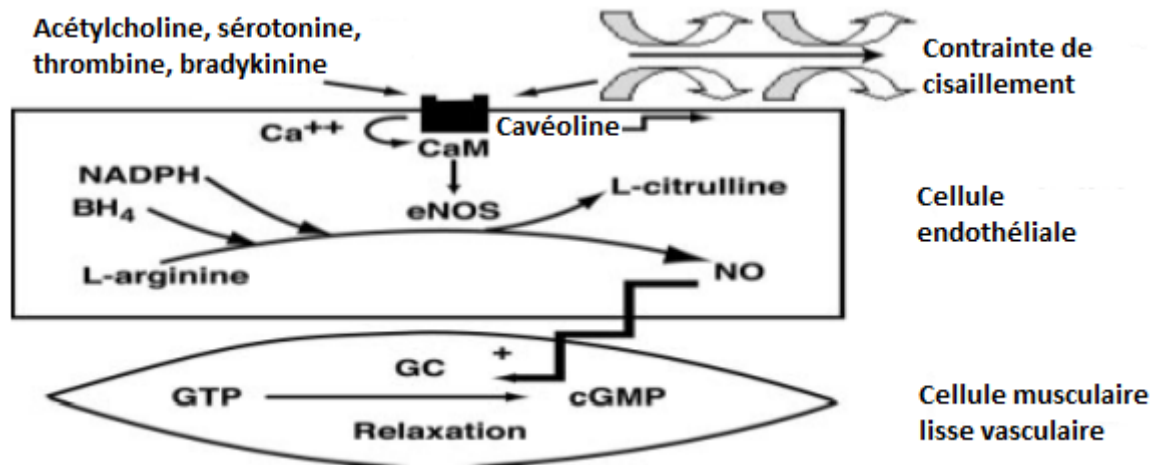
✚ Oxydation des LDL-c

Elle est rendue possible grâce à l'action d'espèces oxygénées réactives (EORs). En effet, ces EORs sont issues de l'activité de plusieurs enzymes telles la lipooxygénase, myeloperoxydase, l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS), la xanthine oxydase et la NADPH oxydase (Godbole, 2009). Les EORs, parmi lesquelles l'anion superoxyde (O_2^-) très réactif généré par la xanthine oxydase et la NADPH oxydase, attaquent la partie lipidique et protéique des LDL-c emprisonnées dans l'intima (Prasad *et al.*, 2014). Cette attaque des LDL-c entraîne des modifications ou une production anormale des LDL-c oxydés (LDL ox) (Johan, 2013).

✚ Dysfonction endothéliale

✓ Rôle de l'endothélium

L'endothélium, constitué de cellules endothéliales a pour rôle de réguler le tonus vasculaire et d'exercer les propriétés anticoagulante, antiplaquettaire et fibrinolytique. La principale composante vasodilatatrice de l'endothélium est l'oxyde nitrique (NO). Ce dernier résulte de la dégradation de la L-arginine en L-citrulline en présence de l'oxyde nitrique synthase (eNOS), enzyme localisée dans les caveoles (invagination de la membrane cellulaire) (figure 6) (Davignon et Ganz, 2004 ; Gimbrone et García-Cardena, 2016). L'eNOS est activé par la fixation du calcium (Ca^{2+}) sur la calmoduline, le NADPH et tétrahydrobioptérine (BH_4 : un cofacteur) et inhibé par la caveolin-1. Cette protéine se fixe réversiblement sur la calmoduline pour exercer son activité inhibitrice (Davignon et Ganz, 2004).

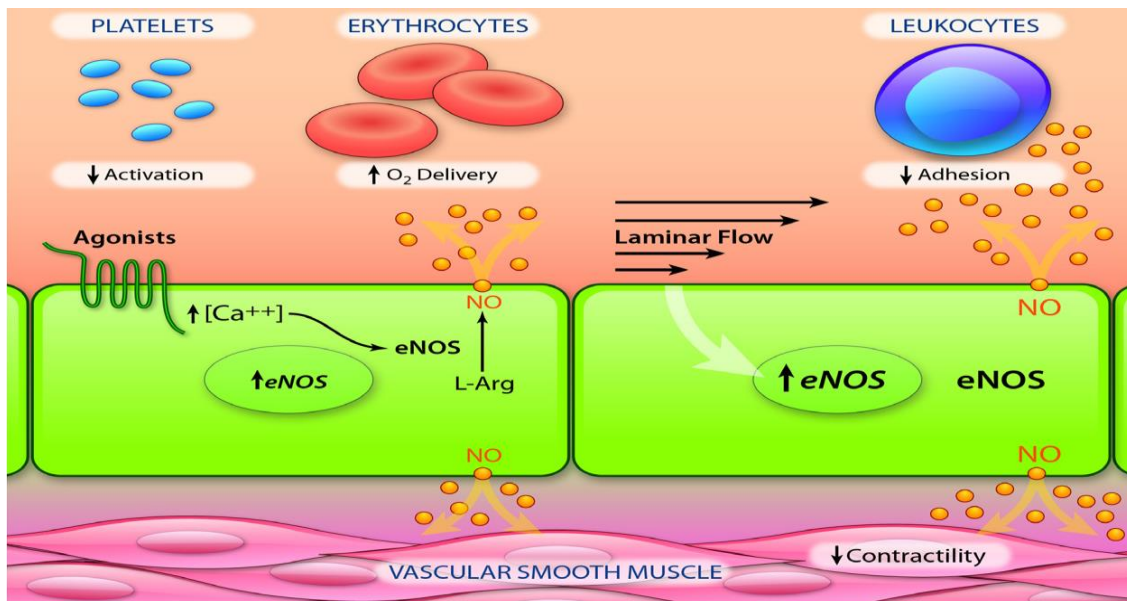


Ca^{2+} : ion calcium ; NO : oxyde nitrique ; eNOS : NO synthase endothélial ; BH_4 : tétrahydrobioptérine ; NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate ; GC : guanylate cyclase ; GTP : guanosine triphosphate ; cGMP : guanosine monophosphate cyclique.

Figure 6 : Mécanisme de production du NO par les cellules endothéliales (Davignon et Ganz, 2004)

En dehors du NO, certains vasodilatateurs tels la prostacycline, la brakinine et d'autres facteurs hyperpolarisants dérivants de l'endothélium (FHDE) sont également impliqués dans la régulation du tonus vasculaires. En effet, la prostacycline en synergie avec le NO et le FHDE sont impliqués dans l'inhibition de l'agrégation plaquettaire. La brakinine quant à elle stimule à la fois la production du NO et des activateurs tissulaires du plasminogène (t-PA) qui jouent un rôle important dans la fibrinolyse (Davignon et Ganz, 2004). En plus de sa fonction vasodilatatrice, le NO induit également divers effets biologiques (figure 7), notamment :

- Le maintien d'une surface anti-thrombotique par inhibition de l'adhésion plaquettaire ;
- L'expression de molécules d'adhésion ou de chémokines ;
- La prolifération des cellules endothéliales permettant ainsi la réparation de l'endothélium ;
- L'élimination des espèces réactives de l'oxygène dont l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) qui endommage fortement l'endothélium ;
- L'inhibition de la prolifération des cellules musculaires lisses de la media ;
- La relaxation des cellules endothéliales (Gimbrone et García-Cardena, 2016).



Ca^{++} : ion calcium ; NO : oxyde nitrique ; eNOS : NO synthase endothélial ; L-Arg : L-arginine ;
 O_2 : oxygène

Figure 7 : Activités biologiques du NO (Gimbrone et García-Cardena, 2016)

L'endothélium produit des peptides vasoconstricteurs, tels que l'endothéline et l'angiotensine II (*stimulis* de la production de l'endothéline) pour équilibrer l'effet vasodilatateur du NO. La balance des effets de ces substances dicte le tonus du vaisseau qui lui-même conditionne l'écoulement du flux sanguin. Le déséquilibre entre la production du NO et de ces peptides vasoconstricteurs (en faveur de ceux-ci) est responsable de la prolifération des cellules musculaires lisses contribuant à la formation de la plaque (Davignon et Ganz, 2004).

✓ **Dysfonction endothéliale ou activation endothéliale**

Le stress oxydatif est à priori le principale responsable de l'initiation de la dysfonction endothéliale. Elle se manifeste par une hyperproduction des EORs responsable de la production des LDL ox (Javadifar *et al.*, 2021). L' O_2^- d'une part, réagit avec le NO et le transforme en un radical très nocif : l'anion peroxyntrique ($ONOO^-$) et d'autre part, dégrade le BH_4 . Les conséquences issues de ces actions sont, la diminution de la biodisponibilité du NO et la perte de la fonction régulatrice de l'endothélium. Les LDL-ox quant à elles, entraînent une augmentation de la synthèse de la caveoline-1 (inhibiteur de la production du NO) et le recrutement des leucocytes (Gimbrone et García-Cardena, 2016).

○ Recrutement des leucocytes

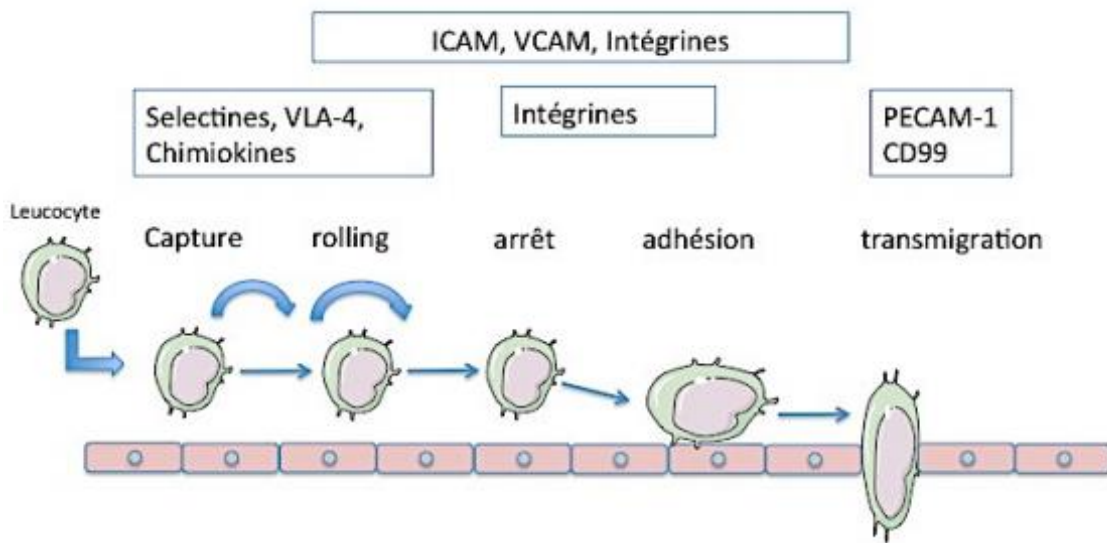
L'invasion de la paroi artérielle par les leucocytes est également un des événements précoces de l'athérogénèse. L'adhérence des leucocytes (monocytes et lymphocytes T) à l'endothélium implique leur liaison à des molécules de structure exprimées à la surface des cellules endothéliales (figure 8). Les molécules d'adhésion spécifiques (sélectines, intégrines, superfamille des immunoglobulines et non-immunoglobulines comme CD99) contribuent aux processus d'attachement, de « roulement » et d'extravasation des leucocytes. L'attachement et le « roulement » (activation et capture) des monocytes à la surface des cellules endothéliales (CEs) sont médiés par les sélectines (P- et E- sélectines) (**Prasad et al., 2014**).

Contrairement à la P, la E-selectine est uniquement exprimée par les CEs activées. L'interaction entre les intégrines ($\beta 1$, $\beta 2$ et *Very Late Antigen-4* VLA-4 ou antigène-4 tardif) exprimées à la surface des leucocytes, et les molécules d'adhésion de la superfamille des immunoglobulines (PECAM1, ICAM-1 et VCAM-1), exprimées à la surface des CEs, permet de renforcer l'attachement des leucocytes sur l'endothélium et leur extravasation dans l'intima (**Ingueneau, 2010**). Spécifiquement, la VCAM-1 est impliqué dans le recrutement des monocytes tandis que la ICAM-1 en plus du recrutement des monocytes, favorise leur diffusion et leur migration dans l'espace sous endothélial (**Prasad et al., 2014**). Les monocytes adhèrent et pénètrent dans l'intima à travers les jonctions inter-endothéliales sous l'effet des facteurs chimiotactiques, dont le MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein1*) et l'IL-8 (interleukine-8). Ces monocytes migrent par diapédèse dans l'espace sous-endothélial (**Bergheanu et al., 2017**).

En dehors des LDL-c ox, les cytokines pro-inflammatoires (TNF α & IL-1) produits dans l'endothélium entraînent également l'expression des molécules d'adhésion, du MCP-1 et l'IL-8. En effet, ces cytokines déclenchent des cascades de signalisation qui conduisent à l'activation du facteur de transcription NFkB, régulateur de l'expression de ces molécules (**Dimastromatteo, 2010**).

Les monocytes sous l'action d'un facteur hématopoïétique appelé de *Macrophage Colony Stimulating Factor* (M-CSF), vont se multiplier/proliférer et se différencier en macrophages. Ces M-CSF sont produit par les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et le macrophage lui-même (**Ingueneau, 2010**). Les M-CSF dont l'effet bénéfique est d'épurer le cholestérol de l'intima, vont plutôt participer au processus athérogène. Ceci en activant les cellules endothéliales et en augmentant leur perméabilité aux LDL-c par le biais de

la production de cytokines pro-inflammatoires. Ces macrophages en se chargeant en lipides, se transforment en cellules spumeuses.



VLA-4 : antigène-4 tardif ; PECAM1 : platelet endothelial cell adhesion molecule -1 ; VCAM : vascular cell adhesion molecule 1 ; ICAM : intracellular adhesion molecule.

Figure 8 : Mécanisme de recrutement des leucocytes (Haddad, 2017)

I.3.2.2. Formation des cellules spumeuses

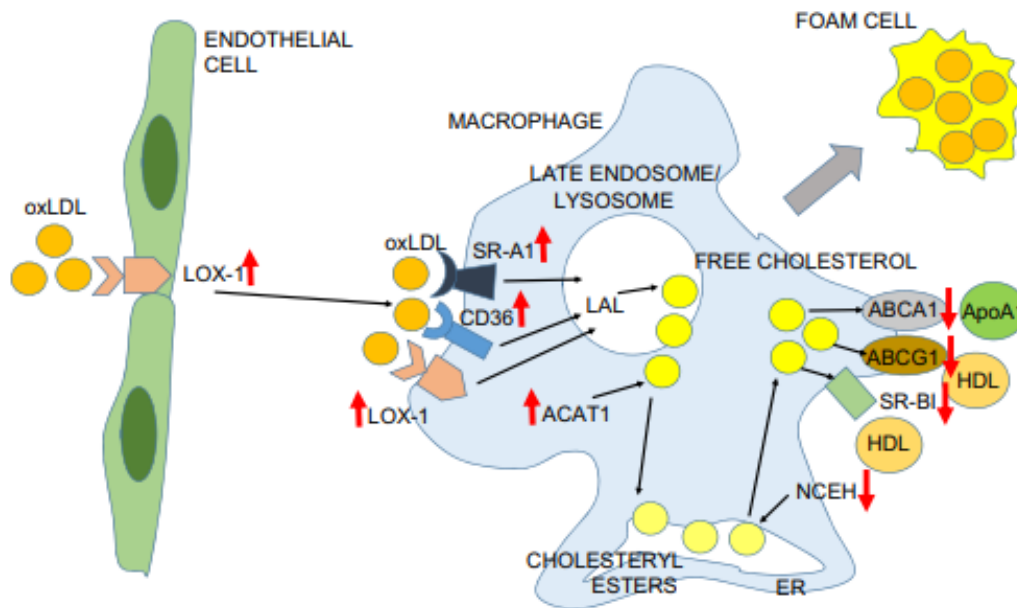
Les macrophages constituent la principale source de cellules spumeuses (figure 9) (Chistiakov *et al.*, 2015). La formation de cellules spumeuses est l'un des processus critiques dans le développement l'athérosclérose (Javadifar *et al.*, 2021). Elle est issue de l'afflux excessif des LDL modifiées et l'accumulation d'esters de cholestérol dans les macrophages (Hutchins *al.*, 2015). Il convient de noter que les LDL natives (non modifiées) n'entraînent pas d'accumulation d'esters de cholestérol dans les macrophages alors que les LDL modifiées induisent une accumulation des esters de cholestérol.

Dans des conditions normales, les macrophages servent de régulateur majeur du métabolisme et de la teneur en lipoprotéines plasmatiques (Chistiakov *et al.*, 2016). Ces cellules expriment une variété des récepteurs *scavengers* ou *scavenger receptor* (SR), tels que SR-A1, CD36 et *lectine-like oxLDL receptor-1* (LOX-1) ayant une affinité avec les LDL-ox. De plus, les macrophages possèdent une machinerie enzymatique, telle que l'acyl coenzyme A:cholestérol acyltransférase-1 (ACAT1), essentielle à la formation des esters de cholestérol (Yu *et al.*, 2013). Ces esters de cholestérol sont hydrolysés par deux enzymes : l'ester de cholestérol neutre hydrolase 1 ou *neutral cholesteryl ester hydrolase 1* (NCEH1) et la lipase acide lysosomale (LAL), ce qui génèrent des AGL et du cholestérol (Chistiakov *et al.*, 2017).

Les macrophages expriment également une série de pompes membranaires, telles que l'*ATP-binding cassette* (ABC) *transporters* (ABCA1 et ABCG1) et le SR-BI. Ces pompes sont impliquées dans le transport inverse du cholestérol (**Chistiakov et al., 2016**). Ensemble, ces protéines assurent un contrôle efficace de la teneur en LDL-c et en cholestérol dans le sang périphérique dans des conditions normales.

Dans l'athérosclérose, le traitement du cholestérol dépendant des macrophages est dérégulé. En raison de la génération accrue des LDL-ox, l'expression de LOX-1 dans les macrophages est considérablement augmentée par la stimulation de multiples facteurs tels que les cytokines pro-inflammatoires, la lysophosphatidylcholine (un produit de la dégradation des LDL-ox), les produits de glycation avancés (AGEs), lipopolysaccharides (LPS) et EORs mitochondriaux (**Chistiakov et al., 2017**). En plus, les vasopresseurs comme l'endothéline-1 et l'angiotensine II activent également l'expression de LOX-1 (**Mitra et al., 2011**). L'expression élevée de LOX-1 entraîne une augmentation de l'absorption des lipides par les macrophages. En revanche, l'expression d'ABCA1 et d'ABCG1 est diminuée dans l'athérosclérose, ce qui aggrave plus l'accumulation de cholestérol intracellulaire et favorise la formation de cellules spumeuses (figure 9) (**Favari et al., 2015**).

Les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) et endothéliales peuvent également se surcharger en lipides (LDL modifiées (et/ou oxydées)) par l'intermédiaire des SR et former les cellules spumeuses. Pour se surcharger en lipides, elles se différencient en macrophages sous l'action du facteur de transcription *Kruppel-like factor 4* (KLF-4) (**Lao et al., 2015**). Ces cellules produisent la salusine- β sous forme de préprosalusine. La salusine- β , agent proathérogène, stimule et/ou augmente l'expression des MCP-1, VCAM-1 et ACAT-1. Elle augmente ainsi la conversion des macrophages en cellules spumeuses (**Sipahi et al., 2019**).



LOX-1 : lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 ; *ox LDL* : LDL oxydé ; *SR* : scavenger receptors ; *LAL* : lipase acide lysosomale ; *ER* : reticulum endoplasmique ; *ACAT1* : acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase-1 ; *NCEH* : neutral cholesteryl ester hydrolase.

Figure 9 : Mécanisme de transformation des macrophages en cellules spumeuses (Chistiakov *et al.*, 2017)

I.3.2.3. Formation de la chape fibreuse

Elle résulte de la migration et prolifération des CML. Ces cellules vont migrer de la média vers l'intima où elles vont proliférer. On observe un changement de phénotype des CML qui passent d'un phénotype contractile à un phénotype sécrétoire. Les CML retrouvées dans la média expriment majoritairement des molécules impliquées dans les fonctions contractiles à l'instar de la myosine ou de l' α -actine. A l'inverse, les CML retrouvées dans l'intima expriment peu ces protéines contractiles. Ce phénomène augmente l'indice prolifératif des CML de l'intima et leur capacité à synthétiser des molécules de la matrice extracellulaire, des protéases et des cytokines. Ces événements résultent de :

- La sécrétion du CD40 ligand, par les lymphocytes T et de l'*Insulin-like growth factor-1* (IGF-1) participe à la migration des cellules musculaires lisses ;
- La production d'EROs, des cytokines (IL-1, IL-6, TNF- α) et des chimiokines (CCL 2, CCL5) ;
- La production de facteurs de croissance, dont le PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*) et le TGF β (*Transforming Growth Factor*) libérés par les macrophages, les CML et les cellules endothéliales (Sukhanov *et al.*, 2015 ; Fatkhullina *et al.*, 2016).

La migration, la prolifération, et la synthèse de matrice extracellulaire (collagène, protéoglycanes, élastine et glycoprotéines) par les CML permettent la formation d'une chape fibreuse qui va recouvrir le cœur lipidique de la plaque (**figure 10**).

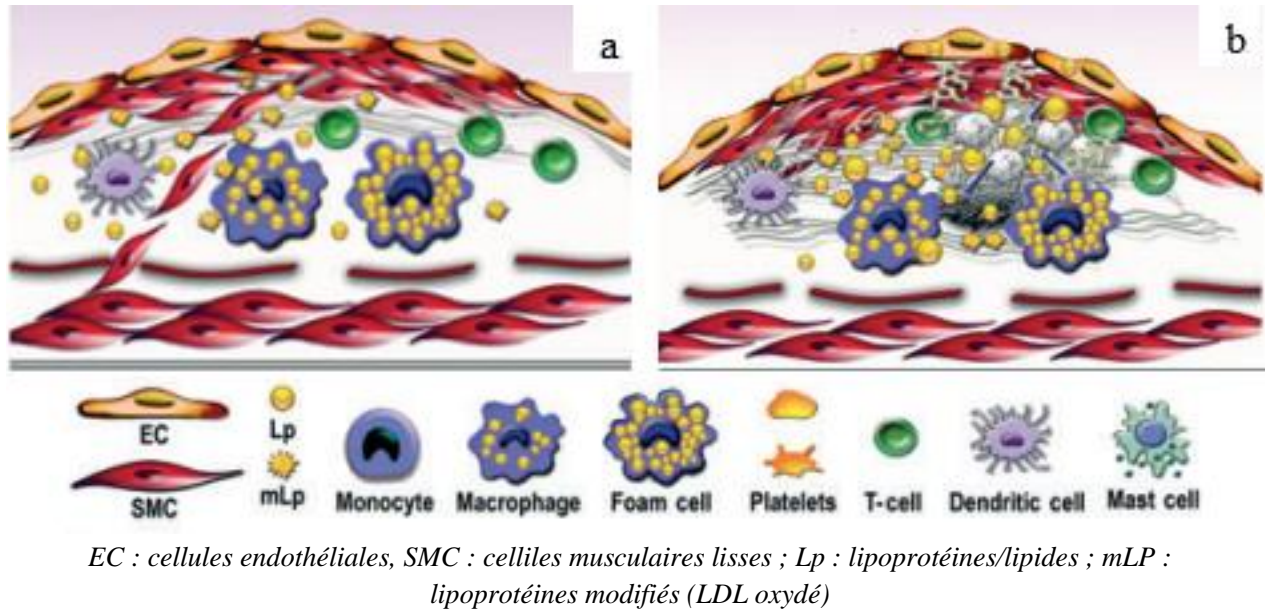


Figure 10 : Migration des CML (a), prolifération (a) et formation de la chape fibreuse ou plaque (b) (Manduteanu et Simionescu, 2012)

I.3.2.4. Evolution et rupture de la plaque

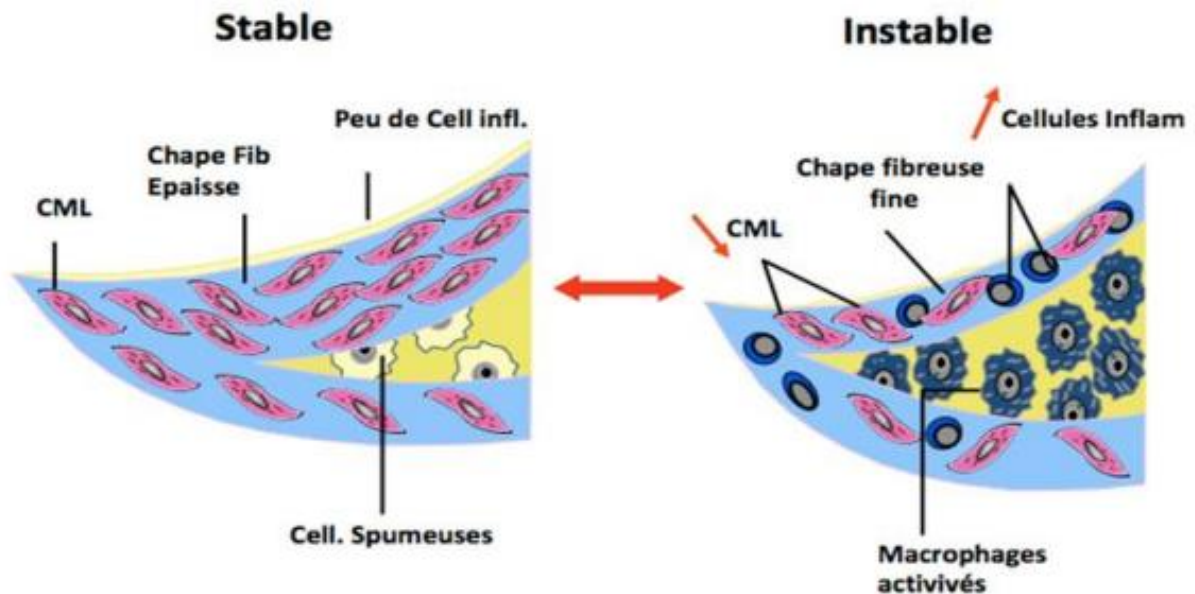
✚ Evolution de la plaque

La plaque se développe longtemps sans altérer le calibre vasculaire, car le vaisseau s'adapte par un élargissement compensatoire appelé remodelage vasculaire excentrique. Lorsque la masse intimale excède 40 % de la surface totale de la paroi, le remodelage de la paroi n'est plus suffisant pour contenir la plaque. Son développement se fait alors au détriment de la lumière artérielle et conduit à une sténose progressive (**Ingueneau, 2010**). La migration, la prolifération et la synthèse de matrice extracellulaire par les CML participent à l'action sténosante des plaques. La production d'IFN γ par les cellules T notamment les Th1 va également augmenter le niveau d'inflammation et entraîner un recrutement massif de monocytes. Il s'en suit un agrandissement de la plaque athérosclérotique (**Moss et Ramji, 2015**).

Cependant, les manifestations cliniques de l'athérosclérose sont peu en rapport avec la taille de la plaque mais plutôt à son instabilité ou sa vulnérabilité qui augmente les risques de thrombose. La stabilité de la plaque dépend de plusieurs facteurs :

- La présence d'un cœur lipidique important qui diminue la résistance physique de la plaque ;

- L'épaisseur et la composition de la chape fibreuse : plus la chape fibreuse est épaisse, plus la plaque est stable et inversement (figure 11). La richesse de la chape en CML contribue à la formation d'une chape fibreuse épaisse, solide et stable. Tandis que la richesse de la chape en cellules à effet proinflammatoires contribue à l'amincissement de la chape fibreuse (Ingueneau, 2010 ; Haddad, 2017).



CML : cellules musculaires lisses ; Fib : fibreuse ; Cell : cellule ; Infl & Inflamm : inflammatoire

Figure 11 : Structure de la plaque stable et instable ou vulnérable (Sanchez, 2017)

✚ Rupture de la plaque

La rupture (60% des cas) ou l'érosion (40% des cas) de la plaque est la principale cause de la formation d'un thrombus. Elle entraîne une suppression de l'interface endothéliale et met en contact le matériel thrombogène contenu dans la plaque et le sang circulant. Le thrombus formé de par son volume ou sa localisation peut, entraîner une occlusion partielle ou complète de la lumière artérielle (Dimastromatteo, 2010).

La rupture de la plaque (figure 12) fait suite à la production vasculaire respective des protéases et des facteurs tissulaires par les macrophages présents à l'intérieur de la plaque. Les principales protéases sécrétées sont les sérines protéases, les cathepsines et les métalloprotéinases matricielles (MMPs). Tandis que l'activateur du plasminogène urokinase (uPA), l'activateur du plasminogène tissulaire (tPA) et inhibiteur 1,2 de l'activateur du plasminogène (PAI-1,2) représentent les facteurs tissulaires issus de l'action des macrophages (Manduteanu et Simionescu, 2012). La destruction de la matrice extracellulaire par les protéases notamment les MMPs, est le phénomène important dans la rupture de plaque

vulnérable. Les MMPs dont l'activité est stimulée par les cytokines proinflammatoires, dégradent toutes protéines de la matrice à l'instar du collagène et de la gélatine. Les MMP-1, MMP-8, MMP-13 et MMP-14 sont des collagénases et les MMP-2,-3 et -9 sont des gélatinases (Vacek *et al.*, 2015). De plus, l'IFN γ inhibe la production de collagène par les CML. La destruction de la matrice extracellulaire entraîne la thrombose *via* l'apoptose ou la nécrose des cellules vasculaires (Ingueneau, 2010).

L'apoptose des cellules vasculaires (cellules endothéliales, CML, macrophages) augmente la vulnérabilité et la thrombogénicité des plaques. En effet, l'apoptose des cellules endothéliales contribue à l'érosion de l'endothélium, et est à l'origine de la formation de micro-thrombi en raison des propriétés pro-adhésives et pro-coagulantes des ces cellules (Ingueneau, 2010). L'apoptose des CML fragilise la chape fibreuse en diminuant la synthèse de la matrice extracellulaire. De plus, la plaque d'athérome est riche en facteur tissulaire, dont l'activation est dépendante de la présence de micro-particules. Ces micro-particules principalement libérées par les macrophages en apoptose sont responsables de la thrombogénicité de la plaque (Manduteanu et Simionescu, 2012).

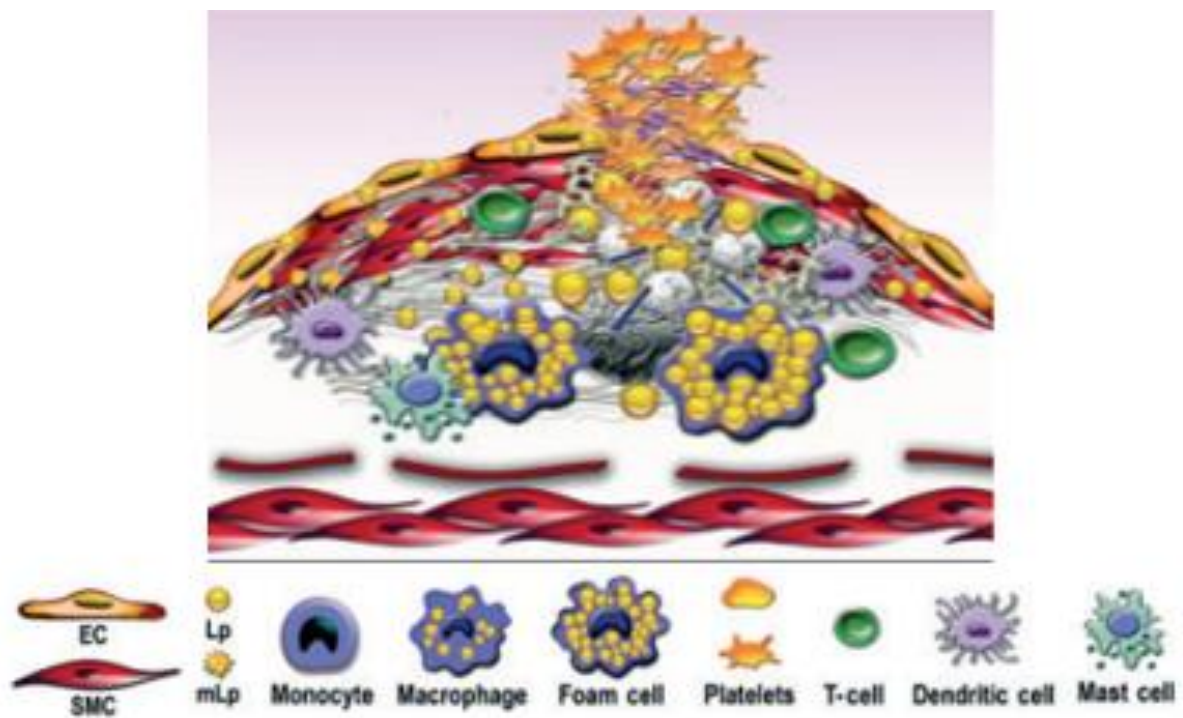


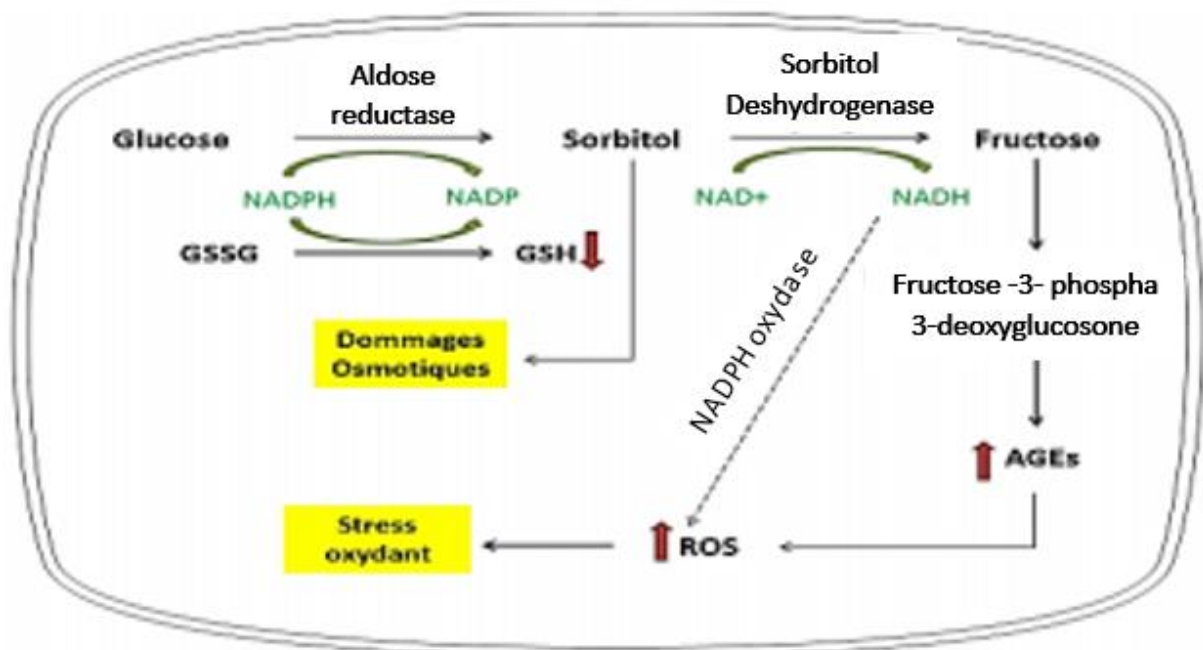
Figure 12 : Rupture de la plaque (Manduteanu et Simionescu, 2012)

I.4. Hyperglycémie et troubles métaboliques

En condition d'hyperglycémie chronique des voies impliquées dans la dérégulation métabolique sont activées. Il s'agit notamment de la voie des polyols, de formation des produits avancés de glycation et de la protéine kinase C (PKC).

I.4.1. Voie des polyols

En condition normoglycémique, cette voie est inactivée. Cependant, en situation d'hyperglycémie chronique, le glucose est réduit en sorbitol par action de l'aldose réductase dont le cofacteur est le NADPH (figure 13). Le sorbitol va s'accumuler dans les cellules et entraîner de multiples dommages à l'instar des dommages osmotiques. Il peut également être oxydé en fructose ce qui favorise la synthèse de produits avancés de glycation. L'utilisation du NADPH comme cofacteur dans cette séquence métabolique conduit à une diminution de sa disponibilité causant ainsi une baisse de l'activité de la glutathion réductase. Cette diminution de l'activité de cet enzyme entraîne une diminution de la formation du glutathion réduit et baisse d'activité du système de défenses antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007).



GSSG : Glutathion Oxydé ; GSH : Glutathion Réduit ; ROS : Reactive oxygen species ; NADP : Nicotinamide Adénine Dinucléotide phosphate oxydé ; NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide phosphate réduit ; NAD+ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide oxydé ; NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit ; AGEs : Produits Terminaux de Glycation Avancée

Figure 13 : Voie des polyols et désordre associés

I.4.2. Voies de formation des produits avancés de glycation

La voie des polyols, l'auto-oxydation du glucose et la glycation représentent les différentes voies conduisant à la formation des produits avancés de glycation ou AGEs. Une forte concentration de glucose conduit à une accumulation de glycéraldéhyde-3-phosphate qui est ensuite converti en méthylglyoxal précurseur de la formation des AGEs. En effet, la diminution du NADPH résultant de la voie des polyols entraîne une réduction de la neutralisation méthylglyoxal avec pour conséquence la glycation des protéines intracellulaires (hémoglobine et albumine). La première étape de la glycation correspond à la réaction entre un ose (glucose, galactose, fructose) et la fonction amine libre d'une protéine pour former une base de Schiff. Cette réaction est suivie de réarrangements donnant lieu à la formation de produits d'Amadori. Ces produits d'Amadori s'oxydent pour former des intermédiaires réactifs aboutissant à la formation des AGEs (figure 14) (Jaisson et Gillery, 2018). La fixation des AGEs sur leurs récepteurs va activer des voies de signalisation conduisant à l'expression de gènes codant pour des facteurs pro-inflammatoires tels que la NFκB (figure 15) (Wautier *et al.*, 2014).

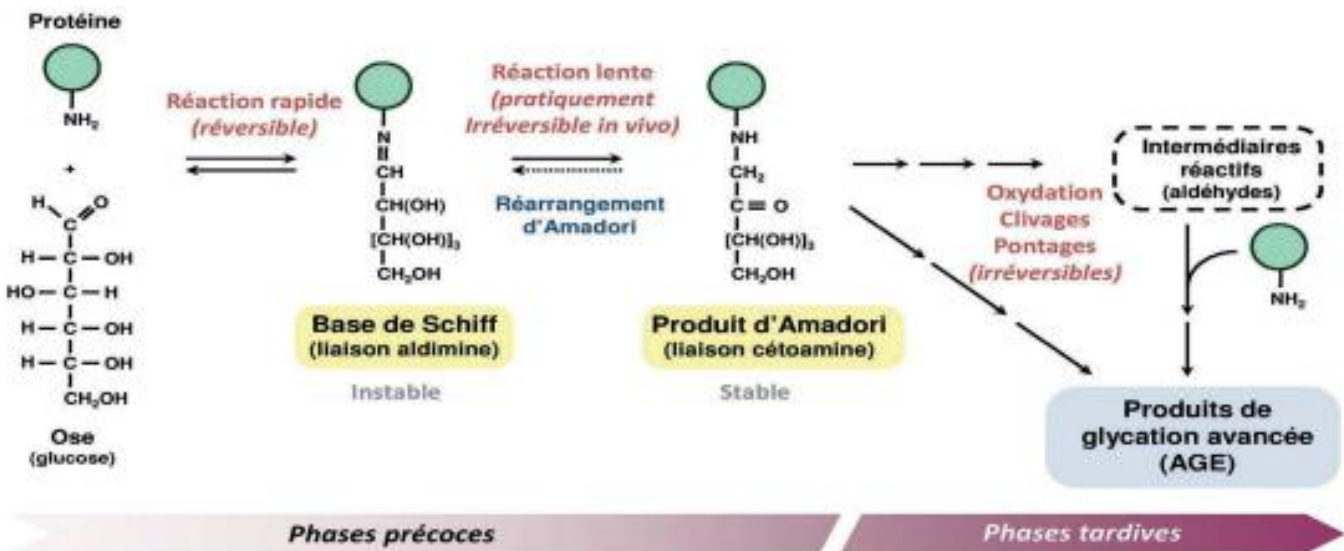


Figure 14 : Mécanisme de formation des produits de glycation avancée (Jaisson et Gillery, 2018)

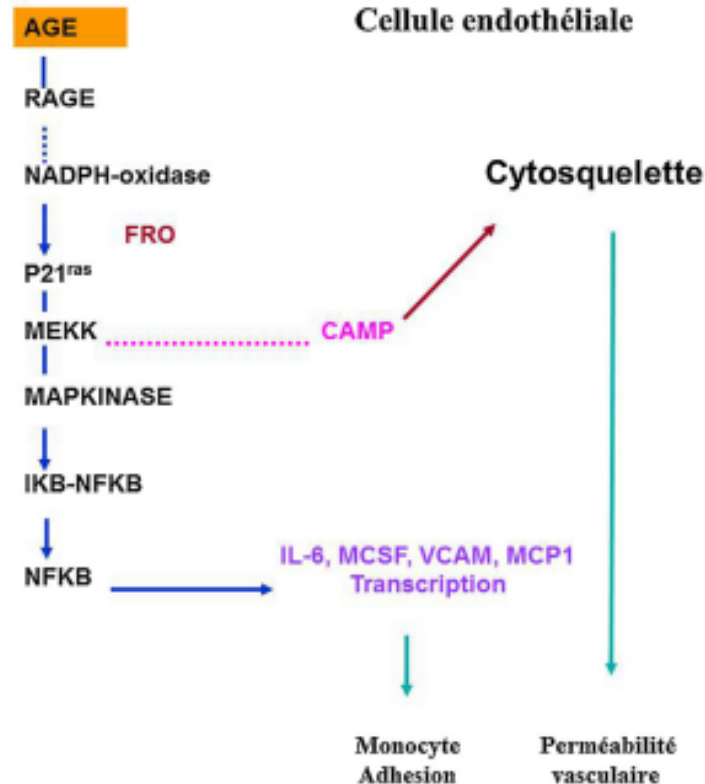
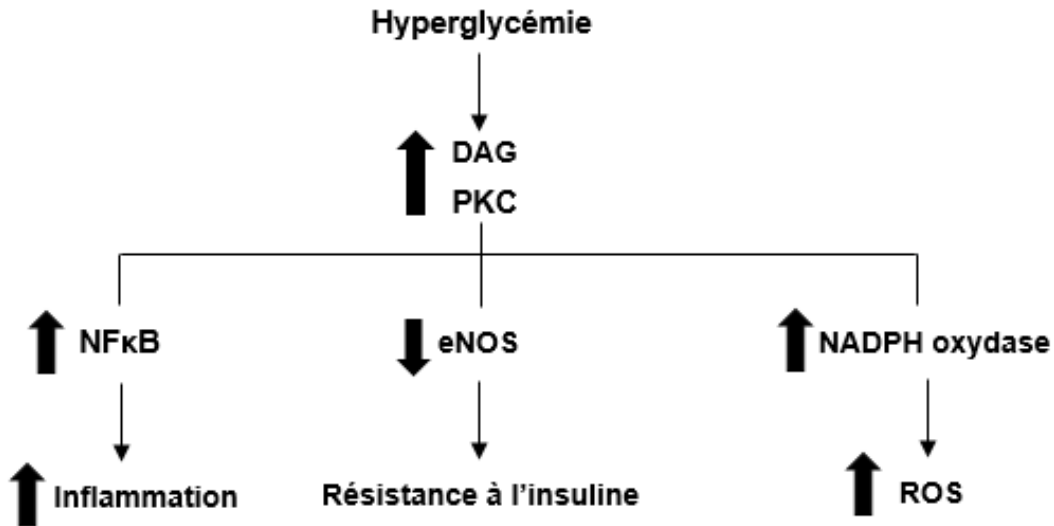


Figure 15 : Activation cellulaire secondaire à la liaison des produits de glycation avancée (AGEs) aux récepteurs pour les produits de glycation avancée (RAGE) (Wautier *et al.*, 2014)

I.4.3. Voie de la protéine kinase C

L'hyperglycémie intracellulaire entraîne l'activation de la PKC, contribuant ainsi aux anomalies des flux sanguins locaux, consécutives à la diminution de l'oxyde nitrique (NO•) et/ou la libération d'endothéline-1. L'augmentation du glucose entraîne une augmentation de glyceraldéhyde-3-phosphate. Ce dernier, précurseur du diacylglycerol active la protéine kinase C (PKC) (Tarr *et al.*, 2013). L'activation de la PKC va induire l'augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) *via* l'augmentation de l'activité NADPH oxydase. L'activation de la PKC va aussi jouer un rôle dans l'inflammation par le biais de l'augmentation de la synthèse du facteur pro-inflammatoire NFkB (figure 16). (Banerjee et Vats, 2014)



NFκB : Facteur Nucléaire kappa B ; PKC : Protéine kinase C ; eNOS : NO synthase endothélial ; DAG : diacylglycérol ; ROS : Reactive oxygen species ; NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide phosphate réduit

Figure 16 : Voie de la PKC

I.5. Stress oxydatif

Le stress oxydant est défini comme le déséquilibre entre les antioxydants et les pro-oxydants en faveur des pro-oxydants. Ce déséquilibre provient, soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense antioxydante (Nandi *et al.*, 2019).

I.5.1. Agents oxydants

Les agents oxydants ou pro-oxydants sont dotés d'une forte réactivité et d'une capacité à produire des réactions en chaîne comme la peroxydation lipidique. Les espèces oxygénées réactives (ERO), chlorées réactives (RCS), azotées réactives (RNS) et soufrées réactives (RSS) regroupent :

- Radicaux libres : espèces chimiques possédant un électron célibataire non apparié [anion superoxyde (O_2^-), radical hydroxyle (HO^-), oxygène singulet (1O_2)...] ;
- Dérivés non radicalaires : espèces chimiques ne possédant pas d'électron célibataire et dont la toxicité est assez importante [l'oxygène (O_2), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydinitrite ($ONOO$) ;
- Espèces azotées réactives : oxyde nitrique (NO^\cdot), peroxydinitrite ($ONOO^\cdot$) ;
- Espèces chlorées réactives : ion hypochlorite (OCl), chlorure de nitryle (NO_2Cl) ;

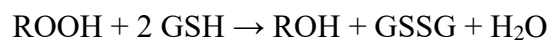
- Espèces soufrées réactives : radicaux thyle (RS), radicaux perthiyle (RSS) (**Nandi et al., 2019**).

I.5.2. Mécanismes de défense contre l'action des pro-oxydants

I.5.2.1. Antioxydants enzymatiques

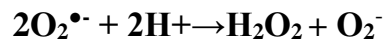
✚ Glutathion peroxydase (GSH-Px)

C'est une séléno-enzyme contenant 4 atomes de sélénium situés aux centres actifs de l'enzyme sous forme de sélénocystéine. Elles se trouvent dans le cytosol, la mitochondrie, le réticulum endoplasmique et le noyau (**Nandi et al., 2019**). Elle catalyse la dégradation des hydroperoxydes comme suit :



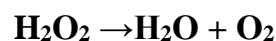
✚ Superoxyde dismutase (SOD)

Elle constitue la première ligne de défense contre le stress oxydant. On distingue trois isoformes de SOD : la forme cytosolique (Cu/Zn SOD), la forme mitochondriale (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (Cu/Zn SOD). Ces enzymes assurent la dismutation de l'anion superoxyde avec formation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Nandi et al., 2019**).



✚ Catalase

La catalase est présente dans les érythrocytes, le foie et les reins plus particulièrement au niveau des peroxysomes. Elle catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (H₂O) et oxygène (O₂) (**Nandi et al., 2019**).



I.5.2.2. Antioxydants non enzymatiques

✚ Glutathion

Le glutathion (GSH) réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion-peroxydase. Il réduit également les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C. Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est généralement utilisé comme un marqueur du stress oxydant.

✚ Tocophérols (vitamine E)

Il s'agit d'une famille de molécules liposolubles comprenant les α, β, γ et δ tocophérols ainsi que les α, β, γ et δ tocotrienols. Ils réagissent avec les radicaux LO[•] et LOO[•] pour former

un hydroperoxyde (LOOH) ou un hydroxyde (LOH) lipidique ainsi qu'un radical α -tocopheryle stable (α -TO $^{\cdot}$) (Raederstorff *et al.*, 2015).

🚩 Caroténoïdes

Ils regroupent les carotènes (α -carotène, β -carotène, lycopène...), et les xanthophylles (zéaxanthine, lutéine...). Leurs propriétés antioxydantes proviennent de leurs nombreuses doubles liaisons conjuguées qui leur permettent de neutraliser l'oxygène singlet. Ceci favorise une inhibition des réactions radicalaires en chaîne (Pieme *et al.*, 2017).

🚩 Ascorbate (Vitamine C)

Elle est impliquée dans l'inhibition de la peroxydation lipidique et la régénération de la vitamine E oxydée (Kirkwood *et al.*, 2012).

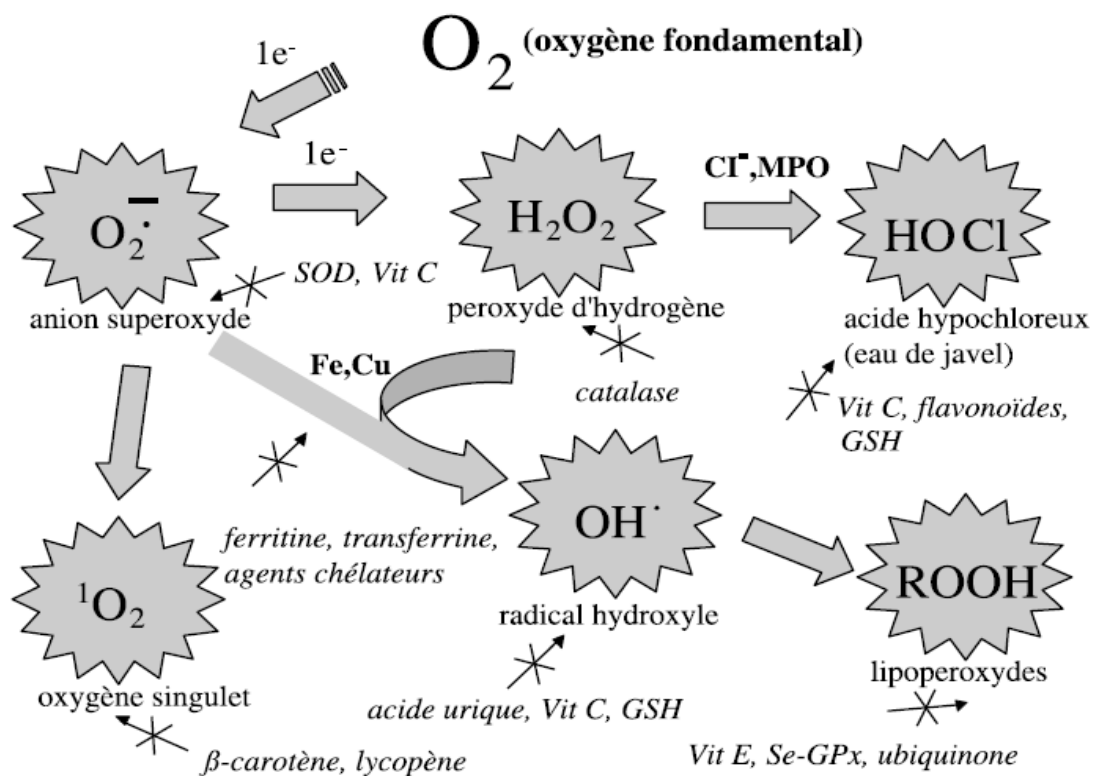


Figure 17 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Haleng *et al.*, 2007)

I.6. Prise en charge

Au vu de la complexité des événements métaboliques associés à l'installation des MCV et ses comorbidités, sa prise en charge nécessite deux approches.

I.6.1. Approche non pharmacologique

Elle repose essentiellement sur la modification du mode ou style de vie notamment : le contrôle du poids, l'activité physique et la thérapie nutritionnelle.

I.6.1.1. Contrôle du poids

L'excès pondéral et l'obésité sont tous deux associés à une augmentation du risque cardiovasculaire et de la mortalité. Ainsi, maintenir un poids normal a un effet favorable sur les facteurs de risque métabolique (tension artérielle, lipides sanguins, tolérance au glucose). L'adaptation maintenue à long terme de l'alimentation et de l'exercice physique sont les moyens principaux pour contrôler le surpoids.

I.6.1.2. Activité physique

Tout mouvement capable d'entraîner une dépense énergétique est important dans la prise en charge des MCV et ses complications. La pratique de l'exercice physique entraîne une perte de poids et réduit les facteurs de risque cardiovasculaires.

I.6.1.3. Prise en charge nutritionnelle

Sur le plan nutritionnel, la prise en charge des MCV a plusieurs objectifs :

- Le premier est d'obtenir une perte de poids modérée (-5 à -10%) mais durable. Celle-ci passe par une réduction de l'apport énergétique total et un accroissement de l'activité physique ;
- Le deuxième est représenté par la réduction prioritaire des glucides car un apport élevé stimule la synthèse endogène hépatique d'acide gras palmitique, qui s'incorpore dans les triglycérides des VLDL et aggrave le risque vasculaire ;
- Le troisième concerne la qualité des glucides : il faut privilégier les aliments ayant un index glycémique (IG) bas, mais limiter également la charge glycémique. Bien qu'il ait un IG bas, le fructose doit être apporté en très faible quantité. Un apport élevé en acides gras polyinsaturés oméga 6 est à éviter. L'apport en acides gras oméga 3 à longue chaîne (poisson) a un effet favorable sur le profil lipidique et le risque vasculaire ;
- Le quatrième concerne la lutte contre le stress oxydatif. Ici, il est recommandé des apports suffisants en aliments riches en polyphénols et en nutriments à effet antioxydant à l'instar des produits forestiers non ligneux (fruits, feuilles et écorces) (Monnard, 2016).

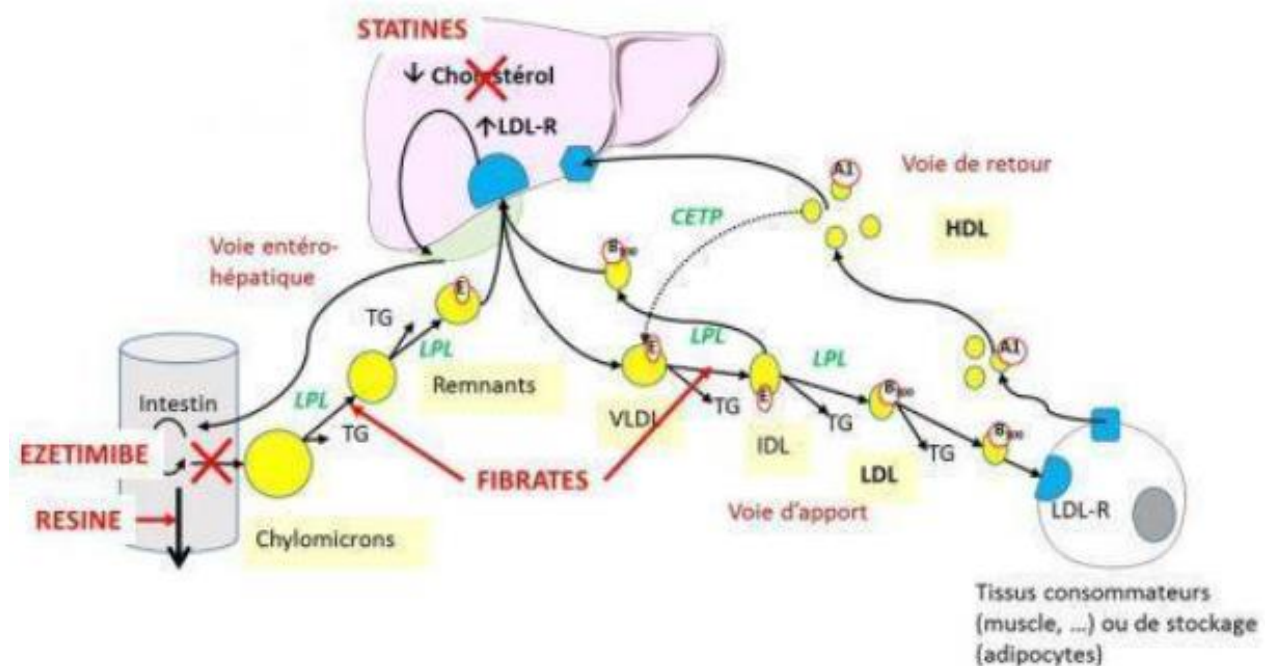
I.6.2. Approche pharmacologique

Cette approche nécessite la prise d'un grand nombre de médicaments avec des cibles thérapeutiques différentes. Il s'agit notamment des hypolipémiants, des hypoglycémiantes, des

antiagrégations plaquettaires, des hypotenseurs et des antioxydants. Ces médicaments agissent *via* divers mécanismes.

I.6.2.1. Hypolipémiants

Ils sont de plusieurs classes et ont des sites d'action différents comme le montre la figure 18.



CETP : protéine de transfert de l'ester de cholestérol ; LPL : lipoprotéine lipase ; HDL : lipoprotéine de haute densité ; VLDL : lipoprotéine de très basse densité ; LDL : lipoprotéine de basse densité ; IDL : lipoprotéine de densité intermédiaire ; TG : triglycérides ; LDL-R : Récepteurs aux lipoprotéines lipoprotéines de basse densité

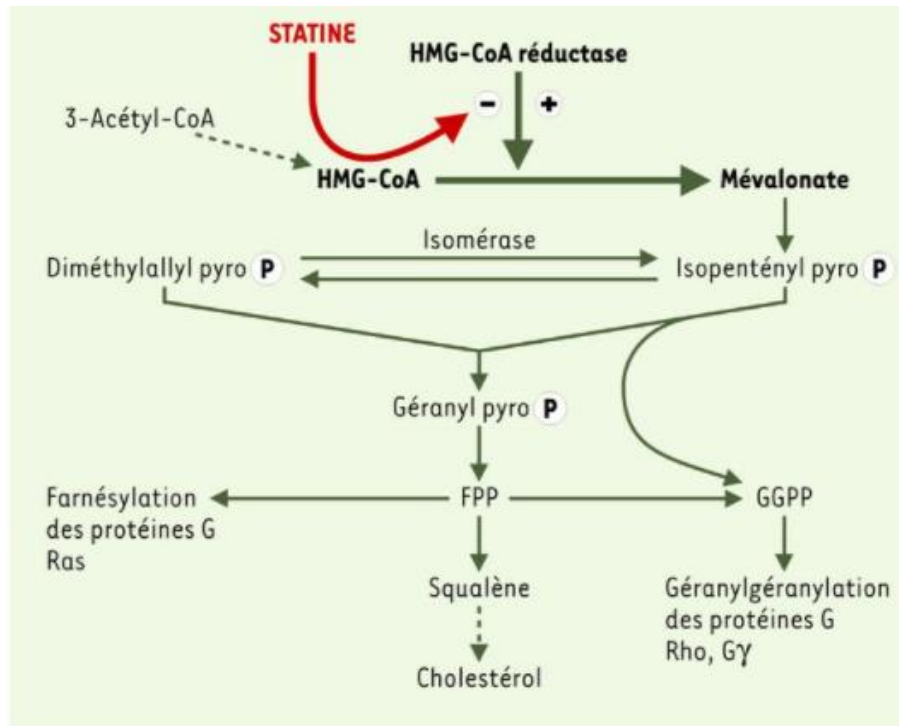
Figure 18 : Mécanismes d'action des hypolipémiants (Jamkhande *et al.*, 2014)

Les mécanismes d'action de chacune des classes d'hypolipémiants sont :

➤ **Statines** (Simvastatine, Pravastatine, Fluvastatine, Atorvastatine et Rosuvastatine)

Les statines, du fait de leur analogie structurale avec l'HMG-CoA, inhibent de façon compétitive et réversible sa transformation en mévalonate par l'HMG-CoA réductase (EC 1.1.1.34) (figure 19). Ce dernier étant impliqué dans la synthèse hépatique du cholestérol. Il s'ensuit une baisse de la concentration de tous les métabolites situés en aval du mévalonate, dont le cholestérol. Dans le foie, la diminution de la concentration intracellulaire en cholestérol entraîne une augmentation de l'expression des récepteurs hépatiques des LDL. Ce qui conduit à un accroissement de l'épuration plasmatique des LDL circulants. Ce phénomène, associé à

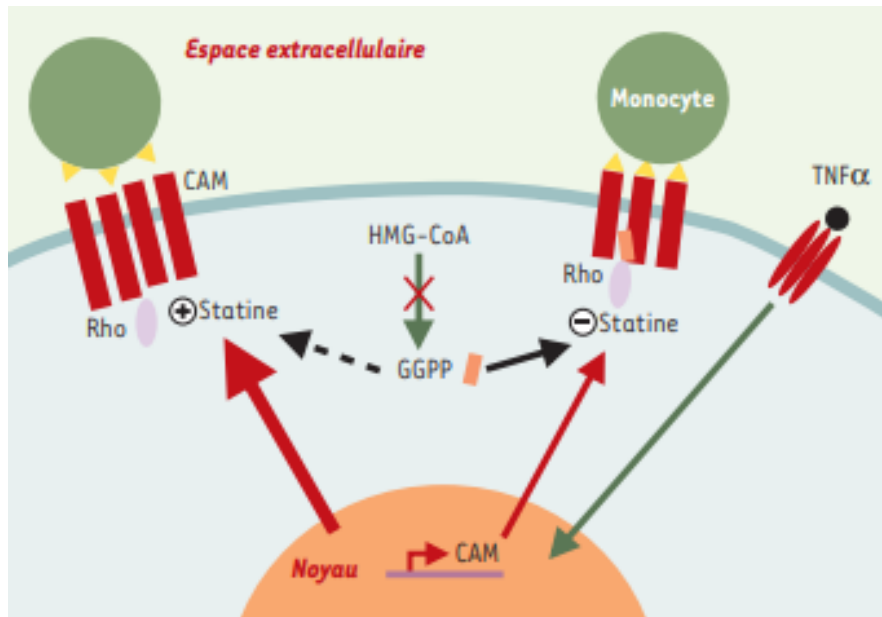
une diminution de la production des VLDL hépatiques et à une augmentation des HDL anti-athérogènes, améliore ainsi sensiblement le profil lipoprotéique (Nalbone *et al.*, 2002).



HMG-CoA: hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A; FPP: farnésyl pyrophosphate; GGPP: géranylgéranyl pyrophosphate; PyroP: pyrophosphate.

Figure 19 : Mécanismes d'action hépatique des statines (Nalbone *et al.*, 2002)

Au niveau endothélial, les statines entraînent une baisse de l'adhérence des monocytes à l'endothélium induite par des inhibiteurs de production du NO ou par le PAF (*platelet activating factor*). Les molécules d'adhérence (CAM) sont exprimées à la surface de la cellule endothéliale en réponse au $TNF\alpha$. La protéine Rho est correctement ancrée à la membrane grâce au GGPP et, à l'interaction avec le cytosquelette. Elle assure le regroupement fonctionnel des molécules d'adhérence permettant l'adhérence optimale des monocytes. En empêchant la prénylation de Rho par le GGPP, les statines perturbent de ce fait le regroupement des CAM endothéliales, donc l'adhérence (Nalbone *et al.*, 2002). La figure 20 présente le mécanisme d'action endothélial des statines.



GGPP : g ranylgeranylpyrophosphate ; HMG-CoA :hydroxyméthylglutaryl Coenzyme A; TNF-  : tumor necrosis factor: ; CAM : cellular adhesion molecule

Figure 20 : Mécanismes d’action endothélial des statines (Nalbone *et al.*, 2002)

Les statines possèdent des propriétés pléiotropiques (figure 21) qui complètent leur effet hypocholestérolémiant. Ces médicaments sont donc très efficaces pour prévenir, stabiliser et peut-être faire régresser les maladies coronariennes grâce à leur action directe sur la paroi vasculaire. Cela inclut la correction du dysfonctionnement endothélial (vasoréactivité, adhésion des monocytes, hémostase), l’amélioration de la stabilité de la plaque (diminution de l’expression des MMP), la réduction de l’infiltration des monocytes, la diminution du niveau d’oxydation, diminution de la prolifération cellulaire, et la réparation des tissus ischémiques par la mobilisation de progéniteurs endothéliaux. Ces effets pléiotropes s’expliquent par le fait que les statines inhibent la production intracellulaire de métabolites situés en aval du mévalonate, tels que les isoprénoïdes (farnesylpyrophosphate et g ranylgeranylpyrophosphate). Ces métabolites hydrophobes permettent l’ancrage membranaire de petites protéines G (Ras et Rho) ainsi que de la sous-unité G  de l’hétérocycle (Nalbone *et al.*, 2002).

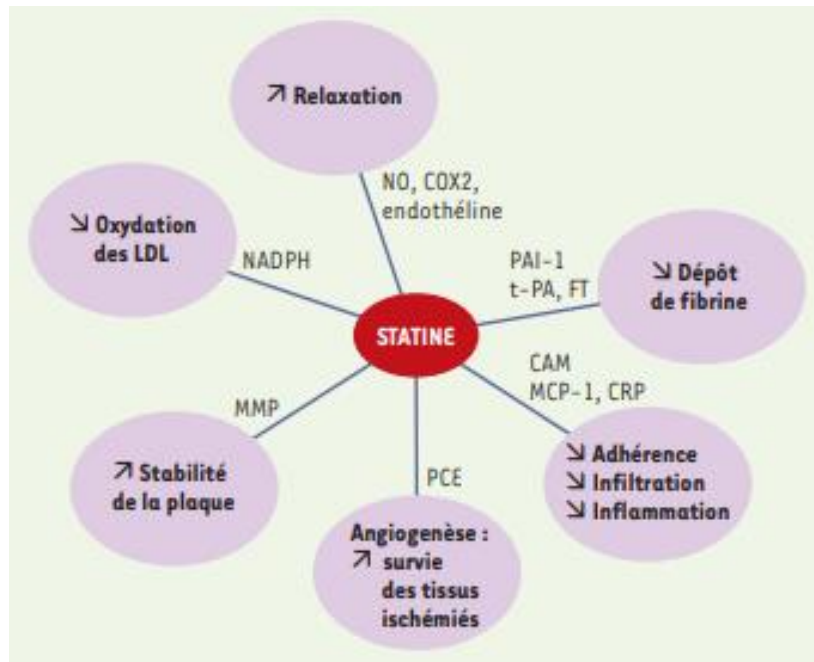


Figure 21 : Effets pléiotropes vasculaires des statines (Nalbone *et al.*, 2002)

➤ **Fibrates** (Bézafibrate, Gemfibrozil, Ciprofibrate et Fénofibrate)

Ce sont des agonistes des récepteurs nucléaires PPAR- α . Ces derniers activés par les fibrates vont s'associer dans la cellule à un autre récepteur nucléaire, le récepteur X aux rétinoïdes (RXR) également activé par un ligand endogène (l'acide 9-cis rétinoïque). Le complexe PPAR/RXR activé, stimule la transcription des gènes qui contiennent dans leurs promoteurs un élément de la réponse aux PPAR (peroxisome proliferation response element, PPRE). Il s'en suit une régulation génique du métabolisme lipidique notamment : en augmentant la synthèse de la Lipoprotéine lipase et des enzymes de l'oxydation des AG, le catabolisme des VLDL et des chylomicrons, tout en diminuant la production hépatique de triglycérides et des VLDL. Une élévation du HDL et une baisse du LDL ont également été associées à la prise des fibrates (Sagar *et al.*, 2012 ; Jamkhande *et al.*, 2014). La figure 22 présente le mécanisme d'action des fibrates.

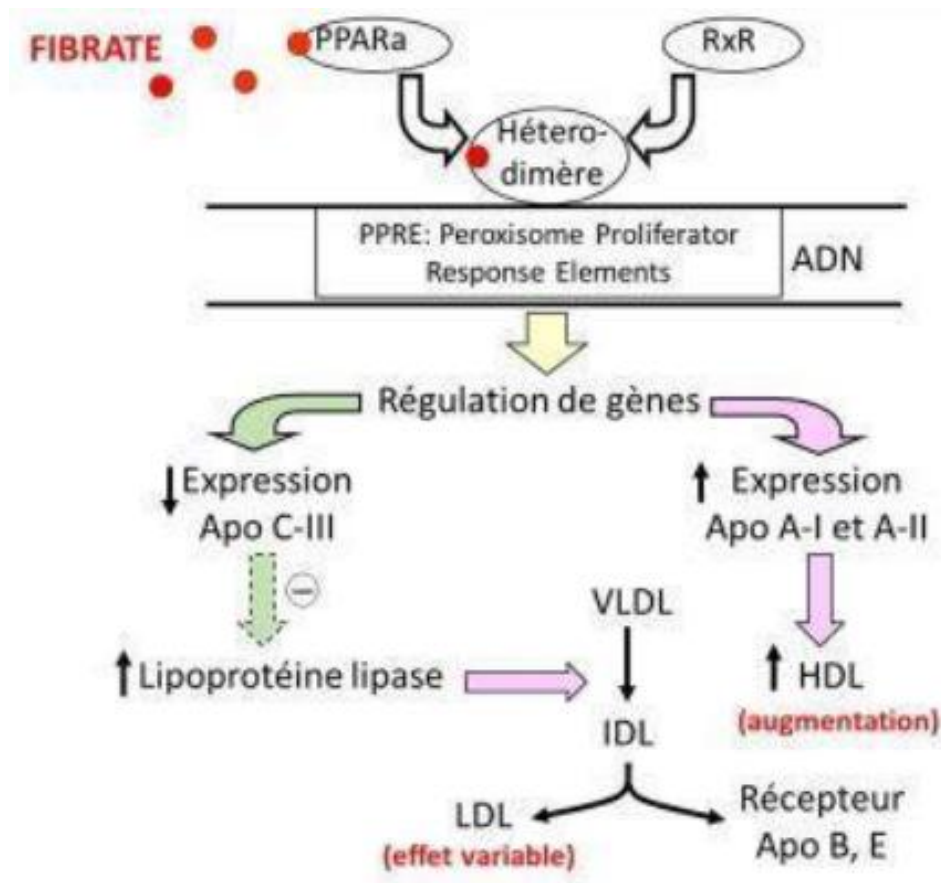


Figure 22 : Mécanismes d'acton des fibrates (Sagar *et al.*, 2012)

➤ **Inhibiteur de l'absorption intestinale du cholestérol (Ezétimibe)**

L'ézétimibe inhibe spécifiquement l'absorption intestinale de cholestérol et de certains phytostérols, en inhibant leur transporteur (*Niemann-Pick C1-like 1* (NPC1L1)), sans modifier l'absorption des vitamines liposolubles, de triglycérides ou d'acides biliaires. La réduction de l'absorption intestinale du cholestérol, entraîne une augmentation d'expression des récepteur au LDL avec, pour conséquence, une augmentation du catabolisme du LDL-C. la figure 23 montre le mécanisme d'action de l'ézétimibe (Vergès, 2016).

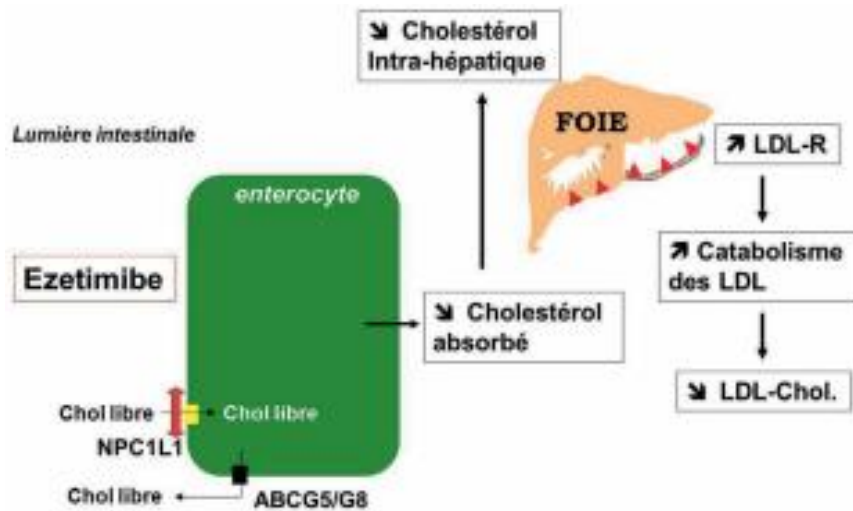
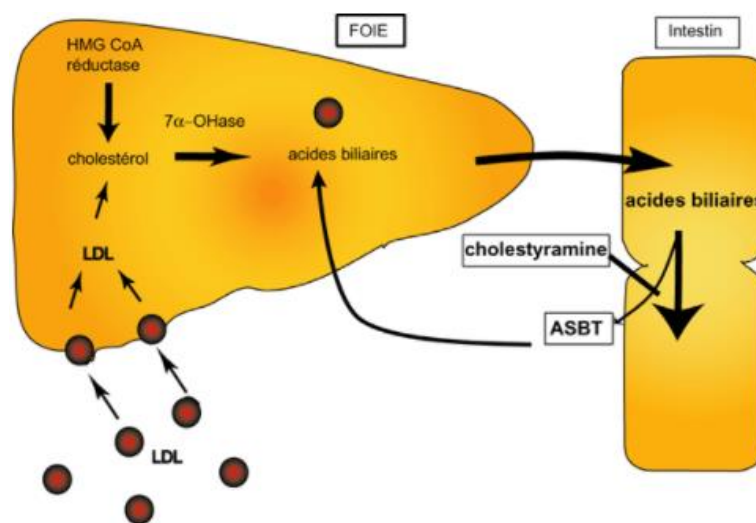


Figure 23 : Mécanismes d'action de l'ézétimibe (Vergès, 2016)

➤ **Résines échangeuses d'anions (Cholestipol et Cholestyramine)**

Les acides biliaires sont normalement réabsorbés dans le jejunum (environ 95 %). Les résines inhibent la réabsorption intestinale de ces acides biliaires par séquestration. Elles entraînent une interruption du cycle entéro-hépatique. Le catabolisme du cholestérol est ainsi augmenté et sa résorption digestive est également diminuée. Il en résulte une diminution de la concentration intra-hépatocytaire de cholestérol. Ceci a pour conséquence l'augmentation du nombre des récepteurs membranaires de l'hépatocyte aux lipoprotéines LDL. Cela induit l'augmentation de la captation des lipoprotéines LDL par les hépatocytes en réduisant les concentrations plasmatiques de LDL (Jamkhande *et al.*, 2014). La figure 24 présente le mécanisme d'action des résines échangeuses d'anions (Cholestyramine).



ASBT = Apical sodium bile acid transporter

Figure 24 : Mécanismes d'action de la cholestyramine (Sagar *et al.*, 2012)

➤ **Dérivés de l'acide nicotinique** (Acipimox et Acide nicotinique)

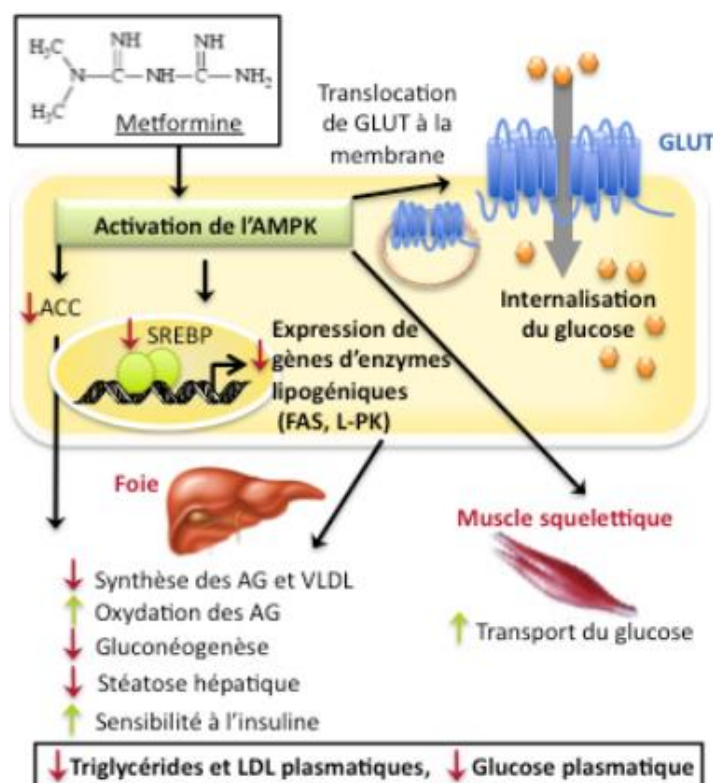
Ils diminuent la mobilisation des AG à partir du tissu adipeux en entrainant la synthèse des lipoprotéines au niveau du foie et activent la lipoprotéine lipase (LPL) (baisse de la production de triglycérides et de la sécrétion de VLDL, augmentation du catabolisme VLDL et des chylomicrons) (Sagar *et al.*, 2012 ; Jamkhande *et al.*, 2014).

I.6.2.2. Hypoglycémiants

Les hypoglycémiants varient en fonction de leur mécanisme d'action.

➤ **Biguanides** (metformine)

Par activation de l'AMPK (*Adenosine monophosphate activated protein kinase*), les biguanides entrainent une translocation de GLUT (recepteur de glucose) sur les membres entrainant l'internalisation du glucose. Dans le foie, leur action cause la baisse de l'expression du SREBP et des gènes d'enzymes lipogéniques. On assiste ainsi à la diminution de la gluconéogénèse, synthèse des AG et VLDL, de la stéatose hépatique, et de l'augmentation de l'oxydation des AG et la sensibilité à l'insuline. Tout ces activités ses traduisent par une diminution plasmatique du glucose, des triglycérides et des LDL (Ouchfoun, 2010).



ACC: Acétyl-CoA carboxylase ; AMPK : Protéine kinase activée par l'adénosine monophosphate; FAS: : Synthase des acides gras (AG); SREBPs: Protéines de liaison des éléments régulateurs des stérols ; GLUT: Transporteur de glucose.

Figure 25 : Mécanismes d'action de la metformine (Ouchfoun, 2010)

➤ **Sulfamides hypoglycémiants/Sulfonylurées** (Glibenclamide [daonil]...) & **Glinide** (Répaglinide...)

Ils sont des sécrétagogues car stimulent la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas en les sensibilisant pour l'action du glucose (figure 26). Ils se lient à un récepteur situé sur la membrane plasmique, appelé *Sulfonylurea receptor 1* (SUR1) et inhibent l'efflux de potassium de la cellule β par fermeture des canaux d'efflux potassiques adénosine triphosphate (ATP)-dépendants (Kir6.2). En effet, le glucose est capté par les cellules β du pancréas où il subit la glycolyse accompagnée de la formation d'ATP. L'augmentation des concentrations en ATP entraîne une fermeture des canaux potassiques K_{ATP} . L'élévation de la concentration de potassium intracellulaire qui en résulte crée une dépolarisation cellulaire suffisante pour déclencher l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. L'influx de calcium provoqué par l'ouverture de ces canaux conduit à l'exocytose de vésicules d'insuline. L'effet physiologique est l'augmentation de la sécrétion de l'insuline (Faure, 2017).

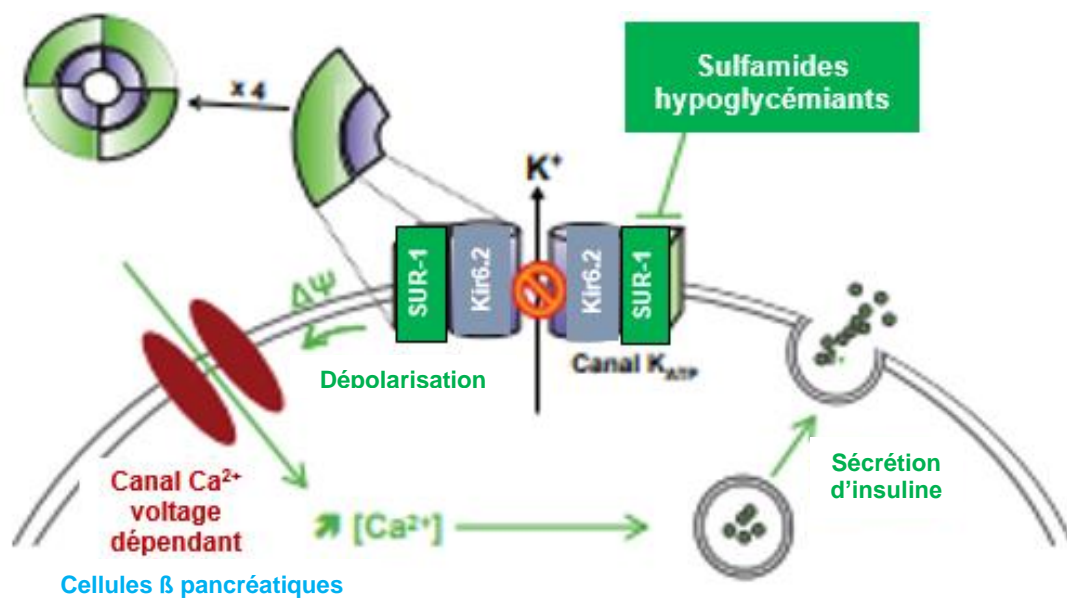


Figure 26 : Mécanismes d'action des sulfonylurées et glinides (Faure, 2017)

➤ **Thiazolidinediones** (Glitazone, Pioglitazone...)

Ils activent le facteur de transcription nucléaire PPAR- γ , entraînant une diminution de la glycémie, de la résistance périphérique à l'insuline et du taux d'acides gras libres (figure 27). Spécifiquement, ces médicaments au niveau du tissu adipeux induisent l'augmentation : de la différenciation des adipocytes, de l'internalisation et du stockage des AG, de l'expression des GLUT4, de l'internalisation du glucose et de la sécrétion de l'adiponectine. Ce dernier active

l'AMPK qui va réguler les processus métaboliques au niveau du foie, des muscles squelettiques et des macrophages. Dans le foie, on assiste à une augmentation de l'utilisation du glucose et une diminution de l'oxydation des AG. Dans les muscles squelettiques, cette activation de l'AMPK entraîne la diminution de l'accumulation des lipides (augmentation de l'oxydation des AG), et l'augmentation de l'action de l'insuline entraînant l'augmentation de l'utilisation du glucose. Au niveau du tissu adipeux, cette activation cause une diminution de l'infiltration des macrophages (Halimi, 2005 ; Pégrier, 2005).

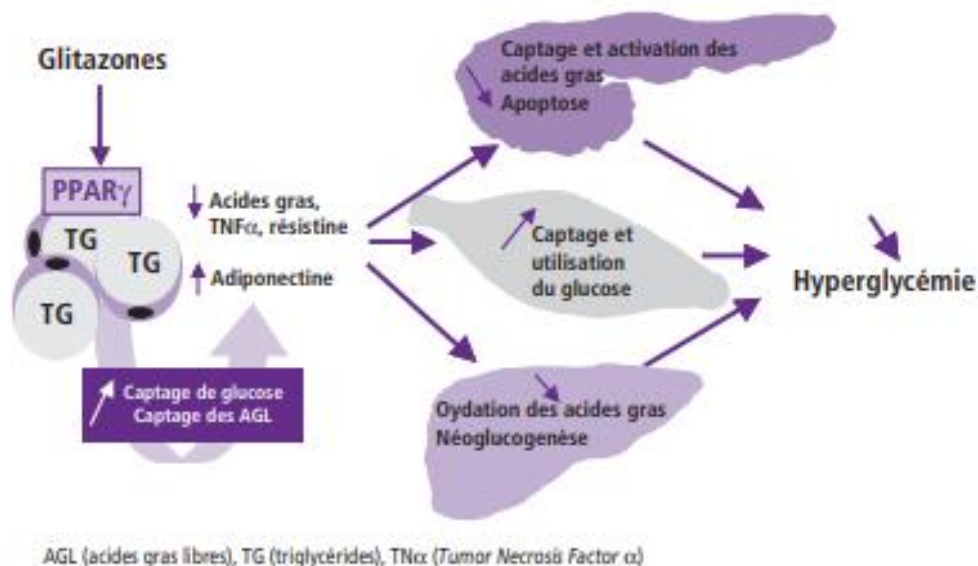
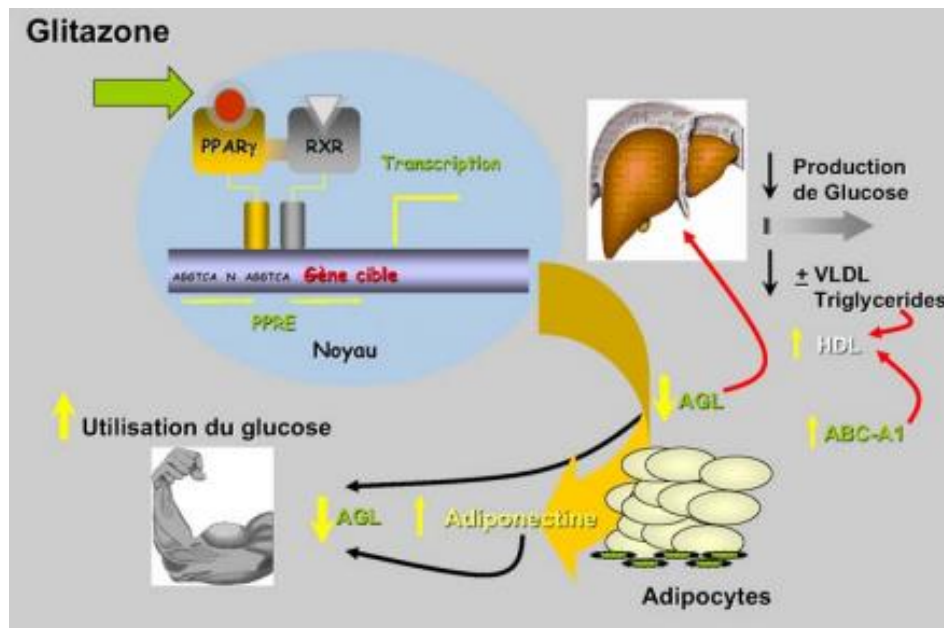


Figure 27 : Mécanismes d'action des thiazolidinediones (Halimi, 2005 ; Pégrier, 2005)

➤ **Inhibiteurs d'alpha-glucosidases** (Acarbose et Miglitol)

Ce sont des tétrasaccharides agissant par inhibition compétitive des alpha-glucosidases, au niveau de la bordure en brosse de l'intestin (figure 28). Les alpha-glucosidases ont pour rôle d'hydrolyser les glucides (amidon, maltose et sucrose) en monosaccharides absorbables par l'organisme, comme le glucose, le fructose. Les inhibiteurs des alpha-glucosidases inhibent donc l'activité des enzymes responsables de la digestion intestinale des glucides. Cette activité provoque un étalement dans le temps du passage sanguin du glucose avec une réduction de l'hyperglycémie postprandiale, sans entraîner d'hyperinsulinémie (Jaoued *et al.*, 2017).

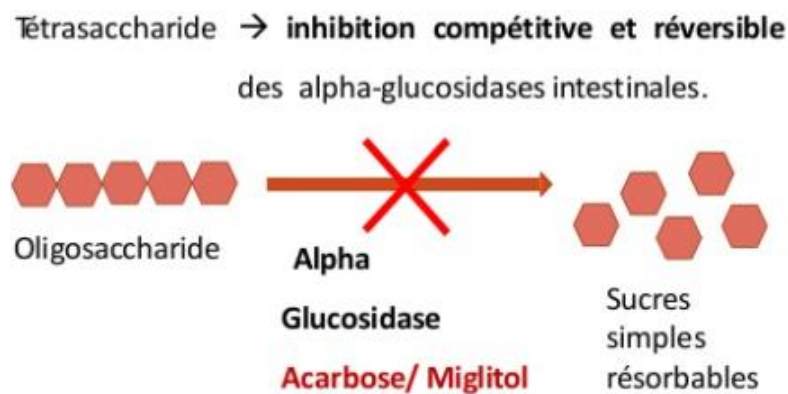


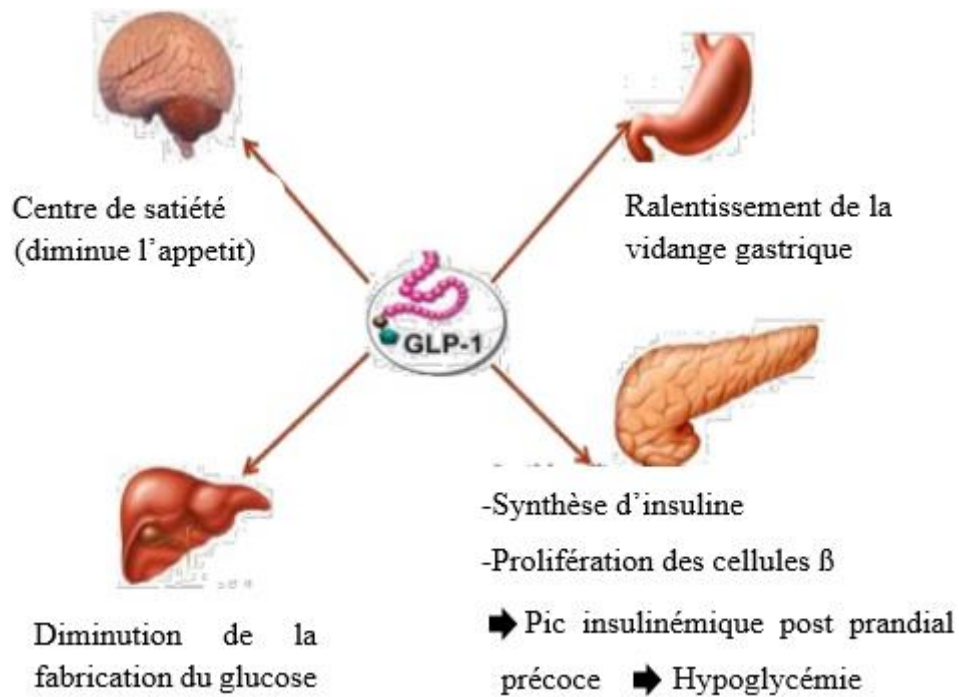
Figure 28 : Mécanisme d'action des alpha –glucosidases (Jaoued *et al.*, 2017)

➤ **Inhibiteurs de la DPP- 4** (Gliptines : sitagliptine, saxagliptine...)

Ils inhibent l'action de la DPP- 4 (figure 30). Ce dernier étant responsable de la dégradation de la GIP et le GLP1. Il en résulte une augmentation de la sécrétion d'insuline et une réduction de celle du glucagon (McReelis et Lovshin, 2017).

➤ **Agonistes/Analogues des incrétines (GLP1)** (Exénatide, Liraglutide...)

Ils sont responsables de l'activation des récepteurs de GLP1 ce qui entraîne l'augmentation de la sécrétion d'insuline, de la satiété, et une réduction de la sécrétion du glucagon ainsi que la vidange gastrique (figures 29 et 30).



GLP-1 : Glucagon-like peptide 1

Figure 29 : Mécanismes d'action des analogues d'incrétines

➤ Inhibiteurs du SGLT2 (Empagliflozine, Canagliflozine)

Les inhibiteurs du cotransporteur sodium-glucose de type 2 (SGLT2) induisent une glycosurie en inhibant la réabsorption du glucose et du sodium au niveau du tube contourné proximal dans le rein. En dehors de leur action hypoglycémiante, ils réduisent la pression artérielle systolique de -4 mmHg et diastolique de -2 mmHg environ, et le poids. (**Halimi, 2015 ; McReelis et Lovshin, 2017**). La figure 30 regroupe les sites et mécanismes d'action des agoniste du GLP, inhibiteurs du DPP- 4 et SGLT 2.

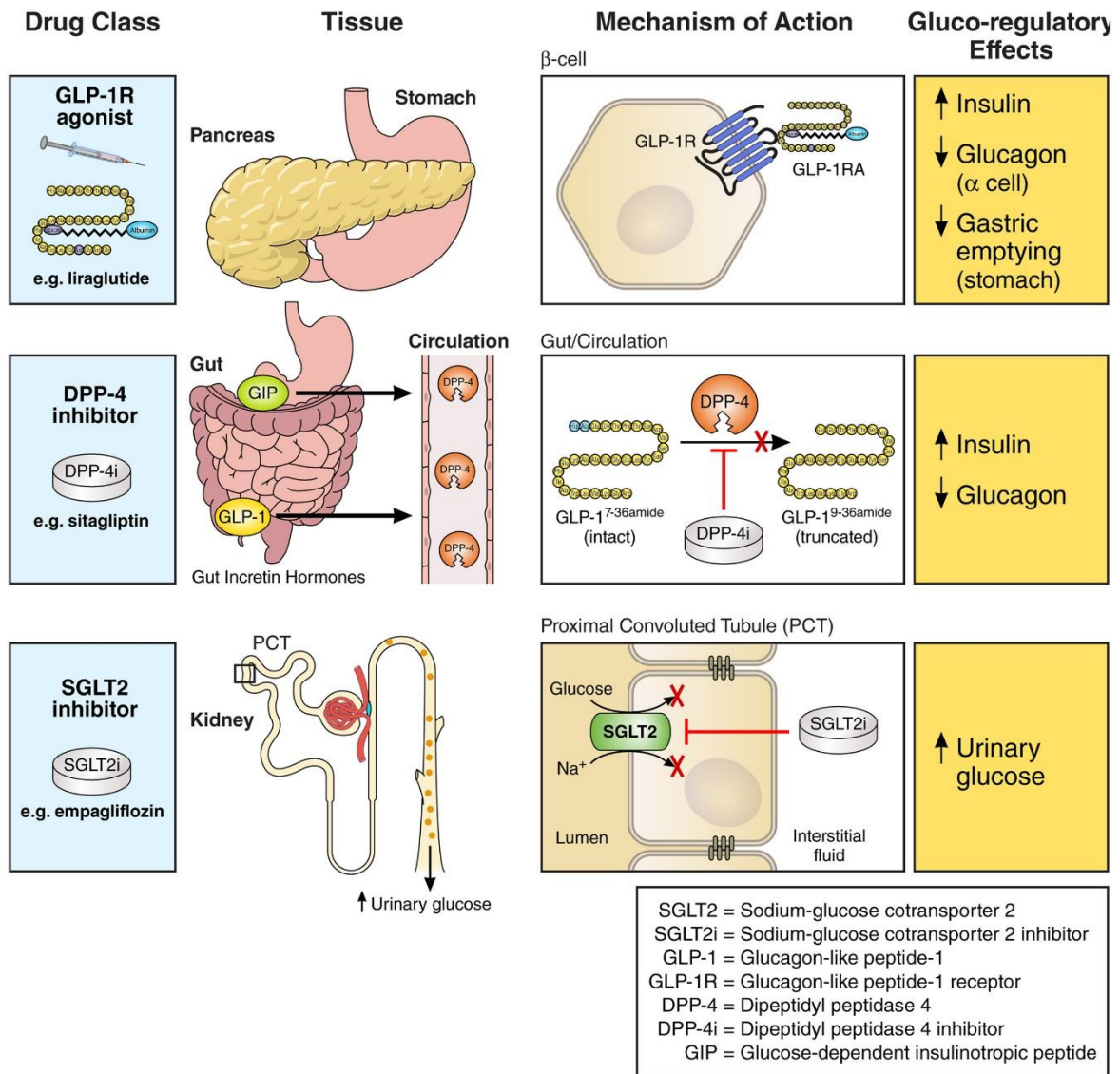


Figure 30 : Mécanismes d'action des agonistes du GLP, des inhibiteurs du DPP- 4 et SGLT 2 (McReelis et Lovshin, 2017)

I.6.2.3. Antiagrégats plaquettaires

Ils comprennent plusieurs catégories de substances de mécanismes moléculaires d'action différents mais aboutissant tous à l'inhibition de l'agrégation plaquettaire comme le montre la figure 26.

- **Inhibiteurs de la cyclo-oxygénase 1 (COX)** [Aspirine et Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)]

L'aspirine ou acide acétylsalicylique est un inhibiteur irréversiblement de la cyclooxygénase 1 (COX1). Cette dernière métabolise l'acide arachidonique en endoperoxydes cycliques (prostaglandine H₂)₃. Les endoperoxydes sont transformés ensuite en dérivés comme le thromboxane (TXA₂). Le TXA₂ est un vasoconstricteur et un puissant agrégant plaquettaire.

Les plaquettes ne pouvant re-synthétiser l'enzyme COX1, l'inhibition se prolonge pendant toute la durée de vie de la plaquette.

Les AINS (flurbiprofène) inhibent également la COX1. Ils possèdent des propriétés antiagrégantes. Dans ce cas, l'inhibition est compétitive et réversible. Les AINS sont souvent responsables d'interactions médicamenteuses et majorent le risque hémorragique (Faure, 2012).

➤ **Inhibiteurs de la voie de l'ADP** (Clopidogrel, Ticlodipine, Dipyridamole)

Les inhibiteurs de la voie de l'ADP et les antagonistes spécifiques du récepteur plaquettaire P2Y12 de l'adénosine diphosphate (ADP) empêchent l'activation déclenchée par l'ADP, inhibant ainsi l'agrégation plaquettaire.

Le dipyridamole induit une inhibition spécifique de la phosphodiésterase (PDE), entraînant une augmentation du taux d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) dans la plaquette. L'AMPc inhibe la libération des granules d'ADP, ce qui prévient l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP (Faure, 2012).

➤ **Antagonistes des récepteurs GpIIb/IIIa** (Abciximab, Tirofiban, Eptifibatide)

Les antagonistes du récepteur GPIIb/IIIa bloquent la fixation de ligands naturels, notamment le fibrinogène, au récepteur GPIIb/IIIa (Faure, 2012).

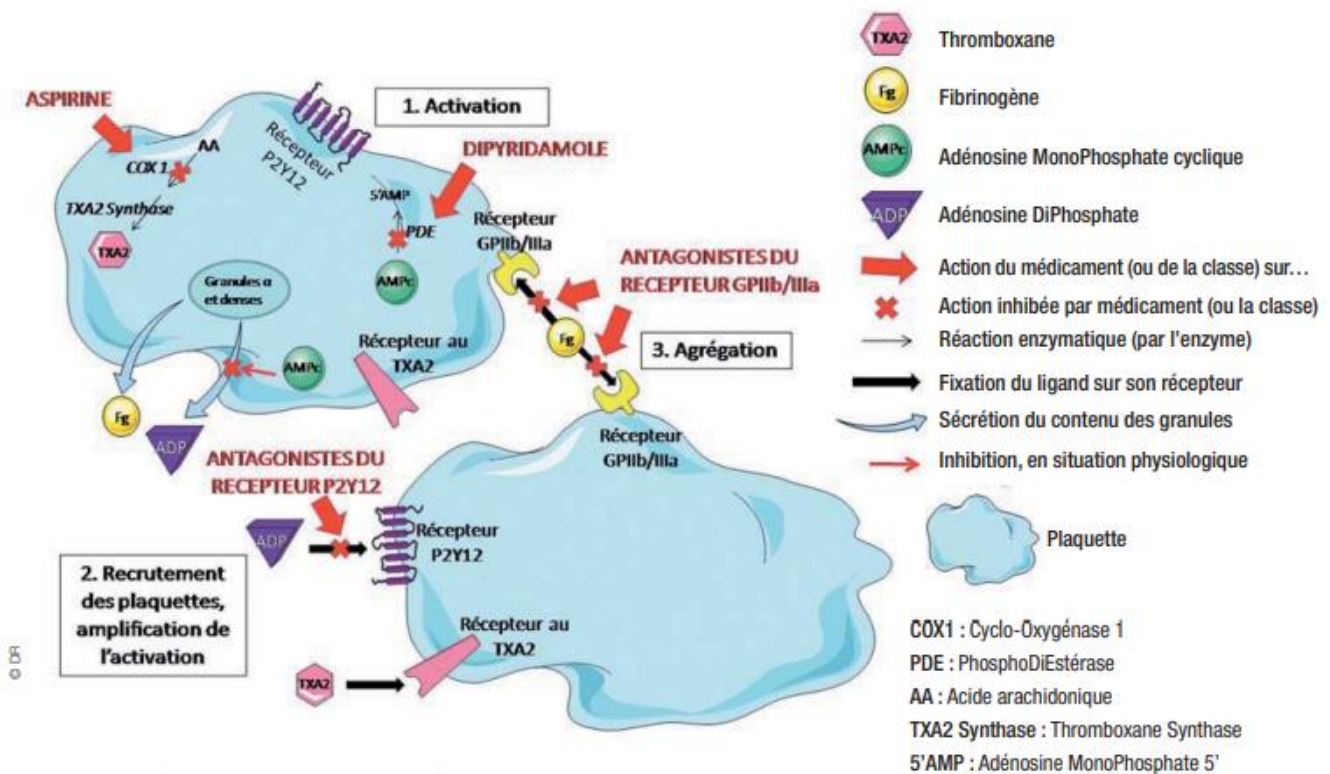


Figure 31 : Mécanismes d'action des anti-agrégats plaquettaires (Faure, 2012)

I.6.2.4. Hypotenseurs

La figure 32 présente les différents sites d'action des hypotenseurs utilisés pour la prise en charge de l'hypertension artérielle, une des complications de MCV.

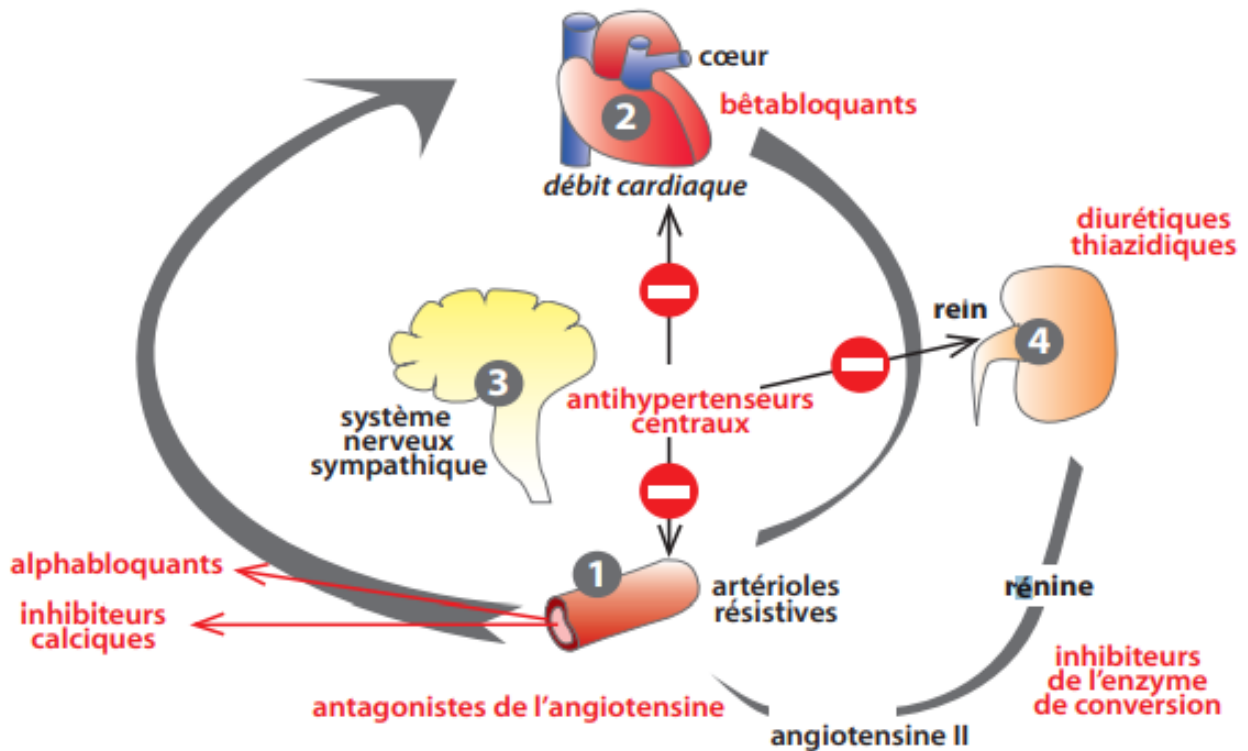


Figure 32 : Site d'action des hypotenseurs (Pillon *et al.*, 2014)

➤ **Diurétiques** (Hydrochlorothiazide, Spironolactone, Éndapamide...)

Les diurétiques sont des natriurétiques c'est-à-dire des composés qui accélèrent l'élimination rénale du sodium. En effet, ils inhibent la réabsorption de cet ion et entraînent à sa suite celle de l'eau par un mécanisme osmotique. On observe donc au niveau du tubule rénal une augmentation de la diurèse suivie d'une diminution de la volémie et donc de la pression artérielle (PA). La diminution de la réabsorption du sodium entraîne également une diminution de la concentration intracellulaire de calcium dans les cellules musculaires lisses. La diminution de l'hyperréactivité aux agents vasopresseurs entraîne une vasodilatation des artérols, donc de la PA (Lee *et al.*, 2019).

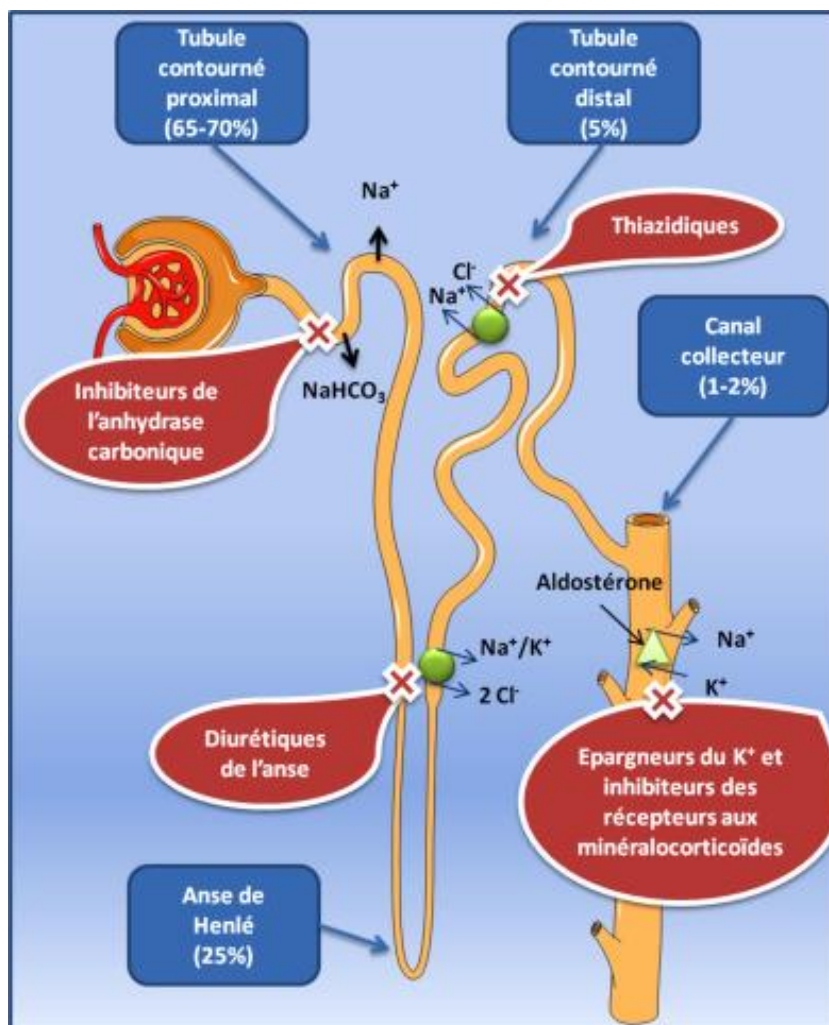


Figure 33 : Mécanismes et site d'actions des diurétiques (Funk-Brentano et Cohen-Sola, 2011)

➤ **Bêta-bloquants** (Aébutolol, Bétaxolol Bisoprolol, Cartéolol...)

Ils stimulent le système sympathique en bloquant les récepteurs bêta-adrénergiques. Au niveau cardiaque, le blocage des récepteurs β_1 entraîne une baisse de la fréquence cardiaque et une élévation du temps de remplissage diastolique. Tandis qu'au niveau rénal, le blocage de ces récepteurs entraîne une diminution de la sécrétion de rénine. La conséquence est la baisse du taux d'angiotensine II et d'aldostérone. (**Bejan-Angoulvant et Angoulvant, 2020**).

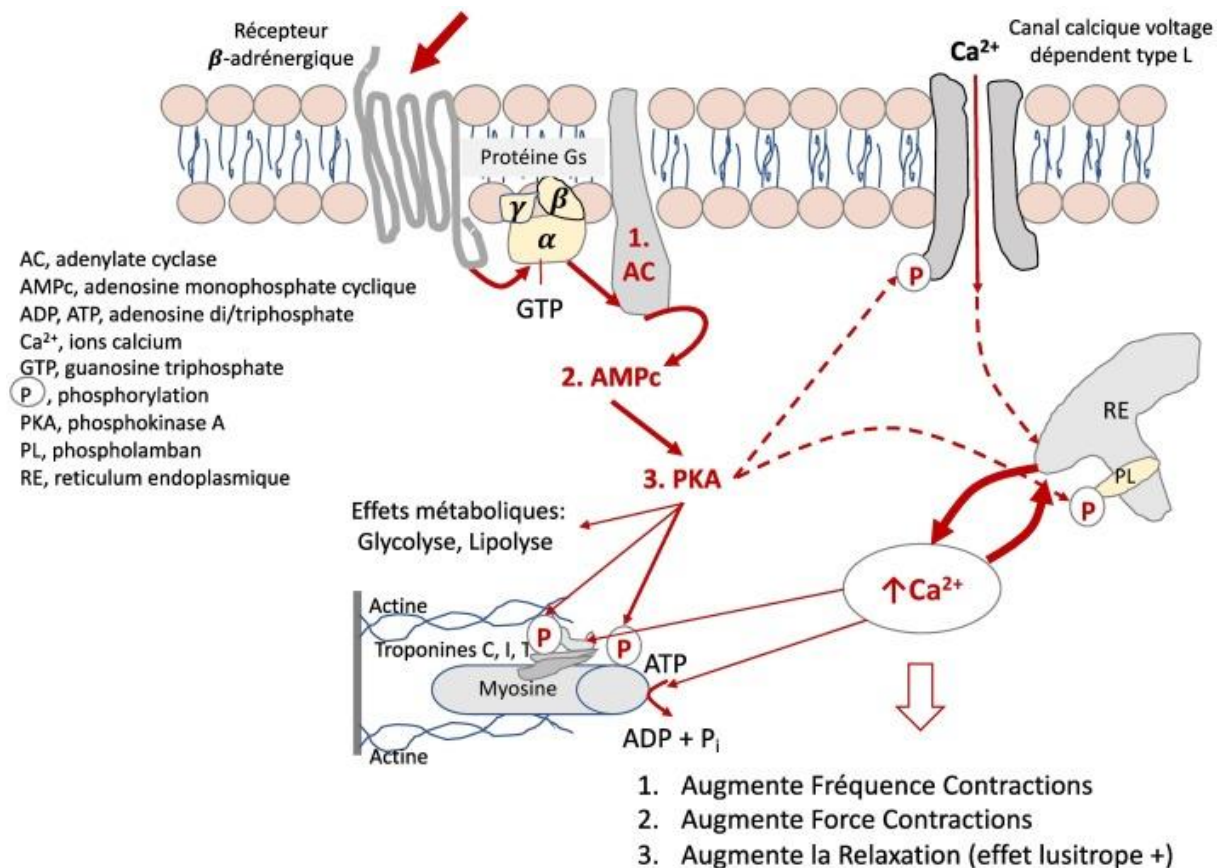


Figure 34 : Mécanismes cellulaires de la stimulation β_1 adrénergique myocardique (Bejan-Angoulvant et Angoulvant, 2020)

- **Antagonistes du calcium ou Inhibiteurs calciques** (Adalate, Amlodipine Génériques, Amlor, Baypress, Caldine, Chronadalate...)

Ils bloquent les canaux calciques lents et empêchent l'entrée de calcium dans les cellules (fibres musculaires myocardiques, cellules musculaires lisses). Au niveau vasculaire, la diminution de l'entrée de calcium dans les cellules musculaires lisses des vaisseaux entraîne une vasodilatation importante et permanente. Au niveau myocardique, la diminution de l'entrée de celui-ci dans les cellules myocardiques entraîne une diminution de la contractilité responsable, en partie, d'une diminution du débit cardiaque (Lee *et al.*, 2019).

- **Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA)** (Benazepril, Captopri, Enalapril...)

Ces molécules bloquent l'activité du système rénine-angiotensine-aldostérone en inhibant l'enzyme de conversion. Ces inhibiteurs diminuent la formation de l'angiotensine II. Cette diminution de l'angiotensine II a un effet vasodilatateur direct se manifestant par la diminution de la sécrétion d'aldostérone et la réabsorption du sodium. Ils entraînent également

la réduction de la vasoconstriction des artérioles dans les reins à l'origine de leur effet néphroprotecteur. Les IECA diminuent aussi la dégradation de la bradykinine par inhibition de la kinase 2 ce qui potentialisent ainsi l'effet vasodilatateur de cette substance (**Lee et al., 2019**).

➤ **Antagonistes de l'angiotensine II (AII) (Azilsartan, Candesartan, Irbesartan...)**

Ils antagonisent les récepteurs de l'angiotensine II, inhibant ainsi les effets vasoconstricteurs de celle-ci. Leurs actions sont proches de celle des IECA. Cependant, ils sont sans action sur la bradykinine (**Lee et al., 2019**).

I.7. Modèles d'induction des désordres métaboliques

Depuis plusieurs décennies, les chercheurs utilisent divers types de modèles pour apprécier le potentiel thérapeutique des xénobiotiques parmi lesquels, les plantes. A cet effet, les rongeurs, particulièrement les rats et les souris sont utilisés.

I.7.1. Modèles alimentaires

La morbi-mortalité résultante de la consommation des régimes occidentaux ou "Western diet" ou régimes alimentaires hypercaloriques ou régimes cafétaria est sans cesse croissante. Ces régimes induisent l'installation du syndrome métabolique (SM), caractérisé par l'obésité, le stress oxydatif, une dyslipidémie athérogène, l'IR, un état pro-inflammatoire, pro-thrombotique, une hypertension artérielle, caractéristique des maladies cardiovasculaires (MCV). La stéatose hépatique non alcoolique ou maladies non alcoolique du foie gras (MNAFG) est également associée à un apport calorique élevé et à de nombreuses autres complications liées à l'alimentation, telles que les MCV et le SM (**Ragab et al., 2015**).

Les approches alimentaires capables d'induire les désordres métaboliques associés au SM comprennent l'utilisation d'un seul type de régime/ ou une combinaison de régimes. Il s'agit notamment des régimes à haute teneur en fructose, à haute teneur en saccharose/sucrose, à haute teneur en matières grasses, à haute teneur en fructose et en matières grasses, ou à haute teneur en saccharose/sucrose et en matières grasses (**Wong et al., 2016**). Les études sur les régimes alimentaires sont désormais une pierre angulaire pour l'étude du SM.

I.7.1.1. Diète enrichie en hydrates de carbone ou glucides (DEHC)

Les glucides peuvent être divisés en formes simples (monosaccharides et disaccharides) et complexes (oligosaccharides et polysaccharides). Les glucides constituent la principale source d'énergie (carburant à court terme) dans l'organisme car ils sont plus simples à métaboliser par rapport aux graisses. L'adoption d'un mode de vie sédentaire place un individu

dans les conditions d'un apport énergétique élevé, ce qui augmente la tendance au stockage d'énergie, au surpoids et finalement à l'obésité (Wong *et al.*, 2016). Le métabolisme des glucides commence par la digestion dans l'intestin grêle pour former des molécules de glucose, suivie de l'absorption dans la circulation sanguine et du transport dans le foie *via* la veine porte. Lorsque l'apport en glucides dépasse largement les besoins énergétiques quotidiens, la concentration de glucose dans le sang reste élevée et l'insuline est sécrétée par le pancréas pour permettre aux cellules d'absorber le glucose. Divers mécanismes sont activés pour permettre l'utilisation du glucose. Il s'agit notamment de : la dégradation du glucose dans le processus de la glycolyse, la conversion du glucose en glycogène dans le foie et les muscles, et l'activation de la synthèse des acides gras et inhibition de leur libération dans le tissu adipeux suite à l'action de l'insuline (Chen, 2012). Ainsi prolongée, la consommation excessive de glucides entraîne un taux élevé de glucose dans le sang (Wong *et al.*, 2016). L'insuline est donc produite en réponse pour entrainer la baisse de la glycémie. Par conséquent, les glucides alimentaires sont transformés en graisses pour être stockés. La sensibilité à l'insuline est également diminuée. Des études ont montré une forte association entre une consommation élevée de glucides et la résistance à l'insuline (Gadgil *et al.*, 2013). Les glucides les plus utilisés étant le sucrose et le fructose.

❖ **Diète enrichie en sucrose ou saccharose (DES)**

Le saccharose, ou sucre de table, est un disaccharide présent dans la canne à sucre et dans la betterave. Le saccharose joue le même rôle que le fructose en rendant les aliments plus appétissants. Lorsque le saccharose est consommé, il est scindé en glucose et fructose, par l'enzyme sucrase (Elzouki *et al.*, 2011). Les deux molécules sont ensuite absorbées par leurs mécanismes de transport spécifiques. L'absorption du glucose est régulée de manière négative par la phosphofruktokinase, ce qui conduit à l'entrée continue de fructose dans la voie glycolytique. L'excès de fructose sera transformé en graisse dans le foie car le fructose est un meilleur substrat pour la synthèse des acides gras que le glucose (Wong *et al.*, 2016). Ainsi, le fructose est le principal ingrédient actif contribuant au développement du SM chez les animaux après consommation de saccharose. L'alimentation au saccharose a été utilisée pour imiter le SM humain chez des modèles animaux (Panchal et Brown, 2011). Comme le fructose, le saccharose induit chez les rats une lipogenèse, une augmentation des concentrations plasmatiques d'insuline, de leptine, des triglycérides, de glucose et d'acides gras libres, ainsi qu'une altération de la tolérance au glucose (Sharma *et al.*, 2008). Une étude animale a montré que l'administration de 30 % de saccharose dans l'eau de boisson entraînait le développement

du SM chez les rats *Wistar* mâles avec une augmentation du poids corporel, de la pression artérielle systolique, de l'insuline, du triacylglycérol, du cholestérol total, du cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL) et des acides gras libres (**Aguilera et al., 2004**). L'alimentation au saccharose augmente chez les rats la masse ventriculaire gauche mais sans fibrose cardiaque et le développement d'une stéatose hépatique (**Huang et al., 2010**).

En outre, une supplémentation élevée en saccharose est largement utilisée pour l'induction d'une résistance à l'insuline du corps entier chez les rats (**Wold et al., 2005**). Parallèlement, les animaux traités avec 32 % de saccharose dans l'eau de boisson ont présenté une hyperglycémie, une hypertriglycémie, une hypercholestérolémie et une augmentation du poids corporel (**Vasanji et al., 2006**). Une autre étude rapporte que les rats réagissent à une supplémentation en saccharose (77 %) par une augmentation significative de la pression artérielle systolique, du taux d'insuline et des triglycérides (**Pang et al., 2008**).

La supplémentation en fructose et en saccharose provoque des réponses distinctes chez deux modèles animaux différents. L'enrichissement en fructose chez les rats Sprague-Dawley provoque une hyperinsulinémie, une hypertriglycémie, une hypercholestérolémie, une hypertension et une résistance à l'insuline (**Wong et al., 2016**). En revanche, l'enrichissement en saccharose chez les rats hypertendus ne fait qu'augmenter la tension artérielle et aggrave la résistance à l'insuline (**Oron-Herman et al., 2008**). Ces résultats indiquent qu'une teneur élevée en saccharose favorise le développement du SM dans les modèles animaux. Cependant, le fructose est plus efficace qu'une quantité équivalente de saccharose pour induire le SM chez les modèles animaux (**Wong et al., 2016**).

❖ **Diète enrichie en fructose (DEF)**

De nos jours, le fructose est utilisé comme exhausteur de goût pour rendre les aliments plus appétissants et tentants. Le fructose est une molécule intermédiaire dans le métabolisme du glucose. Sa concentration sanguine (~0,01 mmol/L) est très faible par rapport à celle du glucose (~5,5 mmol/L). Chez les patients diabétiques, une petite quantité de fructose dans le régime alimentaire produit une réponse glycémique plus faible que celle du saccharose et de l'amidon. Malheureusement, la consommation de fructose est aujourd'hui excessive en raison de la consommation de boissons et d'aliments sucrés artificiellement. L'augmentation de la consommation de fructose est proportionnelle à l'augmentation de l'incidence de l'obésité (**Bocarsly et al., 2010**). Ainsi, un afflux important du fructose dans le foie provoque une accumulation de triglycérides et de cholestérol en raison de ses propriétés lipogènes (qui

produisent des graisses), ce qui entraîne une diminution de la sensibilité à l'insuline, une résistance à l'insuline et une intolérance au glucose (**Basciano et al., 2005**).

La corrélation entre une consommation chronique élevée de fructose avec l'augmentation de l'apport énergétique, le poids corporel, l'adiposité, l'hypertriglycéridémie, l'hyperlipidémie, l'hypertension, l'intolérance au glucose et la diminution de la sensibilité à l'insuline chez les animaux de laboratoire, tous conduisant au syndrome métabolique, est démontré (**Thirunavukkarasu et al., 2004 ; Johnson et al., 2007**). Une étude réalisée par **Sanchez-Lozada et al. (2007)** a rapporté que 10 % de fructose dans l'eau potable entraînait également l'hypertension et l'hyperlipidémie chez des rats. Une alimentation à haute teneur en fructose a provoqué chez les rongeurs le développement du syndrome métabolique (**Tran et al., 2009**). Le fructose se comporte plus comme une graisse que comme un glucide tant chez l'homme que chez l'animal. Une faible dose de fructose dans l'eau potable (10 %) est suffisante pour induire le syndrome métabolique chez les animaux. L'alimentation au fructose a provoqué une dilatation et une hypertrophie ventriculaire, une diminution de la fonction contractile, une infiltration de cellules inflammatoires dans le cœur et une stéatose hépatique (**Chang et al., 2007 ; Patel et al., 2009**). Dans le foie, l'alimentation en fructose a induit une stéatose microvésiculaire et macrovésiculaire avec une fibrose périportale et une inflammation lobulaire (**Kawasaki et al., 2009**). L'alimentation au fructose chez les rats a provoqué des lésions tubulaires rénales, un dépôt de collagène dans l'interstitium et une augmentation des macrophages (**Nakayama et al., 2010**).

Le fructose est converti en fructose-1-phosphate par la phosphofructokinase en présence d'ATP. Le fructose-1-phosphate est ensuite clivé en glycéraldéhyde et dihydroxyacétone phosphate. À ce stade, le fructose est impliqué dans plusieurs processus simultanés : (a) une partie du fructose est converti en lactate à partir du pyruvate, (b) une autre partie produit du triose-phosphate qui se transforme facilement en glucose ou en glycogène par le biais de la gluconéogenèse, (c) les carbones dérivés du fructose peuvent être convertis en glucose, en glycogène ou en acides gras, et (d) l'inhibition de l'oxydation des lipides hépatiques par le fructose favorise la synthèse des triglycérides des lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et la réestérification des acides gras (**Rizkalla, 2010**). Il est donc rapidement absorbé et facilement métabolisé par le foie pour produire du glucose, du glycogène, du pyruvate, du lactate, du glycérol, et des molécules d'acyl-glycérol. Au cours du métabolisme, le fructose contourne les étapes de régulation de la glycolyse. Il entre ainsi en continu dans cette voie et

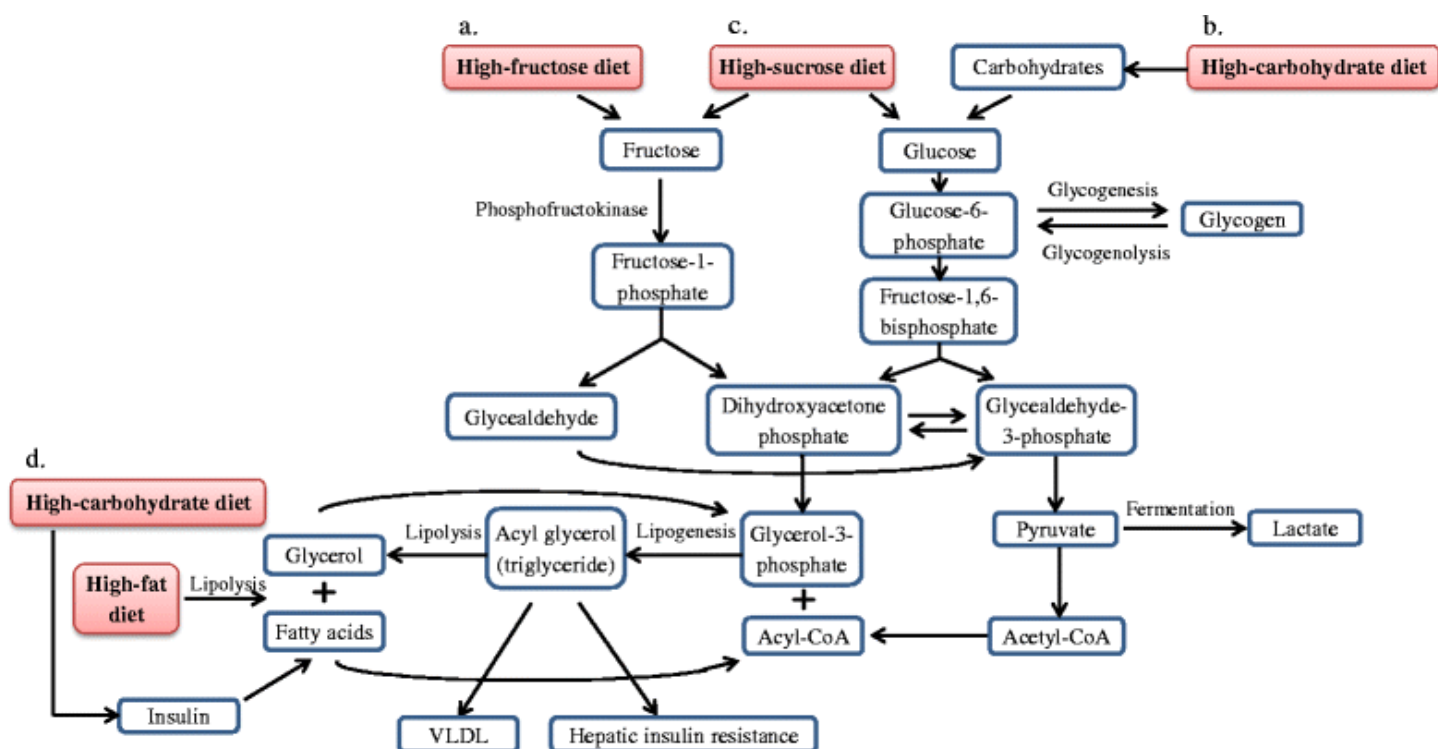
entraîne un apport incontrôlé de squelette carboné pour la lipogenèse dans le foie (**Rutledge et Adeli, 2007**).

I.7.1.2. Diète enrichie en graisses (DEG)

La source du composant gras peut être les huiles d'origine végétale ou les graisses d'origine animale (suif et saindoux de bœuf) (**Wong et al., 2016**). Ainsi, les régimes *High-Fat* ou diètes enrichies en lipides/graisses sont des diètes dont la majorité des calories est apportée par les lipides. Ce dernier est le macronutriment le plus dense en calories. Les régimes alimentaires riches en graisses ont été largement utilisés pour induire l'obésité chez les animaux durant plusieurs semaines (**Xu et al., 2013**). Le catabolisme (lipolyse) de ces graisses produit de grandes quantités de glycérol et d'acides gras qui diffusent dans le sang et favorisent la production hépatique de VLDL et triglycérides. Environ 70 % des acides gras libres libérés seront réestérifiés (lipogenèse) pour former des triglycérides (**Wong et al., 2016**). Le taux de réestérification dépend du taux de production de glycérol-3-phosphate par glycolyse et du taux de libération des acides gras par les adipocytes (**Chen, 2012**).

Ce type de régime favorise l'hyperglycémie, l'insulinorésistance, les dyslipidémies et une augmentation des acides gras libres dans le sang. Des études ont montré que le régime alimentaire riche en graisse entraîne un gain significatif de poids associé à une hyperinsulinémie, la résistance à l'insuline, une augmentation de la masse adipeuse/masse grasse, de la glycémie, du cholestérol total (CT), du LDL cholestérol (LDL-c), du cholestérol non estérifié, des triglycérides (TG), de la leptine, du dysfonctionnement endothélial et une baisse du HDL cholestérol (HDL-c) (**Panchal et Brown, 2011 ; Li et al., 2015**).

Une surconsommation de régime alimentaire riche en graisses entraîne une formation accrue de VLDL cholestérol (VLDL-c), qui va contribuer à la distribution des triglycérides synthétisés par le foie. L'accumulation de triglycérides dans le foie provoque une résistance à l'insuline, un taux élevé de VLDL-c peut provoquer l'obésité, la dyslipidémie et l'accumulation de cholestérol dans les artères (**Wong et al., 2016**).



a) Régime riche en fructose interfère avec la voie glycolytique en contournant l'étape de contrôle du taux, la conversion du glucose-6-phosphate en fructose-1,6-bisphosphate. **b) Régime riche en glucides** entraîne une activation des voies d'utilisation du glucose : la dégradation du glucose par glycolyse, la conversion du glucose en glycogène par glycogénèse, et la production d'insuline qui agit sur le tissu adipeux pour favoriser la synthèse des acides gras. **c) Régime riche en saccharose** : le saccharose se sépare en molécules de fructose et de glucose et entre dans leurs mécanismes spécifiques. **d) Régime riche en graisse** : Les graisses subissent une lipolyse, le glycérol et les acides gras sont libérés dans le sang. Les acides gras libérés pendant la lipolyse sont réestérifiés pour former les triglycérides. La surproduction de triglycérides est susceptible de provoquer une accumulation de triglycérides dans le foie qui entraînera en outre une résistance hépatique à l'insuline (sensibilité réduite à l'insuline).

Figure 35 : Résumé des effets des différents régimes alimentaires sur le métabolisme
(Wong *et al.*, 2016)

I.7.1.3. Diète enrichie en glucide et en graisse (DEGG)

La combinaison entre les régimes riches glucides et en graisse sont de plus en plus utilisés dans les études au SM et/ou ses composantes individuelles. Selon Panchal *et al.* (2011), ce type de modèle est meilleur pour l'étude de l'efficacité des préparations pharmaceutiques et nutraceutiques pour la prise en charge du SM. En effet, la diète riche en glucides et en graisses (d'origine animale ou végétale), reproduit plus fidèlement le régime alimentaire humain. Ainsi, les rongeurs nourris avec un tel régime développent toutes les complications présentes dans le SM humain. En effet, différentes combinaisons de glucides et de graisses ont été utilisées dans

diverses études (**Ble-castillo et al., 2012 ; Senaphan et al., 2015 ; Wong et al., 2018**). Les glucides couramment utilisés sont le fructose et le sucrose/saccharose. Fonction donc du type de glucides utilisés, on a les diètes enrichies en sucrose et en graisse (DESG) et les diètes enrichies en fructose et en graisse (DEFG).

La teneur en saccharose variait entre 10 % et 30 %, tandis que la teneur en graisses variait entre 20 et 40 % (**Sato et al., 2010**). Les rongeurs nourris avec une DESG ont présenté une augmentation du poids corporel, un dépôt de graisse abdominale, une hyperinsulinémie, une hyperglycémie et une hyperleptinémie (**Senaphan et al., 2015**). Le saccharose et la graisse en combinaison ont également provoqué une stéatose hépatique et une augmentation de l'activité des enzymes lipogéniques hépatiques.

Le fructose et la graisse sont été utilisés en combinaison. En effet, la teneur en fructose varie entre 10 % et 60 %, soit dans l'alimentation, soit dans l'eau de boisson, soit dans les deux, tandis que la teneur en graisses varie entre 20 et 60 % (**Kohli et al., 2010 ; Panchal et al., 2011**). Ainsi, la DEFG a augmenté le poids corporel et les concentrations plasmatiques de triglycérides, de cholestérol, d'acides gras libres et de la leptine (**Wada et al., 2010 ; Panchal et al., 2011**). L'association fructose-graisse a également provoqué une insulino-résistance, une hyperinsulinémie, une intolérance au glucose, un dépôt accru de graisse, la stéatose hépatique et l'inflammation (**Ragab et al., 2015**). De même, les rats nourris avec une diète riche en fructose et en graisses ont présenté une hypertrophie cardiaque, une augmentation de la rigidité ventriculaire, une dilatation ventriculaire, une inflammation, une fibrose cardiaque, une hypertension, une diminution de la fonction cardiaque, un dysfonctionnement endothélial, ainsi que des lésions rénales légères et une augmentation de la masse des îlots pancréatiques (**Panchal et al., 2011**).

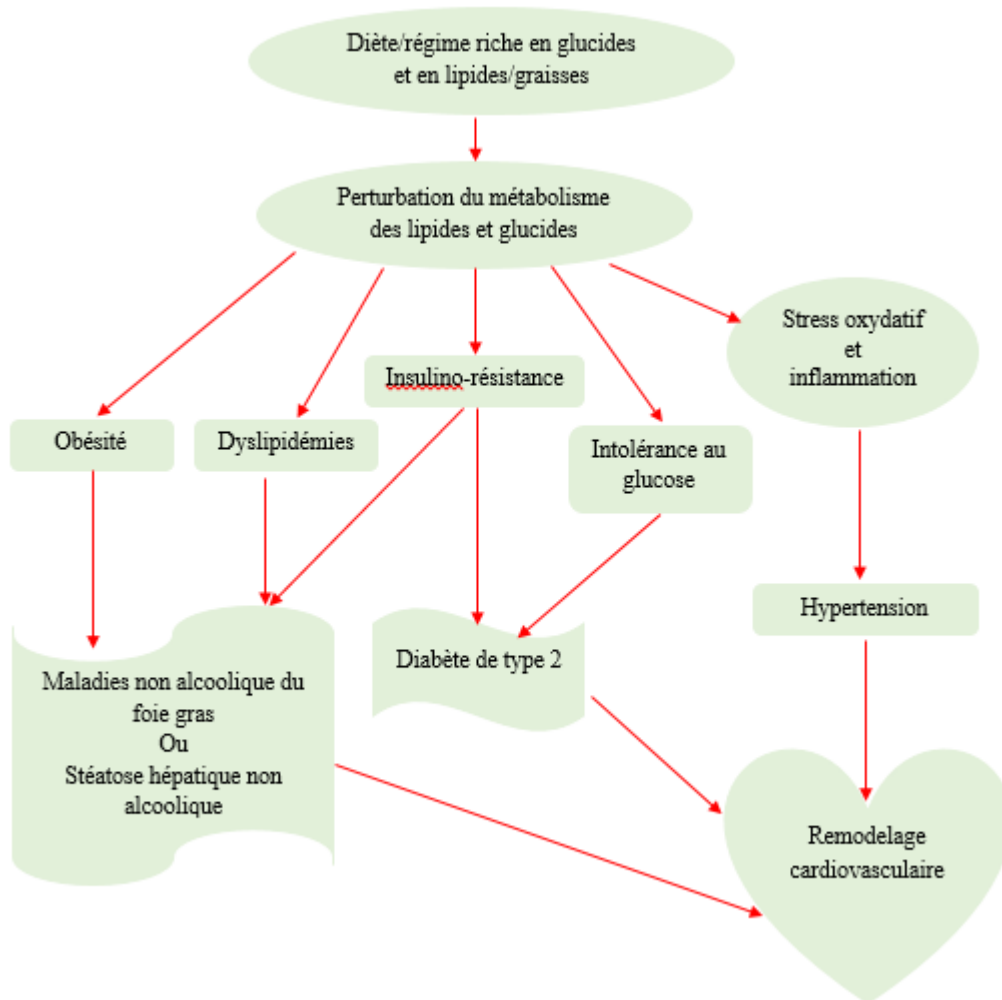


Figure 36 : Syndrome métabolique induit par un régime riche en glucides et en graisses (Panchal et Brown, 2011)

I.7.2. Modèles transgéniques

Pour étudier la pathogenèse du SM et ses conséquences, les modèles génétiques ont été développés pour gagner du temps et permettre de vérifier les paramètres spécifiques (Wong *et al.*, 2016). À l'origine, les modèles de rongeurs déficients en leptine ou en récepteurs de leptine ont été utilisés comme modèles génétique d'obésité et de diabète (Kennedy *et al.*, 2010). Parmi de nombreux modèles développés, existent : les souris déficientes en leptine ($Lep^{ob/ob}$), les souris déficientes en récepteurs de leptine ($LepR^{db/db}$), les rats gras Zucker (ZF), les rats gras diabétiques Zucker (ZDF), Dahl.S.Z- $Lepr^{fa}/Lepr^{fa}$ (DS/obèse), rats Goto-Kakizaki (GK), rat obèse spontané hypertendu (Koletsky), les souris POUND (C57BL/6Ncr1- $Lepr^{db-lb}/Cr1$), les souris déficientes en récepteurs des lipoprotéines de basse densité ($LDLR^{-/-}$), les souris déficientes en apolipoprotéine E ($apoE^{-/-}$), les souris sans récepteur de la mélanocortine 3 ($MC3R^{-/-}$) et 4 ($MC4R^{-/-}$), et les souris *agouti lethal yellow* (A^y/a) (Kennedy *et al.*, 2010 ; Wong *et al.*, 2016).

al., 2016). Pour une meilleure étude du SM et ses complications pathologiques, certains modèles génétiques ont été obtenus en croisant les souris Lep^{ob/ob} et LDLR^{-/-} ; LepR^{db/db} et LDLR^{-/-} ; LepR^{db/db} et apoE^{-/-} ; Lep^{ob/ob} et apoE^{-/-} ; A^{y/a} et apoE^{-/-}, et A^{y/a} et LDLR^{-/-} (**Panchal et Brown, 2011 ; Wong *et al.*, 2016**).

I.7.3. Modèles chimiques

Plusieurs substances chimiques ont été utilisées pour induire les désordres métaboliques. Ces composés chimiques entraînent un dysfonctionnement du métabolisme des lipides et des glucides à travers leur capacité à induire l'insulinorésistance et l'insulinodéficience.

❖ Streptozotocine

La streptozotocine (STZ) induit l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie chez les animaux. Ceci est dû à sa capacité à traverser la membrane des cellules β pancréatiques *via* le transporteur GluT2. Il s'en suit l'alkylation (méthylation) de l'ADN, suivi de l'activation de la poly(ADP-ribose) polymérase (PARP) et la production de l'oxyde nitrique (NO) (**Zaki, 2017**). Il en résulte une nécrose de ces cellules β pancréatiques. La streptozotocine endommage également d'autres organes exprimant le transporteur GluT2, notamment les reins et le foie (**Lenzen, 2008**).

❖ Alloxane

Tout comme la STZ, l'alloxane entraîne l'hyperglycémie et ses conséquences. L'alloxane traverse également la membrane des cellules β pancréatiques *via* le transporteur GluT2. Deux effets pathologiques distincts sont associés à sa pathogénèse : l'inhibition sélectivement de la sécrétion d'insuline induite par le glucose (ceci par l'inhibition spécifique de la glucokinase qui réduit l'oxydation du glucose et la production d'ATP, supprimant ainsi le signal d'ATP déclenchant la sécrétion d'insuline) et la formation des EORs (OH \cdot , O $_2^{\cdot-}$), entraînant la nécrose sélective des cellules β pancréatiques (**Zaki, 2017**). L'alloxane cible également l'ADN et cause sa fragmentation. Ce composé cause aussi des dommages rénaux et hépatiques (**Lenzen, 2008**).

❖ Glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes provoquent le SM en agissant sur différents tissus (le tissu adipeux, le foie, les muscles et les reins) *via* plusieurs mécanismes. Ils stimulent la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes matures ; augmentent la lipolyse pour libérer les acides gras libres ; augmentent la protéolyse dans les muscles et entraîne une libération accrue des acides aminés (AA) libres. L'activation du complexe 1 de la cible mammalienne de la rapamycine (mTORC1) induite par les AA entraîne la phosphorylation du substrat 1 du récepteur de l'insuline (IRS-1),

conduisant à la résistance à l'insuline. Les glucocorticoïdes favorisent la néoglucogenèse dans le foie et provoquent une hyperglycémie. Ils se lient non spécifiquement à leurs récepteurs dans les reins et provoquent une augmentation de la rétention de sodium, de l'excrétion de potassium et de la rétention d'eau causant l'élévation de la pression sanguine. Ainsi, des niveaux élevés de corticostérone augmentent la prise alimentaire, la prise de poids, l'accumulation de graisse abdominale. Ils causent également l'hyperglycémie sévère à jeun, la résistance à l'insuline, l'intolérance au glucose, l'hypertension, la dyslipidémie, ainsi que le dépôt de lipides dans les adipocytes, le tissu hépatique et le muscle squelettique chez les animaux (**Wong et al., 2016**).

I.7.4. Modèles combinés

Des études ont montré qu'il était possible de combiner les modèles chimiques et alimentaires, ou les modèles transgéniques et alimentaires (**Zaki, 2017 ; Preguiça et al., 2020**). Dans le modèle combiné composé chimique-régime alimentaire, une faible dose de streptozotocine ou d'alloxane est associée au régime alimentaire (**Podell et al., 2017**). Tandis que dans le modèle transgénique-régime alimentaire, les animaux transgéniques sont simplement nourris avec un régime hypercalorique.

I.8. Prédiction des modes d'action par l'approche *in silico* ou amarrage moléculaire

I.8.1. Généralités

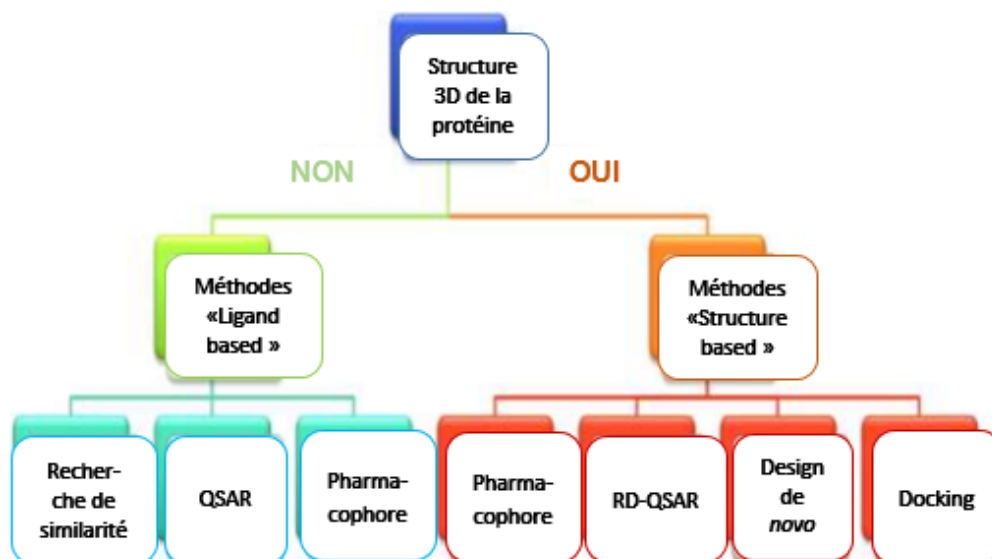
Le terme *in silico* regroupe un ensemble de techniques informatiques dont l'objectif vise l'exploration de bases de composés à la recherche de molécules d'intérêt thérapeutique. Largement appuyé par les progrès en informatique et en bioinformatique, l'exploration *in silico* a pris une importance dans les processus de conception des médicaments. Les méthodes *in silico* ont été développées pour diminuer le coût et le temps nécessaire au processus de recherche et développement. Elles permettent de réduire le nombre de molécules à tester expérimentalement et de guider la sélection des composés les plus prometteurs/efficaces (**Ben et Lachache, 2021**).

Cette technique consiste à prédire l'affinité des molécules pour le site actif ciblé afin d'aboutir à l'activité souhaitée. Le criblage virtuel *in silico* nécessite des informations sur les propriétés physico-chimiques et/ou géométriques des composés actifs et sur la structure 3D de la cible. Selon la disponibilité ou non de ces informations, différentes méthodes de criblage virtuel peuvent être utilisées. Il s'agit notamment :

- Des méthodes basées sur les ligands (*Ligand-Based Drug Design*). Elles utilisent les ligands connus comme guides pour définir les propriétés responsables de leur affinité.

- Des méthodes basées sur la structure (*Structure-Based Drug Design*). Elles sont utilisées lorsque les données sur la structure 3D de la cible biologique sont disponibles. Elles permettent d'évaluer le potentiel d'interaction entre les composés criblés et le site d'interaction de la cible (**Ben et Lachache, 2021**).

Au sein de ces deux grandes familles de méthodes, différentes approches ont été développées (figures 37).



QSAR : quantitative structure activity-relation ; *RD* : receptor dependent

Figure 37 : Classification de l'approche *in silico* (Ben et Lachache, 2021)

I.8.2. Méthode *structure-based*

Elle est considérée comme une méthode expérimentale. Elle étudie la liaison ligand-cible biomoléculaire. Cette méthode repose essentiellement sur la disponibilité de la structure 3D de la cible biomoléculaire qui est obtenue par des méthodes expérimentales telles que la cristallographie par rayons X et la spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire dans des bases de données (Exemple *PDB = Protein Data Bank*). Par contre, pour toutes les structures non déterminées, des méthodes de prédiction de la structure 3D par homologie de séquence peuvent être mises en œuvre. Ces méthodes de prédiction sont basées sur la structure expérimentale d'une protéine proche (même classe voire même famille). Comme leur nom l'indique, cette méthode utilise la structure de la cible. Pour cela, plusieurs approches peuvent être employées: les approches pharmacophoriques, la méthode QSAR (RD-QSAR), le design de *novo* et le *docking* moléculaire (**Dekkiche et Benaïche, 2018**).

I.8.3. Amarrage moléculaire

L'amarrage moléculaire ou *molecular docking* est l'une des principales approches utilisées dans la conception des médicaments. Elle permet en général de prédire les modes et les interactions probables entre des ligands et les acides aminés constituant une cible. Ceci en fonction des différentes simulations de conformation et de complémentarité avec les caractéristiques trouvées dans la poche de liaison (**Cheng et al., 2012**). Sur la base d'un ensemble d'algorithmes, les logiciels recherchent et génèrent un ensemble de conformations/orientations (poses) putatives dans les poches de liaison de la cible.

I.8.3.1. Principe du *docking* ou de l'amarrage moléculaire

Une simulation par *docking* s'accomplit par le biais d'algorithmes fonctionnant en deux étapes essentielles (figure 38) :

- La première étape dite du *docking* permet au ligand d'adopter plusieurs conformations et plusieurs positions au niveau du site actif de la protéine afin de retenir celle la plus favorable (échantillonnage) ;
- La deuxième étape dite du *scoring* consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine pour donner un score aux poses obtenues lors de la phase de *docking*. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées (**Cheng et al., 2012**).



Figure 38 : Principe général du *docking* (Cheng et al., 2012)

L'échantillonnage des ligands est l'élément le plus fondamental du *docking* protéine-ligand (figure 39). L'échantillonnage des ligands est le domaine le plus développé dans le cadre du *docking* protéine-ligand. Il existe trois types d'algorithmes d'échantillonnage de ligands : la correspondance de forme, la recherche systématique et les algorithmes stochastiques (**Huang et Zou, 2010**).

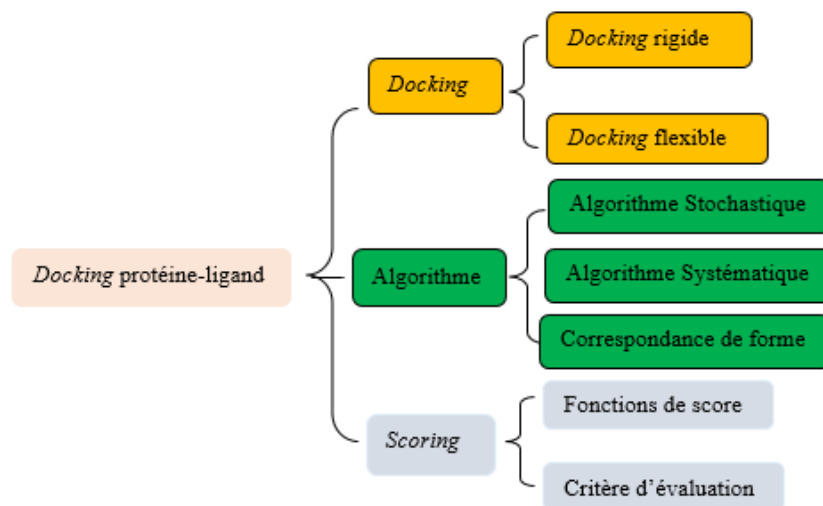


Figure 39 : Eléments caractéristiques du *docking* protéine-ligand

I.8.3.2. Types de *docking* ou d'amarrage moléculaire

Ils peuvent être classés en fonction de la flexibilité du ligand et de la protéine : *docking* rigide, *docking* semi-flexible et le *docking* flexible (Yang *et al.*, 2022) :

- ***Docking rigide*** : Il utilise un modèle de type clé-serrure ou deux molécules sont considérées comme des entités rigides et seules les rotations et translations du ligand sont prises en compte pour la recherche de la pose optimale de positionnement du ligand dans le site actif de la cible ;
- ***Docking semi-flexibles*** : ici le ligand, ou une partie du ligand est flexible alors que la géométrie de la protéine reste rigide ;
- ***Docking flexible*** : traduit un modèle d'ajustement induit où le ligand et certains acides aminés de la poche du récepteur sont flexibles. Permettant d'explorer toutes les conformations adoptées par ceux-ci lors de la fixation au niveau du site de liaison. Ce type de *docking* est beaucoup plus coûteux en temps de calcul mais est plus réaliste.

La figure 40 présente les mécanismes de *docking* rigide et flexible.

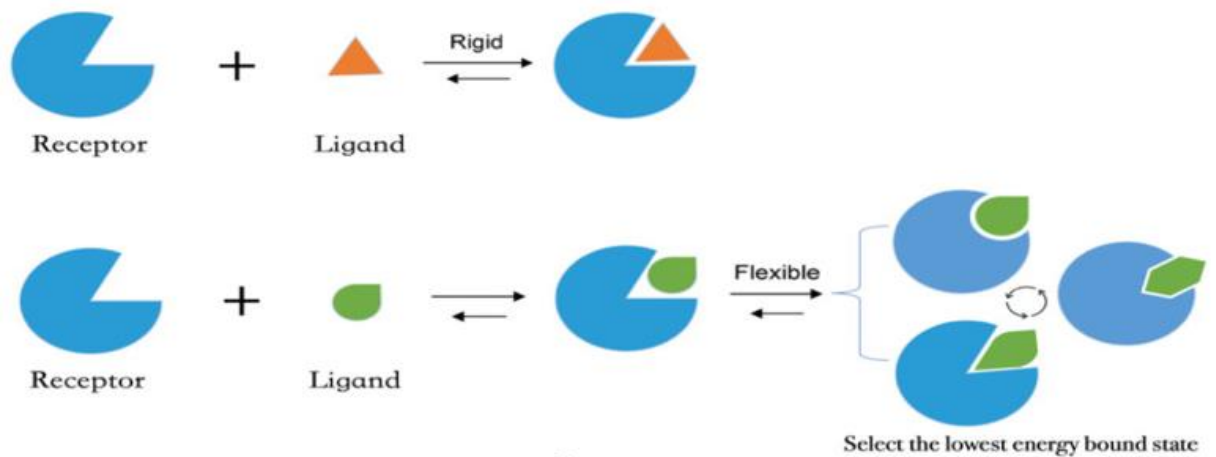


Figure 40 : Modèle d'amarrage rigide et flexible (Yang *et al.*, 2022)

En général au cours du *docking* (figure 41) :

- ✓ Les algorithmes de calcul génèrent aléatoirement un grand nombre d'orientations possibles pour trouver « la meilleure façon d'insérer » la molécule dans une protéine (au niveau du récepteur ou du site actif) ;
- ✓ Le programme prend en compte tous les degrés de liberté de la molécule (translation et rotation) ;
- ✓ L'énergie est calculée pour chaque possibilité. Elle prend ainsi en compte toutes les interactions ligand-récepteur (liaisons de Van der Waals, liaisons Hydrogène, hydrophobie...) ;

Un « score » est obtenu. Ce score qui est l'enthalpie libre de liaison permet d'estimer la meilleure interaction ligand-récepteur/protéine.

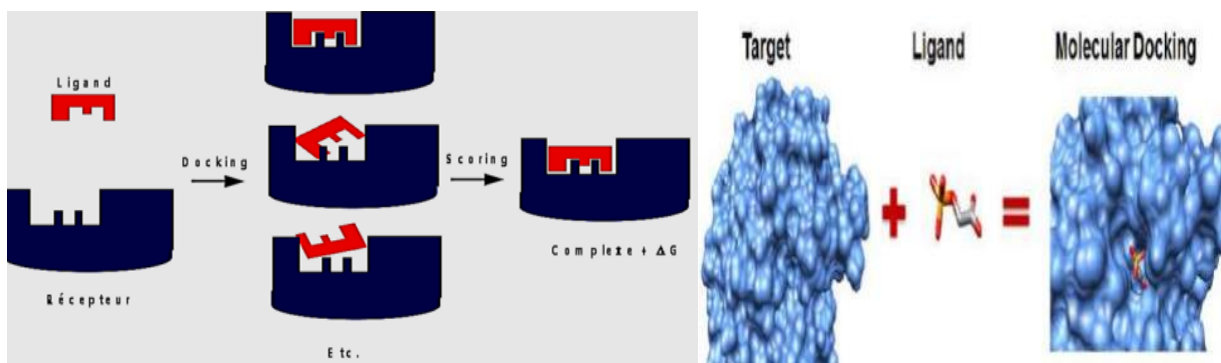


Figure 41 : Méthode de *docking* moléculaire (Yang *et al.*, 2022)

I.8.3.3. Algorithme du *docking* ligand-protéine

C'est l'élément essentiel permettant d'obtenir un bon compromis entre les meilleures poses et le temps de calcul nécessaire pour générer les mouvements de rotation et de translation systématiques de toutes les liaisons rotatives possibles du ligand dans un site de liaison putatif et prédéfini.

✚ Algorithme de recherche systématique

Il prend en compte tous les degrés de liberté d'une molécule en explorant toutes les liaisons rotatives possibles. Ainsi, en fonction du degré de flexibilité de la molécule, l'objectif de l'algorithme de recherche systématique est de placer rapidement le ligand dans le site de liaison de la cible avec une bonne complémentarité de forme (**Kitchen *et al.*, 2004**). La recherche exhaustive, la fragmentation et l'ensemble conformationnel sont les trois types de méthodes de recherche systématique existantes. La méthode de recherche exhaustive est la plus simple, car l'amarrage de ligands flexibles y est effectué en faisant tourner systématiquement toutes les liaisons rotatives possibles du ligand en un intervalle donné. Malgré l'exhaustivité de son échantillonnage pour les conformations de ligands, le nombre de combinaisons peut être énorme avec l'augmentation des liaisons rotatives. Par conséquent, pour rendre le processus d'amarrage pratique, des contraintes géométriques/chimiques sont normalement appliquées à la sélection initiale des poses de ligands, et les conformations de ligands filtrées sont ensuite soumises à des procédures de raffinement/optimisation plus précises. Dans la méthode de fragmentation, le ligand est d'abord divisé en différentes parties/fragments rigides. Ensuite, la conformation de liaison du ligand est développée de manière incrémentielle en plaçant un fragment à la fois dans le site de liaison ou en amarrant tous les fragments dans le site de liaison et en les liants de manière covalente.

✚ Algorithme de recherche stochastique ou aléatoire

Cette algorithme prend en compte les mouvements de translation, rotations et torsions lesquels sont réalisés, acceptés ou rejetés selon des fonctions probabilistes donc les plus connues sont : les méthodes de Monte Carlo, les algorithmes génétiques, et les méthodes de recherche Tabu (**Sousa *et al.*, 2006**).

➤ Méthodes Monte Carlo

Elles consistent à chercher les différentes poses des ligands en explorant de manière séquentielle les mouvements de translation, rotations et torsions. Ainsi après chaque changement, la nouvelle conformation est retenue si elle présente une énergie plus basse que la

conformation précédente (Sousa *et al.*, 2006). Dans cette méthode, la probabilité d'accepter un changement aléatoire est calculée en utilisant la fonction de probabilité de Boltzmann dont la formule est présentée comme suit :

$$P \sim \exp \left[\frac{-(E_1 - E_0)}{k_B T} \right]$$

Probabilité P d'acceptation d'une nouvelle conformation (avec E_1 : énergie de la nouvelle conformation, E_0 : énergie de l'ancienne conformation, k : constante de Boltzmann, T : température de simulation)

➤ Algorithmes génétiques

Ils miment les principes de l'évolution naturelle telle que décrite par la théorie de l'évolution de Darwin. Pour cela, une fonction de score appelée fonction de survie permet de déterminer dans la population initiale les meilleures conformations qui constituent les chromosomes « parents ». Par application de mutation ou de recombinaison aux chromosomes, des changements respectivement ponctuels ou par échange de groupes de variables sont appliqués et de nouvelles conformations « enfants » sont obtenues (Figure 42). La fonction de survie permet de sélectionner les meilleures d'entre elles qui constituent une nouvelle population « parents » à laquelle sera appliqué les opérateurs génétiques, jusqu'à l'obtention d'une population « enfants » satisfaisant la fonction de survie choisie (Sousa *et al.*, 2006).

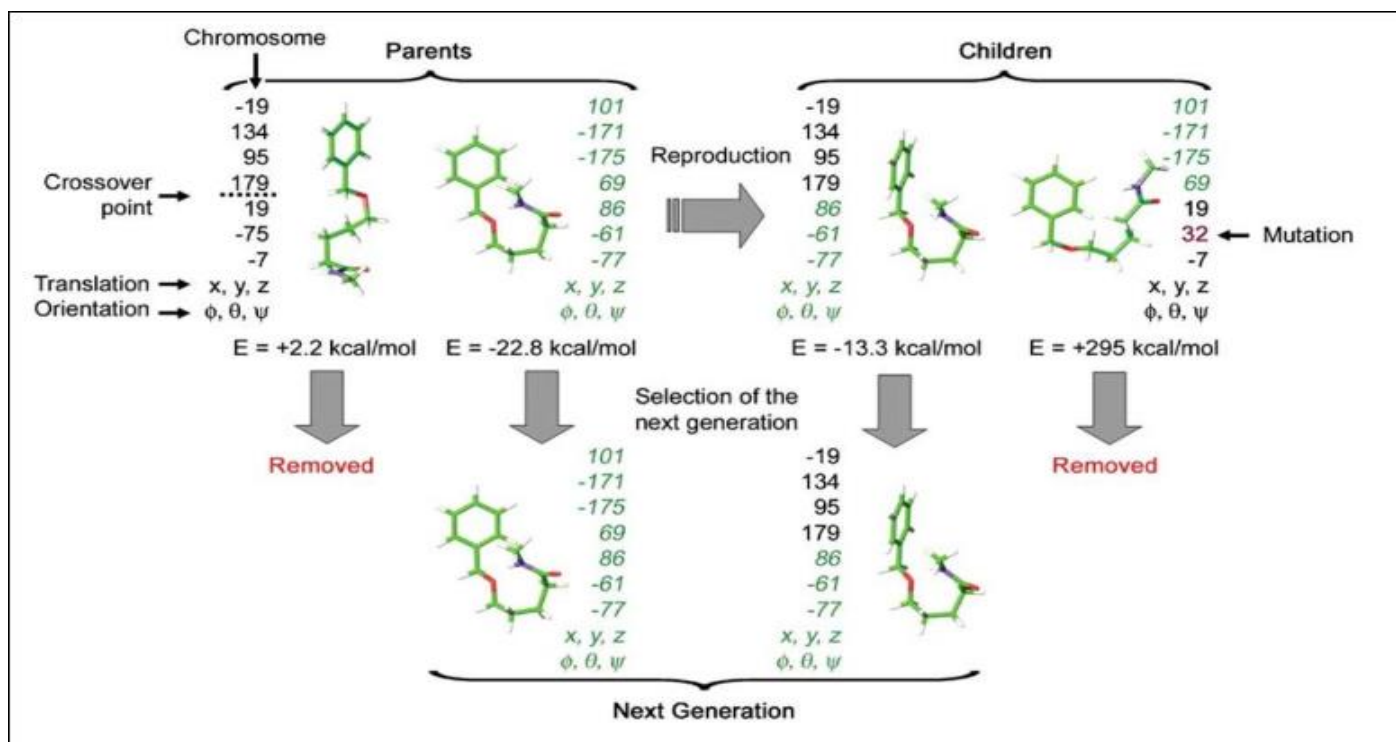


Figure 42 : Principe de docking par algorithme génétique (Sousa *et al.*, 2006)

➤ Algorithmes de recherche Tabu

Elles reposent sur la détermination préalable d'une pose du ligand dans le site de liaison de la cible où différentes conformations sont générées grâce à des mutations aléatoires. Les différentes poses sont ensuite organisées dans une liste dite « liste tabu » dans lesquels les conformations sont scorées et ordonnées selon une fonction d'énergie. Les conformations d'énergie plus basse qui ne sont pas encore contenues dans la liste tabu sont ajoutées à cette liste. Celles qui sont très similaires à la liste ne sont intégrées dans la liste que si et seulement si elles présentent une énergie plus basse. Enfin, les autres conformations ne répondant pas à ces critères sont rejetées (Sousa *et al.*, 2006).

✚ Algorithme de recherche déterministe ou de simulation

L'algorithme de recherche déterministe est divisé en deux grandes classes : les méthodes de dynamique moléculaire et les méthodes de minimisation d'énergie.

➤ Dynamique moléculaire

Elle repose sur de nombreux principes de chimie quantique et de physique. Il s'agit notamment de l'équation de mouvement du système atomique de Newton, et du calcul des positions atomiques à chaque intervalle de temps en fonction de la force. L'inconvénient principal ici est le temps alloué au calcul.

➤ Minimisations d'énergies

Elles permettent de déterminer si des minimums d'énergie locaux peuvent être atteints. Ainsi, elles ne sont pas utilisées seules mais plutôt en complément d'autres méthodes de recherche.

I.8.3.4. Fonction de notation ou *scoring*

Les fonctions de score (figure 43) ont pour but d'estimer mathématiquement l'affinité de liaison entre la protéine (récepteur) et chacune des poses générées lors du *docking*. Elle est aussi important que les algorithmes (Yang *et al.*, 2022). En effet, même si les conformations sont correctement prédites, il est primordial de pouvoir différencier les poses correctes des poses incorrectes. Le rôle principal des fonctions de score est d'évaluer et de classer les poses pour identifier le «vrai» mode de liaison des composés et les ligands les plus prometteurs. Quatre principales catégories de fonction de score en fonction de leur dérivation existent : les fonctions de notation basée sur le champ de force, les fonctions empiriques, les fonctions basées sur la connaissance et les fonctions de notation physique (Ferreira *et al.*, 2015).

➤ **Fonctions de notation basées sur les champs de force**

Elles évaluent l'énergie de liaison en calculant la somme des interactions électrostatiques et van der Waals. Les fonctions de notation basée sur les champs de force ont également le problème de la lenteur des calculs. La distance de coupure est utilisée pour traiter les interactions non liées (Ferreira *et al.*, 2015).

➤ **Fonctions de notation empirique**

Elles décomposent l'énergie de liaison en plusieurs composantes énergétiques, telles que la liaison hydrogène, l'interaction ionique, l'effet hydrophobe et l'entropie de liaison. Chaque composante est multipliée par un coefficient, puis additionnée pour donner un score final. Les coefficients sont obtenus à partir d'une analyse de régression ajustée à un ensemble d'essais de complexes ligand-protéine ayant des affinités de liaison connues (Ferreira *et al.*, 2015).

➤ **Fonctions de notations basées sur la connaissance**

Elles sont directement dérivées des informations structurales des complexes protéine-ligand déterminés expérimentalement. Le principe des fonctions de notation basé sur la connaissance est le potentiel de la force moyenne, qui est défini par la relation inverse de Boltzmann (Yang *et al.*, 2022).

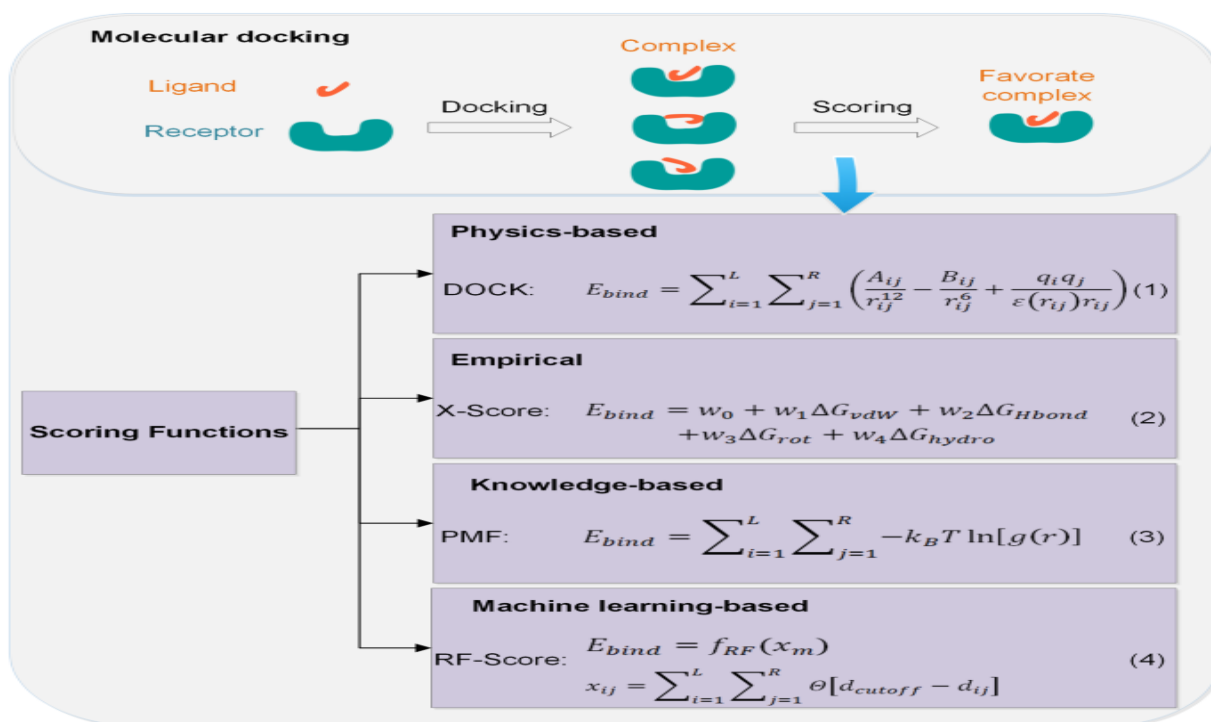


Figure 43 : Différentes catégories de scores utilisés en amarrage moléculaire (Yang *et al.*, 2022)

I.8.3.5. Programmes de *docking* ou amarrage moléculaire

Il existe de nombreux programmes d'amarrage moléculaire (tableau I) comportant des algorithmes de recherche et des fonctions de score variées.

Tableau I : Quelques programmes d'amarrage moléculaire (Mouchlis *et al.*, 2021)

Programme	Traitement du ligand	Recherche conformationnelle	Algorithme de recherche	Fonction de score
AutoDock 4	Flexible	Stochastique	Génétique	Empirique
Dock	Flexible	Systématique	Fragmentation/reconstruction	Basée sur les champs de force
FlexX	Flexible	Systématique	Fragmentation/reconstruction	Basée sur les connaissances
FRED	Rigide	Systématique	Recherche exhaustive	Basée sur les connaissances
GLIDE	Flexible	Stochastique	Monte Carlo	Empirique
GOLD	Flexible	Stochastique	Génétique	Basée sur les champs de force
ICM	Flexible	Stochastique	Monte Carlo	Basée sur les champs de force
Surflex-Doc	Flexible	Systématique	Hammerhead Modifié	Empirique
Surflex-Doc	Flexible	Stochastique	Tabu	Empirique

FlexX : Future Leaders Exchange; *GLIDE* : Grid Based Ligand Docking with Energetics; *GOLD* : Genetic Optimization for Ligand Docking.

I.9. Généralités sur les composés bioactifs

Dans les pays à faible et à moyen revenus, les populations ont recours aux plantes en première ligne pour la prévention et/ou le traitement de diverses maladies. En Afrique, près de 80 % de la population utilise les plantes pour leur besoin de santé (OMS, 2017). Les produits naturels tels que les tisanes, les décoctés et les infusettes issus de ces plantes constituent des alternatives plus sûres et plus efficaces, avec moins d'effets indésirables dans la prise en charge des maladies (Achilonu et Umesiobi, 2015). L'efficacité de ces plantes est due à l'omniprésence de composés bioactifs. Ces composés regroupent : les polyphénols, les alcaloïdes et les fibres alimentaires pour la plupart.

I.9.1. Polyphénols

I.9.1.1. Définition et classification

Plus de 10 000 composés phénoliques ou polyphénols ont été identifiés dans diverses plantes (Li *et al.*, 2014). Ces composés phénoliques contiennent dans leur structure plusieurs groupes hydroxyles sur des cycles aromatiques. La classification la plus courante implique la subdivision des polyphénols en deux principaux groupes : les flavonoïdes (anthocyanines, flavanols, flavanones, flavonols, flavonones et isoflavones) et les non-flavonoïdes (acides phénoliques, stilbènes, lignanes) (Durazzo *et al.*, 2019). Les principaux acides phénoliques sont les acides benzoïques (acides gallique, p-hydroxybenzoïque, vanillique et syringique) et les acides cinnamiques (acides caféique, férulique et sinapique) (Singla *et al.*, 2019). Comme stilbène, il y'a le resvératrol et le secoisolariciresinol comme lignane (Li *et al.*, 2014 ; Singla *et al.*, 2019). La figure 44 présente la classification de polyphénols et leurs structures chimiques.

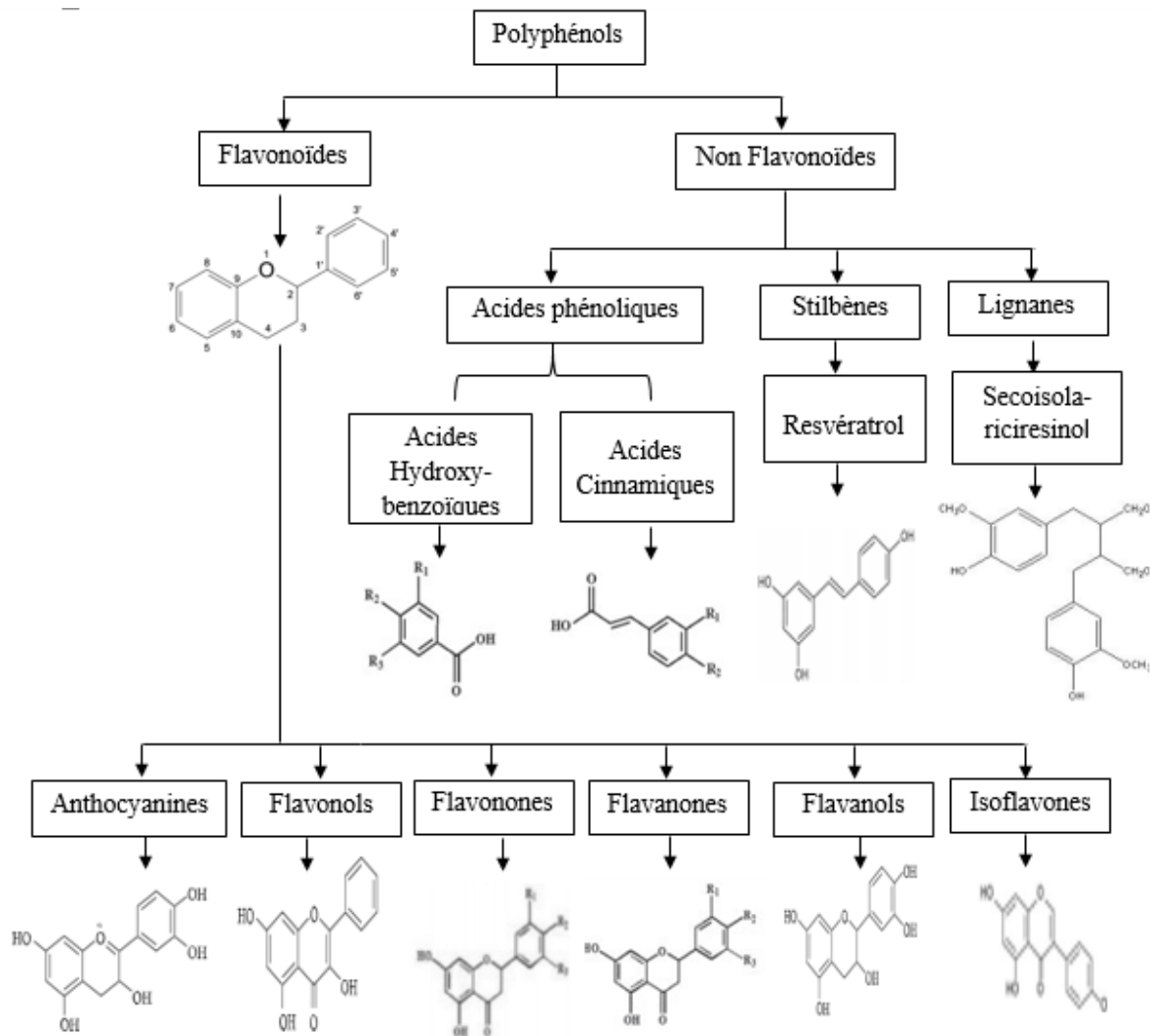


Figure 44 : Classification et structures chimiques des polyphénols (Li *et al.*, 2014 ; Durazzo *et al.*, 2019 ; Singla *et al.*, 2019)

I.9.1.2. Bioactivités des polyphénols

Les polyphénols naturels ont montré de nombreuses activités biologiques et des avantages pour la santé notamment dans la prévention et le traitement des maladies.

🌈 **Activité antioxydante**

Les composés phénoliques ont été largement étudiés, grâce à leur capacité à piéger les radicaux libres, inhiber l'oxydation des lipides, réduire la formation d'hydroperoxydes. Les polyphénols empêchent les dommages biologiques (altérations de l'ADN, peroxydation lipidique, etc...) médiés par les prooxydants (radicaux libres tels que le DPPH et le NO, métaux tels que le fer, cuivre) (Roy *et al.*, 2010 ; Li *et al.*, 2014). Les polyphénols notamment les flavonoïdes ont également la capacité à booster l'activité des enzymes (SOD, Catalase, glutathion peroxydase...) et des composés antioxydants (glutathion...). Certains travaux ont

montré le potentiel des flavonoïdes à augmenter la capacité antioxydante totale plasmatique (**Torabian et al., 2009**). La quercétine, l'acide vanilique, l'acide rosmarinique, l'acide férulique, l'acide caféique, l'acide chlorogénique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide p-coumarique, la catéchine (épicatéchine – 3 gallate, épigallocatechine), révérastrols, les flavonoïdes (anthocyanine, flavonols, flavanols...) étant les principaux polyphénols responsables de ces activités antioxydantes.

Activité antiathérogénique

Le potentiel des polyphénols à prévenir ou traiter l'athérosclérose, facteur de risque des MCV et leurs complications est associé à divers mécanismes.

➤ **Capacité à prévenir ou traiter les dyslipidémies : activité hypolipémiant et/ou antihyperlipémiant**

Les flavonoïdes (flavan 3-ols, flavonols, antocyanidines et isoflavones) ont amélioré les dyslipidémies par diminution du CT, LDL-c, TG et augmentation du HDL-c (**Umar et Utari, 2019**). Ils ont également un effet bénéfique sur les acides gras libres (AGL), les phospholipides (PL). Les travaux de Srinivasan et Pari, (**2013**) ont montré la capacité des flavonoïdes à rétablir l'activité de certaines enzymes impliquées dans le métabolisme des lipides [la 3-hydroxy 3-méthylglutaryl coenzyme A (HMGCoA) réductase, la lipoprotéine lipase (LPL) et la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT)].

Chez les modèles animaux d'obésité, la quercétine a entraîné une réduction du poids corporel, du tissu adipeux viscéral et sous-cutané, et de l'accumulation de graisse dans le foie. De plus, elle a également empêché l'expression du récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes (PPAR γ) et des protéines de liaison aux éléments de régulation des stérols (SREBP). La réduction de l'expression du PPAR γ indique une réduction de l'adipogenèse (**Kobori et al., 2011**).

➤ **Capacité cardioprotectrice**

Elle est non seulement liée au potentiel des polyphénols à inhiber la peroxydation lipidique mais également à leur capacité à résoudre le problème de dysfonctionnement endothélial. En effet, en stimulant l'expression de la eNOS synthase et la production du NO (molécule vasodilatatrice), le resvératrol et la quercétine contribuent aux effets protecteurs cardiovasculaires (**Rocha et al., 2019**). La quercétine entraîne également la réduction de la production de l'anion superoxyde en inhibant l'activité de la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase (**Sanchez et al., 2006 ; Tong et al., 2015**). De même, la

kaempférol inhibe l'expression de la protéine chimioattractante des monocytes (MCP-1), de la molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM-1), de la molécule d'adhésion vasculaire-1 (VCAM-1) (Kong *et al.*, 2013).

➤ **Activité anti-inflammatoire**

Les polyphénols ont montré des effets anti-inflammatoires *in vivo* et *in vitro* (Chan *et al.*, 2007). La quercétine inhibe l'expression de la protéine C-réactive humaine (CRP) (Kleemann *et al.*, 2011). L'acide hydrocaféique a diminué l'expression des cytokines pro-inflammatoires : IL-1 β , IL-8 et TNF- α , et la prostaglandine E-2 (Reddy *et al.*, 2011). Les stilbènes tel que le resvératrol bloquent les cytokines pro-inflammatoires, suppriment l'expression des gènes inflammatoires et activent les facteurs de transcription qui s'opposent à l'inflammation chronique (Li *et al.*, 2014).

✚ **Activité antidiabétique**

Il a été prouvé que les polyphénols possèdent des activités antidiabétiques. Ils sont impliqués dans l'inhibition de la digestion et de l'absorption des glucides, l'inhibition de la production hépatique du glucose, la stimulation de la sécrétion de l'insuline, et l'utilisation cellulaire du glucose. Les flavonoïdes ont montré la capacité à améliorer la sensibilité à l'insuline en stimulant l'activation de certaines incrétines associées à une stimulation de la sécrétion d'insuline (Xiao et Hogger, 2015).

✚ **Activité anticancéreuse**

De nombreux polyphénols, tels que les proanthocyanidines, les flavonoïdes, le resvératrol, les tanins, l'épigallocatechine-3-gallate, l'acide gallique et l'anthocyanine, ont montré des effets protecteurs contre certains cancers (Li *et al.*, 2014). Il s'agit du cancer de la bouche, l'estomac, le duodénum, le côlon, le foie, le poumon, la glande mammaire ou la peau.

I.9.2. Alcaloïdes

Ces composés sont doués de diverses activités parmi lesquels les propriétés antidiabétiques et neuroprotectrices. Certains alcaloïdes tels que la latecomine, la tecomanine, la tecostanine, et la dioscorétine ont montré la capacité hypoglycémiant chez des animaux hyperglycémiques (Gbekley *et al.*, 2017). Cet effet hypoglycémiant des alcaloïdes resulterait de leur capacité à stimuler la production des incrétines et/ou à mimer l'action de l'insuline (Gaikwad *et al.*, 2014).

D'autres à l'instar de la fangchinoline et la pronuciférine agissent comme agent neuroprotecteur en prévenant l'apoptose dans les maladies neurodégénératives (**Bao et al., 2019 ; Bayazeid et al., 2020**).

I.9.3. Fibres alimentaires

Les fibres alimentaires sont des glucides résistants à la digestion. Cependant, certaines peuvent l'être dans le gros intestin sous l'action bactérienne. Elles sont de deux types : insolubles (cellulose, hémicellulose, lignines) et solubles dans l'eau (pectines, gommés, mucilages, inuline) (**Mogos et al., 2017 ; Barber et al., 2020**). Elles jouent un important rôle dans le contrôle du poids, la prise en charge du diabète, des maladies cardiovasculaires, l'obésité, l'hypertension et certains cancers (carcinome colorectal ou cancer du colon). Plusieurs mécanismes sont associés aux propriétés biologiques des fibres. Il s'agit notamment de la :

- Amélioration de la sensibilité à l'insuline (principalement les fibres insolubles) ;
- Réduction de la glycémie à travers la diminution de l'activité de l'amylase pancréatique ;
- Réduction du poids corporel et de l'adiposité abdominale.
- Réduction de l'inflammation chronique ;
- Amélioration du profil lipidique par : diminution des taux plasmatiques de triglycérides, cholestérol total et LDL-C ;
- Amélioration de la motilité intestinale ;
- Amélioration du fonctionnement de la microflore intestinale (**Ötles et Ozgoz, 2014 ; Mogos et al., 2017, Barber et al., 2020**).

I.10. Etude de toxicité

Le potentiel ou l'efficacité pharmacologique d'une substance n'est pas toujours suffisante pour justifier son utilisation thérapeutique. Ainsi, tous composés pouvant être utilisés chez l'homme comme agent thérapeutique doit être confirmé comme étant non toxiques (**Zainal et al., 2020**). La toxicité est donc, la capacité d'une substance à produire des effets nocifs à un organisme vivant (**Ayoub, 2018**). Ces effets peuvent affecter la cellule, un groupe de cellules, un organe ou le corps entier et entraîner la mort. A cet effet, Il devient important de définir le rapport bénéfice risque dans l'indication thérapeutique de chaque substance (**Subramanion et al., 2011**). La variabilité de la toxicité d'une substance, est fonction de la dose, la fréquence, la durée d'exposition, et le temps d'apparition des signes cliniques. De nombreuses méthodes traditionnelles pour évaluer les effets toxiques d'agents thérapeutiques ou des substances

toxiques potentielles qui pourraient menacer la vie des hommes et des animaux, existent. Il s'agit notamment de la toxicité aiguë, la toxicité subaiguë ou subchronique et la toxicité à long terme ou chronique (**Saganuwan, 2017**). Plusieurs auteurs ont défini des méthodes d'étude de la toxicité mais celles selon les lignes directrices européennes de l'OCDE restent les plus exploitées. Le rongeur préféré dans ces études est le rat, mais d'autres espèces de rongeurs peuvent être aussi utilisées.

I.10.1. Etude de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë désigne les effets néfastes survenant après l'administration par voie orale d'une dose unique d'une substance, ou de plusieurs doses administrées en l'espace de 24 heures (**OCDE, 2008a**). Elle est effectuée pour déterminer l'effet de toxicité à court terme d'un toxique (1 à 2 semaines) (**Saganuwan, 2017**). Trois lignes directrices de l'OCDE ont été définies pour réaliser ce type d'étude dont le but principal est de déterminer la DL₅₀. Il s'agit des lignes directrices européenne de l'OCDE codes 420 ; 423 et 425.

Selon la ligne directrice européenne de l'OCDE codes 425 ou OCDE, 2008, l'essai ou l'étude se réalise normalement sur des jeunes rats adultes femelles. Bien que la différence de sensibilité entre les deux sexes soit généralement faible, les femelles sont généralement un peu plus sensibles dans le cas où l'on constate une différence. Toutefois, si des propriétés toxicologiques ou toxicocinétiques d'analogues de structure indiquent que les mâles sont probablement plus sensibles, les femelles sont remplacées par les mâles. L'essai peut se réaliser de deux manières : l'essai principal et l'essai limite. Ce dernier est réalisé séquentiellement sur un maximum de cinq rats. La dose expérimentale de la substance à appliquer est 2000 mg/kg. Mais, une dose de 5 000 mg/kg est envisageable lors de l'essai si la substance est hydrosoluble. La mortalité est l'élément majeur renseignant sur la nocivité d'une substance dans ce type d'étude. Ainsi :

- Si au moins trois animaux meurent : arrêt de l'essai limite et conduire plutôt l'essai principal. On conclut que la DL₅₀ est inférieure à la dose testé ;
- Si au moins trois animaux survivent : arrêt de l'essai et on conclut que la DL₅₀ est supérieur à la dose testé.

I.10.2. Etude de toxicité subaiguë

La toxicité orale subaiguë ou subchronique désigne les effets néfastes survenant après l'administration par voie orale d'une substance à dose répétée. Elle est généralement réalisée pour connaître l'effet relatif à moyen terme d'un toxique (4 semaines à 6 mois) (**Saganuwan,**

2017). Selon la ligne directrice européenne de l'OCDE code 407, la détermination de la toxicité orale à doses répétées peut s'effectuer après avoir obtenu des informations préliminaires sur la toxicité à partir d'essai de la toxicité aiguë (OCDE, 2008b). D'après cette ligne directrice, les données obtenues permettent de caractériser la toxicité de la substance d'essai, d'avoir une indication sur la relation dose réponse et de déterminer la concentration sans effet nocif observé. La substance à tester est alors administrée quotidiennement aux animaux des deux sexes pendant 28 jours, à différentes doses. Toutefois, l'essai limite peut être pratiqué à une seule dose d'au moins 1000 mg/kg de poids corporel/jour. Un groupe d'animaux dit satellite destinés à des observations ultérieures d'éventuels effets toxiques différés ou persistants, ou de mettre en évidence le rétablissement des animaux traités est envisageable. Ces animaux ne doivent recevoir aucun traitement pendant au moins 14 jours. En dehors de prise de poids et la consommation alimentaire qui est effectuée hebdomadairement, des analyses hématologiques, biochimiques et histopathologiques, doivent être réalisées après sacrifice des animaux.

I.11. Généralités sur les plantes d'études

I.11.1. *Trichoscypha acuminata*

C'est une espèce de la famille des *Anarcadiaceae*, de 20 m de haut et 40 cm de diamètre. *Trichoscypha acuminata* est originaire d'Afrique Equatoriale et subéquatoriale qui s'étend du Nigeria au Cameroun. Au Cameroun, cette plante est présente dans la forêt de basse et moyenne altitude au sud du plateau de l'Adamaoua, et absente dans les savanes péri forestières et les forêts montagnardes. Au Cameroun, ce fruit possède des noms locaux variant d'une tribu à l'autre. C'est ainsi qu'il est appelé *Amvout* en *Ewondo* et en *Boulou* ou *Ngoyo* en *Pygmée Baka*. De couleur rouge, les fruits de *Trichoscypha acuminata* sont riches en vitamines et sont consommés crus par les populations (Eyog *et al.*, 2006).



Figure 45 : Fruits de *T. acuminata* (Eyog *et al.*, 2006)

I.11.2. *Vitex doniana* Sweet

Appartenant à la famille des *Verbenaceae*, *Vitex doniana* Sweet (*V. doniana*) est communément appelé prune noire ou *Ori-nla* et *galbiki* en Foulfouldé (James *et al.*, 2010). C'est un arbre qui avoisine 20 m de hauteur et 80 cm de diamètre. De couleur verdâtre à l'immatunité et noire à maturité, ses fruits ont des pulpes violettes foncées renfermant un noyau dur. Originaire d'Afrique tropicale, *V. doniana* Sweet est une plante répandue dans toute l'Afrique intertropicale, de la Sierra Leone au Gabon et en abondance dans le Sud du Nigéria (James *et al.*, 2010). Au Cameroun, elle existe en zone forestière et nécessite un fort régime de pluies pour sa croissance. Ces fruits consommés par les populations sont riches en protéines, lipides, fibres, vitamines (A, B1, B2, B6 et C), minéraux (Cu, Fe, K, Mg, P, Na, Ca) et sont utilisés traditionnellement dans la management de la diarrhée et de la dysenterie (James *et al.*, 2010 ; Vunchi *et al.*, 2011).



Figure 46 : Fruits de *V. doniana* Sweet (James *et al.*, 2010)

I.11.3. *Detarium microcarpum*

Le genre *Detarium* est originaire d'Afrique et comprend trois principales espèces: *Detarium senegalense* (*D. senegalense*) J.F. Gmelin, *Detarium macrocarpum* (*D. macrocarpum*) Harms et *Detarium microcarpum* (*D. microcarpum*) Guill & Perr (Burlando *et al.*, 2019). *D. microcarpum* est une plante ligneuse alimentaire de la famille des *Fabaceae*, sous famille des *Caesalpiniaceae* (Félix *et al.*, 2010 ; Sani *et al.*, 2014). C'est un arbuste à fût droit, cime irrégulière dont la hauteur varie entre 5 et 10 m. Appelé communément petit détar/détar sucré (en français), *sweet detar/sweet dattock* (en anglais), *D. microcarpum* est une plante qui s'étend dans toute l'Afrique Subsaharienne semi-aride, du Sénégal au Soudan (Kouyaté et Lamien, 2011). Elle est principalement présente au : Cameroun, République Centrafricaine, Tchad, Gabon, Bénin, Gambie, Ghana, Guinée, Guinée Bissau, Côte d'Ivoire, Mali, Niger,

Nigeria, Sénégal, Togo et Soudan (**Kouyaté et Lamien, 2011**). L'appellation locale ou vernaculaire varie non seulement d'un pays à l'autre mais aussi en fonction des groupes socioculturels présent au sein du même pays (tableau II).

Tableau II : Noms vernaculaires de *Detarium microcarpum* (Kouyaté et Lamien, 2011)

Pays	Groupes socioculturel	Noms vernaculaires
Cameroun	Bassa	<i>limuk</i>
	Ewondo	<i>amuk</i>
Nigéria	Haoussa	<i>taura, taoura</i>
	Igbo	<i>ofo</i>
Tchad	Laka	<i>kutu</i>
	Peul	<i>dôli, konkéli, kukehy, pompodogo</i>

D'après **Thiombiana et al. (2010)** et **Kouyaté (2005)**, ses fleurs de couleurs blanches sont regroupées en panicules axillaires de 15–25 cm de long et 6-10 mm de large. Les feuilles longues de 15 cm et de forme arrondie à nervation pennée alternent 3-4 paires de folioles ovales ou elliptiques. Drupe d'environ 2,5- 5 cm de diamètre de forme ovoïde ou globuleuse et aplatie, le fruit de *D. microcarpum* est charnue constitué de pulpes farineuses, fibreuses et sucrées. La graine est plate et de couleur brune. Les écorces sont brunes/rougeâtres à maturité et vert-jaune sur les jeunes pousses et le tronc peut atteindre 30 cm de diamètres.

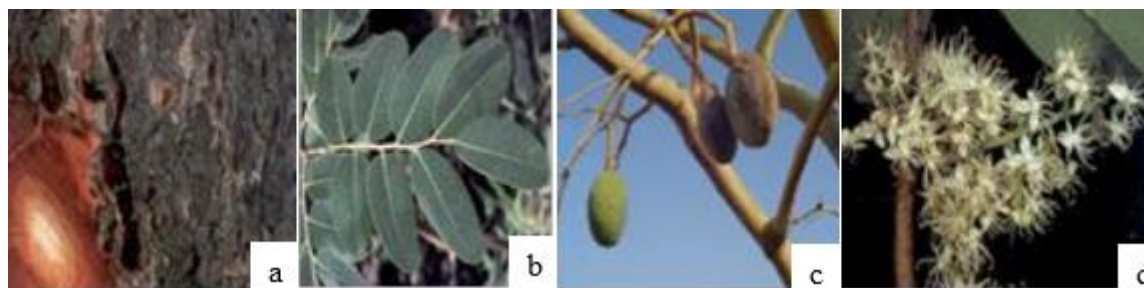


Figure 47 : *Detarium microcarpum* : écorce (a), feuilles (b), fruits (c) et fleurs (d) (Hama et al., 2022)

- **Composition nutritionnelle**

En général, la composition d'une plante varie en fonction de la partie. Ainsi les travaux de **Felix et al. 2010**, **Oibiokpa et al. (2014)** ont révélé que les fruits de *D. microcarpum* sont constitués de macronutriments (hydrates de carbones, lipides et protéines) et les micronutriments (Calcium, phosphore, potassium, sodium, magnésium, manganèse, fer, zinc, soufre, vitamines (K₁, E, C, B₂), provitamine A (beta carotène), acide folique et cuivre). Les

graines contiennent les protéines et les fibres (**Oibiokpa et al., 2014**). Dans les écorces, on retrouve également les hydrates de carbone (**Sani et al., 2014**). Outre ces nutriments, les feuilles, fruits et écorces de *D. microcarpum* sont constitués d'antinutritionnels. Il s'agit des phytates, du cyanure d'hydrogène qui empêchent la biodisponibilité du fer et calcium, et inhibent la chaîne respiratoire au niveau de la cytochrome oxydase (**Oibiokpa et al., 2014**).

- **Utilisation traditionnelles**

L'utilisation de *D. microcarpum* est multiple. Certaines parties de cette plante (pulpe de fruit, graines, feuilles et fleurs) servent d'aliment pour les hommes (**Kouyaté et Lamien, 2011**). Chez les animaux, les feuilles sont utilisées comme fourrage pour les ruminants. Son bois sert comme combustible, matériel de construction et à la fabrication des objets d'art. **Kouyaté et Lamien (2011)** et **Agbo et al. (2017)** ont rapporté l'importance du petit détar en médecine vétérinaire (feuilles et racines) et traditionnelle (racines, écorces, graines, fruits et feuilles) (diarrhée, syphilis, dysenterie, méningite, rhumatisme, tuberculose et démangeaisons cutanées). Certaines études ont établi que les graines de cette plante possèdent des propriétés antimicrobiennes (**Friday et al., 2018**). D'autres propriétés biologiques lui ont été attribuées et varient en fonction de la partie et/ou la forme de préparation (tableau III).

Tableau III : Utilisations pharmacologiques de *Detarium microcarpum*

Partie de la plante	Pays	Forme de préparation	Utilisation/traitement /activités	Références
Pulpe du fruit	Burkina Faso		Infection de la peau	Sani <i>et al.</i> , 2014
	/	Macération EHE, décoction	Antimicrobienne	Félix <i>et al.</i> , 2010
	Bénin	/	Méningite	Agbo <i>et al.</i> , 2017
Feuilles	Bénin	Décoction	Convulsion, constipation, diarrhée	Sani <i>et al.</i> , 2014 ; Agbo <i>et al.</i> , 2017
	Mali	/		
	Bénin	/	Syphilis, dysenterie, méningite, hémorroïdes, fontanelle	
Racines	Bénin	/	Constipation, diarrhée	Sani <i>et al.</i> , 2014 ;
	Mali	/		
	Bénin	/	Démangeaison cutanée, tuberculose, méningite, hémorroïdes, fontanelle, Convulsion, candidose	Agbo <i>et al.</i> , 2017
	Tchad	/	Antimoustique	Kouyaté, 2005
Ecorces	Mali	/	Hypertension.	Sani <i>et al.</i> , 2014
	Bénin	/	Méningite, hémorroïdes, fontanelle, Convulsion, candidose, rhumatisme, diarrhée	Agbo <i>et al.</i> , 2017
Fleurs	Bénin	/	Spirituel (chasse les mauvais esprits)	
Ecorces	Cameroun	Décoction	Anémie	Bobé, 2019
		EHE	Thyphoïde	Mbock <i>et al.</i> , 2023

EHE : extrait hydroéthanolique

Ces diverses utilisations traditionnelles de *D. microcarpum* résultent de la présence de composés phytochimiques variés. Parmi ces composés, on retrouve les polyphénols (les flavonoïdes, tannins), anthraquinones, alcaloïdes, saponines, terpènes, stéroïdes et les stérols dans les pulpes de fruit et les écorces (Sani *et al.*, 2014 ; Abdu *et al.*, 2018).

- **Propriétés biologiques**

Les fibres présentent dans le fruit et graines de *D. microcarpum*, protègent contre le cancer du côlon, réduisent le risque de maladies cardiovasculaires et le diabète (Oibiokpa *et al.*, 2014). La plante a également montré des effets bénéfiques sur la normalisation du profil lipidique, la diminution de l'insulinorésistance et l'absorption du glucose. L'ensemble d'autres activités biologiques de *D. microcarpum* sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Activités biologiques de *Detarium microcarpum*

Activités	Partie de la plante	Type d'extrait	Références	
Antidiabétique	Racines	Méthanolique	Okolo <i>et al.</i> , 2012	
Antioxydantes (pouvoirs antiradicalire et réducteur)	Fleurs		Méthanolique	Hama <i>et al.</i> , 2019
	Feuilles			
	Ecorces du tronc et racines			
Fruits				
Antiinflammatoire				
Analgésique	Ecorces du tronc		Yaro <i>et al.</i> , 2017	
Anticancéreuse (Cellules cancéreuses du pancréas et du col de l'utérus)	Feuilles	Extrait aqueux (Nanoparticules d'argent synthétisées à partir de cet extrait)	Ismail <i>et al.</i> , 2020	

CHAPITRE II: MATÉRIEL ET MÉTHODES

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. Organisation générale de l'étude

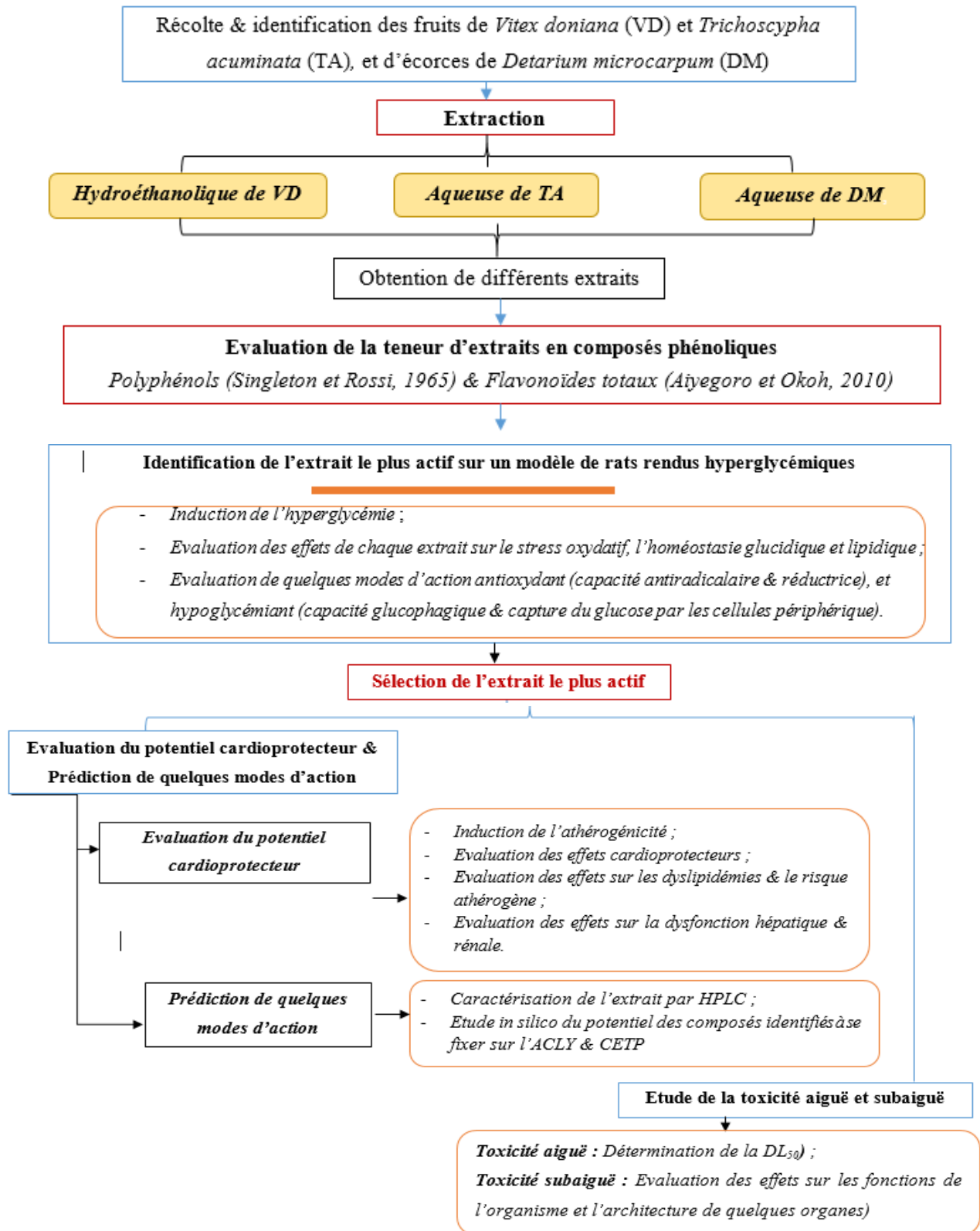


Figure 48 : Organigramme du travail

II.2. Matériel

II.2.1. Matériel végétal

Les écorces de *Detarium microcarpum* (*D. microcarpum*) ont été récoltées en octobre 2015 à Kousseri, région de l'Extrême-Nord, Cameroun. Tandis que les fruits de *Vitex doniana* Sweet (*V. doniana*) et de *Trichoscypha acuminata* (*T. acuminata*) ont été récoltés respectivement au mois de septembre et juillet 2015 à Ngoumou, région du Centre, Cameroun. Les fruits ont été triés puis lavés et les écorces nettoyées. Par la suite, les écorces de *D. microcarpum* et les fruits de *V. doniana* ont été séchés à l'abri de la lumière jusqu'à obtention d'un poids constant. Le séchage a été suivi du broyage à l'aide d'un broyeur à hélice (*Philips*) jusqu'à obtention de poudre.

II.2.2. Matériel animal

Il était constitué des rats mâles et femelles de souches *Wistar* de poids compris entre 150 – 340 g. Ces rats ont été acclimatés pendant 7 jours à l'animalerie du Laboratoire de Nutrition et de Biochimie Nutritionnelle de l'Université de Yaoundé 1. Les animaux avaient un accès libre à l'eau et l'aliment.

II.2.3. Matériel informatique

La bioinformatique ou méthode computationnelle par l'approche *in silico* par *docking* moléculaire a été effectué dans ce travail.

Microordinateur

Pour la réalisation du docking, un micro-ordinateur de marque *DELL* ayant un processeur Intel(R) core™ i3-5005 CPU et une mémoire vive de 4,00Go, possédant un système d'exploitation *Windows* 10.0 professionnels (64 bits) a été utilisé.

Réseau Web

Il a été indispensable pour le téléchargement des structures de protéines et celui des ligands à partir des banques de données (*protéine data base*).

II.3. Extraction

II.3.1. Préparation de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum*

Cinq cent grammes (500 g) de poudre ont été dissous dans 4 L d'eau distillée, pour un rapport de 1/8 (p/v). Le mélange a été ensuite homogénéisé puis porté à ébullition pendant 45 minutes. Le décocté issu de cette ébullition a été refroidi puis filtré à l'aide du papier *Whatman*

N°1 (Whatman Int. Ltd., Maidstone, U.K). Le filtrat obtenu a été évaporé à l'étuve à 60°C pendant 72 heures. L'extrait obtenu a été conservé à 25°C au laboratoire.

II.3.2. Préparation de l'extrait hydroéthanolique des fruits de *Vitex doniana Sweet*

Deux cent trente-six grammes (236 g) de poudre ont été dissous dans un mélange eau-éthanol 95 % (rapport 1/1 ; v/v). Le rapport d'extraction était de 1/8 (p/v). Le mélange a été homogénéisé et macéré à température ambiante puis filtré à l'aide du papier *Whatman* N°1 (Whatman Int. Ltd., Maidstone, U.K). Le filtrat obtenu a été évaporé à l'étuve à 60°C jusqu'à obtention d'un poids constant. L'extrait obtenu a été conservé à 25°C au laboratoire.

II.3.3. Préparation de l'extrait aqueux des fruits de *Trichoscypha acuminata*

Après lavage, les fruits de *Trichoscypha acuminata* ont été pressés à l'aide de la mousseline. Le liquide obtenu a été évaporé à l'étuve à 60°C jusqu'à obtention d'une pâte de poids constant. La pâte a été considérée comme l'extrait et conservé au laboratoire à 25°C.

Les rendements après extraction sont présentés dans le tableau V.

Tableau V : Rendements d'extraction

Matériel végétal	<i>Detarium microcarpum</i>	<i>Vitex doniana</i>	<i>Trichoscypha acuminata</i>
Nature de l'extrait	EAE	EHEF	EAF
Rendements (%)	37,30	36,32	16,48

EAE : Extrait aqueux d'écorces ; EHEF : Extrait hydroéthanolique de fruits ; EAF : Extrait aqueux de fruits

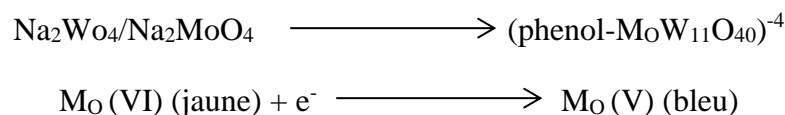
II.4. Evaluation de la teneur d'extraits en composés phénoliques

II.4.2. Evaluation de la teneur en polyphénols totaux

La méthode utilisée était celle décrite par **Singleton et Rossi (1965)**.

❖ Principe

En présence des composés phénoliques et en milieu alcalin, le chromogène phosphotungstique-phosphomolybdique ou réactif de folin (mélange entre l'acide phosphotungstique et phosphomolybdique) est réduit pour former un complexe coloré (bleu) qui absorbe à 750 nm. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon.



❖ Mode opératoire

Trente microlitres (30 µL) d'extrait (1 mg/mL) ont été ajoutés à un millilitre (1mL) de réactif de Folin 10 % (0,2 N). Après homogénéisation, le mélange a été incubé pendant 30 minutes à température ambiante. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 750 nm contre le blanc constitué d'eau distillée et du réactif de Folin. La curcumine a été utilisée comme standard. Tous les essais ont été réalisés en *triplicat*.

❖ Détermination et expression des résultats

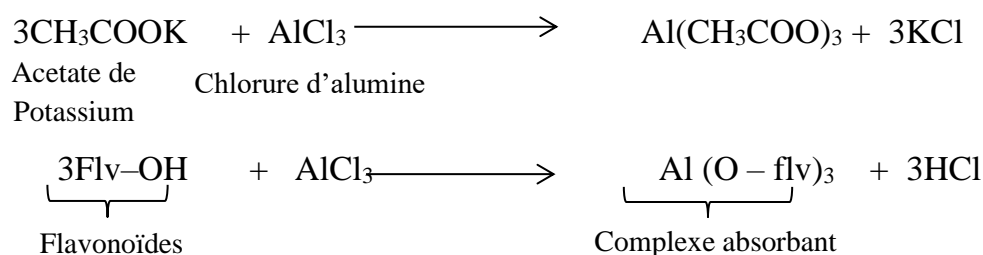
La concentration en polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation ($y = 0,0014x + 0,01$) issue de la gamme d'étalonnage (Annexe 4) établie avec la curcumine (0 – 1000 mg/mL). Les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalent de curcumine par gramme de matière sèche.

II.4.2. Evaluation de la teneur en flavonoïdes totaux

La méthode d'**Aiyegoro et Okoh (2010)** a été utilisée.

❖ Principe

Les flavonoïdes réagissent en présence du trichlorure d'alumine (AlCl₃) et d'acétate de potassium (CH₃COOK) pour former une solution de couleur rosâtre qui absorbe à 420 nm. L'intensité de la coloration étant proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans le milieu réactionnel.



❖ Mode opératoire

A un millilitre (1 mL) d'échantillon (1 mg/mL) ou de standard préparé dans l'éthanol (95%) ont été ajoutés un millilitre (1 mL) de chlorure d'aluminium 10% (AlCl₃ 10 %), un millilitre (1 mL) d'acétate de potassium (1 M) et 5,6 mL d'H₂O distillée. Le mélange obtenu a été homogénéisé puis incubé à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance a par

la suite été mesurée à 420 nm contre le blanc (l'extrait a été remplacé par de l'eau distillée). Tous les essais ont été réalisés en *triplicat*.

❖ **Détermination et expression des résultats**

La concentration des flavonoïdes a été déduite à partir d'une courbe d'étalonnage (Annexe 6) établie avec la catéchine (0 – 40 µg/mL). Les résultats ont été exprimés en µg d'équivalent de catéchine par gramme de matière sèche.

Une fois la teneur des extraits en composés phénoliques effectuée, le travail a été effectué en 3 parties :

- ❖ **Partie I** : Identification de l'extrait le plus actif sur la base des effets sur quelques marqueurs du stress oxydant, et de l'homéostasie glucidique et lipidique ;
- ❖ **Partie II** : Détermination l'effet cardioprotecteur sur des rats soumis à une diète athérogène et quelques modes d'action de l'extrait le plus actif ;
- ❖ **Partie III** : Détermination la dose létale 50 et les effets sur les paramètres hématologiques, l'architecture des organes vitaux, et les fonctions rénales et hépatique de l'extrait le plus actif.

II.5. Partie I : Identification de l'extrait le plus actif sur la base des effets sur quelques marqueurs du stress oxydant, l'homéostasie glucidique et lipidique

Les effets des extraits sur quelques marqueurs du stress oxydant, et l'homéostasie glucidique et lipidique ont été réalisés chez les rats hyperglycémiques. Par la suite, les analyses *in vitro* des propriétés antioxydantes et hypoglycémiantes ont permis d'identifier quelques modes d'action de ces extraits. Cette première partie du travail avait pour intérêt d'identifier le meilleur extrait de plantes.

II.5.1. Evaluation des effets des extraits chez les rats hyperglycémiques

II.5.1.1. Induction de l'hyperglycémie

○ **Préparation de la solution de streptozotocine (STZ)**

La streptozotocine (Sigma Chemical Co) a été dissoute dans du tampon citrate (100 mM ; pH 4,5), supplémenté avec le NaCl (150 mM).

○ **Mode opératoire**

L'hyperglycémie a été induite chez les rats (200 – 230 g) après un jeun de 6 heures par injection intrapéritonéale de la solution de STZ à la dose unique de 45 mg/kg de PC. Le volume d'injection était de 2 mL/Kg. Une (1) heure après injection de la STZ, les rats ont reçu une

solution de glucose à 5 % (p/v) pour prévenir l'hypoglycémie et l'aliment d'élevage (voir annexe 12) deux (2) heures après (Chandra *et al.*, 2007, protocole modifié).

- **Dépistage**

Il a été effectué 24 heures après injection de la STZ. La glycémie a été mesurée après 12 heures de jeûn à l'aide d'un glucomètre de type *One Touch*. Les rats ayant une glycémie supérieure à 200 mg/dL et présentant les symptômes de polyurie, polydipsie ont été retenus (Chang, 2001).

II.5.1.2. Plan expérimental

L'expérimentation a été réalisée durant 2 semaines (soit 14 jours). Vingt cinq (25) rats hyperglycémiques ont été utilisés. Ils étaient répartis en cinq (05) groupes de 5 rats comme suit :

- **Un groupe témoin positif (TP) :** cinq (05) rats hyperglycémiques non traités qui recevaient de l'eau distillée ;
- **Trois groupes essais :**
 - ❖ **Groupe essai 1 :** cinq (05) rats hyperglycémiques traités avec l'extrait hydroéthanolique des fruits de *Vitex doniana* à la dose de 400 mg/kg de PC ;
 - ❖ **Groupe essai 2 :** cinq (05) rats hyperglycémiques traités avec l'extrait aqueux des fruits de *Trichoscypha acuminata* à la dose de 400 mg/kg de PC ;
 - ❖ **Groupe essai 3 :** cinq (05) rats hyperglycémiques traités avec l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* à la dose de 400 mg/kg de PC ;
- **Un groupe référence :** cinq (05) rats hyperglycémiques traités avec 400 mg/kg de PC de sulfonylurée (hypoglycémiant).

II.5.1.3. Sacrifice des animaux

Les animaux ont été sacrifiés après un jeun de 12 heures par décapitation cervicale sous légère anesthésie à l'éther. , Le sang a été collecté dans des tubes EDTA pour la préparation du plasma et des hémolysats. Les organes (cœur et foie) ont été prélevés immédiatement pesés et utilisés pour la préparation des homogénats à 10 %.

II.5.1.4. Préparation du plasma et hémolysât d'érythrocytes

- **Préparation du plasma**

Le sang collecté dans des tubes EDTA a été laissé à 25°C pendant 4 heures puis centrifugé pendant 10 minutes à 900 g. Le surnageant obtenu (plasma) a été collecté, aliquoté

puis conservé dans des tubes eppendorf à -20°C pour la réalisation ultérieure des dosages biochimiques.

➤ Préparation de l'hémolysât d'érythrocytes

Après centrifugation du sang total, un volume de 100 µL de culot a été introduit dans des tubes coniques et lavé. Le lavage a été réalisé par addition de 2 mL de la solution physiologique (NaCl 0,9 %) au culot. L'ensemble obtenu a été centrifugé à 25°C à 900 g pendant 10 minutes. Le processus a été répété 2 fois. L'hémolyse des érythrocytes a été effectuée par ajout de 2 mL d'eau distillée. La solution homogène obtenue (hémolysât) a été récupéré, aliquoté et conservé à -20°C, pour une utilisation ultérieure.

II.5.1.5. Préparation des homogénats de foie et cœur

Ces organes après leur prélèvement ont été lavés dans la solution physiologique, essorés, pesés et triturés séparément à l'aide d'un mortier jusqu'à obtention d'un broyat. Ce dernier a été homogénéisé à 10 % (p/v) avec le NaCl (0,9 %) puis centrifugé à 900 g pendant 10 minutes. Le surnageant (homogénât) obtenu a été prélevé et aliquoté dans les tubes eppendorfs puis conservé à -20°C pour utilisation ultérieure.

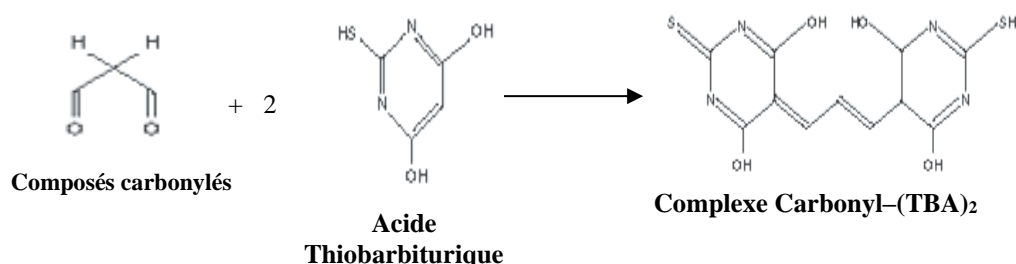
II.5.1.6. Evaluation des effets des extraits sur quelques marqueurs du stress oxydatif chez les rats hyperglycémiques

➤ Evaluation des effets des extraits sur le statut pro-oxydant

Les effets sur le statut pro-oxydant ont été évalués à travers le dosage plasmatique et tissulaire des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (**Yagi, 1976**).

• Principe

Les composés carbonylés à l'instard de malondialdéhyde (MDA) réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose, absorbant à 532 nm. L'intensité de la coloration étant proportionnelle à la quantité de composés présent dans le milieu réactionnel.



- **Préparation du réactif TBA**

Trois cent soixante-quinze (375) mg d'acide thiobarbiturique [TBA] (0,375 %, p/v) ; 20 g d'acide trichloroacétique [TCA] (20 %, p/v) ; 0,01 g du butylhydroxytoluène [BHT] (0,01 %, p/v) ; 25 mL de HCl 1 N et 50 mL d'eau distillée ont été introduits dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40 °C dans un bain-marie jusqu'à solubilisation complète du TBA, puis transférée dans une fiole jaugée de 100 mL. Le volume a été ensuite complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

- **Mode opératoire**

Dans des tubes à essai en verre à vis, ont été introduits 100 µL d'échantillon et 400 µL de réactif TBA. Ces tubes ont été fermés hermétiquement et le mélange a été chauffé au bain-marie à 100°C pendant 15 minutes. Après refroidissement dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction, les tubes ont été centrifugés à 1500g pendant 5 minutes. L'absorbance du surnageant a été lue à 532 nm contre le blanc le blanc constitué de l'eau distillée.

- **Expression des résultats**

La concentration de SRATB a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

$$\text{Concentration de SRATB en } \mu\text{M} = \frac{\text{Absorbance essai}}{\epsilon \times L} \times 10^6$$

- **Evaluation des effets des extraits sur le statut antioxydant enzymatique**

Les effets sur le statut antioxydant ont été évalués à travers l'évaluation de l'activité de la catalase. Le protocole de **Sinha (1972)** a été utilisé.

- **Principe**

En présence de la catalase (EC 1.11.1.6), l'eau oxygénée ou peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est réduite en eau (H_2O) et oxygène (O_2).



- **Mode opératoire**

Deux cent cinquante (250) µL de tampon phosphate (0,01 M ; pH 7.0) ont été ajoutés à 100 µL d'échantillon ou d'eau distillée (blanc), ensuite 200 µL de peroxyde d'hydrogène (0,2 M) ont été ajoutés. La réaction a été arrêtée après 30 et 60 secondes par addition de 1 mL du

mélange dichromate (5 %)/acide acétique (1/3, v/v). Tous les tubes ont été incubés au bain marie bouillant (100°C) pendant 10 minutes puis, refroidis et l'absorbance est lue à 620 nm contre le blanc.

○ **Expression des résultats**

L'activité de la catalase a été exprimée en mM de peroxyde d'hydrogène consommés/minute, déterminée à base d'une courbe d'étalonnage réalisée avec le peroxyde d'hydrogène.

II.5.1.7. Evaluation des effets des extraits sur l'homéostasie lipidique chez les rats hyperglycémiques

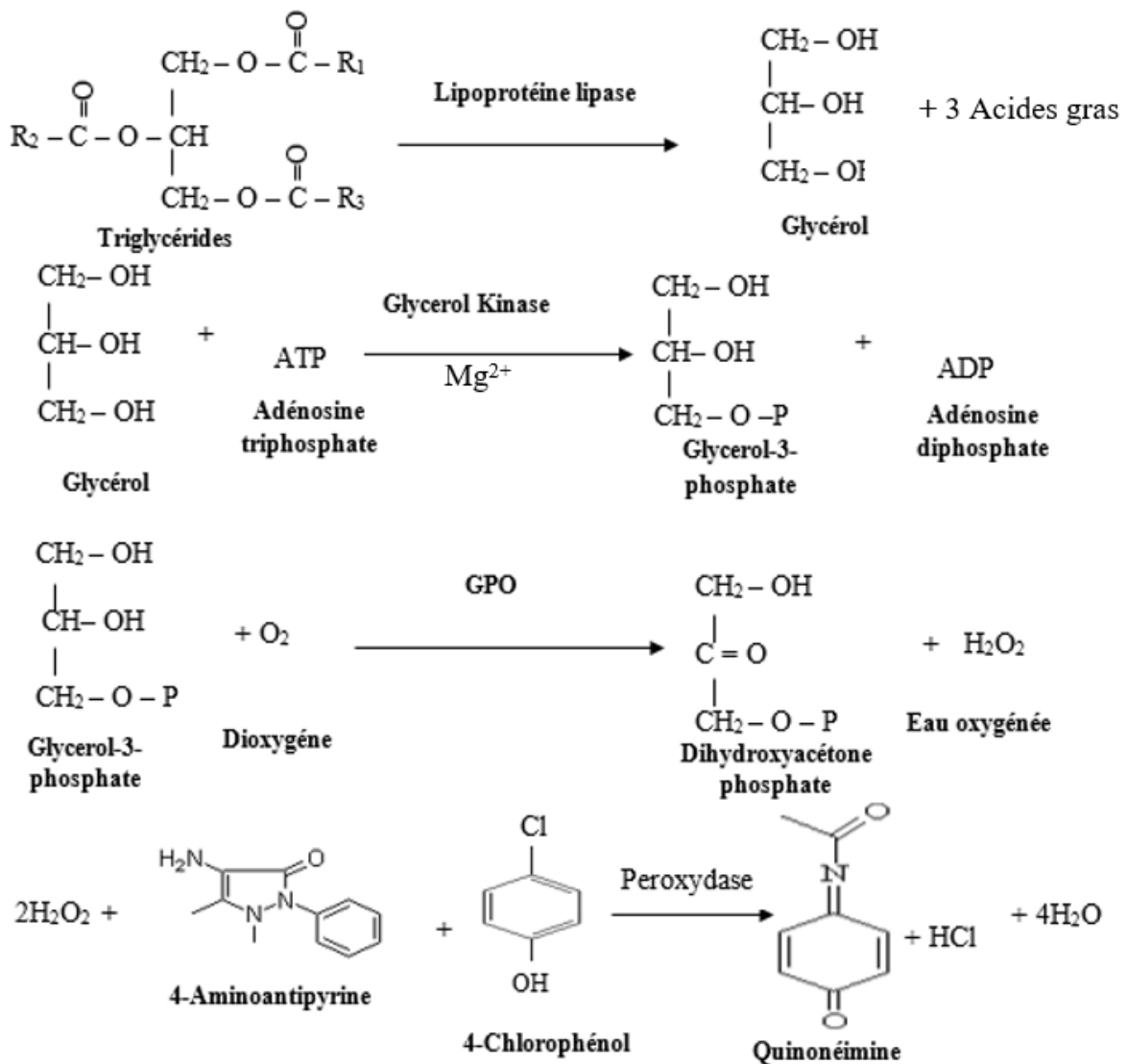
L'effet des extraits sur l'homéostasie lipidique a été évalué à travers les marqueurs du profil lipidique.

➤ **Evaluation des effets sur les marqueurs du profil lipidique**

- **Evaluation de l'effet sur le taux de triglycérides plasmatique (Fossati et Principe, 1982)**

○ **Principe**

Le glycérol produit par hydrolyse enzymatique des triglycérides par la lipoprotéine lipase (EC 3.1.1.34) est phosphorylé par l'ATP pour produire la glycérol-3-phosphate et l'ADP à travers une réaction catalysée par la glycérol-kinase (GK) (EC 2.7.1.30). La glycérol-3-phosphate oxydase (GPO) (EC 1.1.3.21) catalyse l'oxydation du glycérol -3-phosphate en dihydroxyacétone-3-phosphate et H₂O₂. Le H₂O₂, 4-aminoantipyrine et 4-chlorophénol sous l'action de la peroxydase (POD) (EC 1.11.1.7) entraînent la formation d'un complexe coloré (quinonéimine). L'intensité de la coloration est lue à 505 nm et est proportionnelle à la concentration du glycérol du mélange réactionnel ainsi qu'au taux de triglycérides dans l'échantillon.



- **Mode opératoire** (Les réactifs du kit *chronolab* ont été utilisés)

Dans des tubes contenant 10 μL d'échantillon ou de standard, 1000 μL de réactif y ont été ajoutés. Après mélange et incubation pendant 10 minutes à température ambiante, les absorbances ont été lues à 505 nm contre le blanc. Le blanc était constitué de l'eau distillée et du réactif.

- **Expression des résultats**

La concentration de triglycérides a été déterminée selon la formule ci-dessous.

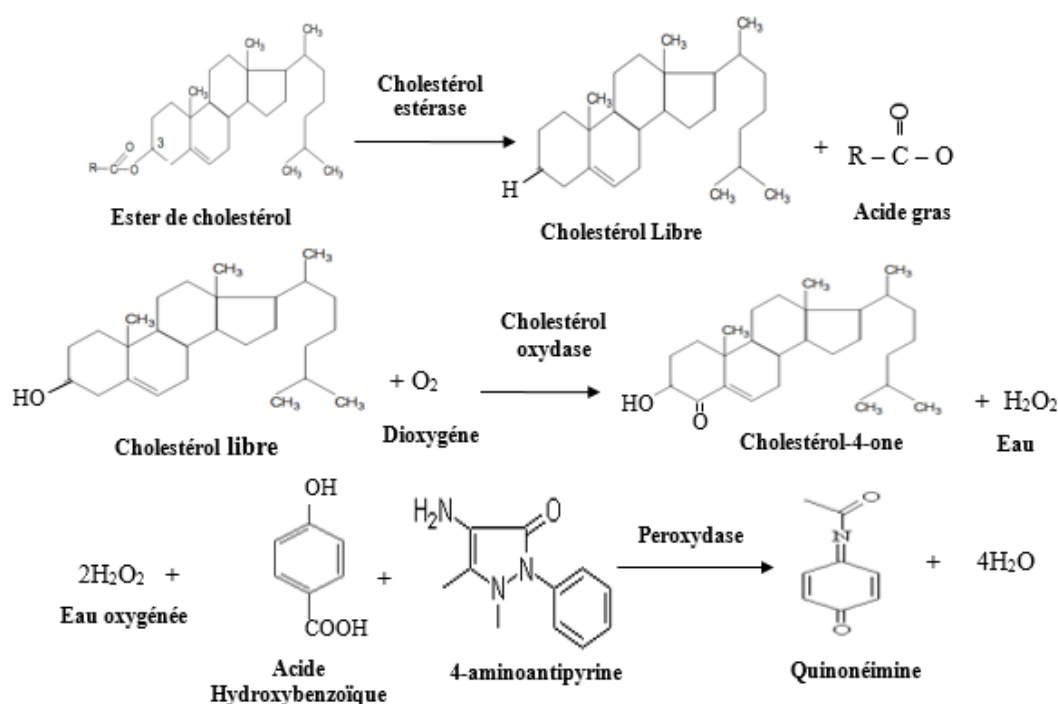
$$[\text{Triglycérides}] \text{ en } \frac{\text{mg}}{\text{dL}} = \frac{\text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance standard}} \times [\text{Etalon}]$$

$$\text{Avec } [\text{Etalon}] = 200 \text{ mg/dL}$$

- **Evaluation de l'effet sur le taux de cholestérol total plasmatique**

- **Principe**

La cholestérol-estérase (EC 3.1.1.13) catalyse l'hydrolyse des esters de cholestérol en cholestérol libre et acides gras. Le cholestérol libre est oxydé en cholestérol-4-one et peroxyde d'hydrogène par la cholestérol-oxydase (EC 1.1.3.6). Le phénol et le 4-aminoantipyrine se combinent avec le peroxyde d'hydrogène en présence de la peroxydase pour donner la quinonéimine de coloration rouge absorbant entre 500-550nm. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol total présent dans l'échantillon (Roeschlau *et al.*, 1974).



- **Mode opératoire** (Les réactifs du kit *chronolab* ont été utilisés)

Dix (10) µL d'échantillon ou de standard ont été introduits dans 1000 µL de réactif. Après homogénéisation et incubation pendant 10 minutes à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon et du standard réactif ont été lues à 505 nm contre le blanc. Le blanc était constitué du réactif et de l'eau distillée.

- **Expression des résultats**

La concentration de cholestérol total était déterminée selon la formule ci-dessous.

$$[\text{Cholestérol total}] \text{ en } \frac{\text{mg}}{\text{dL}} = \frac{\text{Absorbance essai}}{\text{Absorbance étalon}} \times [\text{Etalon}]$$

$$\text{Avec } [\text{Etalon}] = 200 \text{ mg/dL}$$

- **Evaluation de l'effet sur le taux de cholestérol de haute densité (HDL-c) plasmatique (Young, 2001)**

- **Principe**

Les lipoprotéines : chylomicrons, VLDL-c (*very low density cholesterol*) et LDL-c (*low density cholesterol*) sont précipités par l'ajout de l'acide phosphotungstique et du chlorure de magnésium. Après centrifugation, le surnageant clair contient la fraction de HDL-c (*high density cholesterol*) qui est dosée avec le réactif de cholestérol.

- **Mode opératoire** (les réactifs du kit *Chronolab* ont été utilisés)

Dans un tube à essai, 200 µL d'échantillon et 20 µL de réactif (précipitant) ont été successivement introduits. Le mélange laissé au repos pendant 10 minutes à température ambiante a été ensuite centrifugé à 900 g pendant 10 minutes. Dix (10) µL de surnageant obtenu ont été pipetés suivi de l'ajout de 1000 µL de réactif du cholestérol. La solution obtenue a été homogénéisée et incubée pendant 10 minutes à température ambiante. Les tubes étalon et blanc ont été traités pareillement à la seule différence que l'échantillon a été remplacé par la solution étalon et l'eau respectivement. L'absorbance de l'échantillon a été lue à 505 nm contre le blanc. Le blanc était constitué du réactif et de l'eau distillée

- **Expression des résultats**

La concentration de cholestérol HDL (HDL-c) a été évaluée à base de la formule suivante.

$$[\text{HDL} - \text{c}] \text{ en } \frac{\text{mg}}{\text{dL}} = \frac{\text{Absorbance essai}}{\text{Absorbance étalon}} \times [\text{Etalon}]$$

$$\text{Avec } [\text{Etalon}] = 50 \text{ mg/dL}$$

- **Evaluation de l'effet sur le taux de cholestérol LDL-c**

Les concentrations plasmatiques de LDL-c et VLDL-c ont été calculées à partir de la formule de Friedwald *et al.* (1972).

$$\text{LDL-c } \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) = \text{CT} - \left(\text{HDL-c} + \frac{\text{TG}}{5} \right)$$

Avec: CT: cholestérol total; TG: triglycéride; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; VLDL-C: very low density lipoprotein cholesterol

II.5.1.8. Evaluation des effets des extraits sur l'homéostasie glucidique chez les rats hyperglycémiques

Elle a été effectuée à travers la prise des glycémies à jeûn à court (0h et 2 h) et à moyen terme (début, à 7 jours et à 14 jours). Ces glycémies ont été mesurées à l'aide du glucomètre de marque *one touch*.

II.5.2. Evaluation *in vitro* de quelques propriétés antioxydantes et hypoglycémiantes des extraits

II.5.2.1. Evaluation des propriétés antioxydantes des extraits

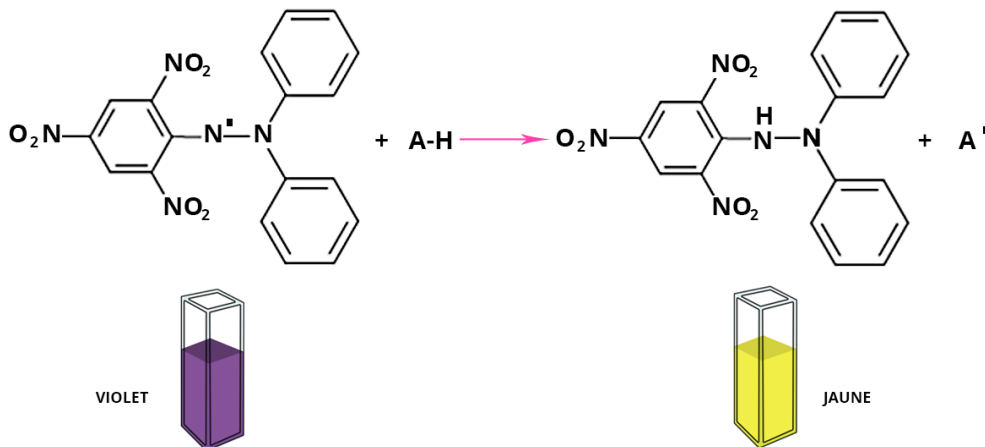
Deux modes d'action antioxydant ont été évalués : le pouvoir antiradicalaire par capture des radicaux libres et le pouvoir réducteur *via* la réduction du molybdène VI en V.

➤ Capacité des extraits à piéger les radicaux libres

Le piégeage du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH) a été réalisé pour évaluer la capacité de l'extrait à piéger les radicaux libres. La méthode de **Sanchez *et al.* (1998)** a été utilisée.

○ Principe

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH) de couleur violette, par transfert d'un hydrogène d'un antioxydant (AH) est réduit en hydrazine non radical (DPPH-H) de couleur jaune.



○ Mode opératoire

Un volume de 1,950 mL de la solution éthanolique du DPPH (0,025 g/L) fraîchement préparée a été ajouté à 50 μ L d'échantillon préparé à différentes concentrations (2,5 ; 5 ; 7,5 et 10 mg/mL). L'absorbance à 515 nm a été mesurée après 30 minutes d'incubation à température

ambiante et à l'obscurité contre le témoin constitué d'eau distillée et de la solution de DPPH. Tous les essais ont été réalisés en *triplicat*. La catéchine a été utilisée comme standard.

- **Expression des résultats**

La formule de **Yen et Duh, (1994)** a été utilisée pour le calcul du pourcentage de piégeage du radical libre.

$$\% \text{ de piégeage } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Absorbance témoin} - \text{Absorbance essai}}{\text{Absorbance témoin}} \times 100$$

La concentration de piégeage 50 (CP₅₀) a été calculée en utilisant la régression logarithmique.

- **Capacité réductrice des extraits**

Le potentiel des extraits à réduire le molybdène VI en molybdène V ou capacité antioxydante totale (CAT) a été effectué en utilisant la méthode décrite par **Prieto *et al.* (1999)**.

- **Principe**

Le molybdène (Mo) VI présent sous forme d'ions molybdate MoO₄²⁻, en présence d'antioxydant est réduit en milieu acide en molybdène V (MoO₂⁺) pour former un complexe vert de phosphate-Mo (V).

- **Préparation du réactif**

Le réactif était constitué du molybdate d'ammonium 0,4 M ; du phosphate de sodium 28 mM et de l'acide sulfurique 4 mM.

- **Mode opératoire** (avec quelques modifications)

Un volume de 200 µL de chaque extrait préparé à concentration variable (1,25 ; 2,5 ; 5 ; 7,5 et 10 mg/mL) a été introduit dans des tubes à essai. Ensuite, 2 mL de réactif ont été ajoutés. Le mélange obtenu a été homogénéisé puis les tubes ont été vissés puis incubé à 95°C pendant 60 minutes. Après incubation suivi du refroidissement, l'absorbance à 695 nm contre un blanc (constitué d'eau distillée et du réactif) a été lue. La vitamine C a été utilisée comme standard et traitée dans les mêmes conditions que l'échantillon. Tous les essais ont été réalisés en *triplicat*.

- **Expression des résultats**

La capacité antioxydante totale (CAT) de l'extrait a été exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique (EAA) par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS) selon la formule suivante :

$$\text{CAT en mg EAA/mL} = \frac{\text{Absorbance essai}}{\text{Absorbance étalon}} \times [\text{Etalon}]$$

$$\text{CAT en mg} \frac{\text{EAA}}{\text{g de MS}} = \frac{\text{CAT en mg/mL}}{\text{Ci en g/mL}} \times \text{facteur de dilution}$$

Avec : valeur étalon (vit C) = 6,25 mg/mL ; MS : matière sèche ; Ci : concentration solution mère.

II.5.2.2. Evaluation des propriétés hypoglycémiantes des extraits

Deux modes antihyperglycémiantes ont été évalués : la capture du glucose par les cellules insulino-dépendantes (absorption tissulaire du glucose) et le pouvoir glucophagique.

➤ Capacité glucophagique des extraits

La capacité glucophagique de l'extrait a été déterminée à travers le test de glycosylation décrit par **Kebieche (2009)**. Ce test permet d'évaluer le potentiel de l'extrait à complexer le glucose libre.

○ Principe

Ce test est basé sur la capacité de l'extrait à complexer le glucose libre, donc à démontrer son pouvoir glucophage. La diminution de la quantité du glucose dans le milieu réactionnel est directement proportionnelle à la diminution de l'intensité de la couleur rose caractéristique du glucose, qui absorbe à 505 nm.

○ Mode opératoire

Cent (100) µL d'une solution glucosée (5 g/L) ont été mélangés avec 100 µL d'extrait à différentes concentrations (5 ; 6,25 ; 7,5 et 10 mg/mL). Le mélange ainsi obtenu a été incubé à 37°C pendant 15 minutes. Le témoin a été constitué par 100 µL d'eau distillée. Ensuite, le glucose a été dosé à l'aide du kit SGM *Italia* selon la méthode de Trinder, (1959) et l'absorbance a été lue à 505nm contre le témoin. Tous les essais ont été réalisés en triplicat.

○ Expression des résultats

Les taux de glucose ont été calculés comme suit :

$$\text{Taux de glucose (\% mg/dL)} = \frac{\text{DO essai}}{\text{DO étalon}} \times [\text{Etalon}]$$

Les pourcentages de capture ont été calculés par la suite comme suit :

$$\text{Réduction (\%)} = \frac{\text{Teneur en glucose (témoin)} - \text{Teneur en glucose (essai)}}{\text{Teneur en glucose(témoin)}} \times 100$$

➤ **Evaluation de l'effet des extraits sur la capture périphérique du glucose par les cellules musculaires**

Il a été évalué à travers la méthode décrite par **Al-Awadi *et al.* (1985)**.

○ **Principe**

Les cellules musculaires absorbent le glucose de façon insulino-dépendante. Cependant, de nombreux composés (insulinosensibilisateurs) ont la capacité de stimuler l'effet de l'insuline ou d'augmenter son efficacité, ce qui augmente l'absorption musculaire du glucose. Cette absorption accrue entraîne une diminution du glucose réactionnel et la diminution de la coloration rose du complexe indicateur du glucose, qui absorbe à 505 nm.

○ **Préparation du tissu musculaire, viabilité et numérotation cellulaire**

✓ **Préparation du tissu musculaire**

Un rat à jeûn a été sacrifié sous anesthésie, et son *psaos* a été prélevé, rincé dans du tampon Krebs. Le tissu musculaire a été découpé en segments de 0,25 g et incubé pendant 5 mn dans 2 mL de tampon Krebs contenant du glucose (11,1 mM).

✓ **Viabilité et numérotation cellulaire**

Le but de cette opération est de dénombrer les cellules vivantes dans 1 g de tissu musculaire. Elle a été réalisée par comptage au microscope optique, à l'aide d'une cellule de Thoma, avec une suspension diluée et colorée par le bleu de trypan (0,2 %). Ce dernier colore les cellules non viables qui se laissent envahir par ce colorant.

○ **Mode opératoire**

Plusieurs aliquotes ont été réalisés : le tissu musculaire incubé dans le tampon Krebs contenant du glucose (11,1 mM) ; le tissu musculaire incubé dans le tampon Krebs contenant du glucose (11,1 mM) plus 100 µL d'insuline (50 mUI) ; le tissu musculaire incubé dans le tampon Krebs contenant du glucose (11,1 mM) plus 100 µL d'insuline (50 mUI) et 1 mL d'extrait (5 ; 7,5 ; 10 mg/mL). Ensuite, le glucose restant a été dosé dans chaque aliquot aux intervalles de temps suivants : T 0 minute (début) ; T 30 minutes et T 60 minutes.

○ Expression des résultats

Les résultats ont été exprimés en pourcentages d'augmentation de la capture du glucose calculés comme suit :

$$\text{Taux augmentation de capture (\%)} = \frac{\text{Taux glucose (témoin)} - \text{Taux glucose (essai)}}{\text{Taux glucose(contrôle)}} \times 100$$

Avec, le Tissu Musculaire considéré comme témoin pour l'Insuline ; et l'Insuline considéré comme contrôle pour les différents extraits.

II.6. Partie II : Détermination de l'effet cardioprotecteur sur des rats soumis à une diète athérogène et quelques modes d'action de l'extrait le plus actif

II.6.1. Evaluation des effets cardioprotecteurs du meilleur extrait chez les rats athérogéniques

II.6.1.1. Induction de l'athérogénicité

L'athérogénicité a été induite par une diète enrichie en sucrose et en graisses (DESG), supplémentée au fructose (10 % p/v). L'induction s'est effectuée chez des rats mâles de poids compris entre 200 – 210 g pendant 12 semaines. Les rats ont été repartis en deux lots :

- **Groupe témoin** : 5 rats + diète normale ;
- **Groupe test** : 20 rats + DESG.

La prise de poids s'est effectuée au début, chaque 2 semaines et au terme de l'expérimentation. La prise alimentaire a été réalisée et a servi pour le calcul de la consommation alimentaire moyenne de chaque rat.

II.6.1.2. Composition et valeur énergétique de la diète athérogénique

La composition et les quantités de DESG et de la diète normale utilisées, sont présentées dans le tableau VI.

Tableau VI : Composition et valeur énergétique des diètes expérimentales (Ble-castillo *et al.*, 2012 avec quelques modifications)

Ingrédients	Quantité		Composition nutritionnelle en macronutriment (g)						Apport énergétique (Kcal)	
			Glucides		Lipides		Protéines		DN	DESG
	DN	DESG	DN	DESG	DN	DESG	DN	DESG		
Lait (g)	10,00	10,00	3,80	3,80	2,70	2,70	2,60	2,60	49,90	49,90
Farine de poisson (g)	10,00	10,00	0,40	0,40	0,70	0,70	1,87	1,87	15,38	15,38
Huile de palme raffinée (g)	10,00	12,50	0,00	0,00	10,00	12,50	0,00	0,00	90,00	112,50
Sucrose (g)	0,00	18,00	0,00	18,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	72,00
Margarine (g)	0,00	12,50	0,00	0,09	0,00	10,13	0,00	0,03	0,00	91,65
Farine de maïs dépulvé (g)	35,00	18,00	24,50	12,60	1,75	0,90	3,50	1,80	127,75	65,70
Farine de blé (g)	20,00	15,00	15,00	11,25	0,40	0,30	2,00	1,50	71,60	53,70
Sel (g)	1,50	1,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Farine Os (g)	2,50	2,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Polyvitamines (g)	1,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Fibre (Cellulose) (g)	1,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Eau (g)	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total (g)	101,00	101,00	43,70	46,14	15,55	27,23	9,97	7,80		
Apport énergétique (Kcal)			174,80	184,56	139,95	245,07	39,88	31,20	354,63	460,83

DN : diète normale ; DESG : diète enrichie en sucrose et en graisse ; kcal : kilocalorie. Les modifications apportées à la composition du régime athérogène ont été la réduction de la proportion de graisses saturées, l'ajout de graisses insaturées et l'augmentation de la quantité de saccharose.

II.6.1.3. Protocole expérimental

Pendant 4 semaines, vingt-cinq (25) rats issus de la phase d'induction (soit 5 du groupe normal et 20 du groupe test) ont été utilisés. Parmi ces rats, cinq (05) avaient un poids compris entre 220-270g. Ils constituaient le groupe témoin négatif. Les vingt (20) autres de poids variant entre 330-340 g ont été répartis en quatre (04) groupes (1 groupe témoin positif, 2 groupes essais et 1 groupe référence). Ces groupes ont été présentés comme suit :

- **Un groupe témoin négatif (sain) (05 rats) :** recevant la diète normale ;
- **Un groupe témoin positif (malade non traité) (05 rats) :** recevant la DESG + la solution de fructose (10 %) ;
- **Deux groupes essais :**
 - ❖ **Groupe essai 1 (05 rats) :** recevant la DESG + la solution de fructose à 10 % (p/v) + 200 mg/kg de PC du meilleur extrait ;
 - ❖ **Groupe essai 2 (05 rats) :** recevant la DESG + la solution de fructose à 10 % (p/v) + 400 mg/kg de PC du meilleur extrait ;
- **Un groupe traité avec le composé de référence (05 rats) :** recevant la DESG + la solution de fructose à 10 % (p/v) + 5 mg/kg de PC d'atorvastatine.

Durant l'expérimentation, le poids corporel des animaux a été évalué au début, chaque semaine et à la fin (28 semaines). La prise alimentaire a également été effectuée. L'extrait et le composé de référence étaient administrés quotidiennement par gavage.

II.5.1.4. Préparation du plasma, et des homogénats du cœur et foie

Elle s'est réalisée comme décrit précédemment dans la partie I.

II.5.1.5. Evaluation des effets cardioprotecteurs du meilleur extrait chez les rats athérogéniques

- **Evaluation des effets du meilleur extrait sur la fonction cardiaque**

Ils ont été réalisés à travers l'évaluation des effets de l'extrait sur la fonction endothéliale et la protection contre la cytolyse cardiaque.

- **🚦 Evaluation de l'effet de l'extrait sur la fonction endothéliale**

Cet effet a été évalué *via* la quantification du NO cardiaque et plasmatique par la méthode décrite par **Chaea et al. (2004)**.

- **Principe**

Il est basé sur la réaction de diazotation décrite par Griess en 1879. Elle décrit la réaction chimique utilisant la sulfanilamide et le Dichlorure de N-1-naphtyl éthylène diamine (NED) en milieu acide (acide phosphorique). Ce système détecte le nitrite formé, composé primaire stable et non volatile issu de la dégradation de l'oxyde nitrique dans les liquides biologiques.

- **Mode opératoire**

À cent (100) µL d'échantillon, a été ajouté 100 µL d'une solution de sulfanilamide (1 % Sulfanilamide dissout dans l'acide orthophosphorique 5 %). La solution obtenue a été homogénéisée puis incubée à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 10 minutes. Après l'incubation, 100 µL d'une solution de NED (0,1 %) ont été ajoutés à la précédente solution. Une nouvelle incubation a été effectuée à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 10 minutes. La formation d'une couleur pourpre magenta était indicative de la présence du nitrite formé. L'absorbance a été lue à 540 nm contre le blanc constitué d'eau distillée.

- **Expression des résultats**

La concentration du NO a été déterminée en utilisant son coefficient d'extinction moléculaire ($\epsilon=39500 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

$$\text{Concentration NO en } \mu\text{M} = \frac{\text{Absorbance essai}}{\epsilon \times l} \times 10^6$$

Avec NO : nitric oxide

- ✚ **Evaluation de l'effet de l'extrait sur la cytolysse cardiaque**

Il a été effectué au moyen de l'évaluation de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT) [EC 2.6.1.2] tel que décrit par **Reitman et Frankel (1957)**.

- **Principe**

La glutamate oxaloacétate transaminase (GOT ou ASAT) catalyse la réaction suivante :



L'oxaloacétate formés ont été dosés sous forme de leurs dérivés 2,4 dinitrophénylhydrazone, qui présentent un maximum d'absorption à 505 nm.

○ **Mode opératoire**

• **Réalisation de l'étalonnage ASAT**

Les différents étalonnages ont été réalisés selon la méthodologie décrite dans le tableau VII.

Tableau VII : Préparation des tubes pour l'étalonnage ASAT

Tubes	1	2	3	4	5
Eau distillée (mL)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Substrat ASAT (mL)	0,10	0,09	0,08	0,07	0,06
Pyruvate (mL)	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04
DNPH	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Incubation 20 min à 25°C					
NaOH (mL)	1	1	1	1	1
Laisser à température ambiante pendant 5 min et lire la DO à 505 nm contre le blanc					
Activités correspondantes					
ASAT (unité/mL)	00	22	55	95	150

ASAT : aspartate aminotransférase ; DNPH : dinitrophénylhydrazone DO : densité optique ; min : minute ; nm : nanomètre.

• **Dosage de l'ASAT**

Cent (100) µL de substrat ont été pipetés dans les tubes blancs et essais. Ils ont été pré-incubés à 37 °C pendant 5 minutes, puis 20 µL de sérum y ont été ajoutés. Après homogénéisation, tous les tubes ont été incubés à 37 °C à l'étuve pendant 1 heure. Ensuite, 100 µL du réactif de coloration y ont été ajoutés suivi d'une incubation de 20 minutes à température ambiante. La réaction a été arrêtée après ajout de 1 mL de NaOH 0,4 N dans chacun des tubes. L'absorbance a été lue à 505 nm contre le tube blanc (L'échantillon a été remplacé par de l'eau distillée).

- **Expression des résultats**

L'activité de l'ASAT a été déterminée à l'aide de la courbe d'étalonnage (Annexe 14) puis exprimée sous forme d'Unité/mL de plasma.

- **Evaluation des effets du meilleur extrait sur les rapports du risque cardiaque et l'indice cardioprotecteur**

Les effets de l'extrait sur les rapports du risque cardiaque (RRC) et l'indice cardioprotecteur (ICP) ont été évalués.

- ✚ **Evaluation de l'effet sur le risque cardiaque**

Le rapport du risque cardiaque (RRC) a été évalué selon les formules d'**Ikewuchi et Ikewuchi, (2009a, b)** :

$$\text{RRC1} = \frac{[\text{TC}]}{[\text{HDL} - \text{c}]} ; \quad \text{RRC2} = \frac{[\text{LDL} - \text{c}]}{[\text{HDL} - \text{c}]}$$

- ✚ **Evaluation de l'effet sur la protection du cœur**

Les effets sur la protection cardiaque ont été évalués à travers le calcul de l'indice cardioprotecteur (ICP) (**Oršolić et al., 2014**).

$$\text{ICP} = \frac{[\text{HDL} - \text{c}]}{[\text{LDL} - \text{c}]}$$

II.6.1.6. Evaluation des effets du meilleur extrait sur les dyslipidémies et le risque athérogène chez les rats athérogéniques

- **Evaluation des effets sur les dyslipidémies**

Ils ont été évalués *via* l'évaluation des taux plasmatiques de triglycérides, cholestérol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c et non-HDL-c, et l'évaluation de l'accumulation tissulaire des lipides.

- ✚ **Evaluation de l'effet sur les taux plasmatiques de triglycérides, cholestérol total, HDL-c, LDL-c et VLDL-c**

L'évaluation a été effectuée conformément au protocole décrit précédemment (confère partie I). Le VLDL-c a été calculé selon la formule : $\text{VLDL-c (mg/dL)} = \frac{\text{TG}}{5}$

✚ Evaluation de l'effet des extraits sur la concentration du non-HDL cholestérol plasmatique

La concentration de non HDL-c a été calculée sur la base de la formule établie par Brunzell *et al.* (2008) présentée comme suit :

$$\text{non-HDL-c (mg/dL)} = [\text{TC}] - [\text{HDL-c}]$$

➤ Evaluation des effets sur le risque athérogène

✚ Evaluation de l'effet sur l'insulinorésistance

L'effet du meilleur extrait sur l'insulinorésistance a été évalué selon la formule d'Oršoli *et al.* (2014).

$$\text{Insulinorésistance} = \frac{[\text{Triglycérides (TG)}] \text{ en mg/dL}}{[\text{HDL-c}] \text{ en mg/dL}}$$

✚ Evaluation de l'effet sur les indices d'athérogénicité et la protection vasculaire

Il a été évalué *via* le calcul de l'indice athérogénique de plasma (IAP) et le coefficient athérogène (CA). Pour ce faire, les formules d'Althunibat *et al.* (2019) utilisées sont présentées ci-dessous :

$$\text{IAP} = \text{Log} \left(\frac{[\text{TG}]}{[\text{HDL} - c]} \right) ; \quad \text{CA} = \frac{([\text{TC}] - [\text{HDL} - c])}{[\text{HDL} - c]}$$

Le pourcentage de protection vasculaire a été calculé selon la formule ci-dessous.

$$\% \text{ de protection vasculaire (\% PV)} = \frac{\text{IAP groupe TP} - \text{IAP groupe essai}}{\text{IAP groupe TP}} \times 100$$

Avec TP : témoin positif

✚ Effet sur l'accumulation tissulaire des lipides

L'effet de l'extrait sur l'accumulation tissulaire des lipides a été évalué à travers des analyses histopathologiques du foie et cœur. Ces analyses ont été réalisées suivant plusieurs étapes à savoir : la fixation, le "trimming", la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration, le montage et l'observation.

○ Fixation

Elle permet de conserver les cellules dans un état aussi proche que possible de celui du vivant. Les organes prélevés ont été fixés dans du formol (10 % v/v) pendant 30 jours.

- **Recoupe ou “trimming”**

Après fixation, une fine tranche de chaque organe fixé a été prélevée et placée dans des cassettes en plastique préalablement étiquetées.

- **Déshydratation**

Les cassettes ont préalablement été introduites, à une durée déterminée, dans 6 bacs contenant de l'alcool éthylique de degrés croissants : 1 bac d'éthanol 70° (1 h), 2 bacs d'éthanol 95° (1 h et 1 h 30), et 3 bacs d'éthanol 100° (1 h, 1 h 30 et 2 h) (déshydratation proprement dite). Après la sortie du 3e bac d'alcool 100°, les cassettes ont séjourné dans deux bains de xylène pendant 1 h et 1 h30 respectivement (éclaircissement), puis dans une série de 3 bacs de paraffine en fusion (60°C) à raison de 1 h, 1 h30 et 2 h respectivement (imprégnation).

- **Inclusion**

L'inclusion permet de fournir un support externe solide aux tissus en vue de la réalisation de coupes fines. Les portions d'organe ont été placées selon un sens d'orientation déterminé dans des moules en acier inoxydable, puis la surface du moule a été recouverte par la base de la cassette et le moule a été rempli de paraffine en fusion. Le tout a été mis à solidifier sur une plaque réfrigérante.

- **Coupe**

A l'aide d'un microtome Reichert-Jung 2030, les blocs de paraffine contenant les organes ont été coupés à une épaisseur de 5 µm. Les sections de rubans obtenues ont été mises à déplier dans un bain marie (40°C) contenant de l'eau gélifiée (1 %), puis récupérées sur des lames porte objet propres préalablement étiquetées. Les lames ont ensuite séjourné pendant 24 heures dans une étuve à 45°C.

- **Coloration**

La coloration permet d'obtenir une différenciation tinctoriale des éléments cellulaires ou tissulaires. Au cours de cette étape, les coupes ont subi un déparaffinage et une réhydratation avant d'être colorées. Lors du déparaffinage, les coupes ont séjourné dans 3 bains de xylène (5 minutes par bain). Elles ont par la suite été réhydratées en passant successivement dans des bains d'alcool de degrés décroissants (3 bains d'éthanol 100°, 1 bain d'éthanol 95°, et un bain d'éthanol 70°) et rincées à l'eau distillée à raison de 5 minutes. La technique de coloration à l'hématoxyline-éosine (HE) a été utilisée. Les lames ont été plongées dans l'hématoxyline de Mayer (substance basophile qui colore les composants nucléaires en bleu-noir) pendant 10 minutes puis rincées à l'eau courante. Ensuite, elles ont été plongées successivement dans des

bacs contenant de l'éthanol 70° et 90°, 5 minutes par bain. Les lames ont séjourné 5 minutes dans de l'éosine alcoolique 0,5 % (substance acidophile qui colore le cytoplasme en rose-rouge).

○ **Montage et observation**

Après la coloration, les lames ont été déshydratées dans trois bains d'éthanol 100° puis éclaircies dans trois bains de xylène (5 minutes par bain). Une fois sortie du xylène, quelques gouttes de résine ont été déposées sur les coupes, puis ces dernières ont été recouvertes à l'aide de lamelles de verre pour observation au microscope. Le microscope (Scientico STM-50) utilisé, était muni d'une caméra digitale de marque Celestron 44421 connectée à un ordinateur Toshiba Tecra A9. Le logiciel digital microscope suit 2.0 a été utilisé pour la prise des microphotographies. L'histomorphométrie du pancréas a été réalisée grâce au logiciel Image J 1.3.

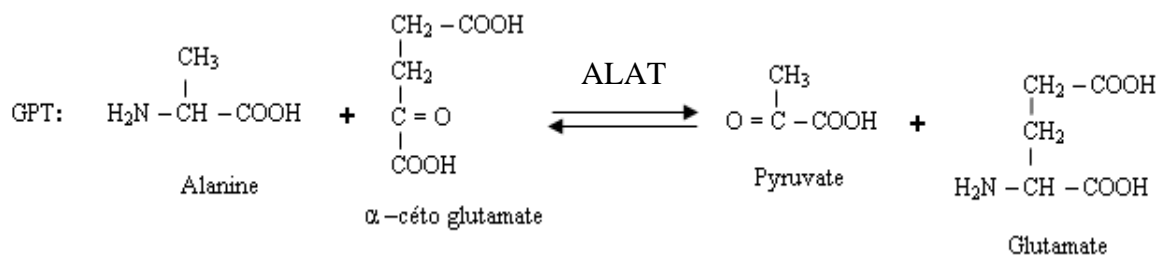
II.6.1.7. Evaluation des effets du meilleur extrait sur la cytolyse hépatique et la fonction rénale

🚩 **Effet sur la cytolyse hépatique**

Il a été effectué à travers l'évaluation des activités plasmatique de l'alanine aminotransférase (ALAT) [EC 2.6.1.2] et de l'aspartate aminotransférase (ASAT) [EC 2.6.1.1] selon la méthode de **Reitman et Frankel (1957)**. L'ASAT a été évaluée comme décrit précédemment (confère : effet de l'extrait sur la cytolyse cardiaque).

○ **Principe**

La glutamate pyruvate transaminase (GPT ou ALAT) catalyse la réaction suivante :



Le pyruvate formé a été dosé sous forme du dérivé 2,4 dinitrophénylhydrazone, qui présente un maximum d'absorption à 505 nm.

- **Mode opératoire**

- **Réalisation de l'étalonnage ALAT**

L'étalonnage a été réalisé selon la méthodologie décrite dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Préparation des tubes pour l'étalonnage ALAT

Tubes	1	2	3	4	5
Eau distillée (mL)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Substrat ALAT (mL)	0,10	0,09	0,08	0,07	0,06
Pyruvate (mL)	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04
DNPH	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Incubation 20 min à température ambiante					
NaOH (mL)	1	1	1	1	1
Laisser à température ambiante pendant 5 min et lire la DO à 505 nm contre le blanc					
Activités correspondantes					
ALAT (unité/mL)	00	25	50	83	125

ALAT : alanine aminotransférase ; DNPH : dinitrophénylhydrazone DO : densité optique ; min : minute ; nm : nanomètre.

- **Dosage de l'ALAT**

Cent (100) µL de substrat ont été pipetés dans les tubes blancs et essais. Ils ont été pré-incubés à 37 °C pendant 5 minutes, puis 20 µL de sérum y ont été ajoutés. Après homogénéisation, tous les tubes ont été incubés à 37 °C à l'étuve pendant 30 minutes. Ensuite, 100 µL du réactif de coloration y ont été ajoutés suivi d'une incubation de 20 minutes à température ambiante. La réaction a été arrêtée par ajout de 1 mL de NaOH 0,4 N dans chacun des tubes. L'absorbance a été lue à 505 nm contre le tube blanc (L'échantillon a été remplacé par de l'eau distillée).

- **Expression des résultats**

L'activité de l'ALAT a été déterminée à l'aide de la courbe d'étalonnage (Annexe 15) puis exprimée sous forme d'unité/mL de plasma.

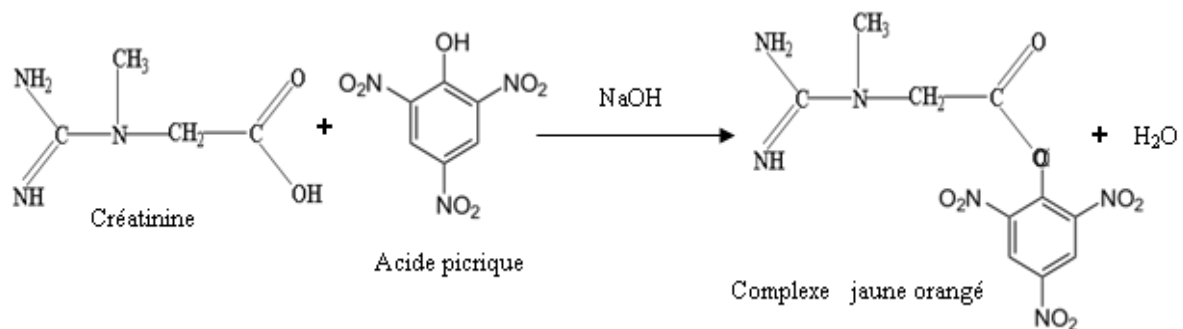
L'activité de l'ASAT a été évaluée conformément à la méthodologie décrite dans le II.5.1.5.

🚩 Effet sur la fonction rénale

Il a été évalué à travers le dosage du taux de créatinine plasmatique (**Bartels *et al.*, 1972**).

○ Principe

En milieu alcalin, la créatinine forme un complexe jaune-orange avec l'acide picrique. L'intensité de la coloration varie en fonction de la concentration de la créatinine présente dans le milieu. L'équation de la réaction est la suivante.



○ Préparation de la solution de travail

Les réactifs du kit *chronolab* ont été utilisés. La solution de travail (picrate de sodium) a été préparée en mélangeant à volume égal l'acide picrique (8,8 mM) et la soude (NaOH 0,4 N).

○ Mode opératoire

Il a été introduit dans les tubes essai et étalon, 100 µL d'échantillon ou de standard et 1000 µL de la solution de travail. Après agitation suivie d'une incubation à température ambiante, l'absorbance à 520 nm a été lue à 30 et 90 seconde contre le blanc. Le blanc était constitué avec de l'eau distillée et de la solution de travail.

○ Expression des résultats

La formule ci-après a été utilisée pour le calcul de la concentration de créatinine.

$$[\text{Créatinine}]_{\text{en}} \frac{\text{mg}}{\text{dL}} = \frac{\text{Absorbance essai à 90s} - \text{Absorbance essai à 30s}}{\text{Absorbance étalon à 90s} - \text{Absorbance étalon à 30s}} \times [\text{Etalon}]$$

$$\text{Avec : } [\text{Etalon}] = 2 \text{ mg/dL}$$

II.6.2. Caractérisation et prédiction de quelques modes d'action de l'extrait le plus actif

II.6.2.1. Caractérisation de l'extrait le plus actif

Elle a été effectuée pour identifier les différents composés ou ligands de l'extrait le plus actif. Sa caractérisation chimique a été réalisée par empreinte digitale en utilisant la HPLC-DAD.

○ Principe

La HPLC-DAD est une méthode de chimie analytique couplant la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et à un détecteur UV à barre diode. En effet, la chromatographie en phase liquide (*Liquid Chromatography*, LC) est une technique analytique utilisée pour séparer, identifier et quantifier les différents composés présents dans un mélange complexe. L'échantillon est entraîné par une phase mobile liquide à travers une colonne contenant une phase solide (phase stationnaire) qui va retenir de manière plus ou moins importante les composés en fonction des interactions physico-chimiques se créant avec ces phases. Les toutes premières méthodes de chromatographie reposaient sur un phénomène de gravitation pour le passage du liquide dans la colonne. Actuellement, la technique la plus employée est la HPLC où la phase mobile est poussée par des pompes dans une colonne adaptée aux fortes pressions. Cette amélioration offre des temps de séparation beaucoup plus courts et la possibilité d'utiliser des quantités d'échantillons plus faibles. Les molécules sortant de la colonne sont ensuite directement introduites dans un spectromètre qui apporte des informations sur le temps de rétention. Lors de l'analyse du temps de rétention permet la détection des composés. Les données collectées sont présentées sous forme d'un spectre, où l'abscisse est l'intensité relative et l'ordonnée la taille ou hauteur du pic. La combinaison de ces deux techniques offre un outil très apprécié dans l'identification de métabolites secondaires.

○ Méthode

✓ Préparation de l'échantillon

Les échantillons ont été préparés en dissolvant 10 mg d'extrait dans 1,0 mL d'acétonitrile-eau (70:30, v/v). Tous les solvants étaient de qualité HPLC.

✓ Conditions chromatographiques

L'analyse par HPLC avec détection par barre de diodes (DAD) de l'extrait a été réalisée à l'aide d'un instrument de la série Agilent 1100 (*Agilent, Waldbronn, Germany*) qui comprend un détecteur à barrette de diodes, une pompe quadripolaire, un passeur automatique d'échantillons, un thermostat de colonne et une unité de dégazage, qui a été utilisé pour obtenir

les empreintes chimiques de l'extrait. Une colonne *Luna Omega 3,0 μm Polar C₁₈* (*Phenomenex, South Africa*) a été utilisée comme phase stationnaire. Les dimensions de la colonne C₁₈ étaient de 150 x 4,6 mm. L'élution par gradient a été réalisée avec les conditions présentées dans le tableau IX:

Tableau IX : Conditions de réalisation de la HPLC

Paramètres	Conditions
Débit	0.5 mL/minute
Phase mobile	Acétonitrile-eau (70:30, v/v) avec 0,5% d'acide formique
Volume d'injection	20 μL
Température	Incontrôlé
Longueur d'onde	230 nm
Type de course	Gradient
Durée	35 minutes

v : volume

II.6.2.2. Recherche des solutions d'amarrage protéines-ligands

Elle consistait par *docking* moléculaire d'identifier les meilleures interactions entre protéines (*cholesterol ester transfer protein* [CETP] et ATP citrate-lyase (ACLY) et les ligands de l'extrait. A cet effet, des banques de données et programmes ont été utilisées.

II.6.2.2.1. Banques de données et programmes

Banques de Données

- *Protein Data Bank* (pdb)

La pdb (figure 49) a été utilisée pour l'obtention de la structure tridimensionnelle (structure 3D) des protéines (CETP et ACLY). Ces structures ont été téléchargées *via* le site : <http://www.rcsb.org/pdb/>.

Figure 49 : Interface d'accueil de la pdb

- **Pubchem**

Pubchem a été utilisé pour obtenir la structure des différents ligands d'intérêt. Le lien <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> a été utilisé pour accéder gratuitement aux structures des ligands.

Figure 50 : Interface d'accueil de PubChem

 Programmes

- **ChemDraw 3D Ultra**

Le logiciel *ChemDraw 3D* (figure 51) a été utilisé pour la conception de la structure 3D des ligands et la minimisation des énergies pour rendre les structures plus stable. La minimisation d'énergie a permis de déterminer un arrangement moléculaire approprié dans l'espace pour lequel la structure moléculaire est la plus stable. L'énergie d'une protéine ou d'un ligand est

définie en fonction de ses coordonnées atomiques (distance entre liaison H-O, angle formé entre H-O-H), fournissant ainsi un critère quantitatif pour la sélection et le raffinement du modèle. Cette fonction énergétique regroupe plusieurs composants :

- Energie de liaison et énergie d'angle, représentatives des liaisons covalentes ;
- Energie dièdre, due aux angles dièdres ;
- Terme de van der Waals (également appelé potentiel de Leonard-Jones) pour s'assurer que les atomes n'ont pas de collisions stériques.
- Energie électrostatique expliquant la structure protéique de la loi de Coulomb (les forces à longue distance entre les atomes chargés et partiellement chargés).

Ainsi l'optimisation géométrique est basée sur un problème mathématique connue sur le nom de matrice de Hesse dans lequel on cherche à trouver la valeur de \mathbf{r} pour laquelle $E(\mathbf{r})$ est à un minimum local, c'est-à-dire la dérivée de l'énergie par rapport à la position des atomes (Gautam, 2020)



Figure 51 : Interface d'accueil de ChemDraw 3D

- Autodock

AutoDock (figure 52) est un outil de *docking* automatisés conçue pour prédire comment de petites molécules, telles que des substrats ou des médicaments candidats, se lient à un récepteur de structure 3D connue. Il est téléchargeable *via* lien <http://autodock.scripps.edu/downloads/>. AutoDockTools (ADT) téléchargeable *via* le lien <http://mgltools.scripps.edu/downloads/> est une interface utilisateur graphique utilisée pour préparer les entrées, exécuter et analyser les *dockings* générés à partir d'AutoDock. Dans le cadre de ce travail une version amélioré d'AutoDock (AutoDock version 4.2.6), constitué d'un ensemble de programme telle que AutoGrid et AutoDock vina a été utilisée.



Figure 52 : Interface d'accueil (a) et de visualisation (b) d'AutoDock

- *Biovia Discovery studio visualizer*

Ce programme qui est téléchargeable sur <https://www.biovia-discovery-studio/visualization-download.php> a été utilisé pour visualiser la superposition des résultats du *root mean square deviation* (RMSD) ou écart quadratique moyen (test de fiabilité programme) calculé par AutoDock et le type de liaison formé entre la protéine et le ligand (inhibiteur). Il a également permis d'optimiser géométriquement les modèles obtenus à la suite du *docking*.

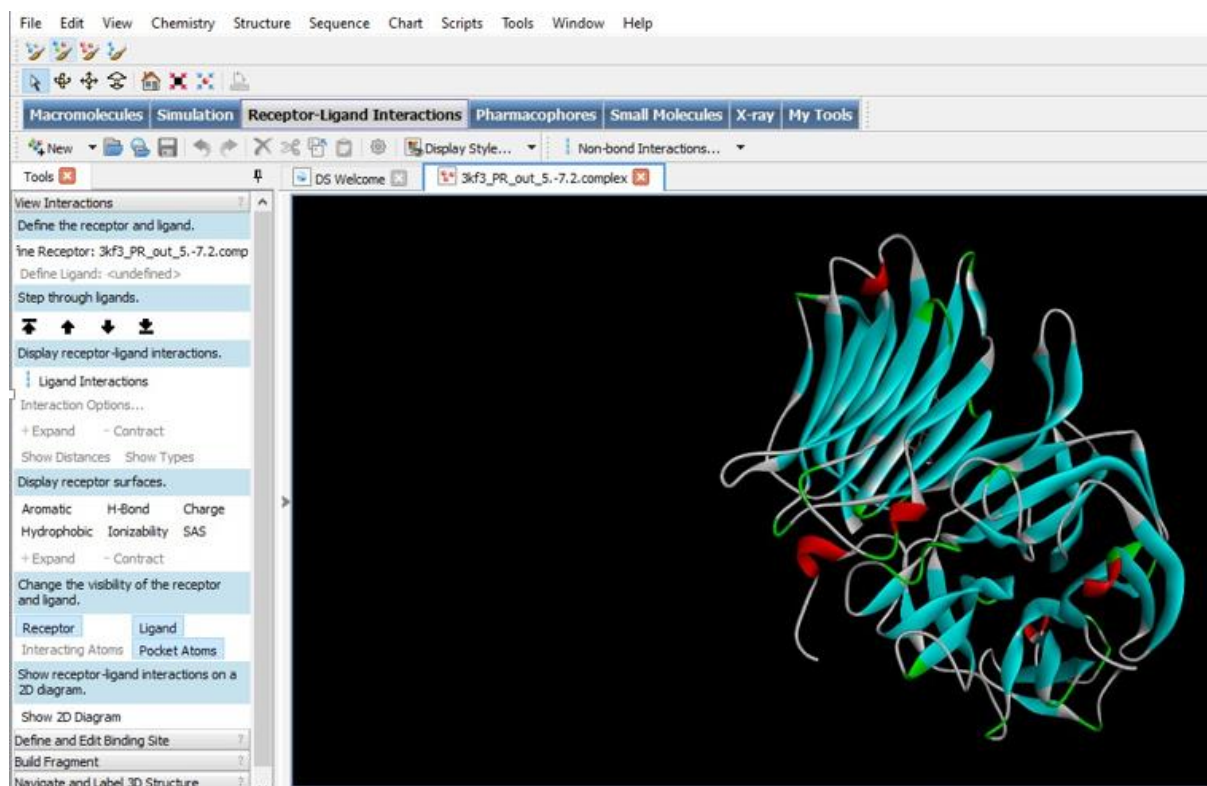


Figure 53 : Interface graphique de *Biovia Discovery Studio Visualizer*

II.6.2.2.2. Méthode

Elle a été effectuée comme décrit par **Madeswaran (2017)** et **Meraihia et Zermane (2020)**. Le *docking* moléculaire ou recherche des solutions d'amarrage réalisé par AutoDock a été effectué comme suit :

- Préparation des différentes protéines ;
- Détection des cavités ;
- Préparation des ligands ;
- Calcul des grilles de potentiels ;
- Recherche des solutions d'amarrage ou docking proprement dit ;
- Analyse de résultats.

○ Préparation des protéines

Les complexes de protéines obtenus de la PDB *via* leur code cristallographique (tableau X) ont été préparés au préalable. En effet, la protéine des différents complexes a été séparée de son ligand, co-cristallisé afin d'obtenir une protéine ou un récepteur avec un site actif libre. Par la suite, les molécules d'eau ainsi que les ligands étrangers, ayant servi à la cristallographie, ont été éliminés. La protéine ainsi préparée a été exportée sous le format .pdb. Le sous-programme AutoDock Tools a permis de poursuivre la préparation par ajout des hydrogènes polaires et addition des charges "Kollman" et enregistrement des modifications sous format .pdbqt (format propre à AutoDock).

Tableau X : Code cristallographique des protéines et leur résolution

Protéine	Code PDB
ATP Citrate Lyase (EC 4.1.3.81)	6HXH
CETP (EC 2.1)	2OBD

CETP : cholesterol ester transfer protein

○ Détection des cavités

L'identification du site actif des protéines est nécessaire dans le processus de Docking moléculaire. Elle permet de comprendre la fonction et le mécanisme d'action d'une protéine. Les protéines possèdent plusieurs cavités ou poches à leur surface où sont susceptible de se lier les petites molécules. Ainsi, l'identification de ces cavités est un départ dans la prédiction du site de liaison protéine-ligand pour l'annotation de la fonction protéique et la conception de médicaments basée sur la structure. Le programme *Computed Atlas of surface Topography of Protein* (CASTp) (figure 54) accessible *via* le lien <https://www.CASTp.org/> a été utilisé pour

détecter les cavités présentes sur les protéines d'intérêts. La cavité qui a été utilisée était celle ayant le plus grand volume et possédant les mêmes résidus d'acide aminés présents dans le site actif des différentes protéines d'après la littérature.

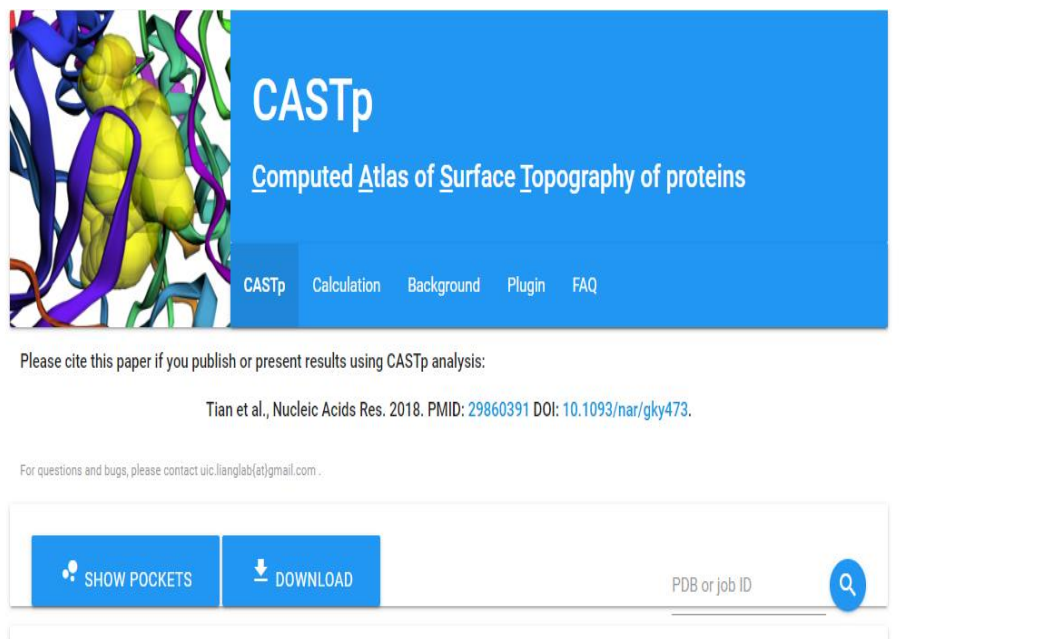


Figure 54 : Interface de CASTp

○ Préparation du ligand

Dans cette étude, les ligands/inhibiteurs potentiels des protéines d'intérêts (CETP, ACLY) identifiés par caractérisation par HPLC-DAD ont été sélectionnés. La structure 3D de chacune de ces molécules a été téléchargée dans « PubChem » puis enregistrées sous format .pdb après minimisation de leur énergie intramoléculaire à l'aide du programme Chemdraw 3D. Ces ligands ont ensuite été traités par le sous-programme Autodock Tools en contrôlant leurs mouvements tout en définissant automatiquement leurs atomes aromatiques, leurs liaisons flexibles ainsi que leurs angles de torsion. L'ensemble a ensuite été enregistré sous format *pdbqt*.

○ Calcul des grilles de potentiels

Les grilles potentielles sont calculées par le programme *AutoGrid4* selon les instructions du fichier de paramétrage qui lui ont été fournies. Ce fichier possède une extension de type *gpf* (*Grid Parameters File*). Lors du *docking* moléculaire, le programme AutoDock utilise une boîte 3D englobant le site actif de la cible. Les différentes coordonnées des centres des boîtes sont représentées dans le tableau XI. Ensuite, les instructions contenues dans le fichier *gpf* a été exécuté grâce au sous-programme AutoGrid4. Ce dernier a permis le calcul du score entre les

différents types d'atomes de la protéine et le ligand. Les résultats ont été générés dans un fichier .glg.

Tableau XI : Coordonnées centrale de positionnement des boites dans le site actif de différentes protéines

Protéines	CETP	ATP-Citrate lyase
Grille point (X ; Y ; Z)	(64 ; 68 ; 72)	(54 ; 114 ; 94)
Espacement	0,375 Å	0,431 Å
Dimension centrale grille (x, y, z)	(7,992 ; -2,763 ; 40,667)	(62,997 ; 106,869 ; 9,051)

CETP : cholesterol ester transfer protein

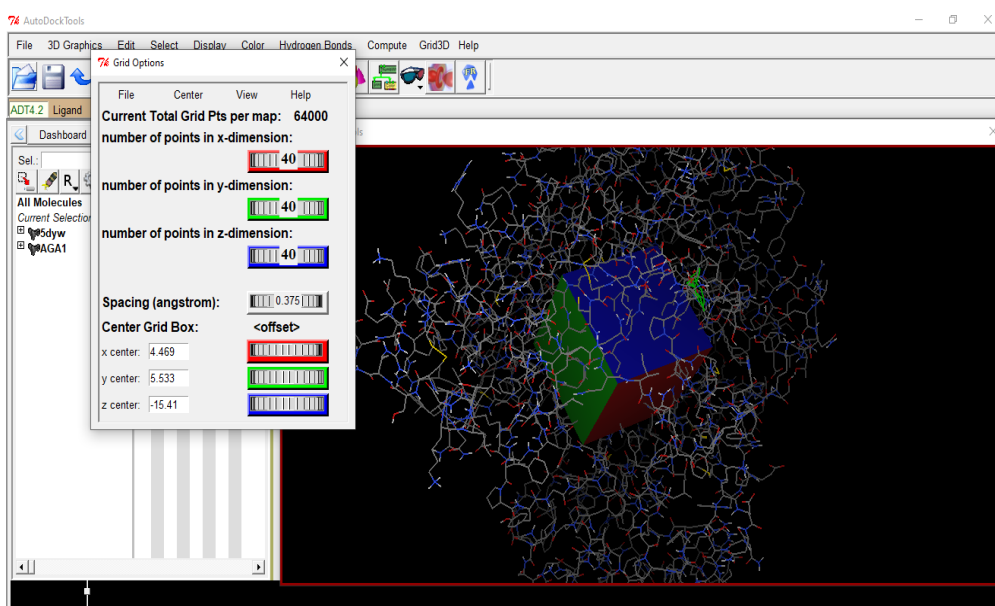


Figure 55 : Positionnement de la boîte dans le site actif (6HXH) en fonction de ses coordonnées

○ **Recherche des solutions d'amarrage ou docking**

Cette recherche des solutions d'amarrage a été réalisée par le programme AutoDock. Ce programme a utilisé l'algorithme *Larmackian genetic algorithm* (LGA) pour donner les meilleures positions (conformations) classées par score, de chaque ligand au sein du site actif de protéines étudiées. Une fois les différentes poses identifiées par des lois de chimie quantique une fonction de score est appliquée par le logiciel dans le but d'estimer les affinités de liaison du complexe en faisant la somme des facteurs énergétiques importants pour la liaison protéine-ligand, tels que les liaisons hydrogène, les effets hydrophobiques, les chocs stériques.

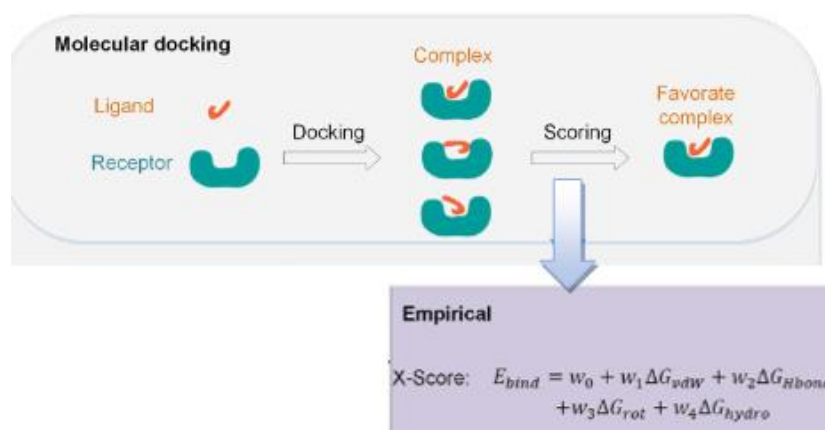


Figure 56 : Principe schématique du *scoring*

○ **Analyse des résultats**

Les résultats de docking effectués par le programme AutoDock ont été enregistrés dans un fichier *dlg* (*docking log file*). Ce dernier a fourni les 10 meilleures poses du ligand dans le site actif de l'enzyme en fonction de leurs scores ainsi que les valeurs de leur écart quadratique moyen (*Root Mean Square Deviation* ou RMSD). Le fichier *.dlg* a été lu par la suite par l'interface graphique AutoDock ce qui a permis la visualisation (à l'aide de Biovia) du mode d'interaction entre les meilleures conformations du ligand et le site actif tout en affichant les différents types des liaisons/interactions formées.

II.7. Partie III : Détermination de la dose létale 50 et les effets sur les paramètres hématologiques, l'architecture des organes vitaux, et les fonctions rénales et hépatique de l'extrait le plus actif.

II.7.1. Détermination de la dose létale 50 de l'extrait le plus actif : étude de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë a été évaluée suivant le protocole de l'**OECD (2008a)** ligne directive 425. Cette étude réalisée pendant 14 jours (2 semaines), avait pour objectifs d'évaluer l'effet de l'administration orale d'une dose unique d'extrait chez les rats et de déterminer la dose limite de sécurité.

🚦 Protocole expérimental

Cinq (05) jeunes rats femelles adultes de souche *wistar* de poids compris entre 150 – 200 g ont été utilisés. Ces rats ont reçu à dose unique, 2000 mg/kg de PC d'extrait de *D. micrcarpum*. Cette dose unique d'extrait a d'abord été administrée à un seul rat. Ce dernier a été observé pendant 30 minutes. Puis, les quatre (04) autres ont successivement reçu la même dose dans un intervalle de temps de 30 minutes. Une attention particulière a été apportée aux rats pendant les 4 heures précédant l'administration de l'extrait. Pendant ces 4 heures, les

animaux étaient à jeun. Ils ont été par la suite observés individuellement toutes les 30 minutes pendant 24 heures puis une fois par jour pendant 14 jours. Le poids des animaux a été pris au début, le 7^{ème} jour et à la fin (14^{ème} jour) de l'étude.

Pendant cette période, les changements des habitudes ainsi que les signes de toxicité ont également été notés. Il s'agissait du nombre de décès, présence de diarrhée, couleur des yeux, coma, agressivité, sensibilité au bruit/son, aspect du pelage et rythme respiratoire (**Muhammad et al., 2015**).

II.7.2. Détermination des effets sur les paramètres hématologiques, l'architecture des organes vitaux, et les fonctions rénales et hépatique de l'extrait le plus actif : évaluation de la toxicité subaigue

La toxicité subaigue a été évaluée suivant le protocole de **l'OECD (2008b)** ligne directive 407 accompagné de quelques modifications. Durant 28 jours (4 semaines), il était question dans cette autre partie d'évaluer l'effet de l'administration orale à dose répétée de l'extrait chez les rats.

II.7.2.1. Protocole expérimental

Dix (10) jeunes rats mâles adulte de poids compris entre 180-200 g ont été repartis en fonction du poids moyen en deux (02) groupes de cinq (05) rats chacun et traités pendant 28 jours de la manière suivante :

- **Groupe 1 (groupe témoin)** : les animaux de ce groupe recevaient de l'eau distillée ;
- **Groupe 2 (groupe essai)** : les animaux ont reçu quotidiennement le meilleur extrait à la dose 1000 mg/kg.

Au cours de l'expérimentation, les animaux ont été pesés au début, en suite tous les sept jours et à la fin. Les paramètres comportementaux (agressivité, mobilité, couleur des yeux, aspect du pelage et sensibilité au bruit/son) et les signes généraux de toxicité (diarrhé, coma et décès) ont été notés.

Le 29^{ème} jour et après 12 heures de jeûn, les rats ont été sacrifiés par dislocation cervicale après anesthésie à l'éther. Le sang a été prélevé séparément dans les tubes EDTA. L'un a servi à l'analyse des paramètres hématologiques et l'autre a été centrifugé à 3000 rpm pendant 5 minutes pour obtenir le plasma. Le plasma obtenu a été stocké à - 20°C pour l'évaluation des paramètres biochimiques de toxicité.

II.7.2.2. Calcul des poids relatifs d'organes

Après sacrifice des animaux, le cœur, le foie, les reins, le cerveau et les poumons ont été prélevés, rincés dans une solution saline 0.9 % (NaCl 0.9 %), essorés puis pesés immédiatement. Le poids relatif d'organes (PRO) a été calculé d'après la formule de **Narhari et al. (2015)**.

$$\text{PRO} = \frac{\text{Poids organe (g)}}{\text{Poids final du rat (g)}} \times 100$$

II.7.2.3. Examens hématologique et histopathologique

❖ Examens hématologiques

Ils ont été réalisés au Laboratoire de Biologie Humaine de l'Institut Médical et de recherche sur les Plantes Médicinales du Ministère de la Recherche Scientifique et de l'Innovation du Cameroun, à l'aide d'un analyseur hématologique de type automate (SFRI, blood cell counter, H18 Light).

Les analyses ont consisté à évaluer les taux sanguins de globules rouges (GR), globules blanc (GB), hématocrites (Hcte), concentration d'hémoglobine (Hb), volume globulaire moyen (VGM), teneur corpusculaire moyen d'hémoglobine (TCMH), concentration corpusculaire moyen d'hémoglobine (CCMH), numération des plaquettes (Pltes), granulocytes (Gran), lymphocytes (Lym) et monocytes (MON).

❖ Examens histopathologiques

Ils ont été réalisés au Laboratoire d'Anatomie et Pathologie de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales. Le foie, le cœur, les poumons et les reins ont été fixés dans du formol à 10 % dans des bouteilles étiquetées et traitées pour l'analyse histologique.

L'analyse histologique a été réalisée comme décrit dans la partie II (confère : effet sur l'accumulation des lipides tissulaires) suivant les étapes : la fixation, le "trimming", la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration, le montage et l'observation.

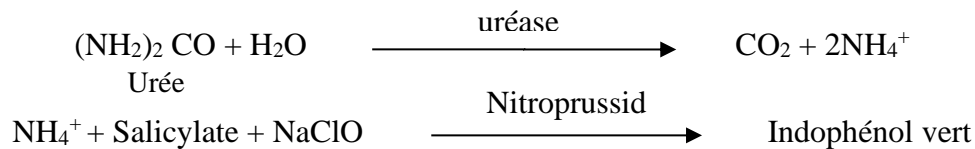
II.7.2.4. Evaluation des paramètres biochimiques associés à la toxicité

L'effet de l'extrait sur la fonction rénale (urée et créatinine), la fonction de synthèse (cholestérol total et triglycérides) et de cytolysse hépatique (alanine aminotransférase et aspartate aminotransférase) hépatique et les protéines totales plasmatiques a été évalué.

➤ Effet sur le taux d'urée plasmatique (Marshall, 1913)

✓ Principe

L'urée est hydrolysée en ion ammonium (NH₄⁺) et en dioxyde de carbone (CO₂). L'ion ammonium réagit avec le salicylate ou acide salicylique et l'hypochlorite pour former l'indophénol vert. L'intensité de la coloration étant proportionnelle à la concentration d'urée.



✓ **Mode opératoire**

Dans un tube à essai introduire 1000 µL de la solution de travail puis 10 µL d'échantillon. L'ensemble a été homogénéisé et incubé à température ambiante pendant 10 minutes. Ensuite, 1000 µL R2 y ont été ajoutés suivi d'une homogénéisation douce et d'une incubation à température ambiante pendant 10 min. L'absorbance a été lue à 580 nm contre un blanc.

✓ **Expression des résultats**

La formule suivante a servi au calcul et les résultats ont été exprimés en mg/dL.

$$[\text{Urée}] \text{ en (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbance essai ou échantillon}}{\text{Absorbance étalon}} \times [\text{Etalon}]$$

$$\text{Avec } [\text{Etalon}] = 50 \text{ mg/dL}$$

➤ **Effet sur le taux de créatinine plasmatique**

Le protocole utilisé est identique à celui décrit précédemment dans la partie II (confère : effets sur la dysfonction rénale).

➤ **Effet sur les taux plasmatiques de triglycérides et de cholestérol total**

Le protocole utilisé est comme celui décrit précédemment (partie I).

➤ **Effet sur l'activité plasmatique des transaminases**

Les activités de l'alanine aminotransférase (ALAT) et de l'aspartate aminotransférase (ASAT) ont été évaluées conformément à la méthodologie décrit dans la partie II.

➤ **Effet sur les protéines totales plasmatiques**

Les effets sur les protéines totales plasmatiques ont été évalués par le protocole de **Lowry et al. (1951)**.

○ **Principe**

La méthode repose sur la capacité des groupements azotés des peptides à réagir avec les ions cuivriques en milieu alcalin et sur la réduction de l'acide phosphomolybdic

phosphotungstique du réactif de Folin-Ciocalteu en hétéro polymolybnum de couleur bleue par l'oxydation des acides aromatiques catalysée par le cuivre.

○ **Mode opératoire**

Cent (100) µL d'échantillon ou d'étalon ont été introduits dans un tube essai ou étalon, puis 1 mL du réactif 1 (mélange du réactif A et réactif B dans la proportion 1 % v/v) a été ajouté. Le mélange a été incubé à 25 °C pendant 10 min, ensuite 100 µL du réactif 2 (Folin 50 % v/v) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé à 25 °C pendant 30 min. L'absorbance a été lue à 750 nm contre le blanc. Le blanc a été constitué avec de l'eau distillée et les réactifs 1 et 2. Le sérum albumine bovin (BSA) a été utilisé comme étalon.

❖ **Composition des réactifs A et B**

Réactif A (mélange à volume égal du Na₂CO₃ 2 % p/v avec le NaOH 0,4 % p/v) et réactif B (mélange à volume égal du CuSO₄ 1 % p/v avec le NaK tartrate 1 % p/v).

○ **Expression des résultats**

La formule suivante a servi au calcul et les résultats ont été exprimés en mg/mL.

$$[\text{Protéines totales}] \text{ en mg/mL} = \frac{\text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance étalon}} \times [\text{Etalon}]$$

$$\text{Avec } [\text{Etalon}] = 1 \text{ mg/mL}$$

II.8. Traitement et analyses des données

Le tableur Excel 2013 a été utilisé pour le traitement des données. Le logiciel *Statistical Package for Social Science* (SPSS) version 20.0 pour Windows a été utilisé pour l'analyse statistique des résultats. Le test *Analysis Of Variance* (ANOVA) a été utilisé pour l'analyse descriptive en général. Le test de Mann-Whitney U a été utilisé pour comparer les moyennes des groupes dans l'étude de toxicité subchronique. Le test *post-hoc* (LSD) a servi pour comparaison des moyennes entre différents groupes dans les autres études. La différence de significativité a été notée à $p < 0,05$. Les résultats ont été exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard sur la moyenne et/ou de pourcentages de variation.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Résultats partiels I

III.1.1.1. Teneur en composés phénoliques des extraits

Les teneurs en composés phénoliques des extraits sont représentées dans le tableau XII. Ce tableau montre que les teneurs en polyphénols totaux varient de 737,78 µg EC/g de MS (extrait aqueux des écorces de *T. acuminata*) à 2226 µg EC/g de MS d'extrait (Extrait hydroéthanolique des fruits de *V. doniana*). Les teneurs en flavonoïdes varient de 6,18 µg EQ/g de MS (extrait hydroéthanolique des fruits de *V. doniana*) à 53,62 µg EQ/g de MS (extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum*). Les extraits hydroéthanoliques des fruits de *V. doniana* et aqueux des écorces de *D. microcarpum* ont présenté les meilleurs teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes respectivement.

Tableau XII : Teneur en composés phénoliques des extraits

Composés bioactifs	<i>V. doniana</i> (EHEF)	<i>T. acuminata</i> (EAF)	<i>D. microcarpum</i> (EAE)
Polyphénols totaux (µg EC/g de MS)	2226,67 ± 507,15 ^a	737,78 ± 39,06 ^b	777,50 ± 9,14 ^c
Flavonoïdes (µg EQ/g de MS)	6,18 ± 0,31 ^a	8,06 ± 0,16 ^b	53,62 ± 1,63 ^c

EAF : Extrait aqueux des fruits ; *EAE* : Extrait aqueux d'écorces ; *EHEF* : Extrait hydroéthanolique des fruits ; *EC* : Equivalent catéchine ; *EQ* : Equivalent quercétine ; *MS* : matière sèche ; *V. doniana* : *Vitex doniana* ; *T. acuminata* : *Trichoscypha acuminata* ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum*. Les valeurs portant les lettres différentes (a, b, c) dans les ligne sont significativement ($p < 0.05$) différents sur la même ligne.

III.1.1.2. Effets des extraits sur l'homéostasie glucidique chez des rats hyperglycémiques

➤ Effets des extraits sur la glycémie à jeun à court terme

Le tableau XIII présente les effets des extraits sur la glycémie à jeûn après 2h de traitement des rats hyperglycémiques. Alors que la glycémie du témoin positif est restée sensiblement constante durant 2h, celle des groupes traités avec les différents extraits a significativement baissé. Les taux de variation de la glycémie étaient de - 27,01% ; - 26,11% ; et -12,60% respectivement pour l'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum*, l'extrait hydroéthanolique des fruits de *V. doniana*, et l'extrait aqueux des fruits de *T. acuminata*.

Tableau XIII : Effets des extraits sur la glycémie post-prandiale chez les rats hyperglycémiques

Groupes	Glycémie en mg /dL	
	0 h	2h
Rats hyperglycémiques non traités (TP)	492,60 ± 16,6 (0)	485,20 ± 40,9 (-1,50%) ^a
Rats hyperglycémiques + 400mg/kg PC EAE de <i>D. microcarpum</i>	412,20 ± 50,19 (0)	300,85 ± 78,16 (-27.01%)* ^b
Rats hyperglycémiques + 400mg/kg PC d'EHEF de <i>V. doniana Sweet</i>	469,4 ± 32,3 (0)	346,8 ± 26,8* ^b (-26,11%)
Rats hyperglycémiques + 400mg/kg PC d'EAF de <i>T. acuminata</i>	463,2 ± 53,4 (0)	404,8 ± 33,1 (-12,60%)* ^c
Rats hyperglycémiques+ 400mg/kg PC de Sulfonulurées	411,6±12,36 (0)	342,97±21,12 (-16,67%)* ^d

n = 5 ; *V. doniana* : *Vitex doniana* ; *T. acuminata* : *Trichoscypha acuminata* ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum*. EAF : Extrait aqueux des fruits ; EAE : Extrait aqueux d'écorces ; EHEF : Extrait hydroéthanolique des fruits. Les valeurs entre parenthèse correspondent aux variations des glycémies en pourcentage par rapport à 0 h. * *p* < 0,05 : significativement différent comparé à 0 heure. ^{a, b, c et d} significativement différent dans la même colonne.

➤ **Effets des extraits sur la glycémie à jeun à moyen terme**

Le tableau XIV présente les effets des extraits sur la glycémie à jeun après 14 jours de traitement des rats hyperglycémiques. La glycémie est restée relativement stable chez le témoin positif tout au long de l'expérimentation. Cependant, il a été noté une diminution significative et progressive de la glycémie dans les groupes traités avec les extraits jusqu'au terme de l'expérimentation. Les variations de la glycémie étaient de 75,06%, 80,23% et 74,64% respectivement pour l'extrait hydroéthanolique des fruits de *V. doniana*, l'extrait aqueux des fruits de *T. acuminata* et l'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum*. Aucune différence significative n'a été notée entre les groupes tests et le groupe de référence (Sulfonylurée).

Tableau XIV : Effets des extraits sur la glycémie à jeûn chez les rats hyperglycémiques

Groupes	Glycémie (mg/dL)		
	Jour 0	7 jours	14 jours
Rats hyperglycémiques non traités (TP)	492,60 ± 73,60 (0) ^a	476,23 ± 64,70 (-3,32%) ^a	486,62 ± 58,60 (-1,21%) ^a
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EAF <i>T. acuminata</i>	463,20 ± 112,40 (0) ^a	134,48 ± 53,60* (-70,97%) ^b	115,50 ± 95,80* (-75,06%) ^b
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EHEF <i>V. doniana Sweet</i>	469,40 ± 76,20 (0) ^a	242,63 ± 126,50* (-48,10%) ^c	92,80 ± 39,80* (-80,23%) ^b
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	330,20 ± 52,09 (0) ^a	102,20 ± 16,78* (-52,19) ^{bc}	85,40 ± 09,66* (-74,64) ^b
Rats diabétiques + 400 mg/kg PC de Sulfonylurées	411,60 ± 12,36 (0) ^a	162,94 ± 14,73* (-60,41%) ^{bc}	93,67 ± 8,81* (-77,23%) ^b

n = 5 ; *V. doniana* : *Vitex doniana* ; *T. acuminata* : *Trichoscypha acuminata* ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum*. TP : témoin positif. EAF : extrait aqueux des fruits ; EHEF : extrait hydroéthanolique des fruits ; EAE : extrait aqueux d'écorces ; PC : poids corporel. Les valeurs entre parenthèse correspondent aux variations des glycémies en pourcentage par rapport au jour 0. * *P* < 0,05 ; significativement différent comparé au jour 0. Les valeurs portant les lettres différentes (a, b, c) dans la même colonne sont significativement (*p*<0.05) différents.

➤ Effets des extraits sur l'insulinorésistance

Les effets des extraits sur l'insulinorésistance (IR) sont mentionnés dans le tableau XV. Aucune différence significative n'a été notée entre le groupe recevant l'extrait hydroéthanolique des fruits de *V. doniana* (4,51 ± 0,34) en comparaison au TP (4,75 ± 0,85). Tandis que, l'IR était significativement plus faible dans le groupe qui recevait l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum* (2,76 ± 0,77) comparé au TP. Le groupe recevant l'extrait aqueux des fruits de *T. acuminata* (11,70 ± 0,65) a présenté un indice d'insulinorésistance supérieur à celui du TP). Le composé de référence a significativement réduit l'insulinorésistance en comparaison aux groupes essais.

Tableau XV : Effets des extraits sur l'insulinorésistance chez les rats hyperglycémiques

Groupes	IR
Rats hyperglycémiques non traités (TP)	4,75 ± 0,85 ^a
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EHEF de <i>V. doniana</i>	4,51 ± 0,34 ^a
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EAF <i>T. acuminata</i>	11,70 ± 0,65 ^b
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	2,76 ± 0,77 ^b
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC de Sulfonylurées	2,48 ± 0,12 ^c

n = 5 ; IR : insulinorésistance. TP : témoin positif. EAF : extrait aqueux des fruits. EHEF : extrait hydroéthanolique des fruits. EAE : extrait aqueux d'écorces. PC : poids corporel. Les valeurs portant les lettres différentes (a, b, c) dans la même colonne sont significativement ($p < 0.05$) différents.

III.1.1.3. Effets des extraits sur l'homéostasie lipidique chez des rats hyperglycémiques

➤ Effets des extraits sur les marqueurs du profil lipidique

Les effets des extraits sur le métabolisme lipidique sont mentionnés dans le tableau XVI. L'extrait aqueux des fruits de *T. acuminata* a entraîné des taux significativement bas de cholestérol total en comparaison au TP (96,12 vs 118,43 mg/dL). Mais aussi, l'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum* a présenté des effets bénéfiques sur le HDL-c et les triglycérides, avec des taux significativement élevés de HDL-c (27,27 vs 18) et bas de triglycérides (61,65 vs 85,43) en comparaison au TP. Aucune différence significative n'a été notée avec le LDL-c entre les différents groupes. Le composé de référence (Sulfonylurée) a présenté des effets similaires aux extraits les plus actifs sur chacun des paramètres. L'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum* a présenté les meilleurs effets sur les marqueurs du profil lipidique.

Tableau XVI : Effets des extraits sur le profil lipidique chez les rats hyperglycémiques

Groupes	CT (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)	Triglycérides (mg/dL)
Rats hyperglycémiques non traités (TP)	118,43 ± 16,67 ^a	18 ± 2,52 ^a	71,39 ± 9,31 ^a	85,43 ± 15,16 ^a
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EHEF de <i>V. doniana</i>	105,73 ± 20,19 ^a	19,67 ± 3,51 ^a	68,87 ± 10,46 ^a	88,84 ± 5,22 ^a
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EAF <i>T. acuminata</i>	96,12 ± 16,16 ^b	9,67 ± 2,02 ^b	63,87 ± 10,10 ^a	113,15 ± 18,98 ^a
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	109,07 ± 10,6 ^a	27,27 ± 10,92 ^c	66,12 ± 9,16 ^a	61,65 ± 6,36 ^b
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC de Sulfonylurées	98,20 ± 6,16 ^b	24,40 ± 2,31 ^c	60,22 ± 8,34 ^a	60,5 ± 23,76 ^b

n = 5 : TP : témoin positif. EAF : extrait aqueux des fruits. EHEF : extrait hydroéthanolique des fruits. EAE : extrait aqueux d'écorces. PC : poids corporel. CT : Cholestérol Total. Les valeurs portant les lettres différentes (a, b, c) dans la même colonne sont significativement (*p* < 0.05) différents.

III.1.1.4. Effets des extraits sur le stress oxydant chez des rats hyperglycémiques

➤ Effets sur le statut pro oxydant

Les effets des extraits sur le statut pro oxydant ont été évalués à travers le dosage du SRATB et représentés dans le tableau XVII. L'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum* a significativement réduit les taux de SRATB en comparaison au TP dans le cœur (1,03 μM vs 1,36 μM), le foie (1,13 μM vs 1,35 μM) et le plasma (0,78 μM vs 1,08 μM). Par contre, aucun effet significatif n'a été noté avec l'extrait hydroéthanolique des fruits de *V. doniana*. Tandis que l'extrait aqueux des fruits de *T. acuminata* a significativement augmenté les taux de SRATB plasmatiques en comparaison au TP (1,35 μM vs 1,08 μM). L'extrait aqueux des

écorces de *D. microcarpum* a été plus efficace que la référence (Sulfonylurée) dans le foie et le cœur, et a présenté la meilleure inhibition de la production du SRATB.

Tableau XVII : Effets des extraits sur les taux de SRATB chez les rats hyperglycémiques

Groupes	SRATB (μM)		
	Cœur	Foie	Plasma
Rats hyperglycémiques non traités (TP)	1,36 \pm 0,19 ^a	1,35 \pm 0,08 ^a	1,08 \pm 0,15 ^a
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EAF de <i>T. acuminata</i>	1,43 \pm 0,10 ^a	1,48 \pm 0,33 ^a	1,35 \pm 0,12 ^b
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EHEF de <i>V. doniana Sweet</i>	1,50 \pm 0,19 ^a	1,35 \pm 0,26 ^a	1,14 \pm 0,17 ^a
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	1,03 \pm 0,10 ^b	1,13 \pm 0,22 ^b	0,78 \pm 0,05 ^c
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg de PC de Sulfonylurées	1,33 \pm 0,19 ^a	1,43 \pm 0,35 ^a	0,83 \pm 0,11 ^c

n = 5 ; TP : témoin positif ; EAF : extrait aqueux des fruits. EHEF : extrait hydroéthanolique des fruits. EAE : extrait aqueux d'écorces ; PC : poids corporel ; SRATB : substances réactives à l'acide thiobaburique ; Les valeurs portant les lettres différentes (a, b, c) dans la même colonne sont significativement (*p*<0.05) différents.

➤ Effets sur le statut antioxydant

Les effets des extraits sur le statut antioxydant ont été évalués à travers l'évaluation de l'activité de la Catalase et représentés dans le tableau XVIII. Aucune différence significative de l'activité de cette enzyme n'a été notée entre les différents groupes que ce soit au niveau du cœur ou du foie. Au niveau érythrocytaire, l'extrait hydroéthanolique des fruits de *V. doniana* et l'extrait aqueux des fruits de *T. acuminata* ont entraîné une activité significativement basse de Catalase en comparaison au TP (2,91 et 2,68 μM de H_2O_2 consommé/minute respectivement vs 3,46 μM de H_2O_2 consommé/minute). Tandis que l'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum* a entraîné une activité significativement élevée de Catalase en comparaison au TP (4,91 vs 3,46 μM de H_2O_2 consommé/minute). Le groupe référence (Sulfonylurée) a entraîné une activité élevée par rapport aux extraits hydroéthanolique des fruits de *V. doniana* et aqueux des fruits de *T. acuminata*, basse par rapport à l'extrait aqueux des écorces de *D.*

microcarpum. L'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum* a été le plus efficace sur l'activité de la catalase.

Tableau XVIII : Effets des extraits sur l'activité de la catalase chez les rats hyperglycémiques

Groupes	Catalase (μM de H_2O_2 consommé/minute)		
	Cœur	Foie	Hémolysât
Rats hyperglycémiques non traités (TP)	$3,56 \pm 0,10^a$	$3,20 \pm 0,09^a$	$3,46 \pm 0,27^a$
Rats hyperglycémiques + 400mg/Kg de PC de l'EHE <i>V. doniana</i>	$3,38 \pm 0,04^a$	$3,09 \pm 0,08^a$	$2,91 \pm 0,09^b$
Rats hyperglycémiques + 400mg/Kg de PC de l'EA de <i>T. acuminata</i>	$3,60 \pm 0,12^a$	$3,15 \pm 0,03^a$	$2,68 \pm 0,03^b$
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg de PC d'EA de <i>D. microcarpum</i>	$3,61 \pm 0,22^a$	$3,05 \pm 0,13^a$	$4,91 \pm 0,01^c$
Rats hyperglycémiques + 400 mg/kg de PC de Sulfonulrées	$3,40 \pm 0,18^a$	$2,95 \pm 0,33^a$	$3,46 \pm 0,37^a$

$n = 5$; TP : témoin positif. EAF : extrait aqueux des fruits. EHEF : extrait hydroéthanolique des fruits. EAE : extrait aqueux d'écorces. PC : poids corporel. Les valeurs portant les lettres différentes (a, b, c) dans la même colonne sont significativement ($p < 0,05$) différents.

III.1.1.5. Modes d'actions des extraits

Propriétés antioxydantes des extraits

➤ Pouvoir antiradicalaire

Le pouvoir antiradicalaire des extraits a été évalué à travers le test de piégeage du radical DPPH, dont les résultats sont exprimés en CP_{50} (tableau XIX). Les différents extraits ont piégé le radical DPPH avec des CP_{50} de 0,53 et 0,76 mg/mL respectivement pour l'extrait hydroéthanolique des fruits de *V. doniana* et l'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum*. La CP_{50} de l'extrait aqueux des fruits de *T. acuminata* n'a pas été déterminé, car ce dernier a entraîné des pourcentages de piégeage inférieurs à 50%.

Tableau XIX : Pouvoir antiradicalaire des extraits

Extraits	CP ₅₀ (mg/mL)
Extrait hydroéthanolique des fruits de <i>V. doniana</i>	0,53 ^a
Extrait aqueux des fruits de <i>T. acuminata</i>	ND
Extrait aqueux des écorces de <i>D. microcarpum</i>	0,76 ^b
Catéchine	1,45 ^c

CP₅₀: concentration de piégeage 50 ; ND : Non déterminé ; les valeurs marquées par des lettres (a, b et c) dans la même colonne sont significativement différent à $p < 0,05$.

➤ **Pouvoir réducteur**

Le pouvoir réducteur des extraits a été évalué à travers leur Capacité Antioxydante Totale (tableau XX). Les différents extraits ont réduit le phosphomolybdène VI en phosphomolybdène V, matérialisé par une CAT variant de 1,34 à 3,13 mg EAA/g MS pour l'extrait hydroéthanolique des fruits de *V. doniana* ; de 2,18 à 3,94 mg EAA/g MS pour l'extrait aqueux des fruits de *T. acuminata* ; de 3,41 à 4,95 mg EAA/g MS pour l'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum*. L'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum* a présenté le meilleur pouvoir réducteur.

Tableau XX : Capacité Antioxydante Totale des extraits

Extrait (mg/mL)	Capacité Antioxydante Totale (mg EAA/g MS)				
	1,25	2,50	5,00	7,25	10,00
Extrait hydroéthanolique des fruits de <i>V. doniana</i>	1,34±0.42 ^a	1,88±0.12 ^a	2,41±0.31 ^a	2,54±0.05 ^a	3,13±0.1 ^a
Extrait aqueux des fruits de <i>T. acuminata</i>	2,18±0,15 ^b	2,54±0,09 ^b	2,89±0,11 ^b	3,90±0,21 ^b	3,94±0,4 ^b
Extrait aqueux des écorces de <i>D. microcarpum</i>	3,41±0,83 ^c	3,54±0,26 ^c	3,88±0,3 ^c	4,25±0,44 ^c	4,95±0,16 ^c

EAA: équivalent d'acide ascorbique ; MS : matière sèche ; *V. doniana* : *Vitex doniana* ; *T. acuminata* : *Trichoscypha acuminata* ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum*. Les valeurs portant les lettres différentes (a, b, c) sont significativement ($p < 0.05$) différents dans la même colonne.

🌈 Propriétés hypoglycémiantes des extraits

➤ Pouvoir glucophagique

Le pouvoir glucophagique des extraits a été exprimé en pourcentages de capture de glucose et représenté dans le tableau XXI. Tous les trois extraits avaient un pouvoir glucophagique qui a été concentration dépendante. Il variait de 54,34 à 68,79% pour l'extrait de *V. doniana*, de 16 à 28,64% pour l'extrait de *T. acuminata*, et de 32,98 à 73,02% pour l'extrait de *D. microcarpum*. L'extrait aqueux des écorces de *D. microcarpum* a présenté la meilleure activité glucophagique.

Tableau XXI : Pouvoir glucophagique des extraits

Extraits (mg/mL)	Capture du glucose (%)			
	2,50	5,00	7,50	10,00
Extrait hydroéthanolique des fruits de <i>V. doniana</i>	54,34±0,78 ^a	60,72±1,99 ^a	66,79±0,56 ^a	68,79±0,64 ^a
Extrait aqueux des fruits de <i>T. acuminata</i>	16,13±0,89 ^b	17,77±1,62 ^b	23,64±1,99 ^b	28,39±0,65 ^b
Extrait aqueux des écorces de <i>D. microcarpum</i>	32,98±1,94 ^c	55,00±1,13 ^c	60,27±0,20 ^c	73,02±0,28 ^c

V. doniana : *Vitex doniana* ; *T. acuminata* : *Trichoscypha acuminata* ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum*. Les valeurs portant les lettres différentes (a, b, c) sont significativement ($p < 0.05$) différents dans la même colonne.

➤ Capture du glucose par les cellules musculaires

Les effets des extraits sur la capture du glucose par les cellules insulino-dépendantes ont été évalués par le test d'absorption musculaire du glucose (tableau XXII). L'insuline a stimulé l'absorption musculaire du glucose de 26,52 et 42,36% respectivement après 30 et 60 min, aucun extrait n'a eu d'effets sur la capture musculaire du glucose.

Tableau XXII : Effets des extraits sur l'absorption musculaire du glucose

Groupes	[Extraits]	Augmentation capture glucose (%)		
		0 min	30 min	60 min
Tissu Musculaire		0	0*	0*
Tissu Musculaire + Insuline		0	26,52	42,36
	5 mg/mL	0	0	0
Tissu Musculaire + Insuline + Extrait hydroéthanolique des fruits de <i>V. doniana</i>	7,5 mg/mL	0	0	0
	10 mg/mL	0	0	0
	5 mg/mL	0	0	0
Tissu Musculaire + Insuline + Extrait hydroéthanolique des fruits de <i>T. acuminata</i>	7,5 mg/mL	0	0	0
	10 mg/mL	0	0	0
	5 mg/mL	0	0	0
Tissu Musculaire + Insuline + Extrait aqueux des écorces de <i>D. microcarpum</i>	7,5 mg/mL	0	0	0
	10 mg/mL	0	0	0

V. doniana : *Vitex doniana* ; *T. acuminata* : *Trichoscypha acuminata* ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum*. Les valeurs portant les lettres différentes (a, b, c) et * sont significativement ($p < 0.05$) différents dans la même colonne.

III.2. Discussion

III.2.1. Discussion partielle I

Des études ont montré que la présence des composés phénoliques dans les plantes à l'instar des fruits et des écorces peut être bénéfique pour la santé. Ces composés sont de puissants antioxydants et peuvent fournir une protection contre l'inflammation, l'athérosclérose, le cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives et cardiovasculaires (Fernandez-Panchon *et al.*, 2008). Partant de ces connaissances, la première partie de cette étude a porté sur l'identification du meilleur extrait de plantes, sur la base des effets sur le stress

oxydant, l'homéostasie glucidique et lipidique chez un modèle de rats rendus hyperglycémiques. Au préalable, une quantification des composés phénoliques a été effectuée dans les extraits de chacune des plantes d'étude. Les résultats obtenus ont montré que l'EHEF de *V. doniana Sweet*, l'EAE des fruits de *T. acuminata* et des écorces de *D. microcarpum* sont riches en composés phénoliques. Ceci donne ainsi une prévision concernant l'activité biologique de ces trois plantes car ces composés phytochimiques sont connus pour leurs effets pharmacologiques et semblent être impliqués dans de nombreuses activités biologiques.

L'effet des trois extraits sur l'homéostasie glucidique et lipidique, et sur le stress oxydant a été étudié en utilisant un modèle de rats rendus hyperglycémique à l'aide de la streptozotocine (STZ) (Szkudelski, 2001). Ce dernier est une glucosamine-nitrosourée possédant une forte activité anti-néoplasique. C'est un analogue du glucose pour le récepteur GLUT2 qui est abondamment exprimé dans les cellules β pancréatiques des rongeurs et entraîne une hyperglycémie associée au stress oxydant. Dans cette approche, l'évolution de la glycémie à jeun, à court (durant 2 heures) et à moyen terme, a été effectuée. Afin de tester l'activité hypoglycémiant des trois extraits, une dose de 400 mg/kg a été choisie en se basant sur une étude faite avec un extrait de plantes sauvages (Matsinkou *et al.*, 2012). L'analyse de l'évolution de la glycémie des rats hyperglycémiques durant 2 heures a montré une diminution significative de la glycémie par rapport à l'état basal de l'ordre de 26,11 % pour l'EHEF de *V. doniana Sweet*, 12,57 % pour l'EAF de *T. acuminata* et 27,01 % pour l'EAE de *D. microcarpum*. A moyen terme, cet effet hypoglycémiant était maintenu durant le traitement où la glycémie était devenue normale dans les groupes de rats hyperglycémiques traités. Des taux de réduction de 80,23 % ; 75,06 % et 74,64 % ont été notés avec l'EHEF de *V. doniana Sweet*, l'EAF de *T. acuminata* et l'EAE de *D. microcarpum* respectivement. Les composés bioactifs contenus dans ces extraits, notamment les flavonoïdes sont reconnus pour leurs effets antihyperglycémiant et hypoglycémiant. L'effet hypoglycémiant de ces extraits pourrait être le résultat d'une potentialisation des effets de l'insuline, d'un insulino-mimétisme ou alors de la capture du glucose (effet glucophage) comme le présente les résultats du tableau XXI. L'activité hypoglycémiant de ces extraits résultent de leur capacité à complexer le glucose libre. Ce potentiel est associé à la présence des flavonoïdes qui peuvent se greffer au glucose libre *via* une liaison osidique. Cette dernière s'établit entre les groupements OH du glucose et celui des flavonoïdes pour former un complexe glycosyl-flavonoïdes. La formation d'un tel complexe entraîne une réduction de la quantité de glucose libre se traduisant par une diminution de la glycémie (Sameer *et al.*, 2016).

La prise en charge cible des molécules antihyperglycémiantes qui agissent en potentialisant les effets de l'insuline. Ces molécules sont principalement la classe des biguanides représentés par la metformine. Cette dernière permet de normaliser un niveau trop élevé de glucose en présence d'insuline. Elle inhibe la néoglucogenèse et la glycogénolyse (**Henquin, 2005**). Pour soutenir cette hypothèse, les thiazolidinediones peuvent également être ajoutés. Ces principes actifs sont des potentialisateurs d'insuline puissants. En se fixant sur le *Peroxisome proliferator activated receptors* (PPARs), ils agissent sur les adipocytes contribuant à trois effets : la potentialisation de l'effet de l'insuline sur le stockage et le métabolisme des acides gras libres, l'induction de la production des adipocytokines (adiponectine, leptine) augmentant la sensibilité des cellules (muscle et foie) à l'insuline et la diminution de la production des facteurs induisant l'insulinorésistance tels que le *Tumor necrosis factor alpha* (TNF α) et la résistine (**Wagner, 2002**). Des études ont rapporté que le développement de la résistance à l'insuline consécutif à une perturbation du signal insulinique se caractérise par une augmentation du glucose sanguin (**Fatma et al., 2016**). En effet, les flavonoïdes peuvent inhiber de façon compétitive les α -glucosidases ou α -amylases d'une part. Ces flavonoïdes amélioreraient aussi la sensibilité à l'insuline, laquelle résulterait de la stimulation des récepteurs de l'insuline, des transporteurs du glucose et même de l'activation de certaines incrélines associées à une stimulation de la sécrétion d'insuline provoquant une diminution du taux de glucose sanguin (**Anderson et al., 2009**) d'autre part.

L'hyperglycémie est également associée à une hyperlipidémie qui provoque de profondes anomalies dans la concentration et la composition des lipides. Ces anomalies représentent un important facteur de risque de maladies cardiovasculaires (**Yusuf et al., 2020**). De même, il a été indiqué que l'élévation des lipides sériques chez les rats hyperglycémiques par la STZ joue un rôle important dans la pathologie du diabète (**Sharma et al., 2008**). Dans cette partie, des concentrations plasmatiques élevées du cholestérol total (CT), de LDL-c et des triglycérides chez les rats hyperglycémiques non traités ont été notées (tableau XVI). En effet, la forte concentration anormale des lipides sériques observée chez les sujets diabétiques est essentiellement due à l'augmentation de la mobilisation des acides gras à partir des tissus adipeux (**Sharma et al., 2008**). Par ailleurs, **Yusuf et al. (2020)** rapportent que la carence en insuline ou l'insulinorésistance peut être responsable d'une hyperlipidémie car l'insuline a une action inhibitrice sur le 3-hydroxy-3-méthyle-glutaryl coenzyme A réductase (HMG-COA réductase), une enzyme clé dans la biosynthèse du cholestérol. De même, **Turpin (1997)** a démontré que l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL), enzyme responsable de l'hydrolyse des

triglycérides, est diminuée chez les diabétiques de type 2. Ceci explique l'hypertriglycéridémie chez les rats témoins diabétiques. **Taskinen (1992)** a montré que la synthèse hépatique de triglycérides est élevée chez les diabétiques de type 2. Cette étude a montré que les rats hyperglycémiques traités avec les trois extraits avaient des concentrations plasmatiques de TG et CT significativement ($p < 0,05$) plus basse que les rats hyperglycémiques non traités (tableau XVI). La diminution du cholestérol peut résulter de la modification du métabolisme des lipoprotéines en augmentant l'activité de la Lécithine Cholestérol Acyl Transférase ou en augmentant l'absorption des LDL par augmentation de leurs récepteurs. Cette dernière interprétation semble être la plus probable surtout qu'on a noté une diminution du LDL-c dans les trois groupes essais (tableau XVI). Ainsi, la diminution du LDL-c considéré par **Masson (2007)** comme mauvais cholestérol proviendrait d'une augmentation du métabolisme des lipoprotéines avec augmentation de l'activité de la Lécithine Cholestérol Acyl Transférase (**Khanna et al., 2002**). Le lien entre dyslipidémie et les maladies cardio-vasculaires est particulièrement bien établi. L'élévation du cholestérol total et du LDL-c est associée à une augmentation du risque cardio-vasculaire de façon curvi-linéaire. Une faible concentration de HDL-c peut être considérée comme un facteur de risque supplémentaire, alors qu'une concentration élevée de HDL-c est un facteur de protection. Du fait de cette relation inverse, les résultats obtenus ont montré des taux de HDL-c élevés dans les groupes de rats hyperglycémiques traités avec l'EHEF de *V. doniana* et l'EAE de *D. microcarpum* (tableau XVI).

Chez les patients diabétiques, on assiste à une production accrues des EORs lesquelles entraînent la peroxydation lipidique. Il a été suggéré que le stress oxydant est responsable de la pathophysiologie du diabète, surtout qu'un traitement associé aux antioxydants a montré une amélioration et une prévention contre les complications cardiovasculaires (**Rycheter et al., 2022**). L'hyperglycémie provoque la glycation non enzymatique des protéines suivant la réaction de Maillard et altère le métabolisme énergétique. Ceci peut conduire aux taux élevés d'EORs et au développement des complications du diabète (**Vinik et Flemmer, 2002**). Le stress oxydant pendant le diabète inclut aussi le déséquilibre de la balance redox provenant de l'altération du métabolisme des lipides et des glucides, de l'augmentation de la production des EORs par la glycation, la peroxydation lipidique, et de la diminution de la défense antioxydante. Tous ces facteurs ont conduit à suggérer que les antioxydants, en piègeant les EORs, peuvent améliorer l'hyperglycémie et prévenir le développement des complications. Ainsi, il a été évalué l'effet des extraits sur la peroxydation lipidique chez des rats hyperglycémiques. Ces

paramètres du stress oxydant ont été évalués au niveau du plasma, du foie, du cœur et des érythrocytes, représentant certains sites de complications associées au diabète et dans lesquelles le stress oxydant semble jouer un rôle crucial (**Girona et al., 2008**). Les résultats obtenus ont révélé une augmentation significative des SRATB au niveau du plasma, foie, cœurs et érythrocytes des rats hyperglycémiques non traités (tableau XVII). Ces résultats sont en accord avec ceux présentés par **Hamden en 2008**, qui a montré une élévation du taux de SRATB chez des rats rendus diabétiques par la STZ. L'augmentation du taux de SRATB indique l'augmentation de la peroxydation lipidique et le degré des dommages au niveau de ces organes (**Hamden, 2008**). Ainsi, l'administration des extraits a entraîné une diminution des taux de SRATB tant au niveau plasmatique que tissulaire (cœur, foie et érythrocytes) (tableau XVII). Ceci se justifie par les pouvoirs antiradicalaire et réducteur de l'extrait comme le montre les résultats des tableaux XIX et XX. Cette activité est majoritairement attribuée aux flavonoïdes qui sont capables de piéger les radicaux libres et chélater les ions métalliques impliqués dans les réactions rédox. En effet, les flavonoïdes sont capables de transférer des hydrogènes et/ou électrons à des composés hyperactifs les rendant moins actifs et plus stables (**Nabila et al., 2009**). Ces flavonoïdes peuvent aussi inhiber certains facteurs de transcription de réactions d'oxydations et les enzymes pro-oxydantes induisant la peroxydation lipidique (**Rizwana et al., 2016**). Ces résultats suggèrent la capacité des extraits à protéger les tissus contre la peroxydation lipidique du fait de la présence des flavonoïdes. L'effet des extraits a également été évalué sur l'activité de la catalase (tableau XVIII), une enzyme du système antioxydant intracellulaire. Laquelle, est impliquée dans la réduction de H_2O_2 en O_2 et H_2O après la dismutation de O_2^- (radical très réactif) en O_2 et en H_2O_2 . (**Kaushal et al., 2018**). Ceci justifiant, l'activité élevée de la catalase dans le foie ($p < 0,05$). Au niveau de l'hémolysât (EHEF de *V. doniana* et EA de *T. acuminata*), l'activité de la catalase du groupe qui recevait l'extrait, était significativement faible par rapport au TP. Cette observation serait attribuable aux flavonoïdes qui, *via* leur groupement OH, ont la capacité d'établir des liaisons osidiques avec le H_2O_2 le rendant non réactif. Les variabilités d'activités de la catalase, traduisent la capacité protectrice des extraits face aux altérations induites par les prooxydants (radicaux libres, ions métalliques), comme le montre les taux faibles de SRATB obtenus au niveau tissulaire et plasmatique.

Conclusion partielle I

Rendu au terme de cette première partie dont l'objectif a été d'identifier le meilleur extrait de trois plantes (*V. doniana*, *T. acuminata* et *D. microcarpum*), sur la base des effets sur le stress oxydant, l'homéostasie glucidique et lipidique sur un modèle de rats rendus hyperglycémiques, il est à retenir que les trois extraits de ces plantes possèdent des:

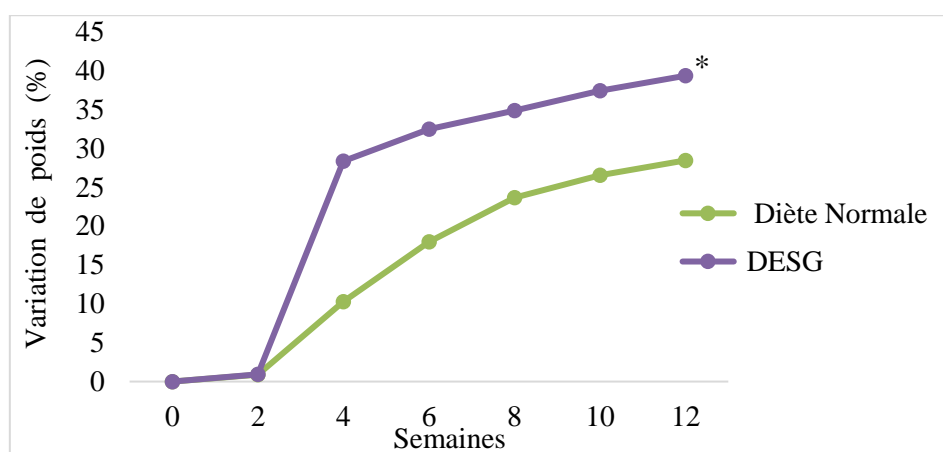
- Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux variant d'un extrait à l'autre. Mais, l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum* avait la meilleure teneur en flavonoïdes ;
- Effets bénéfiques sur le stress oxydatif, avec une meilleure efficacité obtenue avec l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum* ;
- Effets bénéfiques tant sur l'homéostasie glucidique que lipidique. Cependant, l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum* était plus active.

De ces trois extraits de plantes, l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum* a présenté la meilleure activité dans l'ensemble.

III.1.2. Résultats partiels II

III.1.2.1. Evolution du poids corporel des rats pendant l'induction de l'athérogénicité

Il a été noté à partir de la 2^e semaine, une augmentation plus importante du poids des rats soumis à l'alimentation athérogène en comparaison aux rats qui ne prenaient que l'alimentation normale (figure 57). En comparaison aux poids initiaux des rats, il a été noté au terme des 12 semaines d'induction de l'athérogénicité, une augmentation de poids de 39,31% dans le groupe soumis à l'alimentation athérogène, contre 28,43% chez le groupe qui prenait l'alimentation normale ($p < 0,05$).

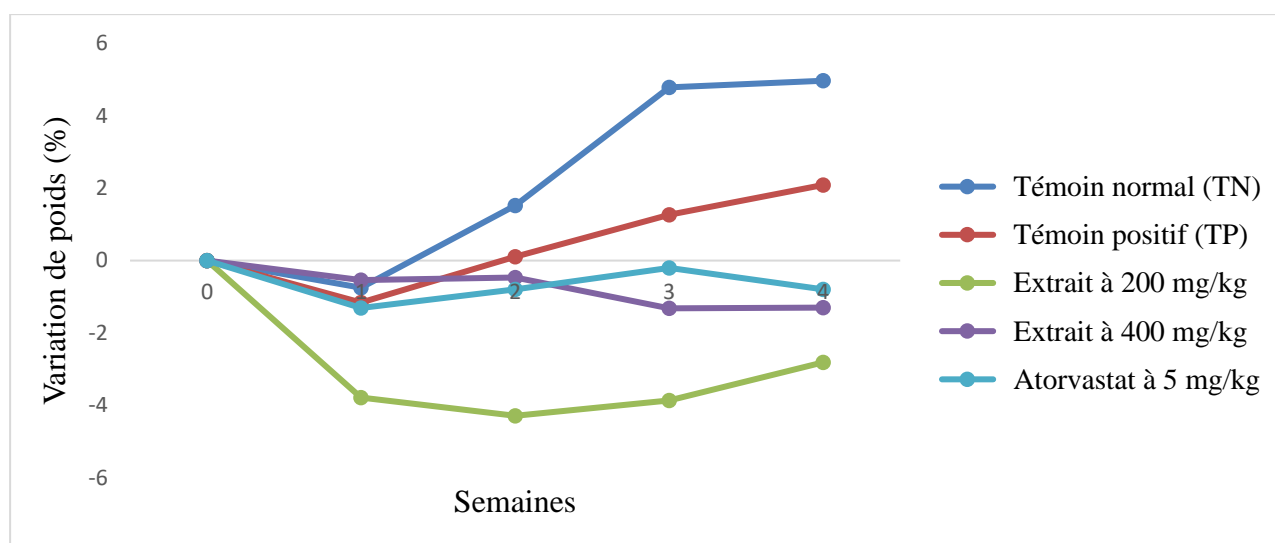


n = 5 ; DESG : diète enrichie en sucre et en graisse

Figure 57 : Evolution du poids corporel des rats tout au long de l'induction de l'athérogénicité

III.1.2.2. Effets de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* sur le poids corporel chez les rats athérogéniques

La figure 58 montre l'effet de l'extrait sur l'évolution du poids corporel chez les rats athérogéniques. Tout au long de l'expérimentation, il a été observé une augmentation du poids des rats du groupe témoin normal comparé à celui du groupe témoin positif. L'extrait administré concomitamment avec la diète athérogène aux 2 doses a limité la prise de poids en comparaison au TP (-2,8 et -1,3% respectivement à 200 et à 400 mg/kg vs 2,09% pour le TP). L'atorvastatine utilisée comme médicament de référence a montré une activité similaire à celle de l'extrait.



n = 5 , Atorvastat : atorvastatine

Figure 58 : Influence de l'administration de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* sur le poids corporel des rats soumis à l'alimentation athérogène

III.1.2.3. Effets de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* sur la prise alimentaire chez les rats athérogéniques

Le tableau XXIII montre l'effet de l'extrait sur la prise alimentaire chez les rats athérogéniques. De ces résultats, il ressort que la prise alimentaire était élevée ($p < 0,05$) chez les rats du groupe témoin normal en comparaison à ceux du témoin positif. L'administration de l'extrait à la dose de 200 mg/kg de PC et 400 mg/kg de PC, a entraîné une réduction significative de la prise alimentaire (7,61 et 7,79 g/jour respectivement) comparé au TP (8,90 g/jour). La prise alimentaire était plus élevée dans le groupe référence (atorvastatine) qu'aux groupes recevant l'extrait.

Tableau XXIII : Influence de l'administration de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* sur la consommation de la diète athérogène

Groupes	Aliments ingérés (g)/rat/jour
Rats + Diète normale (TN)	9,97 ± 0,59 ^a
Rats + DESG (TP)	8,90 ± 0,90 ^b
Rats + DESG + 200 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	7,61 ± 0,64 ^c
Rats + DESG + 400 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	7,79 ± 0,79 ^c
Rats + DESG + 5 mg/kg de PC d'atorvastatine	8,93 ± 0,49 ^a

n = 5, TN : témoin normal ; TP : témoin positif ; EAE : Extrait aqueux d'écorces ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum* ; DESG : diète enrichie en sucrose et graisses (diète athérogène) ; PC : poids corporel. les valeurs portant les lettres différentes (a, b et c) dans la même colonne sont significativement ($p < 0.05$) différents.

III.1.2.4. Effets cardioprotecteur de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* chez les rats athérogéniques

➤ Effets sur la fonction endothéliale et la protection contre la cytolysse cardiaque

Les effets de l'extrait sur la fonction endothéliale et la protection contre la cytolysse cardiaque ont été évalués respectivement en quantifiant le taux de NO plasmatique et cardiaque, et en déterminant l'activité de l'ASAT au niveau du cœur comme mentionnés dans le tableau XXIV. De ces résultats, il ressort que l'activité d'ASAT et le niveau de NO dans le cœur étaient significativement plus faible ($p < 0,05$) dans le témoin positif (TP) en comparaison au témoin normal (TN). Par contre, dans le plasma, cette teneur en NO a été plus élevée dans le TP par rapport au TN. Cependant, dans les groupes recevant l'extrait à 200 mg/kg et 400 mg/kg, la teneur de NO (36,15 et 38,24 μM respectivement à 200 et 400 mg/mL vs 33,67 μM pour le TP) et l'activité d'ASAT cardiaque (44,17 et 43,33 UI/L vs 49,05 UI/L pour le TP) ont été plus élevées ($p < 0,05$) par rapport au TP. Mais, l'extrait aux mêmes doses a significativement entraîné une diminution de la teneur plasmatique en NO comparativement au TP (45,75 et 36,94 μM respectivement à 200 et 400 mg/mL vs 83,56 μM pour le TP). Aucune différence significative n'a été notée entre les groupes traités avec l'extrait et le composé de référence.

Tableau XXIV : Effets de l'extrait aqueux d'écorces sur le taux d'oxyde nitrique et l'activité de l'ASAT cardiaque

Groupes	Fonction endothéliale		Marqueur de la
	NO en μM (plasmatique)	NO en μM (cardiaque)	ASAT en UI/L (cardiaque)
Rats + Diète normale (TN)	32,69 \pm 1,94 ^a	42,72 \pm 0,93 ^a	49,05 \pm 0,39 ^a
Rats + DESG (TP)	83,56 \pm 2,68 ^b	33,67 \pm 0,20 ^b	41,66 \pm 0,51 ^b
Rats + DESG +200 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	45,75 \pm 0,70 ^c	36,15 \pm 0,64 ^c	44,17 \pm 0,46 ^c
Rats + DESG + 400 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	36,94 \pm 0,46 ^{ad}	38,24 \pm 0,44 ^d	43,33 \pm 0,47 ^d
Rats + DESG + 5 mg/kg de PC d'atorvastatine	23,95 \pm 0,34 ^c	37,54 \pm 0,62 ^c	44,05 \pm 0,58 ^e

n = 5, TN : témoin normal ; TP : témoin positif ; EAE : Extrait aqueux d'écorces ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum* ; DESG : diète enrichie en sucrose et en graisses (diète athérogène) ; NO : oxyde nitrique, ASAT : aspartate aminotransfrase ; PC : poids corporel. Les valeurs ayant des lettres différentes (a, b, c, d et e) dans la même colonne sont significativement ($p < 0,05$) différents.

➤ **Effets de l'extrait sur le ratio du risque cardiaque et l'indice cardioprotecteur**

Les effets de l'extrait sur les rapports du risque cardiaque (RRC), et l'indice cardioprotecteur (ICP) sont mentionnés dans le tableau XXV. Les ratios du risque cardiaque (RRC₁ et RRC₂) étaient plus élevés ($p < 0,05$) dans le groupe témoin positif en comparaison au groupe TN. L'administration de l'extrait à 200 mg/kg et 400 mg/kg a réduit ($p < 0,001$) RRC₁ (2,03 et 1,70 respectivement à 200 mg/kg et 400 mg/kg vs 5,58 pour le TP) et RRC₂ (0,68 et 0,39 respectivement à 200 mg/kg et 400 mg/kg vs 2,99 pour le TP) en comparaison au TP. Aucune différence significative n'a été notée entre les extraits et la référence.

Dans le même sens, l'indice cardioprotecteur (ICP) était plus bas ($p < 0,05$) dans le groupe témoin positif en comparaison au groupe TN. L'administration de l'extrait aux doses de 200 mg/kg et 400 mg/kg a augmenté ($p < 0,05$) le ICP (1,47 et 2,56 respectivement à 200 mg/kg

et 400 mg/kg vs 0,45 pour le TP) en comparaison au TP. L'atorvastatine a été plus efficace que l'extrait testé à deux doses.

Tableau XXV : Effets de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* sur le ratio du risque cardiaque et l'indice cardioprotecteur

Groupes	RRC ₁	RRC ₂	ICP
Rats + Diète normale (TN)	2,27 ± 0,14 ^a	1,06 ± 0,14 ^a	1,04 ± 0,14 ^a
Rats + DESG (TP)	5,58 ± 0,12 ^b	2,99 ± 0,03 ^b	0,45 ± 0,01 ^b
Rats + DESG +200 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	2,03 ± 0,04 ^a	0,68 ± 0,01 ^c	1,47 ± 0,01 ^c
Rats + DESG + 400 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	1,70 ± 0,03 ^a	0,39 ± 0,01 ^c	2,56 ± 0,07 ^d
Rats + DESG +5mg/kg de PC d'atorvastatine	1,84 ± 0,08 ^a	0,49 ± 0,02 ^c	2,06 ± 0,10 ^e

n = 5, TN : témoin normal ; TP : témoin positif ; EAE : Extrait aqueux d'écorces ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum* ; DESG : diète enrichie en sucrose et en graisses (diète athérogène) ; PC : poids corporel ; RRC : ratio du risque cardiaque ; ICP : indice de cardioprotection ; Les valeurs ayant les lettres différentes (a, b, c, d et e) dans la même colonne sont significativement ($p < 0,05$) différents.

III.1.2.5. Effets antiathérogène de l'extrait aqueux d'écorce de *Detarium microcarpum* chez les rats athérogéniques

➤ Effets sur l'homéostasie lipidique

Il a été effectué à travers l'évaluation des dyslipidémies et l'accumulation tissulaire des lipides.

✚ Effets sur les dyslipidémies

L'effet de l'extrait sur les dyslipidémies est présenté dans le tableau XXVI. Les résultats obtenus montrent que la diète athérogène a induit une augmentation ($p < 0,05$) des triglycérides, du cholestérol total, du LDL-c, du VLDL-c et du non HDL-c ; alliés à une diminution du HDL-c comparativement à la diète normale. L'extrait à 200 mg/kg et 400 mg/kg a significativement entraîné des taux faibles de triglycérides (77,61 et 85,65 mg/dL respectivement à 200 mg/kg et 400 mg/kg vs 129,90 mg/dL pour le TP), de LDL-c (31,02 et 21,17 mg/dL respectivement à 200 mg/kg et 400 mg/kg vs 49,55 mg/dL pour le TP), de VLDL-c (15,52 et 17,13 mg/dL

respectivement à 200 mg/kg et 400 mg/kg vs 25,98 mg/dL pour le TP) et de non HDL-c (46,54 et 38,30 mg/dL respectivement à 200 mg/kg et 400 mg/kg vs 75,53 mg/dL pour le TP) en comparaison au groupe TP. Des valeurs élevées ($p < 0,05$) de HDL-c ont aussi été observées dans les groupes traités (45,38 et 53,77 mg/dL respectivement à 200 mg/kg et 400 mg/kg vs 16,54 mg/dL pour le TP) en comparaison au groupe TP. L'extrait aux 2 doses n'a eu aucun effet sur le cholestérol total. De façon générale, l'extrait a été moins efficace que l'atorvastatine (hypolipémiant de référence) quelle qu'en soit la dose.

Tableau XXVI : Influence de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* sur les triglycérides, le cholestérol total, le HDL-c, le LDL-c, le VLDL-c et le non-HDL-c plasmatique

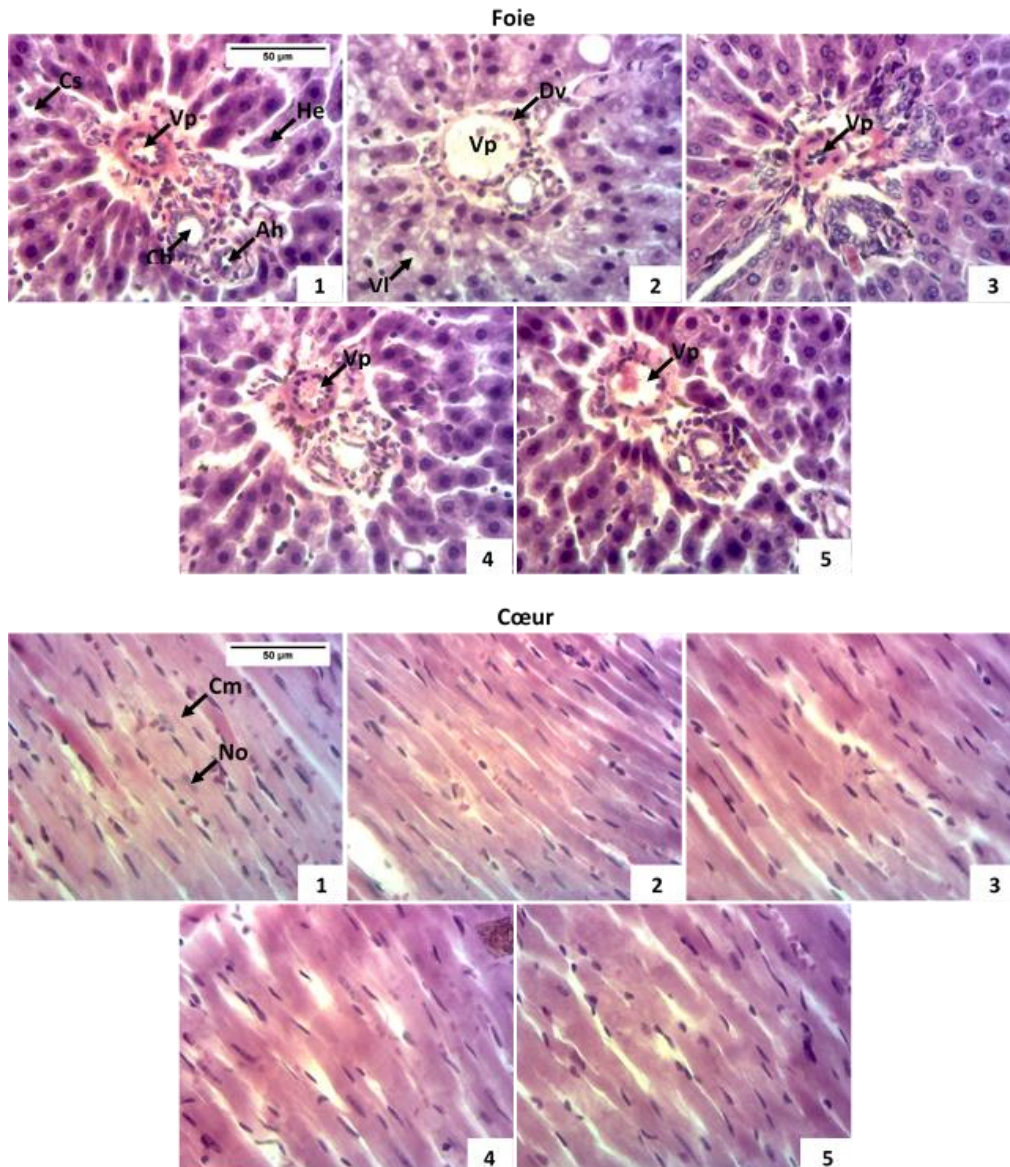
Groupes	TG (mg/dL)	CT (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)	VLDL-c (mg/dL)	non-HDL-c (mg/dL)
Rats + Diète normale (TN)	31,13 ± 3,12 ^a	65,07 ± 5,30 ^a	28,53 ± 0,60 ^a	30,31 ± 10,30 ^a	6,23 ± 0,28 ^a	36,75 ± 4,70 ^a
Rats + DESG (TP)	129,90 ± 0,40 ^b	92,07 ± 0,25 ^b	16,54 ± 0,41 ^b	49,55 ± 0,41 ^b	25,98 ± 0,08 ^b	75,53 ± 0,16 ^b
Rats + DESG +200 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	77,61 ± 0,60 ^c	91,92 ± 0,36 ^b	45,38 ± 0,99 ^c	31,02 ± 0,99 ^a	15,52 ± 0,12 ^c	46,54 ± 0,63 ^c
Rats + DESG + 400 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	85,65 ± 0,04 ^d	92,07 ± 0,60 ^b	53,77 ± 0,94 ^d	21,17 ± 0,94 ^c	17,13 ± 0,01 ^c	38,30 ± 0,34 ^a
Rats + DESG +5 mg/kg de PC d'atorvastatine	62,69 ± 4,48 ^e	65,43 ± 4,48 ^a	35,37 ± 0,91 ^a	17,53 ± 1,31 ^c	12,53 ± 0,90 ^c	30,06 ± 3,56 ^a

$n = 5$, TN : témoin normal ; TP : témoin positif ; EAE : Extrait aqueux d'écorces ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum*; CT : cholestérol total ; HDL-c : cholestérol HDL (high density lipoprotein) ; LDL-c : cholestérol LDL (low-density lipoprotein) ; TG : triglycérides ; VLDL-c : cholestérol VLDL (very low density lipoproteins cholesterol) ; DESG : diète enrichie en sucrose et en graisses (diète athérogène) ; PC : poids corporel. Les valeurs ayant les lettres différentes (a, b, c, d et e) dans la même colonne sont significativement ($p < 0,05$) différents.

✚ Effets sur l'accumulation tissulaire des lipides

L'effet de l'extrait sur l'accumulation des lipides a été évalué au niveau hépatique et cardiaque. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 59. Au niveau hépatique, l'analyse histologique a montré, chez le témoin normal, un tissu sain présentant clairement l'espace porte (Veine porte, artère hépatique, canalicule biliaire) et des travées d'hépatocytes séparées les unes

des autres par des capillaires sinusoides. Comparativement aux rats du groupe témoin normal, il a été observé chez les animaux du lot témoin positif plusieurs altérations histopathologiques marquées par la présence de vacuoles lipidiques et une dilatation de la veine porte. Concernant le groupe traité avec l'atorvastatine (composé de référence), tout comme ceux recevant l'extrait à différentes doses, il a été observé une réorganisation du foie proche de celle du témoin normal. Au niveau cardiaque, aucune accumulation de lipide, ni de différence n'ont été notées entre les différents groupes.



1 = TN ; 2 = TP ; 3 = Référence (Atorvastatine) ; 4, 5 = Lots recevant l'extrait aux doses respectives de 200 et de 400 mg/kg ; Foie ; Vp = Veine porte hépatique ; He = Hépatocyte ; Cs = Capillaire sinusoides ; Cb = Canalicule biliaire ; Vl = Vacuole lipidique ; Dv = Dilatation de la veine porte ; Cœur ; No = Noyau des fibres musculaires cardiaques ; Cm = Cardiomyocytes.

Figure 59 : Coupe histologique du foie et du cœur (X 250)

➤ **Effets de l'extrait sur l'insulinorésistance, les indices d'athérogénicité et la protection vasculaire**

L'effet de l'extrait de *D. microcarpum* sur l'insulinorésistance, les indices d'athérogénicité (coefficient athérogénique, indice athérogénique dans le plasma) et la protection vasculaire sont présentés dans le tableau XXVII. L'insulinorésistance, le coefficient athérogénique et l'indice athérogénique du plasma étaient plus élevés ($p < 0,05$) chez le témoin positif en comparaison au témoin normal, tandis que le pourcentage de protection vasculaire était plus bas. L'administration de l'extrait à 200 mg/kg et 400 mg/kg a diminué ($p < 0,05$) l'insulinorésistance (1,71 et 1,59 respectivement à 200 mg/kg et 400 mg/kg vs 7,88 pour le TP), le coefficient athérogénique (1,02 et 0,71 respectivement à 200 mg/kg et 400 mg/kg vs 4,58 pour le TP) et l'indice athérogénique du plasma (0,23 et 0,20 respectivement à 200 mg/kg et 400 mg/kg vs 0,90 pour le TP). Les 2 doses d'extrait ont également protégé les vaisseaux avec un pourcentage de protection vasculaire de 74,44 et 77,78% respectivement aux doses de 200 mg/kg et 400 mg/kg. Aucune différence significative n'a été notée entre les groupes traités avec l'extrait et le composé de référence (Atorvastatine) pour ces différents indices.

Tableau XXVII : Effets de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* sur la résistance à l'insuline, les indices d'athérogénicité et la protection vasculaire

Groupes	IR	CA	IAP	% PV
Rats + Diète normale (TN)	1,09 ± 0,03 ^a	1,27 ± 0,14 ^a	0,04 ± 0,01 ^a	-
Rats + DESG (TP)	7,88 ± 0,17 ^b	4,58 ± 0,12 ^b	0,90 ± 0,01 ^b	-
Rats + DESG +200 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	1,71 ± 0,02 ^a	1,02 ± 0,04 ^a	0,23 ± 0,01 ^a	74,44 ^a
Rats + DESG + 400 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	1,59 ± 0,03 ^a	0,71 ± 0,03 ^a	0,20 ± 0,01 ^a	77,78 ^a
Rats + DESG +5mg/kg de PC d'atorvastatine	1,76 ± 0,08 ^a	0,84 ± 0,08 ^a	0,24 ± 0,02 ^a	73,33 ^a

$n = 5$, TN : témoin normal ; TP : témoin positif ; EAE : Extrait aqueux d'écorces ; DESG : diète enrichie en sucrose et en graisses (diète athérogène) ; PC : poids corporel ; IR : insulinorésistance ; CA : coefficient athérogénique ; IAP : indice athérogénique du plasma ; % PV : pourcentage de protection vasculaire ; Les valeurs ayant les lettres différentes (a, b, c, d et e) dans la même colonne sont significativement ($p < 0,05$) différents.

III.1.2.6. Effets de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* sur la fonction hépatique et rénale chez les rats athérogéniques

Les effets de l'extrait sur l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité sont présentés dans le tableau XXVIII. Les résultats de ce tableau ont montré que la diète athérogène (TP) a entraîné une augmentation significative des activités plasmatiques de l'ALAT, l'ASAT et des protéines totales par rapport à la diète normale (TN). Dans le groupe qui recevait l'extrait à la dose de 200 mg/kg, il a été noté une baisse non significative de l'activité de l'ALAT (263,33 vs 275,73 UI/mL chez le TP), de l'activité de l'ASAT (133,31 vs 139,05 UI/mL chez le TP). Dans le groupe recevant l'extrait à la dose de 400 mg/kg, il a été noté une hausse non significative de l'activité de l'ALAT (300,19 UI/mL chez le TP), de l'activité de l'ASAT (148,70 UI/mL). Tandis que, il a été observé une baisse significative des protéines totales tant dans le groupe recevant l'extrait à 200 mg qu'à 400 mg (21,06 et 22,17 respectivement vs 31,44 chez le TP) Chez le groupe référence, les activités d'ALAT et d'ASAT étaient significativement basses en comparaison aux groupes extraits. Cependant, le contraire a été observé au niveau du taux de protéines totales. Aucune différence significative n'a été notée entre les différents groupes avec la créatinine.

Tableau XXVIII : Effets de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* sur l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité

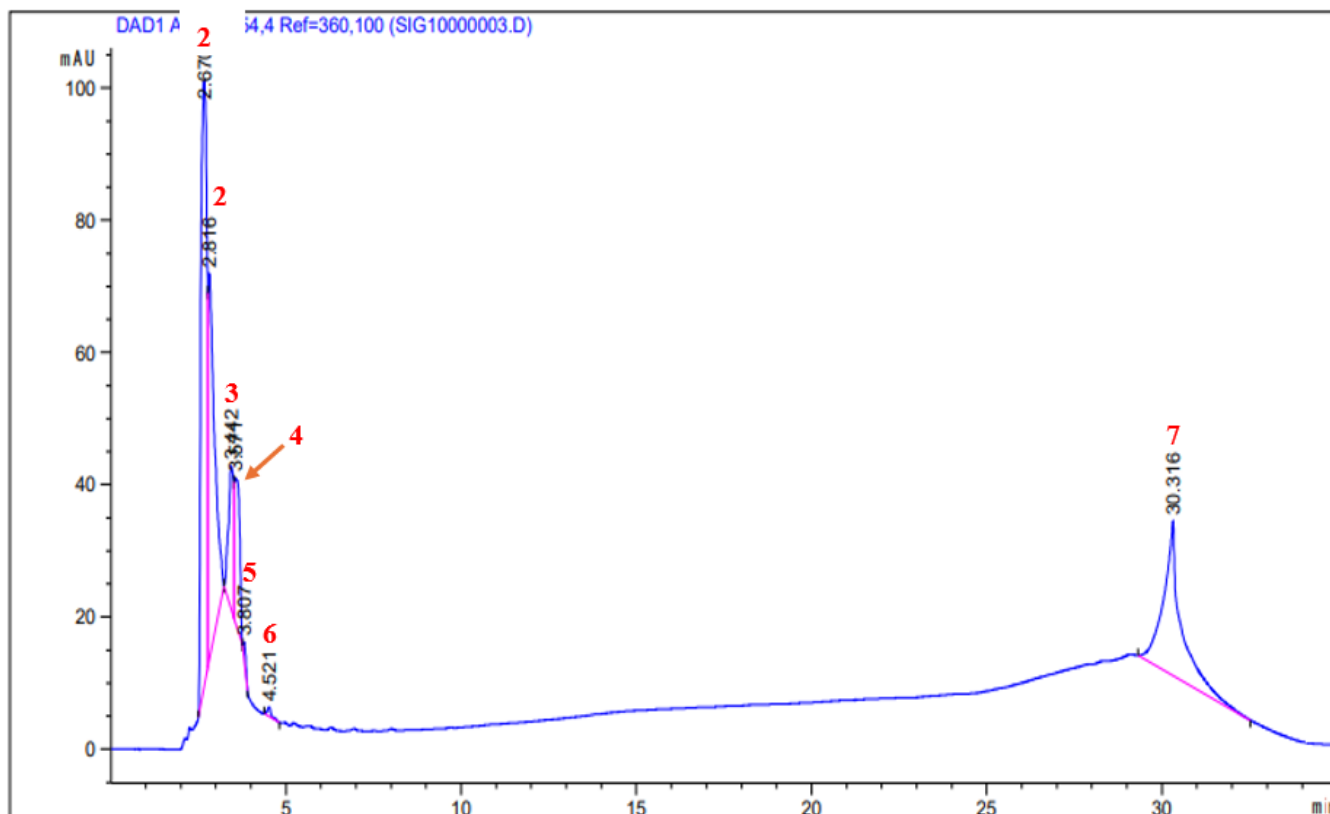
Groupes	Hépatotoxicité			Néphrotoxicité
	ALAT (UI/mL)	ASAT (UI/mL)	Protéines totales (g/mL)	Créatinine (mg/dL)
Rats + Diète normale (TN)	96,25 ± 2,98 ^a	80,53 ± 1,91 ^a	25,80 ± 2,23 ^a	10,66 ± 3,59 ^a
Rats + DESG (TP)	275,73 ± 17,84 ^b	139,05 ± 16,05 ^b	31,44 ± 0,25 ^b	17,44 ± 6,16 ^a
Rats + DESG +200 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	263,33 ± 17,27 ^b	133,31 ± 5,21 ^b	21,06 ± 0,28 ^c	16,14 ± 14,91 ^a
Rats + DESG + 400 mg/kg de PC d'EAE de <i>D. microcarpum</i>	300,19 ± 40,17 ^b	148,70 ± 9,41 ^b	22,17 ± 0,39 ^d	22,12 ± 3,39 ^a
Rats + DESG + 5 mg/kg de PC d'atorvastatine	54,13 ± 5,48 ^c	75,95 ± 13,50 ^a	29,33 ± 1,30 ^{ac}	13,78 ± 2,55 ^a

n = 5, TN : témoin normal ; TP : témoin positif ; EAE : Extrait aqueux d'écorces ; DESG : diète enrichie en sucrose et en graisses (diète athérogène) ; PC : poids corporel ; ALAT : alanine aminotransférase ; ASAT : aspartate aminotransférase ; Les valeurs ayant des lettres différentes (a, b, c, d et e) dans la même colonne sont significativement (*p* < 0,05) différents.

III.1.2.7. Composition chimique et prédiction de quelques modes d'action de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum*

III.1.2.7.1. Composition chimique de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum*

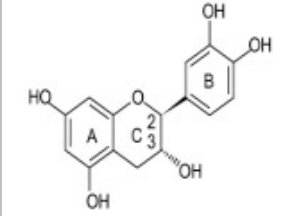
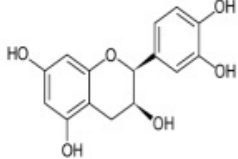
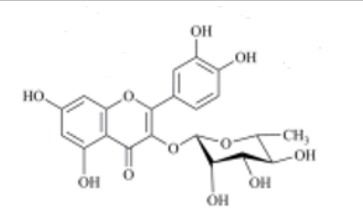
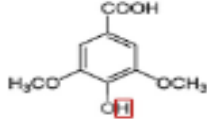
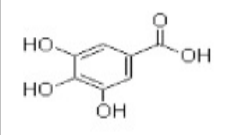
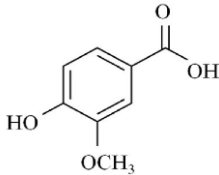
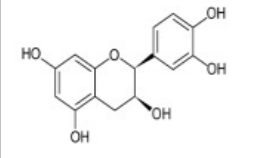
L'analyse des spectres de la figure 60 issus de l'analyse par HPLC-DAD de l'extrait aqueux de *D. microcarpum* a révélé la présence de la catéchine, épicatechine, quercitrine ou quercetin 3-O-rhamnoside, acide gallique, acide vanillique, acide syringique et acide férulique. La structure de ces différents composés est présentée dans le tableau XXIX.



1 : Catéchine ; 2 : Epicatechine ; 3 : Quercitrine ; 4 : Acide syringique ; 5 : Acide syringique ; 6 : Acide vanillique ; 7 : Acide vanillique

Figure 60 : Chromatogramme résultant de l'analyse HPLC-DAD de l'extrait de *D. microcarpum*

Tableau XXIX : Structures des composés identifiés dans l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum*

N°	Composés	Structures
1	Catéchine	
2	Epicatechine	
3	Quercitrine (quercetine 3-O-rhamnoside)	
4	Acide syringique	
5	Acide gallique	
6	Acide vanillique	
7	Acide férulique	

III.1.2.7.2. Interactions ligand-protéine résultant du *docking*

Durant le *docking* ou amarrage, les composés présents dans l'extrait de *D. microcarpum* étaient les ligands. Tandis que les protéines étaient la CETP et ATP Citrate-lyase (ACLY).

➤ Scores d'amarrage ligand-protéine

Le tableau XXX présente les scores d'amarrage des ligands (catéchine, épicatechine, quercétrine) avec la *cholesterol ester transfer protein* (CETP) et l'ATP Citrate-lyase (ACLY). Il ressort que les ligands ont des scores d'amarrages sur la CETP de -6 ; -6,2 et -7,27 Kcal/mol respectivement pour la catéchine, épicatechine et quercétrine. Tandis que ceux de l'amarrage sur l'ACL avaient des score d'amarrage de -7,19 ; -7,62 et -7,71 Kcal/mol respectivement pour la quercétrine, épicatechine et catéchine. Les constantes d'inhibition enregistrées étaient 4,71 ; 28,35 et 39,78 respectivement pour quercétrine, epicatechine et la catechine. S'agissant des constantes d'inhibition, elles variaient entre 4,71 et 39,78 μM pour la CETP, et entre 2,24 et 5,35 μM pour l'ACLY.

Tableau XXX : Score d'amarrage des ligands de l'extrait aqueux d'écorces de *D. micracarpum* sur les protéines

Protéines Ligands/ composés	CETP		ATP Citrate-lyase	
	Energie de liaison (Kcal/mol)	Constante d'inhibition (μM)	Energie de liaison (Kcal/mol)	Constante d'inhibition (μM)
Quercétrine	-7,27	4,71	-7,19	5,35
Catechine	-6,00	39,78	-7,71	2,24
Epicatechine	-6,20	28,35	-7,62	2,60

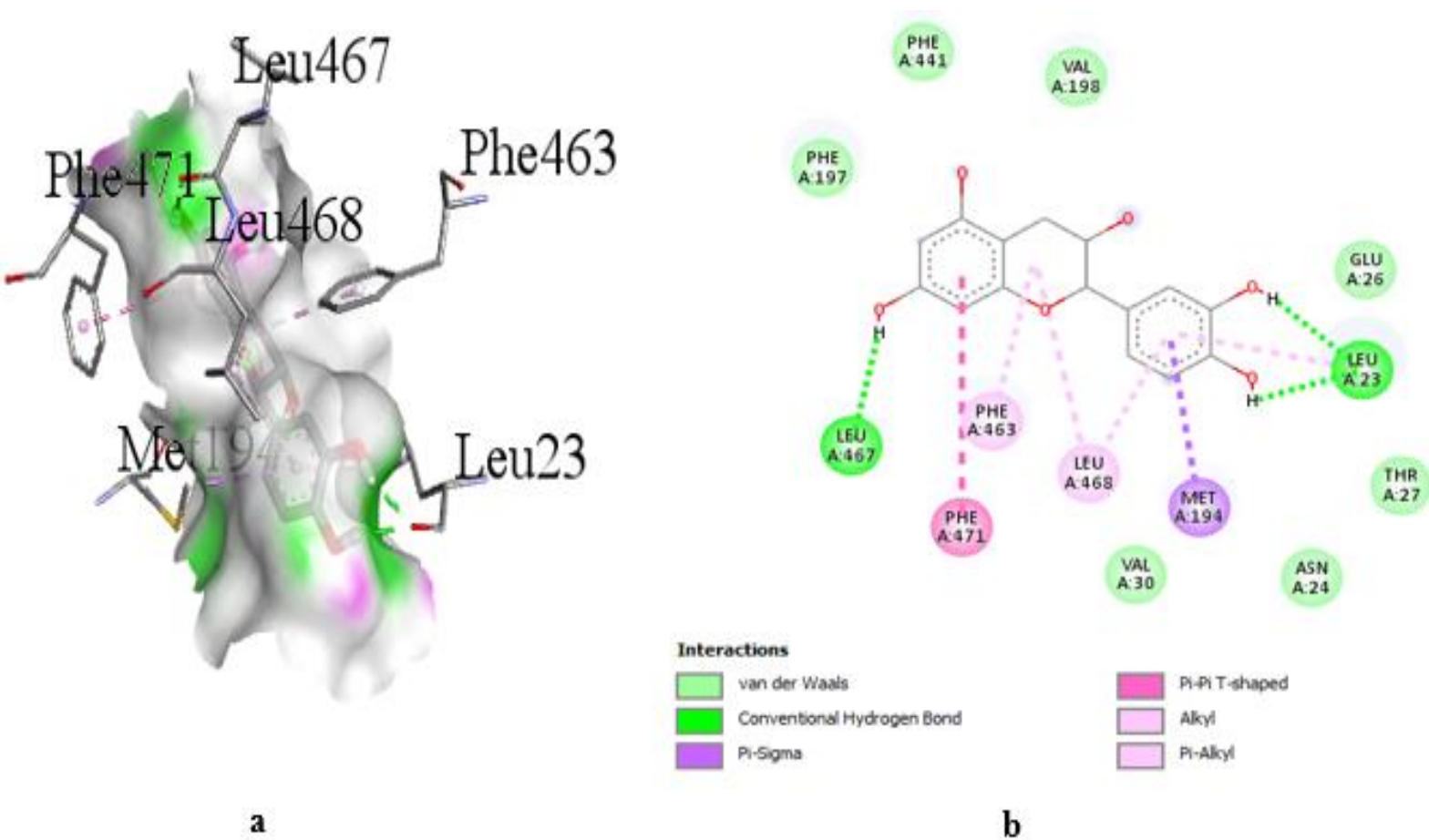
CETP : cholesterol ester transfer protein

➤ Structures 3D et 2D des interactions entre ligands et résidus d'acides aminés présents dans les sites actifs des protéines

🌈 Structures 3D et 2D des interactions entre ligands et résidus d'acides aminés présents dans le site actif de la CETP

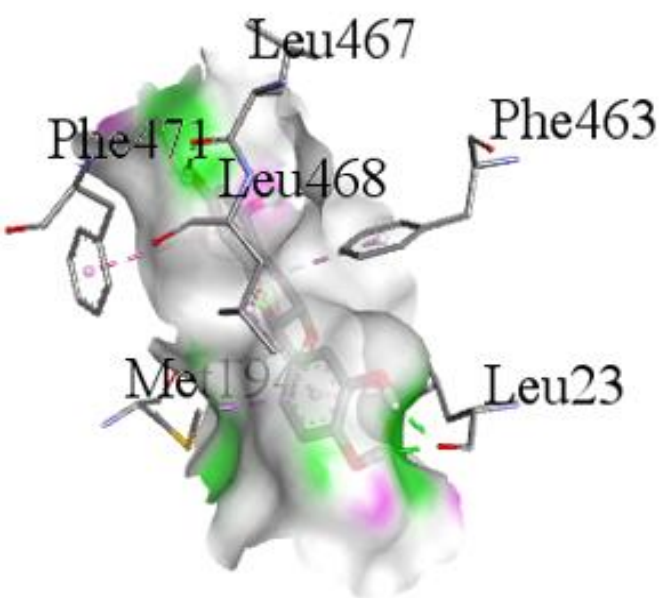
Les différentes poses picturales des interactions entre les résidus d'acides aminés de la poche active de la CETP et les ligands (catéchine, épicatechine et quercétrine) analysées par

Biovia Discovery studio sont présentées sur les figures 61 ; 62 et 63. De la figure 61, il a été noté que la catechine établit 05 interactions avec les résidus présents dans la poche active de la CETP. Les acides aminés impliqués dans cette interaction sont la Phe 463, Phe 471, Met 194, Leu 23, Leu 468. L'épicatchine (figure 62) interagit avec 06 résidus d'acides aminés (Asn 24, Leu 23, Val 74, Leu 468, Met 194 et Thr 27). La quercetrine (figure 63) quant à elle, interagit également avec 06 résidus d'acides aminés (Phe 471, Met 194, Leu 468, Ser 191, Leu 23 et Thr 27) présent dans la poche active de la CETP. Ces interactions étaient principalement de types hydrogènes, *Van der Waal*, pi-sigma et pi-alkyl.

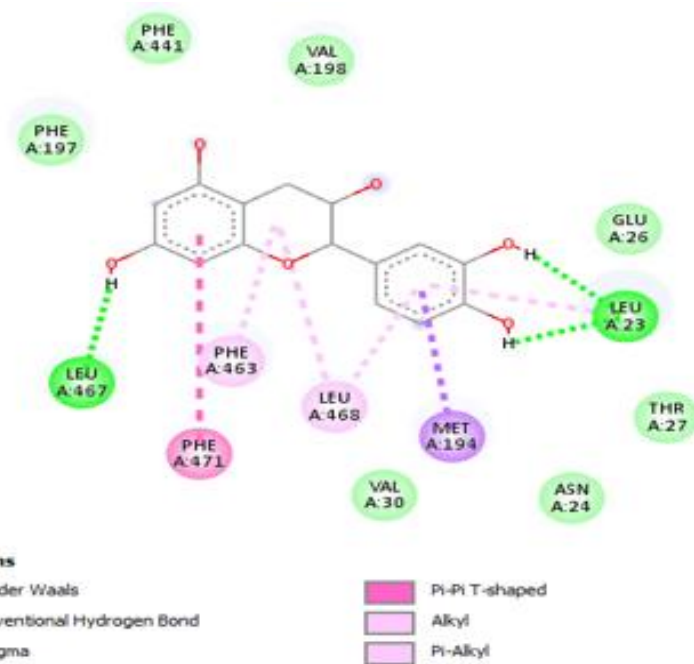


Phe : phénylalanine ; *Leu* : leucine ; *Met* : methionine ; *Val* : valine ; *Thr* : thréonine ; *Glu* : glutamate ;
Asn : asparagine

Figure 61 : Représentation 3D (a) et 2D (b) des interactions entre la catechine et la CETP



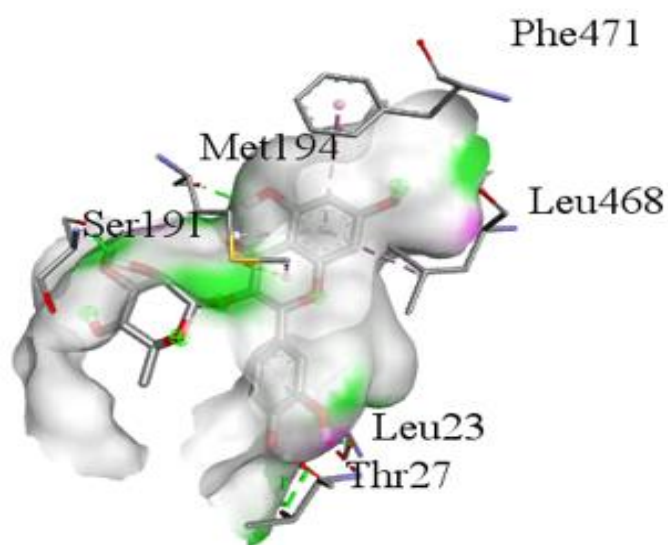
a



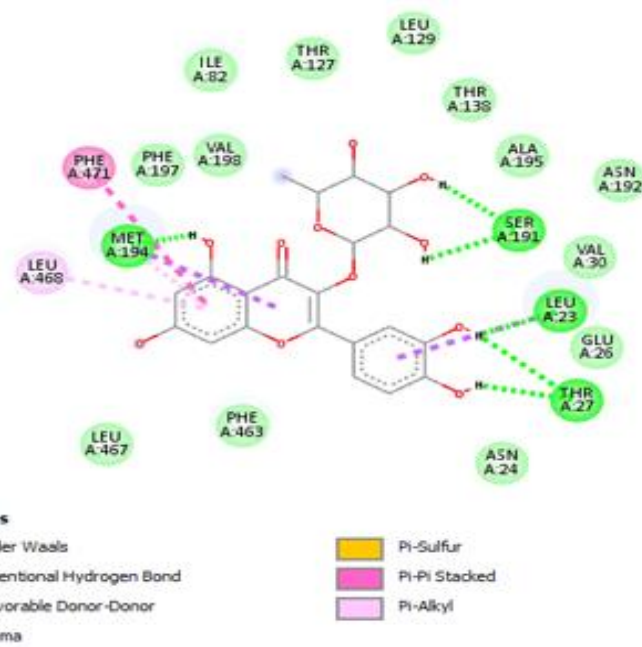
b

Phe : phénylalanine ; *Leu* : leucine ; *Met* : méthionine ; *Val* : valine ; *Thr* : thréonine ; *Glu* : glutamate ;
Asn : asparagine

Figure 62 : Représentation 3D (a) et 2D (b) des interactions entre l'épicathéchine et la CETP



a



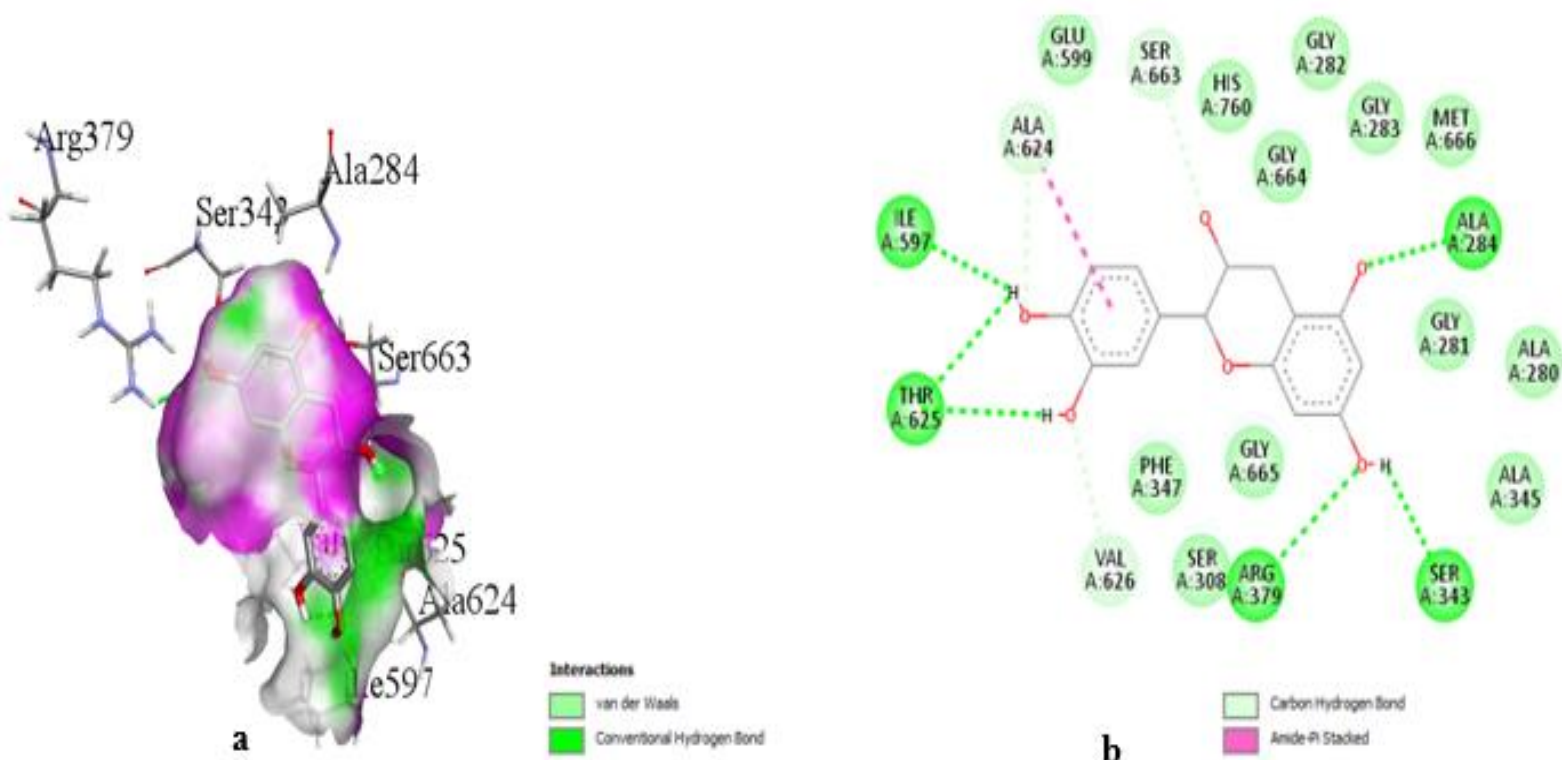
b

Phe : phénylalanine ; *Leu* : leucine ; *Met* : méthionine ; *Val* : valine ; *Thr* : thréonine ; *Glu* : glutamate ;
Asn : asparagine ; *Ser* : sérine ; *Ala* : alanine ; *Ile* : isoleucine.

Figure 63 : Représentation 3D (a) et 2D (b) des interactions entre la quercétrine et la CETP

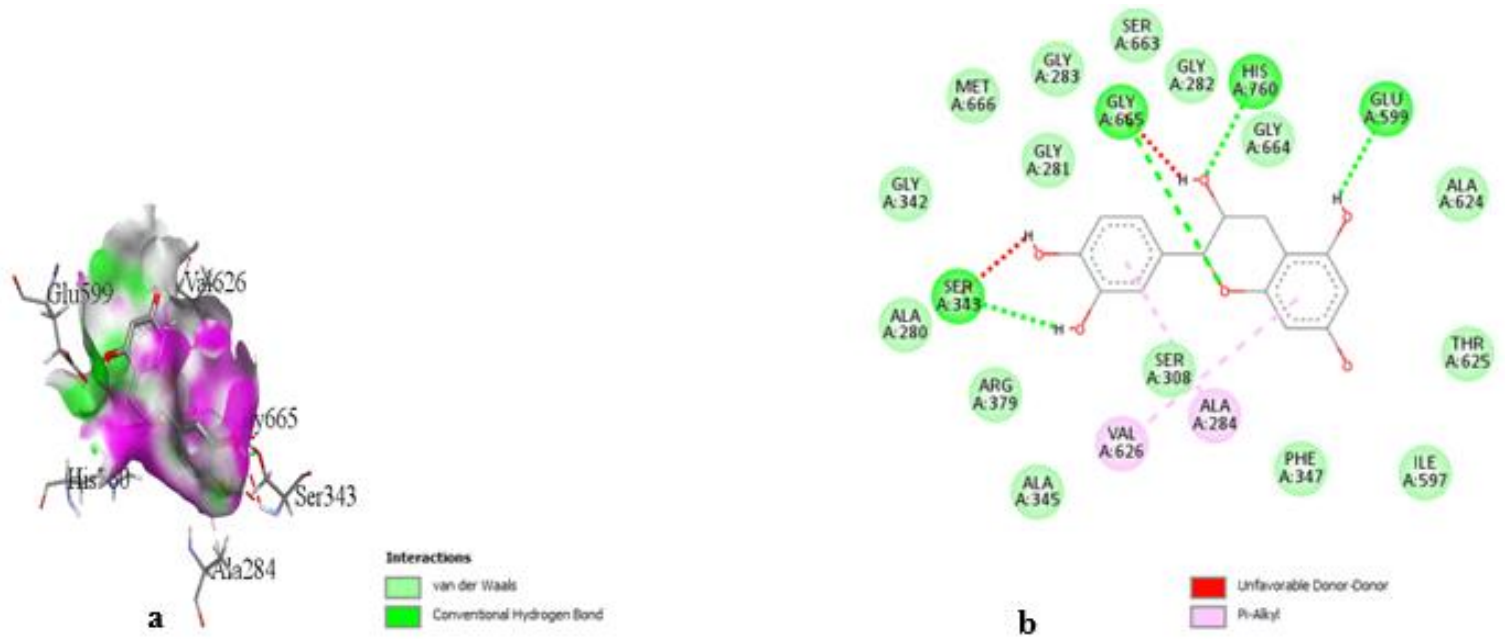
✚ Structures 3D et 2D des interactions entre ligands et résidus d'acides aminés présents dans le site actif de l'ATP Citrate-lyase

Les figures 64, 65 et 66 présentent les différentes interactions analysées par *Biovia Discovery studio* entre les résidus d'acides aminés de la poche active ou site actif de l'ACLY et les ligands (catéchine, épicatechine et quercétrine). La figure 64 montre que la catechine, établit 07 interactions avec les résidus d'acides aminés (Ile 594, Ala 624, Thr 625, Val 626, Ala 284, Arg 379 et Ser 343) présents dans la poche active de l'ACLY. Ces interactions sont de type hydrogène, Van Der Waal, hydrogène-carbone, amide-pi empile. S'agissant de l'épicatechine, il ressort de la figure 65 qu'elle interagit également avec 07 résidus d'acides aminés (Ser 308, Ser 343, Gly 665, His 760, Glu 599, Val 626 et Ala 284) présents dans la poche active de l'ACLY. Les interactions impliquées sont de types hydrogènes, Van Der Waal, et pi-alkyl. Tandis que la quercetrine (figure 66) établit 08 interactions avec les résidus Ala 310, Asn 249, Asn 383, Pro 382, Arg 507, Cys 635, Ala 508 et Gln 505 de la poche active de l'ACLY avec des interactions de type hydrogènes, Van Der Waal, pi-alkyl, alkyl et carbone-hydrogène.



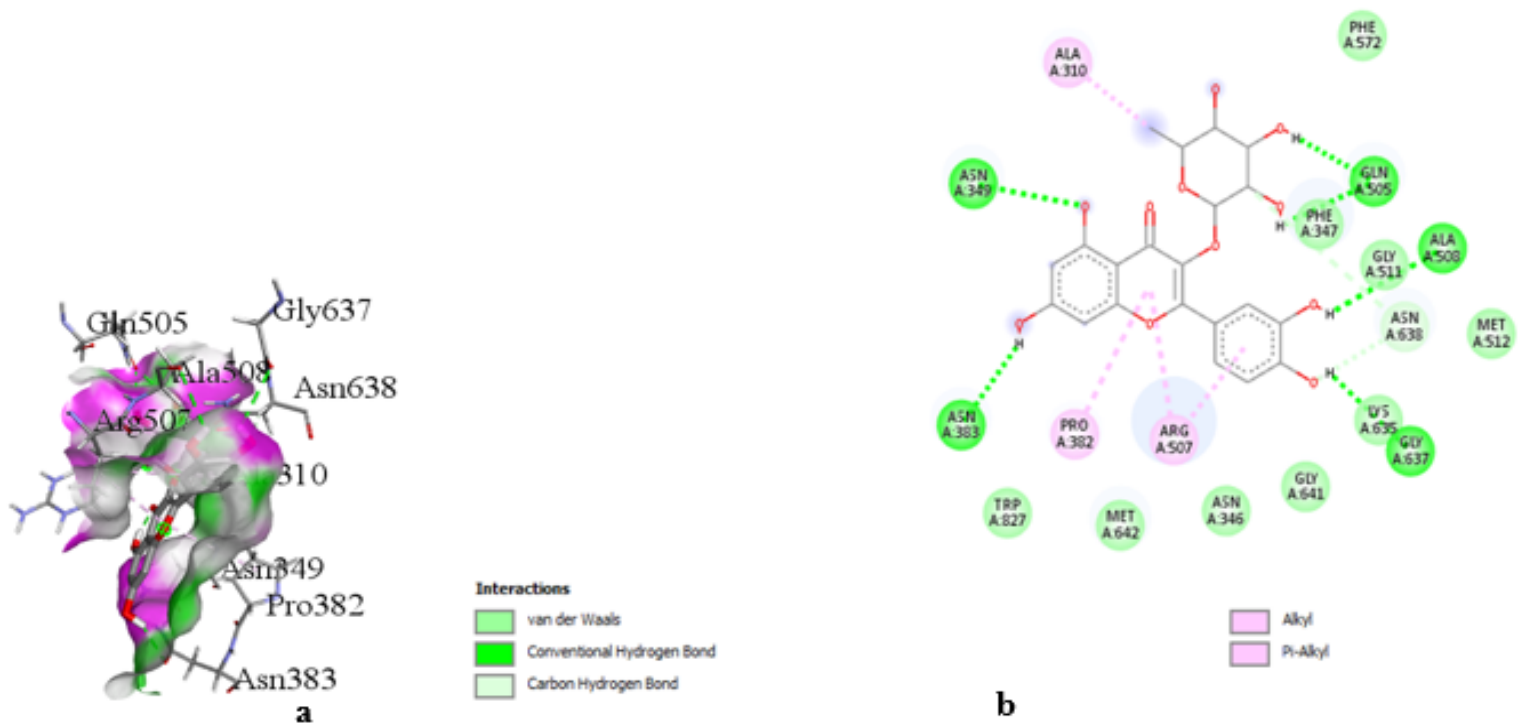
Phe : phénylalanine ; *Arg* : arginine ; *Gly* : glycine ; *His* : histidine ; *Met* : methionine ; *Val* : valine ; *Thr* : thréonine ; *Glu* : glutamate ; *Asn* : asparagine ; *Ser* : sérine ; *Ala* : alanine ; *Ile* : isoleucine.

Figure 64 : Représentation 3D (a) et 2D (b) des interactions entre la catéchine et l'ATP Citrate-lyase



Phe : phénylalanine ; *Arg* : arginine ; *Gly* : glycine ; *His* : histidine ; *Met* : méthionine ; *Val* : valine ; *Thr* : thréonine ; *Glu* : glutamate ; *Asn* : asparagine ; *Ser* : sérine ; *Ala* : alanine ; *Ile* : isoleucine.

Figure 65 : Représentation 3D (a) et 2D (b) des interactions entre l'épicatéchine et l'ATP Citrate-lyase



Phe : phénylalanine ; *Arg* : arginine ; *Gly* : glycine ; *His* : histidine ; *Met* : méthionine ; *Val* : valine ; *Thr* : thréonine ; *Glu* : glutamate ; *Asn* : asparagine ; *Ser* : sérine ; *Ala* : alanine ; *Ile* : isoleucine.

Figure 66 : Représentation 3D (a) et 2D (b) des interactions entre la quercétrine et l'ATP Citrate-lyase

III.2.2. Discussion partielle II

L'évaluation des effets cardioprotecteurs de l'extrait aqueux d'écorces (EAE) de *D. microcarpum* et la prédiction de quelques modes d'action ont été menées dans cette partie. Les polyphénols ayant montré des bienfaits sur les composantes du syndrome métabolique à travers la réduction du risque cardiovasculaire et le maintien de l'homéostasie de l'endothélium, l'EAE de *D. microcarpum* qui est riche en polyphénols a été administré aux rats soumis à un régime hypercalorique/athérogène (DESG) à deux doses (200 et 400 mg/kg de PC). Par la suite, le potentiel cardioprotecteur (NO plasma et cardiaque), la capacité protectrice contre la cytolysse cardiaque (ASAT cardiaque), le risque cardiaque, l'indice cardioprotecteur (ICP), le profil lipidique, l'accumulation tissulaire des lipides, l'insulinorésistance (IR), le risque athérogène et protection vasculaire), et l'effet sur la dysfonction hépatique et rénale de cet extrait ont été évalués. Tout d'abord, il a été évalué l'effet sur la prise alimentaire et le poids. Des études menées par **Hamza et al. (2010)**; **You et al. (2014)** ont montré que les régimes hypercaloriques sont communément utilisés pour induire un gain de poids chez les rats. En effet, au cours de l'induction du gain de poids avec la DESG pendant 12 semaines, il a été noté une augmentation significative du poids des rats par rapport à ceux qui consommaient la diète normale (figure 58). Ce résultat s'explique par une augmentation des apports énergétiques de la DESG. Cette dernière étant riche en glucides (sucrose) et lipides (TG et AG), les excédents sont accumulés au niveau du tissu adipeux et favorisent l'augmentation de la masse corporelle. Ce gain de poids pourrait aussi être dû au fait que, l'aliment induirait un apport excessif en AGL corrélé à une synthèse accrue des TG qui, associés à une diminution de la bêta-oxydation au niveau de ce tissu, seraient majoritairement stockés (**Raja et al., 2007**). L'administration de l'EAE de *D. microcarpum* aux deux doses et l'atorvastatine (5 mg/kg de PC) pendant 4 semaines, a limité le gain de poids des rats comparé à ceux qui recevaient uniquement la DESG (groupe non traité) (figure 58). Cette réduction de la prise de poids a été plus prononcée dans le groupe recevant la DESG + EAE de *D. microcarpum* à la dose de 200 mg/kg. Cette capacité de l'extrait à limiter la prise de poids est en accord avec l'étude de **Fatma et al (2016)**, qui ont montré que l'extrait de *Silybum marianum* administré pendant quatre semaines aux rats soumis à une DESG, entraînait une réduction de l'indice de masse corporelle. Ces observations s'expliqueraient par la capacité de l'extrait *via* la présence des polyphénols particulièrement les flavonoïdes à inhiber l'activité de certaines enzymes digestives notamment la lipase pancréatique, l' α -amylase pancréatique, et la sucrase (**Anderson et al., 2009**). Les flavonoïdes peuvent également limiter la diffusion intra-luminale des produits de digestion des lipides (**Anderson et al., 2009**), et/ou empêcher l'absorption des

produits de digestion en entraînant une augmentation de leur excrétion fécale. On pourrait aussi soupçonner la présence des polyphénols complexes et ou de certains tanins capables de se comporter comme des fibres alimentaires. Ces dernières peuvent se complexer aux sels biliaires et causer une réduction de l'absorption des lipides qui par conséquent, entraînerait une mobilisation du stock des TG du tissu adipeux (TA) pour des besoins énergétiques. Certains auteurs ont suggéré que les polyphénols notamment les flavonoïdes favoriseraient l'activation de la PPAR- γ en association avec l'activation de la bêta-oxydation supprimant alors la lipogenèse par inhibition de la transcription des gènes clés impliqués dans la synthèse des TG. En effet, l'activation de la dégradation des TG induirait l'augmentation du taux des acides gras libres (AGL) qui sont des ligands pour cette protéine responsable d'une suppression du gène codant pour la synthèse des TG et activerait plutôt la bêta-oxydation (**Kim et al., 2014**). En effet, les polyphénols tels que la catéchine réduisent la prise de poids en stimulant la dépense énergétique au niveau cellulaire à travers l'augmentation de l'expression des protéines lipolytiques ou l'inhibition de la lipogenèse par suppression de l'expression de l'acide gras synthase (**Yamashita et al., 2007 ; Kyung et al., 2011**). La diminution de la prise alimentaire (tableau XXIII) justifie également cette réduction de la prise de poids. En effet, l'EAE de *D. microcarpum* induirait chez ces rats une sensation de satiété et de satiété corrélée à la réduction de l'ingestion calorique. Ces effets combinés des polyphénols sur les enzymes digestives, la prise alimentaire, la dégradation des TG du TA et même l'activation de la bêta-oxydation entraînent physiologiquement une diminution de la masse corporelle.

L'obésité résultant de l'accumulation de graisses suite à l'ingestion d'une diète hypercalorique, est corrélée au développement des dyslipidémies, caractérisées par l'augmentation du taux de TG, LDL-c, VLDL-c, de CT, non-HDL-c, et la diminution du c-HDL plasmatique. Ces dyslipidémies sont associées à l'augmentation de risque de maladies cardiovasculaires (MCV) et cérébrovasculaires ischémiques (**Pereira et al. 2013**). L'extrait en abaissant significativement les taux plasmatiques de TG, LDL-c, VLDL-c, CT et non-HDL-c, et en augmentant le HDL-c, a exhibé sa capacité antihyperlipémiante et/ou hypolipémiante (tableaux XXVI). Ce qui montre alors son potentiel à diminuer les risques cardiaques (RRC) et athérogènes (CA et IAP), comme le présente les résultats des tableaux XXV et XXVII. En effet, une augmentation des indices (IR, RRC, CA et IAP) est associée à une augmentation du risque de MCV (**Oršoli et al., 2019**). Il a également été noté dans le tableau XXV que l'ICP et le pourcentage de protection vasculaire dans les groupes recevant l'extrait étaient significativement élevés. Ces résultats qui traduisent le potentiel antiathérogène et cardioprotecteur de l'extrait, s'expliqueraient par la présence des polyphénols notamment les

flavonoïdes. La baisse du taux de TG observée viendrait de la capacité des polyphénols de l'extrait à stimuler la sécrétion et la sensibilité à l'insuline respectivement par le pancréas et les tissus périphériques. La capacité de ces polyphénols à supprimer/retarder, ou bloquer l'action de la lipase pancréatique ne serait pas en reste. En effet, l'inhibition de la lipase pancréatique, enzyme clé de la digestion intestinale des lipides peut entraîner la diminution de la sécrétion des chylomicrons dans la lymphe et limiter le transport des TG (**Kumarappan et al., 2007**). La réduction des TG est liée aussi à l'augmentation de leur dégradation pour générer de l'énergie en réponse au déficit énergétique, ainsi que l'augmentation de l'expression de la lipoprotéine lipase (responsable de l'hydrolyse des TG) et de la carnitine palmitoyltransférase-1 (enzyme clé de la bêta-oxydation). Les AGL issus de cette dégradation sont ensuite transportés, puis oxydés dans la mitochondrie (**Kim et al., 2014**). Certaines études ont révélé que les flavonoïdes préviennent les événements cardiovasculaires en réduisant les taux CT et modulant les différentes formes de transport sanguin du cholestérol (HDL-c, non-HDL-c, LDL-c et VLDL-c) (**Umar et Utari, 2019**). Au vu des résultats observés dans les expérimentations, les flavonoïdes de l'extrait agirait faiblement sur la voie de synthèse du cholestérol. Mais ces composés auraient une forte activité sur le transport et les enzymes impliquées dans l'inter conversion du cholestérol. En effet, des études ont montré la capacité des polyphénols à stimuler l'expression de la lécithine cholestérol acyl transférase du cholestérol (**Okafor et al., 2015**). Ces polyphénols notamment les flavonoïdes inhibent également l'expression de la protéine de transport de l'ester de cholestérol (CETP) qui réduit les niveaux de LDL-c et augmente ceux du HDL-c dans le plasma (**Mhamed et al., 2020**). La diminution des LDL-c plasmatiques est liée à une augmentation de l'expression des récepteurs LDL (LDLR) sous le contrôle de la protéine 2 de liaison aux éléments régulateurs des stérols (SREBP-2) (**You et al., 2008**). La LDLR est impliquée dans la dégradation lysosomale de la LDL-c. Les flavonoïdes baissent également le taux de cholestérol plasmatique à travers l'inhibition de l'acyl cholestérol acyltransférase (ACAT), de l'absorption du cholestérol intestinal et la production hépatique de VLDL-c (**Keti et al., 2017**). Le *docking* a révélé que la catéchine, l'épicatéchine et la quercétrine (tableau XXX) présentes dans l'EAE de *D. microcarpum* lui confèrent le potentiel à se lier dans la poche active de la CETP et l'ACLY. La fixation de ces composés *via* des liaisons de faible énergie (hydrogène, carbone-hydrogène, pi-sigma, pi-alkyl, van der waal) à la CETP (figures 61, 62 & 63) et à l'ACLY (figures 64, 65 et 66) explique l'augmentation du HDL-c, et la réduction du CT, LDL-c et TG observées dans cette étude. En effet, les nouvelles approches thérapeutiques dans la prise en charge des maladies cardiométaboliques consiste à l'inhibition de la CETP (impliqué dans le transport des

ester de cholestérol) et l'ACLY (impliqué dans la biosynthèse des acides gras/TG et du cholestérol) (**Deng et al. 2022**). **Mhamed et al. (2020)** et **Nagendra et al., (2017)** dans leur étude respectivement sur le pin, *Terminalia arjuna*, les écorces de *Cinnamomum zeylanicum* et les feuilles de *Thymus atlanticus* ont montré des effets bénéfiques de ces plantes sur le poids corporel, l'amélioration de l'état lipidémique et la réduction de l'athérogénicité.

La production vasculaire des EORs tels que anion superoxyde (O^{2-}), catalysée par la NADPH oxydase (NOX), est un élément clé de la dysfonction endothéliale (**Griendling et al., 2000**). Ainsi, les résultats des études révèlent le potentiel de l'EAE de *D. microcarpum* à améliorer significativement la fonction endothéliale et par ricochet la fonction cardiaque (tableau XXIV). En effet, la diminution de la biodisponibilité du NO cardiaque associée à son augmentation dans le sang, indique une possible vasoconstriction. Par contre, une augmentation du NO cardiaque liée à sa diminution dans le milieu sanguin renvoie à une bonne santé vasculaire. Ainsi, les niveaux élevés de NO dans le cœur tel qu'observé dans l'étude, résulterait de l'activation de la voie de la protéine kinase B (Akt), qui par phosphorylation de l'oxyde nitrique synthase endothélial (eNOS), entraîne la production de NO. **Rocha et al (2019)**, l'activation de la voie de signalisation leptin/Akt/eNOS est associée à la production du NO. En outre, les polyphénols, par inhibition de la NADPH oxydase limitent la production de l' O^{2-} , qui, par action avec le NO, forme l'ion peroxydite hautement réactif (ONOO-) (**Tong et al., 2015**). Certaines études ont montré que des flavonoïdes à l'instar de la catéchine ou la quercétine inhibent le développement de l'athérosclérose en limitant l'oxydation des LDL-c et en majorant la biodisponibilité en NO entraînant une vasodilatation permanente et une réduction du risque cardiovasculaire (**Little et al., 2011**). Ces flavonoïdes en limitant l'oxydation de LDL-c, améliorent la fonction endothéliale (**Ashley et Sheri, 2016**). L'augmentation de l'ASAT cardiaque (tableau XXIV) telle que notée, serait due à la capacité des composés bioactifs présent dans l'extrait, à protéger les membranes cellulaires contre des altérations oxydatives qui entraînent la perte de leur contenu cellulaire.

L'augmentation de l'ASAT et de l'ALAT renseigne sur une destruction des cellules hépatiques ou des changements de perméabilité membranaire indiquant une altération hépatocellulaire (**McGill, 2016**). Les résultats obtenus dans cette étude (tableau XXVIII) ont montré que l'ASAT et l'ALAT plasmatique étaient élevés dans les groupes témoins positifs (rats malades non traités). L'administration de l'extrait a entraîné une restauration plasmatique des niveaux d'ASAT et d'ALAT. Cette restauration pourrait être due à la présence de flavonoïdes dans l'extrait qui sont considérés comme des agents hépatoprotecteurs (**Sivajothi et al., 2008**).

L'effet de l'EAE de *D. microcarpum* sur la fonction rénale a été évalué à travers le dosage de la créatinine dans le sang. En clinique, la créatinine est considérée comme un marqueur clé dans l'évaluation de l'état des reins (Fuchs et Hewitt, 2011). Sa variation est fonction de la capacité d'élimination par les reins et de la masse musculaire de l'individu. Les résultats présentés dans le tableau XXVIII montrent une faible variation de la créatinine dans tous les groupes traités.

Conclusion partielle II

L'objectif de cette partie a été d'évaluer l'effet cardioprotecteur de l'extrait le plus actif chez des rats soumis à une diète athérogène et de prédire quelques modes d'action. Des résultats obtenus, il est à noter que :

- ✓ L'extrait a limité la consommation alimentaire, la prise de poids et amélioré la fonction cardiaque *via* l'augmentation du NO cardiaque et la diminution du NO plasmatique, diminution du risque cardiaque, et l'augmentation de la protection cardiaque ;
- ✓ L'extrait *via* son potentiel hypolipémiant (diminution des TG, CT, LDL-c, VLDL-c et non-HDL-c, et l'augmentation du HDL-c plasmatique) a entraîné une réduction du risque athérogène (CA, IAP et IR) et l'accumulation hépatique des lipides ;
- ✓ Le mode d'action associé à l'effet bénéfique de l'extrait (*via* la présence de la catéchine, épicatechine et quercitrine) serait sa capacité de fixation et d'inhibition de l'activité de l'ACLY et la CETP.

III.1.3. Résultats partiels III

II.1.3.1. Résultats de l'évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum*

Les signes de toxicité (coma, diarrhée, poids corporel), le changement des habitudes (agressivité, couleur des yeux, rythme respiratoire, sensibilité au bruit/son, mobilité, aspect du pelage) et la mortalité des rats ont été évalués après l'administration de l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum* à la dose unique de 2000 mg/kg de PC. Les tableaux XXXI et XXXII présentent respectivement l'effet de l'extrait sur le poids des animaux et les différentes observations notées durant 14 jours.

L'administration de l'extrait n'a entraîné aucun décès chez les animaux ainsi qu'aucun changement comportemental. Néanmoins, une légère perte de poids (non significative à $p <$

0,05) a été observée. En générale, aucun signe de toxicité n’ayant été observé, à la dose testée, la DL₅₀ serait supérieure à 2000 mg/kg.

Tableau XXXI : Effets de l’administration de l’extrait aqueux d’écorces de *D. microcarpum* sur la croissance des rats

Groupe	Poids des rats en g		
	Jour 0	Jour 7	Jour 14
Rats + 2000 mg/kg d’EAE de <i>D. microcarpum</i>	179,80±10,03 ^a (0,00 %)	178,20±7,92 ^a (- 0,89 %)	177,00 ± 3,86 ^a (- 1,56 %)

n = 5 ; EAE : extrait aqueux d’écorces ; *D. microcarpum* : *Detarium microcarpum*; *a* : non significativement différent ; les valeurs entre parenthèses représentent le pourcentage de variation ; (-) : perte/diminution.

Tableau XXXII : Effets de l’administration à dose unique de l’extrait aqueux d’écorces *D. microcarpum* sur les signes de toxicité et les changements comportementaux

Observations	Décès	Coma	Diarrhée	Sensibilité au bruit/son	Agressivité	Aspect du pelage	Rythme respiratoire	Couleur des yeux	Mobilité
Rats + 2000 mg/kg d’extrait	Absent	Absent	Absente	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal

n = 5.

II.1.3.2. Résultats de l’évaluation de la toxicité subchronique de l’extrait aqueux d’écorces de *Detarium microcarpum* (*D. microcarpum*)

III.1.3.2.1. Effets de l’extrait sur le changement des habitudes et les signes de toxicités

Le tableau XXXIII montre que l’administration par gavage de l’extrait aqueux de *D. microcarpum* à la dose 1000 mg/kg/jour, pendant 28 jours n’a entraîné aucun décès chez les rats. Aucune apparition de signe de toxicité (diarrhée et coma) n’a été observé dans le groupe traité. De même, l’agressivité, la mobilité, la couleur des yeux, l’aspect du pelage et la sensibilité au bruit/son n’avaient pas changé pour le groupe traité comparativement au groupe témoin.

Tableau XXXIII : Paramètres comportementaux et signes généraux en toxicité subaiguë

Paramètres	Observations	Groupe contrôle	Groupe essai (Rats + 1000 mg/kg EA de <i>D. microcarpum</i>)
Signes généraux de toxicité	Décès	Absent	Absent
	Coma	Absence	Absence
	Diarrhée	Absente	Absente
Paramètres comportementaux	Mobilité	Normal	Normal
	Agressivité	Absente	Absente
	Sensibilité au bruit/son	Normal	Normal
	Couleur des yeux	Normal	Normal
	Aspect du pelage	Normal	Normal

n = 5 ; EAE : extrait aqueux d'écorces.

III.1.3.2.2. Effets de l'extrait sur la croissance pondérale

Le tableau XXXIV présente l'évolution du poids corporel des rats tout au long de l'étude de toxicité subaiguë. Pendant la première semaine, il a été noté une croissance pondérale similaire entre le groupe témoin et le groupe essai. Cependant, chez le groupe essai, l'augmentation a été moins prononcée à partir de la 2^e semaine, jusqu'au terme de l'expérimentation où il a été noté une croissance par rapport au poids initial de 1,18 % contre 16,3 % dans le groupe témoin.

Tableau XXXIV : Effets de l'administration orale de l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum* sur la croissance pondérale en toxicité subaiguë

Groupes	Poids moyen des animaux (g)			
	Jour 0	Jour 7	Jour 14	Jour 28
Control (Rats + eau distillée)	191,25 ± 7,43 (0,00 %)	211,00 ± 7,41 (+ 9,36 %)	222,50 ± 6,81 (+ 14,04 %)	228,50 ± 5,04 (+ 16,30 %)
Essai (Rats + 1000 mg/kg de PC EA de <i>D. microcarpum</i>)	189,00 ± 7,23 (0,00 %)	209,00 ± 10,22 (+ 9,56 %)	204,50 ± 11,65 (+7,58 %)	191,25 ± 12,80* (+1,18 %)

n = 5 ; EAE: extrait aqueux d'écorces ; les valeurs entre les parenthèses représentent les pourcentages de variation ; (+) : gain/augmentation. * représente la différence de significativité (*p* < 0,05) entre le groupe control et le groupe essai.

III.1.3.2.3. Effets de l'extrait sur le poids relatif des organes

Le tableau XXXV présente les poids relatifs des organes suite à l'étude de toxicité subaiguë. Les résultats montrent que les poids relatifs du cerveau et des poumons des rats étaient élevés (*p* < 0,05) dans le groupe recevant l'extrait en comparaison au groupe normal (0,82 vs 0,50 et 0,83 vs 0,55 respectivement pour le cerveau et des poumons). Aucune différence significative n'a été notée pour les autres organes (foie, cœur et reins).

Tableau XXXV : Effets de l'administration orale de l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum* sur les poids relatifs d'organes en toxicité subaiguë

Groupes	Poids relatifs d'organes				
	Cœur	Foie	Reins	Cerveau	Poumons
Control (Rat + eau distillée)	0,31 ± 0,01	2,55 ± 0,22	0,57 ± 0,02	0,50 ± 0,00	0,55 ± 0,02
Essai (Rats + 1000 mg/kg EAE de <i>D. microcarpum</i>)	0,31 ± 0,04	2,74 ± 0,16	0,63 ± 0,04	0,82 ± 0,05*	0,83 ± 0,09*

n = 5 ; EAE : extrait aqueux d'écorces; * représente la différence de significativité (*p* < 0,05) entre le groupe control et le groupe essai.

III.1.3.2.4. Effets de l'extrait sur les paramètres hématologiques

Les résultats des analyses hématologiques effectuées au terme l'expérimentation (28 jours) sont présentés dans le tableau XXXVI. L'administration de l'extrait n'a entraîné aucune variation significative des taux de globules rouges, monocytes, plaquettes, hémoglobine et la concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine comparé au groupe normal. Cependant, une élévation ($p < 0,05$) du taux de granulocytes, ainsi qu'une baisse ($p < 0,05$) du taux de lymphocytes et hématocrites ont été observées dans le groupe essai.

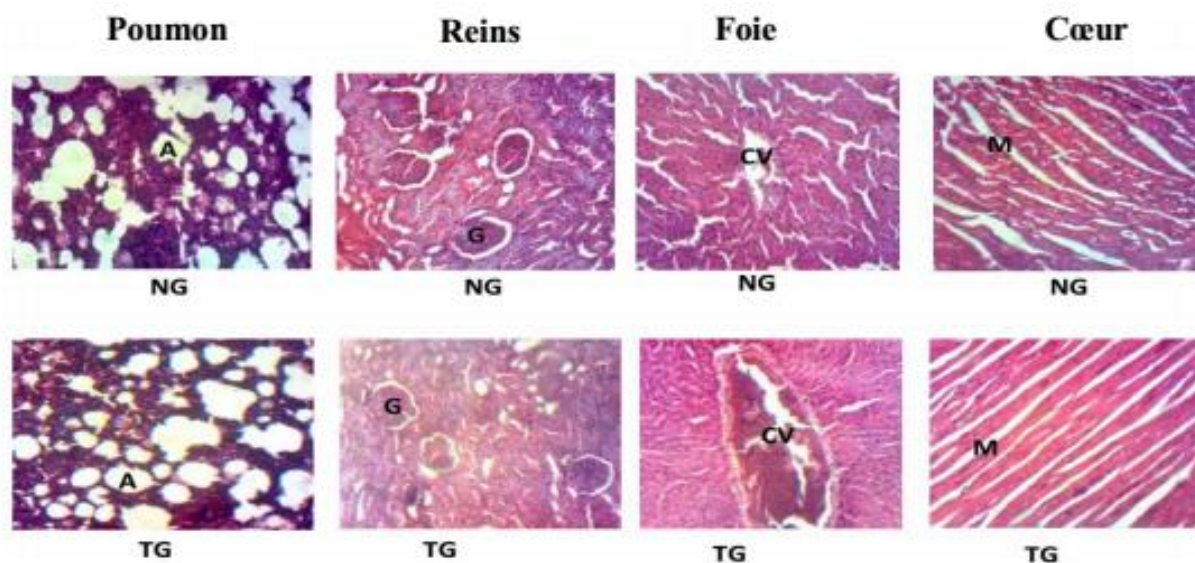
Tableau XXXVI : Effets de l'administration orale de l'extrait aqueux d'écorces *D. microcarpum* sur les paramètres hématologiques en toxicité subaiguë

Paramètres hématologiques	Groupes	
	Control (Rats + eau distillée)	Essai (Rats + 1000 mg/kg EAE de <i>D. microcarpum</i>)
Globules rouges ($10^{12}/L$)	2,30 ± 0,07	3,86 ± 0,78
Globules blancs ($10^9/uL$)	6,30 ± 0,52	6,04 ± 0,30
Hémoglobines (g/dL)	11,08 ± 1,20	10,40 ± 0,75
Hématocrites (%)	37,97 ± 1,91	31,27 ± 0,31*
Plaquettes ($10^9/L$)	175,33 ± 4,64	160,00 ± 15,59
Volume globulaire moyen (fL)	55,33 ± 1,14	55,78 ± 1,25
Teneur corpusculaire moyenne d'hémoglobine (pg)	17,45 ± 0,49	17,12 ± 0,40
Concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine (g/L)	31,53 ± 0,25	30,83 ± 0,68
Volume moyen de plaquette (fL)	7,27 ± 0,21	7,10 ± 0,34
Granulocytes (%)	26,20 ± 1,10	27,63 ± 2,34*
Lymphocytes (%)	61,13 ± 11,11	37,53 ± 1,44*
Monocytes (%)	12,67 ± 0,70	14,20 ± 0,62

$n = 5$; EAE : extrait aqueux d'écorces ; * représente la différence de significativité ($p < 0,05$) entre le groupe control et le groupe essai.

III.1.3.2.5. Effets de l'extrait sur l'architecture tissulaire

L'évaluation de l'impact de l'administration de l'extrait à 1000 mg/kg sur l'architecture des organes (poumons, reins, foie et cœur) est présentée sur la figure 67. L'analyse histopathologique du cœur, du rein et du poumon des rats qui recevaient l'extrait de *D. microcarpum* n'a induit aucune altération de la structure des cardiomyocytes, des glomérules rénaux, et des alvéoles pulmonaires par rapport aux rats du groupe normal. Cependant, au niveau du foie, l'extrait a altéré la structure de la veine centrale chez les rats.



NG : groupe normal ; TG : groupe test ou essai ; A: alvéole ; G: glomérule ; CV: veine centrale ; M: cardiomyocyte ; NG : groupe normal ; TG : groupe test

Figure 67 : Coupes histologiques du poumon, reins, foie et cœur

III.1.3.2.6. Effets de l'extrait sur les marqueurs biochimiques de toxicité

L'effet de l'extrait sur les marqueurs biochimiques de toxicité est présenté dans le tableau XXXVII. Il ressort de ces résultats que l'administration de l'extrait pendant 28 jours n'a entraîné aucune variation significative de la créatinine et de l'urée plasmatique. Cependant, au niveau des fonctions de cytolyse et synthèse, il a été observé une augmentation ($p < 0,05$) de l'activité plasmatique de l'ALAT (90,09 vs 76,00 UI/L) et des protéines totales plasmatiques (74,45 vs 57,70 mg/mL), ainsi qu'une diminution ($p < 0,05$) de la synthèse du cholestérol total (50,42 vs 65,31 mg/dL). Les valeurs plasmatiques des autres indicateurs de la fonction de synthèse (triglycérides) et cytolyse (ASAT) dans le groupe essai n'ont significativement pas varié par rapport à celles du groupe normal.

Tableau XXXVII : Effets de l'administration orale de l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum* sur les marqueurs biochimiques de toxicité

Fonctions	Paramètres	Groupes	
		Témoin (Rats + eau distillée)	Essai (Rats + 1000 mg/kg EAE de <i>D. microcarpum</i>)
Fonction rénale	Créatinine (mg/dL)	0,14 ± 0,05	0,15 ± 0,06
	Urée (mg/dL)	66,20 ± 0,97	65,39 ± 2,00
Fonctions hépatiques	ALAT (UI/L)	76,00 ± 1,45	90,09 ± 4,29*
	ASAT (UI/L)	41,66 ± 1,45	42,17 ± 1,41
	Synthèse CT (mg/dL)	65,31 ± 2,91	50,42 ± 2,46*
	TG (mg/dL)	55,89 ± 8,60	36,07 ± 5,85
Protéines totales (mg/mL)		57,70 ± 0,40	74,45 ± 1,65*

n = 5, EAE : extrait aqueux d'écorces ; ALAT : alanine aminotransférase ; ASAT : aspartate aminotransférase ; CT : cholestérol total ; TG : triglycérides ; * représente la différence de significativité (*p* < 0,05) entre le groupe control et le groupe essai.

III.2.3. Discussion partielle III

L'objectif de cette partie était d'étudier la toxicité aiguë et subaiguë ou subchronique de l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum*, administré par voie orale aux rats. L'étude de toxicité aiguë de l'extrait aqueux d'écorces de *D. microcarpum* administré à une dose unique de 2000 mg/kg a entraîné une diminution de 1,56 % du poids corporel des rats au jour 14 par rapport au poids initial (tableau XXXI). En effet, selon les travaux de **Subramanion et al. (2011)**, un médicament ou xénobiotique qui cause une perte de poids avec une variation inférieure à - 10 % est considéré comme étant sans danger. Ceci montre que l'administration par voie orale de l'extrait d'écorces de *D. microcarpum* n'affecte pas la croissance des rats. Aucun changement majeur dans le comportement des rats, ni de décès n'ont été observés pendant les 14 jours de l'expérience (tableau XXXII). L'extrait semble être non toxique avec une DL₅₀ qui serait supérieure à 2000 mg/kg. En effet, toute substance ou composé dont la DL₅₀ est supérieure à 1000 mg/kg est considérée comme sûre et peu dangereuse (**Mohammad**

et al., 2015). Pour confirmer ce résultat, des analyses des paramètres hématologiques et biochimiques après administration de l'extrait d'écorces de *D. microcarpum* à moyen terme ont été réalisées.

A cet effet, une étude de la toxicité subchronique/subaiguë a été conduite pendant 28 jours). Au cours de cette période, l'EAE de *D. microcarpum* a été administré oralement à la dose de 1000 mg/kg. Les résultats obtenus ont montré un gain de poids significativement élevé dans le groupe témoin normal (+ 19,48 %) comparé au groupe recevant l'extrait (+ 1,19 %) (tableau XXXIV). Mais, la variation du poids final (+ 1,19 %) dans le groupe test était supérieure à celle initiale (0,00 %). Ceci traduit l'absence ou la faible altération de la croissance des rats. Ces résultats se justifient également par le faible poids relatif (PR) des organes (foie, cœur et reins) observé chez les rats du groupe test (tableau XXXV). Ceci indique donc la capacité de l'extrait à empêcher l'accumulation des graisses ou la digestion des lipides et/ou l'absorption des produits issus de cette digestion. En effet, certaines études ont montré que la perte de poids est associée à un manque d'accumulation de graisses et une perte d'appétit (**Arsad et al.**, 2013 ; **Gepner et al.**, 2018). Ces résultats sont similaires à ceux de **Muhammad et al.** (2015) qui ont évalué la toxicité subchronique de l'extrait éthanolique de *Pericampylus glaucus* administré à 1000 mg/kg. Par contre, une augmentation du PR des poumons et du cerveau a été notée dans le groupe test comparé au groupe témoin normal (tableau XXXV). Cette hypertrophie est le résultat d'une possible activité pro-inflammatoire induite par certains constituants présents dans l'extrait. L'évaluation du profil hématologique des rats a montré que l'extrait n'a provoqué en général aucune variation significative de celui-ci (tableau XXXVI). Cependant, seule une diminution du % Hématocrite dans le groupe test a été notée ($p < 0,05$). Les valeurs obtenues étaient $(37,97 \pm 1,91) \%$ et $(31,27 \pm 0,31) \%$ de Hématocrite respectivement dans les groupes test et normaux. Ces valeurs sont inférieures à la fourchette de référence $(38,90 - 50,90) \%$ publiée par **Arika et al.** en 2016. Ceci montre que cette diminution du % Hématocrite causée par l'extrait est sans danger pour la composition sanguine. Les leucocytes assurent la protection du corps contre l'invasion d'antigènes (**Arika et al.**, 2016). Ils sont composés de granulocytes (neutrophiles, basophiles et éosinophiles) et d'agranulocytes (lymphocytes et monocytes). Une variation non significative des globules blancs totaux entre le groupe test et normal a été notée (tableau XXXVI). Par contre, l'évaluation des globules blancs spécifiques a révélé une diminution des lymphocytes et une augmentation des granulocytes dans le groupe test par rapport au groupe normal ($p < 0,05$). Bien que l'extrait ait entraîné une diminution du nombre de lymphocytes, la valeur obtenue se situe dans la plage de référence

(14,10 - 45,80) % définit par **Arika et al. (2016)**. L'augmentation du pourcentage de granulocytes s'explique par le fait que les glucides et les anti-nutriments présents dans les extraits auraient stimulé la production de cytokines pro-inflammatoires et de produits de glycation avancée. En effet, les granulocytes et les agranulocytes sont activés par les cytokines, les produits de glycation avancée, le stress oxydatif et l'angiotensine II (**Shurtz-Swirski et al., 2004 ; Lee et al., 2004**).

L'étude de la toxicité subchronique a également porté sur l'évaluation de l'effet de l'extrait sur la fonction rénale (créatinine et urée), la cytololyse hépatique (protéines totales, ASAT et ALAT) et la synthèse hépatique (CT et TG). En effet, une augmentation des transaminases (ALAT et ASAT) indique une inflammation ou une destruction des cellules du foie. Une augmentation de l'urée et de la créatinine plasmatique fait plutôt référence à un dysfonctionnement du néphron (**Mariappan et al., 2011 ; Konaté et al., 2012**). Cependant, une légère altération des activités de l'ALAT, des phosphatases alcalines, de l'ASAT, et des taux de glucose, durée et de la créatinine suggère que l'administration subchronique d'extrait n'altère pas les hépatocytes et les reins des rats et leur métabolisme normal (**Diallo et al., 2010**). Des résultats obtenus et présentés dans le tableau XXXVII, il ressort que l'extrait n'a entraîné aucun changement majeur des taux de créatinine, d'urée, TG et l'activité de l'ASAT. Tandis que le CT, les protéines totales et l'activité de l'ALAT ont significativement variés dans le groupe recevant l'extrait comparé au groupe normal. Ces résultats renseignent sur une possible hépatotoxicité de l'extrait causée par une cytololyse des hépatocytes. En effet, la cytololyse est associée à la perte de l'intégrité de la membrane et des fonctions métaboliques (**Diallo et al., 2010**). L'hypertrophie des organes poumons et cœur telle que montré par le calcul du poids relatif explique les taux élevés d'ALAT et de protéines totales obtenus dans le groupe test d'une part. L'altération du foie telle qu'observée lors de l'analyse histopathologique (figure 67), explique la cytololyse hépatique et la perte de la fonction de synthèse d'autre part. Mais cette perte de la fonction de synthèse caractérisée par la diminution significative du CT serait attribuable au potentiel antihypocholérolémiant ou hypocholérolémiant de l'extrait comme montré précédemment. Les quelques signes de toxicité observés au niveau hématologique, pulmonaire, cardiaque et hépatique seraient la responsabilité de certaines classes d'alcaloïdes. Ainsi, plante de la famille des *Fabaceae*, *D. microcarpum* contient des classes d'alcaloïdes potentiellement toxique. En effet, cette famille de plantes possède les alcaloïdes de la classe des pyrrolizidines (**Griffiths et al., 2020**). La toxicité des pyrrolizidines dépend fortement de leur biotransformation. Leur oxydation par les monooxygénases du cytochrome-P450 peut

produire des alcaloïdes déshydropyrrolizidines (DHPA), des métabolites électrophiles très réactifs qui peuvent interagir avec les protéines (Yang *et al.*, 2019). La pyrrolizidine induit une hépatotoxicité (Fu *et al.*, 2004). Elle peut également provoquer diverses toxicités, notamment une toxicité aiguë et une génotoxicité telle que la mutagénicité, la cancérogénicité et les aberrations chromosomiques (Fu *et al.*, 2004).

L'intoxication subaiguë se caractérise par le blocage de l'activité des veines hépatiques, provoquant des lésions sinusoidales primaires et des dysfonctionnements des cellules parenchymateuses encore appelés syndrome d'obstruction sinusoidale hépatique (SOSH) (Helmy, 2006 ; Aydin *et al.*, 2013 ; Fiel, 2015). Les poumons sont l'un des organes cibles de la toxicité des alcaloïdes car les alcaloïdes de la déshydropyrrolizidine ou *deshydropyrrolizidine alkaloids* peut se déplacer du foie vers les artérioles pulmonaires pour causer des dommages similaires à ceux du SOSH (Chikowe *et al.*, 2020). Lorsque l'alcaloïde atteint l'organe, une occlusion et une inflammation peuvent se produire en raison de la formation de thrombus dans les vaisseaux et de l'épaississement de leurs parois (Chikowe *et al.*, 2020). Ceux-ci stimulent par conséquent l'hypertension pulmonaire et l'insuffisance cardiaque congestive. Une étude sur les rats de souche *Wistar* à capuchon a montré que les alcaloïdes pyrrolizidines peuvent provoquer l'accumulation intravasculaire des cellules mononucléaires entraînant des lésions pulmonaires (Chikowe *et al.*, 2020). Il s'en suit, une occlusion veineuse et une altération extravasculaire, par laquelle les septa alvéolaires sont épaissis et le nombre de cellules augmenté. Les études de Moreira *et al.* (2018), ont montré que les rats développant des lésions pulmonaires présentaient toujours des lésions hépatiques chroniques.

Conclusion partielle III

Au terme de cette partie dont l'objectif était d'évaluer la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum*, il est à retenir que l'extrait a une DL₅₀ supérieure à 2000 mg/kg. Cependant, il a présenté des signes de toxicité hépatique à la dose répétée de 1000 mg/kg.

CONCLUSION

CONCLUSION

Rendu au terme de ce travail dont l'objectif était d'évaluer les effets des extraits de *Vitex doniana*, *Trichoscypha acuminata* et *Detarium microcarpum* sur la santé cardiométabolique chez les rats, il ressort que :

- Les trois extraits de plantes possèdent des effets bénéfiques sur le stress oxydant (diminution de la production des substances réactives à l'acide thiobarbutirique et l'activité de la catalase), l'homéostasie glucidique (réduction de la glycémie post-prandiale et à jeûn) et le profil lipidique (diminution des taux plasmatique de CT, LDL-c et TG, et augmentation du HDL-c). Cependant, l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* a présenté la meilleure activité ;
- L'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* a montré des propriétés cardioprotectrices (réduction de la consommation alimentaire, la prise de poids, augmentation du NO cardiaque, diminution du NO plasmatique, diminution du risque cardiaque, augmentation de la protection cardiaque, diminution des TG, CT, LDL-c, VLDL-c et non-HDL-c, et augmentation du HDL-c plasmatique, réduction du risque athérogène (CA, IAP et IR) et de l'accumulation hépatique des lipides) qui seraient associé à sa capacité d'inhiber l'activité de l'ATP-citrate lyase et la *cholesterol ester transfer protéin*;
- L'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* a une DL₅₀ supérieure à 2000 mg/kg de PC (absence de décès). Mais, son administration à la dose répétée de 1000 mg/kg de PC a présenté des signes d'hépatotoxicité (augmentation de l'activité de l'ALAT et du taux de protéines totales plasmatique, diminution de la synthèse du cholestérol, et altération *via* l'histologie de la veine centrale).

PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS

PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS

PERSPECTIVES

Dans l'optique de mieux affiner le présent travail, pour la prise en charge nutritionnelle de maladies cardiométaboliques et ses comorbidités, les études suivantes sont envisagées :

- Confirmer *via* des études *in vivo*, les modes d'action prédit et explorer d'autres potentiels modes d'actions de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* ;
- Effectuer des études nutriginomiques de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* à partir des modèles animaux transgéniques ;
- Effectuer une étude de la toxicité chronique de l'extrait aqueux d'écorces de *Detarium microcarpum* à la dose de 200 mg/kg.

RECOMMANDATIONS

A la suite des résultats obtenus de cette étude et dans le contexte de prise en charge nutritionnelle des maladies cardiométaboliques (diabète, maladies cardiovasculaires et stéatose hépatique non alcoolique), il est recommandé aux populations de :

- Poursuivre la consommation des fruits de *Trichoscypha acuminata* et *Vitex doniana*, et les écorces de *Detarium microcarpum* ;
- Contrôler la fréquence et la quantité de décocté d'écorces de *Detarium microcarpum* à consommer car à forte dose, le consommateur s'expose à un risque d'altération hépatique. Ainsi, il est conseillé d'effectuer au plus le décocté de 1,30 g (soit 1300 mg) d'écorces consommable en une journée.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdu Z., Dimas K., Sunday O., Sunday D. and Elisha B. (2018). *In vivo* acute toxicity (LD₅₀) studies and phytochemical screening of stem bark extracts of *Detarium microcarpum* Guill and per (Caesalpinoideae) and *Myosortisscorpioides* L.(boraginaceae). *Current Trends in Biomedical Engineering & Biosciences*, 14(4): 70 -75.
- Achilonu C. and Umesiobi O. (2015). Bioactive Phytochemicals: Bioactivity, Sources, Preparations, and/or Modifications via Silver Tetrafluoroborate Mediation. *Journal of Chemistry*, 1 – 22
- Agbo R., Missihoun A., Vihotogbe R., Assogbadjo A., Ahanhanzo C. and Agbangla1 C. (2017). Impacts des usages traditionnels sur la vulnérabilité de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. (Caesalpiniaceae) dans le district phytogéographique Zou au Bénin (en Afrique de l'Ouest). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(2): 730-742.
- Aguilera A., Diaz G., Barcelata M., Guerrero O. and Ros R. (2004). Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids, and tumor necrosis factor-alpha in rats with sucrose-induced metabolic syndrome. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15:350 – 357.
- Aiyegoro O. and Okoh A. (2010). Preliminary phytochemical screening and *In vitro* antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10:21.
- Althunibat O., Al Hroob A., Abukhalil M., Germoush M., Bin-Jumah M., and Mahmoud A. (2019). Fisetin ameliorates oxidative stress, inflammation, and apoptosis in diabetic cardiomyopathy. *Life Science*, 15(221): 83 - 92.
- Anderson J., Baird P., Davis R., Ferreri S., Knudtson M., Koraym A., Waters V. and William C. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Review*, 67(4): 188 - 205.
- Arika W., Nyamai D., Musila M., Ngugi M. and Njagi E. (2016). Hematological markers of *in vivo* toxicity. *Journal of Hematology and Thromboembolic Diseases*, 4(2): 1 - 7.
- Aros F. and Estruch R. (2013). Mediterranean diet and cardiovascular prevention. *Spanish Journal of Cardiology*, 66 (10): 771 - 774
- Arsad S., Mohd E., Hamzah H. and Othman F. (2013). Evaluation of acute, subacute and subchronic oral toxicity of *Rhaphidophora* Shott extract in male Sprague Dawley rats. *Journal of Medicinal Plant and Research*, 7: 3030 - 3040.

- Atchan N., Shivashankara T., Piazza S., Tchamgoue D., Beretta G., Dell'Agli M., Magni P., Agbor A., Kuiaté J-R. and Manjappara V. (2022). Polyphenol-Rich Extracts of *Xylopi*a and *Aframomum* Species Show Metabolic Benefits by Lowering Hepatic Lipid Accumulation in Diet Induced Obese Mice. *ACS Omega*, 7: 11914 - 11928
- Aydın A., Zerbes V., Parlar H., and Letzel T. (2013). The medical plant butterbur (petasites): analytical and physiological (re)view. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 75: 220 - 229.
- Ayoub B. (2018). Toxicologie Générale. <https://www.researchgate.net/publication/326019643>.
- Aziz M. and Yadav K. (2016). Pathogenesis of atherosclerosis a review. *Medical and Clinical Reviews*, 2(3): 1 - 6.
- Badimon and Vilahur G. (2014). Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque Rupture. *Journal of Internal Medicine*, 276: 618 - 632
- Bao F., Tao L. and Zhang H. (2019). Neuroprotective effect of natural alkaloid fangchinoline against oxidative glutamate toxicity: involvement of keap1-Nrf2 axis regulation. *Cellular and molecular neurobiology*, 39(8): 1177 - 1186.
- Barber M., Kabisch S., Pfeiffer H. and Weickert O. (2020). The Health Benefits of Dietary Fibre. *Nutrients*, 12 (3209): 2 - 17
- Bartels H., Böhmer M. and Heierli C. (1972). Serum creatinine determination without protein precipitation. *Clinical Chemistry Acta*, 37: 193 - 197.
- Bartels H., Böhmer M. and Heierli (1972). Serum creatinine determination without protein precipitation. *International Journal of Clinical Chemistry*, 37: 193 - 197.
- Basciano H., Federico L. and Adeli K. (2005). Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutrition & Metabolism*, 2:5.
- Bayazeid O., Nemetlu E., Eylem C. and Yalçın F. (2020). Neuroactivity of naturally occurring proaporphine alkaloid, pronuciferine. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 34(12): 1 - 5.
- Bejan-Angoulvant T., and Angoulvant D. (2020). Mise au point sur les bêtabloquants en 2020. *La Revue de Médecine Interne*, 1 - 7

- Ben F. and Lachache S. (2021). Etude 3DQSAR, *docking* moléculaire et criblage ADMET pour des inhibiteurs potentiels de la Cathepsine B. *Mémoire de fin d'étude en chimie organique*, Université MOHAMED Boudiaf – M'Sila, Algérie, 34 - 40
- Ble-Castillo J., Aparicio-Trapala M., Juárez-Rojop E., Torres-Lopez J., Mendez, J., Aguilar-Mariscal H. and Diaz-Zagoya, J. (2012). Differential Effects of High-Carbohydrate and High-Fat Diet Composition on Metabolic Control and Insulin Resistance in Normal Rats. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9: 1663 - 1676.
- Boamponsem A. and Boamponsem L. (2011). The role of inflammation in atherosclerosis. *Pelagia Research Library*, 2 (4):194 - 207
- Bocarsly E., Powell S., Avena M. and Hoebel G. (2010). "High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: increased body weight, body fat and triglyceride levels," *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 97(1):101 - 106.
- Brunzell J., Davidson M., Furberg C., Goldberg R., Howard B., Stein J. and Witztum J. (2008). Lipoprotein management in patients with cardiometabolic risk: consensus conference report from the American Diabetes Association and the American College of Cardiology Foundation. *Journal of the American College of Cardiology*, 51:1512 - 1524.
- Burlando B., Palmero S. and Cornara L. (2019). Nutritional and medicinal properties of underexploited legume trees from West Africa. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1 - 11.
- Chaea Y., Lee M., Kim W. and Bae H. (2004). Protection of insulin-secreting cells from nitric oxide-induced cellular damage by cross linked hemoglobin. *Biomaterials*, 25: 843 - 850.
- Chan H., Ji Y., Chul C. and Chang J. (2007). "Anti-asthmatic action of quercetin and rutin in conscious guinea-pigs challenged with aerosolized ovalbumin. *Archives of Pharmacal Research*, 30 (12): 1599 - 1607.
- Chandra A., Mahdi A., ahmed S. and singh R. (2007). Indian herbs result in hypoglycemic responses in STZ induced diabetic rats. *Nutrition Research*, 27: 161 - 168.
- Chang C., Liang T., Tseng D., Wu T., Hsu L., Wu S., Lin T. and Tseng Z. (2007). "Aminoguanidine prevents fructose-induced deterioration in left ventriculararterial coupling in *Wistar* rats". *British Journal of Pharmacology*, 151(3): 341 - 346.

- Chang K. (2001). Effect of taurine and beta alanine on morphological changes of pancreas in streptozotocine induced diabetic rats. *Advanced Experimental Medicine Biology*, 483: 571 - 577.
- Chen Y. (2012). Metabolism: Carbohydrate. In: Mooren FC. *Medicine in Health and Disease*, 570 - 573.
- Cheng T., Li Q., Zhou Z., Wang Y., and Bryant S. (2012). Structure-Based Virtual Screening for Drug Discovery : A Problem-Centric Review. *The AAPS Journal*, 14(1), 133 - 141.
- Chikowe I., Mtewa A. and Sesaazi D. (2020). Toxicology and Health Benefits of Plant Alkaloids. *Poisonous Plants and Phytochemicals in Drug Discovery*, 95 - 107.
- Chistiakov D., Bobryshev Y., Orekhov A. (2016). Macrophage-mediated cholesterol handling in atherosclerosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 20:17 - 28
- Chistiakov D., Orekhov A. and Bobryshev Y. (2015). Endothelial barrier and its abnormalities in cardiovascular disease. *Frontiers in Physiology*, 6(365): 1 - 11
- Davignon J. and Ganz Peter. (2004). Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *American Heart Association*, 109: 27 - 32
- Dekkiche Z. and Benaïche S (2018). Modélisation par *docking* moléculaire de l'interaction Enzyme-Inhibiteur: CAS de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant que cible thérapeutique impliquée dans les pathologies du sang. *Mémoire en biochimie appliquée*, Algérie, 21 - 24
- Delattre J., Beaudeau J-L. and Bonnefort-Rousselot D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : Aspect biologiques et pathologiques. *Paris ; Londre ; New-York : Tec et Doc : Editions médicales internationales*
- Deng S., Liu J. and Niu C. (2022). HDL and Cholesterol Ester Transfer Protein (CETP). In: Zheng L (ed) HDL Metabolism and Diseases. *Springer Nature, Singapore*, 13 - 26
- Diallo A., Eklou-Gadegkeku K., Agbonon A., Aklilokou K., Creppy E. and Gbeassor M. (2010). Acute and sub-chronic (28-day) oral toxicity studies of hydroalcohol leaf extract of *Ageratum conyzoids* L (Asteraceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(5): 463 - 467
- Dimastromatteo J. (2010). Evaluation de radiotraceurs spécifiques de la plaque d'athérome vulnérable et de l'angiogenèse myocardique post-infarctus. *Ingénierie biomédicale, Université Joseph-Fourier, Grenoble I*

- Durazzo A., Lucarini M., Souto B., Cicala C., Caiazzo E., Izzo A., Novellino E. and Santini A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, 33: 2221 - 2243.
- Dzudie A., Njume E., Boombhi J., Awungia A., Ndom M., Ebasone P., Djomou A., Ba H., Mfekeu L., Menanga A., Kamdem F., Xia X., Ster A., Beaney T., Poulter N. and Kingue S. (2020). May Measurement Month 2018: Blood pressure screening results in Cameroon. *European Heart Journal Supplements*, 22 : 33 - 36
- Elzouki A., Stapleton F., Harfi H., Oh W., Whitley R. and Nazer H. (2011). Textbook of clinical pediatrics. *Springer Science & Business Media*.
- Engin A. (2017). The Definition and prevalence of obesity and metabolic syndrome. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 960: 1 - 17
- Eyog M., Grandé G. et Dossou B. (2002). Réseau d'espèces ligneuses alimentaire. *Compte rendu de la première réunion du réseau, 11-13 décembre 2000, CNSF Ouagadougou, Burkina Faso*, 11 - 13.
- Fatma S., Sadik B., Kemal B., Harun A., Hatice T. and Veli U. (2016). Effects of *Silybum marianum* Extract on High-Fat Diet Induced Metabolic Disorders in Rats. *Polish Journal of Food Nutrition Science*, 66(1): 43 - 49.
- Faure S. (2012). Antiagrégants plaquettaires. *Actualités Pharmaceutiques*, 51(521), 53 - 58.
- Faure S. (2017). Les insulinosécréteurs, sulfamides et glinides. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(571), 7 - 11.
- Favari E., Chroni A., Tietge U., Zanotti I., Escolà-Gil J. and Bernini F. (2015). Cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 224:181 - 206
- Félix K., Sylvain O. and Innocent P. (2010). Propriétés nutritionnelles et thérapeutiques du fruit de *Detarium microcarpum* Guill Perr. *Global Science books*, 1 - 5.
- Fernandez-P. and Villano D. (2008). Antioxidant activity of phenolic compounds: from in vitro results to in vivo evidence. *Food Science Nutrition*, 48(7): 649 - 671.
- Ferreira L., Dos Santos R., Oliva G. and Andricopulo A. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 20(7), 13384 - 13421.

- Field R., Stegelmeier B., Colegate S., Brown A. and Green B. (2015). An *in vitro* comparison of the cytotoxic potential of selected dehydropyrrolizidine alkaloids and some N-oxides. *Toxicol*, 97: 36 - 45.
- Finicelli M., Salle A., Galderisi U. and Peluso G. (2022). The Mediterranean Diet: An Update of the Clinical Trials. *Nutrients*, 14 : 1 - 21
- Fossati P. and Principe L. (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*, 28: 2077-2080.
- Friday C., Akwada U. and Igwe U. (2018). Phytochemical screening and antimicrobial studies of *Azizelia africana* and *Detarium microcarpum* seeds. *Chemistry International*, 4(3): 170 - 176
- Fu P., Xia Q., Lin G. and Chou M. (2004). Pyrrolizidine alkaloids--genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. *Drug Metabolism Reviews*, 36:1 - 55.
- Fuchs C. and Hewitt P. (2011). Preclinical perspective of urinary biomarkers for the detection of nephrotoxicity: what we know and what we need to know. *Biomarkers in Medicine*, 5(6):763 - 779
- Funck-Brentano T. and Cohen-Solal M. (2011). Remodelage osseux et traitements diurétiques. *Revue du Rhumatisme Monographies*, 78(2) : 124 - 128.
- Gadgil M., Appel L., Yeung E., Anderson C., Sacks F. and Miller. (2013). The effects of carbohydrate, unsaturated fat, and protein intake on measures of insulin sensitivity: results from the OmniHeart trial. *Diabetes Care*, 36:1132 - 1137.
- Gaikwad S., Mohan G. and Rani M. (2014). Phytochemicals for Diabetes Management. *Pharmaceutical Crops*. 5: 11 - 28,
- Ganguly and Bhattacharjee A. (2019). Atherosclerotic plaque development: Disease Pathogenesis and emerging treatment options. *The NEHU Journal*, 17: 108 - 124
- Gautam B. (2020). Energy Minimization. *In Homology Molecular Modeling—Perspectives and Applications*.
- Gbekley E., Agbodeka K., Karou S., Anani K., Adjrah Y., Toudji G., Ameyapoh B., Simpore J. and Gbeassor M. (2017). Isolated bioactive plant compound with anti-diabetic property: Review. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 19 (4): 839 - 849

- Gimbrone M. and García-Cardena G. (2016). Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. *Circulation Research*, 118(4): 620 - 636
- Girona J., Manzanares J., Marimon F., Cabré A., Heras M. and Guardiola M. (2008). Oxidized to non-oxidized lipoprotein ratios are associated with arteriosclerosis and the metabolic syndrom in diabetic patients. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular diseases*, 18:380 - 387.
- Griendling K., Sorescu D. and Ushio-Fukai M. (2000). NADPH oxidase: Role in cardiovascular biology and disease. *Circulation Research*, 86: 494 - 501.
- Griess P. (1879). Bemerkungen zu der abhandlung der H.H. Weselsky und Benedikt "Ueber einige azoverbindungen. *Chemische Berichte*, 12(1): 426 - 428.
- Griffiths M., Strobel B., Hama J. and Cedergreen N. (2020). Toxicity and Risk of Plant-Produced Alkaloids to *Daphnia magna*. *Research square*, 1 - 25.
- Haddad Y. (2017). Rôle de Clec9a dans l'athérosclérose. *Thèse de sciences, Université Paris V – René Descartes*, 25 - 29
- Halimi M. (2015). Inhibiteurs du SGLT2 : mécanisme d'action, effets rénaux et effets sur la pression artérielle. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 9(1) : 26 - 29.
- Halimi S. (2005). Les glitazones. *La Revue de Médecine Interne*, 26(1), 54 - 57.
- Hama H., Mahamane I., Chaibou M., Chaibou O., Hama G. and Ikhiri K. (2022). Phytochemistry and pharmacology activities of *Detarium microcarpum* (Fabaceae) used in the treatment of parasitic diseases in Niger: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 11(2): 60 - 67
- Hama H., Ouedraogo B. and Adama R. (2019). Activité Antioxydante des extraits méthanoliques de differents organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. *European Scientific Journal*, 15(12): 159 - 171.
- Hamden K., Carreau S., Marki F., Masmoudi H. and El Feki A. (2008). Positive effects of green tea on hepatic dysfunction, lipid peroxidation and antioxidant defence depletion induced by cadmium. *Biological Research*, 41(3) : 331 - 339
- Hamza N., Bénédicte B., Catherine C. and Nicholas M. (2010). Prevention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the C57BL/6J mouse by two medicinal plants used in traditional

- treatment of diabetes in the east of Algeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(2): 513 - 518.
- Hawana S. and Alraei R. (2019). Benefits and Preparation Effects on Polyphenol-Rich Fruits and Vegetables Towards Cardiovascular Disease Prevention. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 9 : 1 - 5
- Helmy A. (2006). Review article: updates in the pathogenesis and therapy of hepatic sinusoidal obstruction syndrome. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 23(1): 11 - 25.
- Henquin J. (2005). Le traitement pharmacologique du diabète de type 2 : mode d'action des médicaments d'aujourd'hui et de demain. *Unité d'Endocrinologie et Métabolisme, Faculté de Médecine, UCL*, 39-46.
- Huang W., Metlakunta A., Dedousis N., Zhang P., Sipula I., Dube J., Scott K. and O'Doherty M. (2010). "Depletion of liver kupffer cells prevents the development of diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance". *Diabetes*, 59(2): 347 - 357,
- Huang S, and Zou X. (2010). Advances and challenges in protein-ligand docking. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(8): 3016-3034.
- Hutchins P. and Heinecke J. (2015). Cholesterol efflux capacity, macrophage reverse cholesterol transport and cardioprotective HDL. *Current Opinion in Lipidology*, 26:388 - 393
- Ingueneau C. (2010). Régulation de la signalisation calcique dans l'apoptose induite par les lipoprotéines oxydées. Implication dans l'athérosclérose. *Thèse de Doctorat, Université de Toulouse III, France*
- Incalza M., D'Oria R., Natalicchio A., Perrini S., Laviola L., and Giorgino F. (2017). Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular Pharmacology*, 100 : 1 - 19
- Ismail A., Hasni A., Haladu A., Noor Z. and Mohammed R. (2020). Inhibitory Effect of Eco-Friendly Naturally Synthesized Silver Nanoparticles from the Leaf Extract of Medicinal *Detarium microcarpum* Plant on Pancreatic and Cervical Cancer Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 21(5), 1247 - 1252.
- Jaisson S. and Gillery P. (2018). Les produits de glycation avancée des protéines. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 502: 48 - 55.

- James D., Owolabi A., Bisalla M. and Jassium H. (2010). Effects of Aqueous Extracts (Leaves and Stem) of *Vitex doniana* on Carbon Tetrachloride Induced Liver Injury in Rats. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 1(1): 1 - 5.
- Jamkhande G., Chandak G., Dhawale C., Barde R., Tidke S. and Sakhare S. (2014). Therapeutic approaches to drug targets in atherosclerosis. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 22: 179 - 190
- Jaoued E., Zidi H. and Chekir M. (2017). Les médicaments du diabète. *Slideshare a Scribd*
- Javadifar A., Rastgoo S., Banach M., Jamialahmadi T., Johnston P. and Sahebkar A. (2021). Foam cells as therapeutic targets in atherosclerosis with a focus on the regulatory roles of non-coding RNAs. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (2529): 1 - 27
- Johan Frostegård. (2013). Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. *BioMed central*. 11 (117): 1 - 13
- Johnson J. (2017). Metalloproteinases in atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology*, 5(816): 93 - 106.
- Johnson R., Segal M., Sautin Y., Nakagawa T., Feig D., Kang D., Gersch S., Benner S. and Sánchez-Lozada G. (2007). Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 86:899 - 906
- Julibert A., Bibiloni, Bibiloni M. and Tur J. (2019). Dietary fat intake and metabolic syndrome in adults: A systematic review. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 29: 887 - 905
- Kása A., Csontos C. and Verin A. (2015). Cytoskeletal mechanisms regulating vascular endothelial barrier function in response to acute lung injury. *Tissue Barriers*, 3:974448.
- Kaushal J., Mehandia S., Singh G, Raina A. and Arya K. (2018). Catalase enzyme: Application in bioremediation and food industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16: 192 - 199.
- Kawasaki T., Igarashi K., Koeda T., Sugimoto K., Nakagawa K., Hayashi S., Yamaji Y., Inui H., Fukusato T. and Yamanouchi T. (2009). Rats fed fructose-enriched diets have characteristics of nonalcoholic hepatic steatosis. *Journal of Nutrition*, 139(11): 2067 - 2071.

- Kebieche M. (2009). Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens L* : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. *Thèse de doctorat en biochimie, Université Mentouri Constantine*, 1 - 143.
- Kennedy J., Ellacott J., King L. and Hasty H. (2010). Mouse models of the metabolic syndrome. *Disease Models & Mechanisms*, 3: 156 - 166
- Keti Z., Ketan R., Randolph R., Arroo J., Roberta B. and Matteo M. (2017). Flavonoids and Their Metabolites: Prevention in Cardiovascular Diseases and Diabetes. *Diseases*, 5(19), 1 - 18.
- Kim S., Kim J., Jia Y., Lee J., Wu C., Shin K., Hurh B., Choi Y. and Lee S. (2014). The Hypolipidemic and Hypoglycemic Activities of Fermented Brown Rice Fibers by Regulating PPAR α and ChREBP in the Livers of C57BL/6J Mice. *Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4: 307.
- Kirkwood J., Lebold K., Miranda C., Wright C., Miller G, Tanguay R., Barton C., Traber M. and Stevens J. (2012). Vitamin C deficiency activates the purine nucleotide cycle in zebrafish. *Journal of Biological Chemistry*, 3(6): 3833 - 3841
- Kitchen D., Decornez H., Furr J. and Bajorath J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery : Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11): 935 - 949.
- Kleemann R., Verschuren L. and Morrison M. (2011). "Antiinflammatory, anti-proliferative and anti-atherosclerotic effects of quercetin in human *in vitro* and *in vivo* models," *Atherosclerosis*, 218(1): 44 - 52.
- Kobori M. S. Masumoto, Y. Akimoto, and H. Oike (2011). "Chronic dietary intake of quercetin alleviates hepatic fat accumulation associated with consumption of a Western-style diet in C57/BL6J mice," *Molecular Nutrition and Food Research*, 55(4): 530 - 540.
- Kohli R., Kirby M., Xanthakos A., Softic S., Feldstein E., Saxena V., Tang H., Miles L., Miles V., Balistreri F., Woods C. and Seeley J. (2010). "High-fructose, medium chain trans fat diet induces liver fibrosis and elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis," *Hepatology*, 52(3): 934 - 944.
- Konaté K., Bassolé I., Hilou A., Awaret-samseny R., Souza A, Barro N., Dicko H., Datté J. and M'Batchi B. (2012). Toxicity assessment and analgesic L. (Malvaceae) medicinals plants of Burkina Faso. *BMC Complement Alternative Medicine*, 12: 120.

- Kouyaté A. et Lamien N. (2011). *Detarium microcarpum*, détar sucré. Conservation et utilisation durable des ressources génétiques des espèces ligneuses alimentaires prioritaires de l'Afrique subsaharienne. *Biodiversity International*. 1 - 7.
- Kouyaté A. (2005). Aspects ethnobotaniques et étude de la variabilité morphologique, biochimique et phénologique de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. au Mali. *Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences Biologiques Appliquées, Université de Gand, Belgique*. 207
- Krouwer V., Hekking L., Langelaar-Makkinje M., Regan-Klapisz E. and Post J. (2012). Endothelial cell senescence is associated with disrupted cell-cell junctions and increased monolayer permeability. *Vascular Cell*, 4:12
- Kumarappan C., Rao N. and Mandal. (2007). Polyphenolic extract of *Ichnocarpus frutescens* modifies hyperlipidemia status in diabetic rats. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 6(2) : 175 - 187
- Kyung J., Myoung S., Keunae J. and Hwang J. (2011). Piperidine alkaloids from *Piper retrofractum* Vahl protect against high-fat diet-induced obesity by regulating lipid metabolism and activating AMP-activated protein kinase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 41 (1): 219 - 225.
- Lao K., Zeng L. and Xu Q. (2015). Endothelial and smooth muscle cell transformation in atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology*, 26:449 - 456
- Lee H., Shin J., Kim G., Park S., Ihm S., Kim C., Kim K., Kim H., Lee H., Park J., Pyun B. and Chae C. (2019). Korean Society of Hypertension Guidelines for the management of hypertension: part II-diagnosis and treatment of hypertension, *Clinical Hypertension*, 25 (20): 1 - 24
- Lee P., Peng H., Gelbart T. and Beutler E. (2004). The IL-6- and lipopolysaccharide-induced transcription of hepcidin in HFE-, transferrin receptor 2-, and beta microglobulin-deficient hepatocytes. *Proceedings of National Academy Sciences*; 101(25): 9263 - 9265.
- Lenzen S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51 : 216 - 226
- Li A., Li S., Zhang Y., Xu X., Chen Y and Li H. (2014). Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients*, 6: 6020 - 6047
- Li Y., Zhang Q., Chen Z., He Z. and Yi G. (2015). Oxidized lowdensity lipoprotein attenuated desmoglein 1 and desmocollin 2 expression via LOX-1/Ca(2+)/PKC- β signal in human

- umbilical vein endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 468:380 – 386
- Libby P., Ridker M. and Göran K. (2011). Hansson Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*, 473: 317 - 325
- Little P., Chait A. And Bobik A. (2011). Cellular and cytokine-based inflammatory processes as novel therapeutic targets for the prevention and treatment of atherosclerosis. *Pharmacology and Therapeutics*, 131(3): 255 - 268.
- Lowry O., Rosbrough N., Al F. and Randall R. (1951). Protein determination using FolinCiocalteu reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193: 265 - 275
- Madeswaran A. (2017). *In silico, in vitro* and *in vivo* memory enhancing activity of certain commercially available flavonoids in scopolamine and aluminium-induced learning impairment in mice. *Thèse*, 60 - 64.
- Manduteanu I. and Simionescu M. (2012). Inflammation in atherosclerosis: a cause or a result of vascular disorders. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 16 (9): 1978 - 1990
- Mariappan G., Saha B., Sutharson L., Singh A. and Garg S. (2011). Analgesic, anti-inflammatory, anti-pyretic and toxicological evaluation of some newer 3-methyl pyrazolone derivatives. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 19(2): 115 - 122.
- Mariarita D., Annalisa N., Pierfrancesco B., Simone M., Rossella Z., Veronica C., Eliana A. and Nicola D. (2013). Atherosclerosis, Dyslipidemia, and Inflammation: The Significant Role of Polyunsaturated Fatty Acids. *ISRN Inflammation*, 1 - 13
- Marshall E. (1913). The Action Of Radium Emanation On Lipase. *Journal of Biology and Chemistry*. 15: 487 - 495
- Masson O. (2007). Biochimie: Bases biochimique de la diététique. 2^{ème} édition: TEC & DOC. ISBN. 330.
- Matsinkou R., Ngondi J., Kuate D., Mbofung C. and Oben J. (2012). Antioxidant and anti-hyperglycemic potential of pulp extracts of Irvingia wombolu fruits. *Biology and Medicine*, 4(1): 10 - 19.
- McGill1 R. (2016). The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers. *EXCLI Journal*, 15 : 817 - 828

- McReelis D. and Lovshin J. (2017). Les « nouvelles » classes d'antidiabétiques: considérations ophtalmologiques relatives aux agonistes du GLP-1R, aux inhibiteurs de la DPP-4 et aux inhibiteurs du SGLT2. *Canadian Journal of Ophthalmology*, 52 : 7 - 10.
- Meraihia A. and Zermane C. (2020). Etude *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. *Mémoire en Biochimie appliquée*, Algérie, 29 - 31
- Mitra S., Goyal T. and Mehta J. (2011). Oxidized LDL, LOX-1 and atherosclerosis. *Cardiovascular Drugs an Therapy*, 25:419 - 429
- Mogos T., Dondoi C. and Iacobini A. (2017). A review of dietary fiber in the diabetic diet. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition & Metabolic Diseases*, 24(2): 161 - 164,
- Mohammed R., Tarik K., Hicham H., Souliman A., Chakib A., Mohamed B., Kasbi F., Chadli F., Nazih E., Nguyen P. and Ouguerram K. (2020). Effect of aqueous extract and polyphenol fraction derived from *Thymus atlanticus* Leaves on Acute Hyperlipidemia in the Syrian Golden Hamsters. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1 - 9.
- Monnard S. (2016). Prévention des maladies cardiovasculaires en pratique clinique. *European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice*, 7 - 9
- Moreira R., Pereira D., Valentão P. and Andrade P. (2018). Pyrrolizidine alkaloids: chemistry, pharmacology, toxicology and food safety. *International Journal of Molecular Sciences*, 19: 1668
- Mouchlis V., Afantitis A., Serra A., Fratello M., Papadiamantis A., Aidinis V., Lynch I., Greco, D. and Melagraki G. (2021). Advances in De Novo Drug Design : From Conventional to Machine Learning Methods. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4)
- Moss J. and Ramji D. (2015). Cytokines: roles in atherosclerosis disease progression and potential therapeutic targets. *Future Medicinal Chemistry*, 8(11): 1317 - 1330
- Muhammad K., Mohd S., Pinaki S., Moklesur R., Arindam D. and Sreemoy K. (2015). Evaluation of the acute and sub-acute toxicity of the ethanolic extract of *Pericampylus glaucus* (Lam.) Merr in BALB/c mice. *Journal of Acute Disease*, 4(4): 309 - 315.
- Nabila B., Fawzia A. and Tatjana K.. (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Chimie*, 12: 1259 - 1266.

- Nagendra N., Rajasekhar C. and Raghu J. (2017). Anti-atherosclerotic potential of aqueous extract of *Cinnamomum zeylanicum* bark against glucocorticoid-induced atherosclerosis in Wistar rats. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(5), 11 - 23.
- Nakayama T., Kosugi T., Gersch M., Connor T., Sanchez-Lozada G., Lanaspa A., Roncal C., Perez-Pozo E., Johnson J. and Nakagawa T. (2010). “Dietary fructose causes tubulointerstitial injury in the normal rat kidney”. *American Journal of Physiology*, 298(3): 712 - 720,
- Nalbone G., Bernot D., Peiretti F., Alessi M. and Vague J. (2002). Les statines en thérapeutique cardiovasculaire Pleiotropic effects of statins: implications in the treatment of cardiovascular diseases. *Médecine Sciences*, 18 : 1257 - 1265.
- Narhari D., Durajan G., Sharif H. and Sheikh Z. (2015). Evaluation of acute and subacute toxicity induced by methanol extract of *Terminalia citrina* leaves in Sprague Dawley rats. *Journal of Acute Disease*, 4(4): 316 - 321.
- OECD (Organisation économique pour la coopération et le développement). (2008a) Guidelines for testing of chemical. Test N°425. Acute oral toxicity up and down procedure. Paris.
- OECD (Organisation économique pour la coopération et le développement). (2008b.) Guidelines for testing of chemical. Test N°407, repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents. Paris.
- Oibiokpa I., Adoga G., Saidu N. and Shittu O. (2014). Nutritional composition of *Detarium microcarpum* fruit. *African Journal of Food Science*, 8(6): 342 - 350
- Okafor O., Ezeanyika C., Nkwonta G. and Okonkwo C. (2015). Plasma Lipid Profiles and Atherogenic indices of rats fed raw and processed jack fruit (*Artocarpus heterophyllus*) seeds diets at different concentrations. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation*, 9(8): 750 - 754.
- Okolo E., Akah A. and Uzodinma U. (2012). Antidiabetic activity of the root extract of *Detarium microcarpum* (Fabaceae) Guill and Perr. *Phytopharmacology*, 3(1) 12 - 18
- OMS (2017). Rapport de l’Organisation Mondiale de la Santé sur la situation mondiale des maladies non transmissibles. Aide mémoire N°355.
- OMS. (2018). Maladies Cardiovasculaire, Aide mémoire.

- OMS. (2020). L'OMS lève le voile sur les principales causes de mortalité dans le monde: 2000 - 2019.
- Oron-Herman M., Kamari Y., Grossman E., Yeager G., Peleg E. and Shabtay Z. (2008). Metabolic syndrome: comparison of the two commonly used animal models. *American Journal of Hypertension*, 21: 1018 - 1022.
- Oršolić N., Goluža E., Dikić D., Lisičić D., Sašilo K., Rođak E., Jeleč Ž., Lazarus M. and Orct T. (2014). Role of flavonoids on oxidative stress and mineral contents in the retinoic acid-induced bone loss model of rat. *European Journal of Nutrition*, 53, 1217 - 1227
- Oršoli N., Landeka I., Đikić D., Rogić, D., Odeh D., Balta V., Junaković K., Terzić S. and Jutrić, D. (2019). Effect of propolis on diet-induced hyperlipidemia and atherogenic indices in mice. *Antioxidants*, 8(156): 1 - 22.
- Ötles S. and Ozgoz S. (2014). Health effects of dietary fiber. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 13(2), 191 - 202.
- Otsuka F., Yasuda S., Noguchi T. and Ishibashi-Ueda H. (2016). Pathology of coronary atherosclerosis and thrombosis. *Cardiovascular Diagnosis and Therapy*, 6(4):396 - 408
- Ouchfoun M. (2010). Validation des effets antidiabétiques de rhododendron groenlandicum, une plante médicinale des cri de la baie james, dans le modèle *in vitro* et *in vivo* élucidation des mécanismes d'action et identification des composés actifs. *Mémoire de master, Département de Pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal*. 33 - 39
- Panchal S. and Brown L. (2011). Rodent models for metabolic syndrome research. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1 - 14.
- Panchal S., Poudyal H., Iye A., Nazer R., Alam A., Diwan V., Kauter K., Sernia C., Campbell F., Ward L., Gobe G., Fenning A. and Brown L. (2011). High carbohydrate high fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 57(1): 51 - 64.
- Pang X., Zhao J., Zhang W., Zhuang X., Wang J. and Xu R. (2008). Antihypertensive effect of total flavones extracted from seed residues of *Hippophae rhamnoides* L. in sucrose-fed rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 117: 325 - 331.
- Patel J., Iyer A. and Brown L. (2009). "Evaluation of the chronic complications of diabetes in a high fructose diet in rats". *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 46(1) 66 - 72

- Pégorier P. (2005). Récepteurs PPAR et insulinosensibilité : nouveaux agonistes en développement. *Annal Endocrinologique*, 66(2) : 10 - 17
- Pereira B., Momentti A., Peixoto B., dos Santos F., Fava F. and Fernandes A. (2013). Influence of treatment with quercetin on lipid parameters and oxidative stress of pregnant diabetic rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 91: 171 - 177.
- Pillon F., Michiels Y. and Faure S. (2014). Prise en charge de l'hypertension artérielle. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(532), 25 - 29.
- Pieme C., Tatangmo J., Simo G., Biapa C., Ama Moor V., Moukette B., Nzufo F., Nono L. and Sobngwi E. (2017). Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes. *BMC Research Notes*, 10(1): 1 - 7.
- Podell B., Ackart D., Richardson M., DiLisio J., Pulford B. and Basaraba R. (2017). A model of type 2 diabetes in the guinea pig using sequential diet-induced glucose intolerance and streptozotocin treatment. *Disease Models & Mechanisms*, 10(2):151 - 162
- Prasad G., Prakash G., Chandak A, Dhawale S, Barde S., Tidke P. and Sakhare R. (2014). Therapeutic approaches to drug targets in atherosclerosis. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 22: 179 - 190
- Preguiça I., Alves A., Nunes S., Fernandes R., Gomes P., Viana D. and Reis F. (2020). Diet-induced rodent models of obesity-related metabolic disorders - A guide to a translational perspective. *Obesity Review*, 1 - 29
- Prieto P., Pineda M. and Aguilar M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337 - 341.
- Ragab S., Elghaffar A., El-Metwally H., Badr G., Mahmoud H. and Omar M. (2015). Effect of a high fat, high sucrose diet on the promotion of non-alcoholic fatty liver disease in male rats: the ameliorative role of three natural compounds. *Lipids in Health and Disease*, 14, 83
- Raja S., Ahmed K., Kumar V., Mukherjee K., Bandyopadhyay A. and Mukherjee P. (2007). Antioxidant effect of *Cytisus scorparius* against carbon tetrachloride treated liver injury in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 109: 41 - 47.
- Reddy G., Muthenna C., Akileshwari M., Saraswat and Petrash J. (2011). "Inhibition of aldose reductase and sorbitol accumulation by dietary rutin," *Current Science*, 101(9): 1191 - 1197.

- Reitman and Franckel. (1957). Lipids oxidation. *Progress in Lipid Research Journal*, 19: 1 - 22.
- Reshma N. and Toshiko K. (2015). Noncommunicable Diseases In Africa: Youth are key to curbing the epidemic and achieving sustainable development. *Report of Young Health Programme*, 1 - 12.
- Rizkalla S. (2010). Health implications of fructose consumption: A review of recent data. *Nutrition & Metabolism*, 7:82.
- Rizwana A., Riaz M. and Hulikal S. (2016). Hypolipidemic and antioxidant effects of ethanol extract of *Cassia fistula* fruit in hyperlipidemic mice. *Pharmaceutical Biology*, 54(12): 2822 - 2829
- Robberecht H. and Hermans N. (2016). Biomarkers of Metabolic Syndrome: Biochemical Background and Clinical Significance. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 14(2): 47 - 93.
- Rocha V., Claudio E., Vitor L., Cordeiro J., Domingos F., Márcia R. and André S. (2019). High-fat diet-induced obesity model does not promote endothelial dysfunction *via* increasing Leptin/Akt/eNOS signaling. *Frontiers in Physiology*, 10(268): 1 - 10.
- Roeschlau P., Bernt E. and Gruber W. (1974). Enzymatic determination of total cholesterol in serum. *Zeitschrift fur Klinische chimie und klinische Biochimie*, 12: 226.
- Roy S., Jaydip B., Dona S., Sutapa M., Maqsood S. and Madhumita R. (2010). Curcumin protects DNA damage in a chronically arsenic-exposed population of West Bengal. *Human and Experimental Toxicology*, 29(6): 513 - 524.
- Rutledge A. and Adeli K. (2007). Fructose and the metabolic syndrome: pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutrition Reviews*, 65(6):13 - 23.
- Rychter A., Hryhorowicz S., Słomski R., Dobrowolska A. and Kreła-Kaźmierczak I. (2022). Antioxidant effects of vitamin E and risk of cardiovascular disease in women with obesity- A narrative review. *Clinical Nutrition*, 41(7):1557 - 1565
- Saganuwan A. (2017). Toxicity Studies of Drugs and Chemicals in Animals: An Overview. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 20(4): 291 - 318.
- Sagar M., Rekha K., Mena F. and Sachin L. (2012). Therapeutic approaches to drug targets in hyperlipidemia. *Biomedicine*. 2(4), 137 - 146.

- Sameer N., Navya M., Kalpesh R., Kartik T., Shreesh O., Chandragouda R. and Yogeta O. (2016). Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes – A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chemico-Biological Interactions*, 244 : 49 - 63.
- Sanchez-Lozada L., Tapia E., Jimenez A., Bautista P., Cristobal M., Nepomuceno T., Soto V., Avila-Casado C., Nakagawa T., Johnson J., Herrera-Acosta J. and Franco M. (2007). Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 292: 423 - 429.
- Sanchez-Moreno C., Larrauri J. and Saura-Calixto F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76: 270 - 276.
- Sani A., Danmalam U. and Hajara I. (2014). Pharmacognostic Studies of the Stem Bark of *Detarium Microcarpum*-Guill. and Perr. (Fabaceae). *Natural Products Chemistry & Research*, 1 - 8
- Sato A., Kawano H., Notsu T., Ohta M., Nakakuki M., Mizuguchi K., Itoh M., Suganami T. and Ogawa Y. (2010). Antiobesity effect of eicosapentaenoic acid in high-fat/high-sucrose diet-induced obesity: importance of hepatic lipogenesis. *Diabetes*, 59(10) : 2495 - 2504,
- Senaphan K., Kukongviriyapan U., Sangartit W., Pakdeechote P., Pannangpetch P., Prachaney P., Greenwald E. and Kukongviriyapan V. (2015). Ferulic acid alleviates changes in a rat model of metabolic syndrome induced by high-carbohydrate, high-fat diet. *Nutrients*, 7: 6446 - 6464
- Shabalala S., Dlodla P., Mabasa L., Kappo A., Basson A., Pfeiffer C. and Johnson R. (2020). The effect of adiponectin in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the potential role of polyphenols in the modulation of adiponectin signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131 : 1 - 17
- Sharma N., Okere I., Barrows R., Leie B., Duda M., Yuana L., Previsa F., Sharovd G., Azimzadehf M., Ernsbergera P., Hoitb D., Sabbahd H. and Stanley C. (2008). High-sugar diets increase cardiac dysfunction and mortality in hypertension compared to low-carbohydrate or high-starch diets. *Journal of Hypertension*, 26(7): 1402 - 1410,

- Shurtz-Swirski R., Sela S., Herskovits A., Shasha S. and Shapiro G. (2004). Involvement of peripheral polymorphonuclear leukocytes in oxidative stress and inflammation in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 24: 104 - 110.
- Sigit F., Tahapary D., Trompet S., Sartono E., Willems van Dijk K., Rosendaal F. and Mutsert R. (2020). The prevalence of metabolic syndrome and its association with body fat distribution in middle-aged individuals from Indonesia and the Netherlands: A cross-sectional analysis of two population-based studies. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 12(1): 1 - 11
- Singla R., Dubey K., Garg A., Sharma K., Fiorino M., Ameen M., Haddad M. and Al-Hiary M. (2019). Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. *Journal of AOAC International*, 102(5): 1397 - 1400
- Singleton V. and Rossi J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolydic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Sinha K. (1972). Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*, 47: 389 - 394.
- Sipahi S., Genc A., Acikgoz B., Yildirim M., Aksoy E., Vatan B., Dheir H. and Altindis M. (2019). Relationship of salusin-alpha and salusin-beta levels with atherosclerosis in patients undergoing haemodialysis. *Singapore Medical Journal*, 60(4): 210 - 215
- Sivajothi V., Dey A., Jayakara B. and Raj Kapoor B. (2008). Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effect of *Phyllanthus rheedii* on streptozotocin induced diabetic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7(1): 53 - 59
- Sousa S., Fernandes P., and Ramos M. (2006). Protein-ligand docking : Current status and future challenges. *Proteins*, 65(1): 15-26.
- Srinivasan S. and Pari L. (2013). Antihyperlipidemic effect of diosmin: A citrus flavonoid on lipid metabolism in experimental diabetic rats. *Journal of Functional Foods*, 484 - 492
- Srividya. (2017). Atherosclerosis Coronary Heart Disease and The recent advancements in the treatment of Atherosclerosis. *Journal of Medical and Health Sciences*, 6(1): 1 - 9
- Subramanion J., Zuraini Z., Yeng C., Yee L., Lachimanan L. and Sasidharan S. (2011). Acute Oral Toxicity of Methanolic Seed Extract of *Cassia fistula* in Mice. *Molecules*, 16, 5268 - 5282.

- Syed S., Trinnaman B., Martin S., Major S., Hutchinson J. and Magee A. (2002). Molecular interactions between desmosomal cadherins. *Biochemical Journal*, 362: 317 - 327
- Szkudelski T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiological Research*, 50: 536 - 546.
- Taskinen M. (1992). Quantitative and qualitative lipoprotein abnormalities in diabetes mellitus. *Diabetes*, 41: 12 - 17.
- Thiombiano A., Schmidt M., Zizka A., König K. and Nacoulma I. (2010). Ligneux : Etat actuel de la biodiversité. 232 - 250
- Thirunavukkarasu V., Anitha N. and Anuradha C. (2004). Lipoic acid attenuates hypertension and improves insulin sensitivity, kallikrein activity and nitrite levels in high fructose-fed rats. *Journal of Comparative Physiology B*, 174: 587 - 592
- Tong T., Du-Ok K., Bo-Sup K., Kyung-Sik H., and Seong-Gook, K. (2015). Beneficial Effect of Seaweed on High-fat Diet-induced Oxidative Stress and Insulin Resistance in Rats. *Food Science and Biotechnology*, 24(6), 2185 - 2191.
- Torabian S.; Haddad E.; Rajaram S.; Banta J. and Sabate J. (2009). Acute effect of nut consumption on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and lipid peroxidation. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 22, 64 - 71
- Tran L., Yuen G. and McNeill J. (2009). The fructose fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 332(1-2):145 - 159.
- Trinder P. (1959). Determination of blood glucose using aminophenazone. *Journal of Clinical Pathology*, 22 : 246.
- Turpin G. (1997). Pourquoi, Quand, Comment Traiter les Dyslipoproteinimie. *Edit Masson*, 166 - 169.
- Tussing-Humphreys L., Lamar M., McLeod A., Schiffer L., Blumstein L., Dakers R., Karstens A., Oji Hemphill N., Strahan D., Siegel L., Flack J., Antonic M., Restrepo L., Berbaum M. and Fitzgibbon M. (2022). Effect of Mediterranean diet and Mediterranean diet plus calorie restriction on cognition, lifestyle, and cardiometabolic health: A randomized clinical trial. *Preventive Medicine Reports*, 29 : 101955

- Umar H. and Utari D. (2019). Differences in consumption of flavonoid phytochemicals toward total cholesterol and Ldl-cholesterol levels in dyslipidemia and non-dyslipidemia groups of minangkabau ethnic women. *Indian Journal of Public Health Research and Development*, 10(10): 1736 - 1741.
- Vacek P., Rehman S., Neamtu D., Yu S., Givimani S. and Tyagi C. (2015). Matrix metalloproteinases in atherosclerosis: role of nitric oxide, hydrogen sulfide, homocysteine, and polymorphisms. *Vascular Health and Risk Management*, 11: 173 - 183
- Vasanji Z., Cantor E., Juric D., Moyen M. and Netticadan T. (2006). Alterations in cardiac contractile performance and sarcoplasmic reticulum function in sucrose-fed rats is associated with insulin resistance. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 291: 772 - 780.
- Vergès, B. (2016). Ézétimibe : plus de preuves pour un effet sur la réduction du risque cardiovasculaire. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10(5) : 430 - 433.
- Vinik and Flemner (2002). Diabetes and macrovascular disease. *Journal of diabetes and its complications*, 16:235 - 245.
- Wada T., Kenmochi H., Miyashita Y., Sasaki M., Ojima M., Sasahara M., Koya D., Tsuneki H. and Sasaoka T. (2010). Spironolactone improves glucose and lipid metabolism by ameliorating hepatic steatosis and inflammation and suppressing enhanced gluconeogenesis induced by high-fat and high-fructose diet. *Endocrinology*, 151(5) : 2040 - 2049
- Wagner J. (2002). Early clinical development of pharmaceuticals for type 2 diabetes mellitus : from preclinical models to human investigation. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(12): 5362 - 5366.
- Wautier M., Tessier F. and Wautier J. (2014). Les produits de glycation avancée: un risque pour la santé humaine. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 72(6), 400 - 408.
- Whitaker R. (2014). Anatomy of the heart. *Medecine*, 42(8): 406 - 408
- Wold L., Dutta K., Mason M., Ren J., Cala S., Schwanke M. and Davidoff J. (2005). Impaired SERCA function contributes to cardiomyocyte dysfunction in insulin resistant rats. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 39: 297 - 307
- Wong K., Chin Y., Suhaimi H., Fairus A. and Ima-Nirwana S. (2016). Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutrition & Metabolism*, 13(65): 1 - 12.

- Wong K., Chin Y., Suhaimi H., Fairus A. and Ima-Nirwana S. (2016). Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutrition & Metabolism*, 13(65): 1 - 16
- Xiao J. and Hogger P. (2015). Dietary polyphenols and type 2 diabetes: Current insights and future perspectives. *Currents Medicinal Chemistry*, 22: 23 - 38,
- Xu F., Du Y., Hang S., Chen A., Guo F. and Xu T. (2013). Adipocytes regulate the bone marrow microenvironment in a mouse model of obesity. *Molecular Medicine Reports*, 8: 823 - 828.
- Yagi K. (1976). Simple fluorometric assay for lipoperoxide blood plasma. *Biochemistry Medecine*, 15: 212 - 216.
- Yamada T., Chia-Ching C., I-Ming C. and Syed W. (2013). Non-Communicable Diseases in Developing Countries: Causes and Health Policy/Program Assessments. *Journal of Tropical Diseases*, 1(3): 1 - 7
- Yamashita H., Fujisawa K., Idei S., Kawaguchi N., Ito K., Hiemori M., and Tsuji H. (2007). Improvement of obesity and glucose tolerance by acetate in type 2 diabetic Otsuka long-Evans Tokushima fatty (OLETF) rats. *Bioscience, Biotechnology Biochemistry*, 71, 1236 - 1243.
- Yang X., Ye J., Li X., Li Q. and Song Y. (2019). Pyrrolizidine alkaloids-induced hepatic sinusoidal obstruction syndrome: Pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, treatment, and outcomes. *World Journal of Gastroenterology*, 25:3753 - 3763.
- Yang, C., Chen, E., and Zhang, Y. (2022a). Protein–Ligand Docking in the Machine-Learning Era. *Molecules*, 27(14): 14.
- Yaro A., Yusif B., Mu'azu B., Matinja I. and Chutiyami M. (2017). Anti-Inflammatory and Analgesic Effect of *Detarium Microcarpum* (Guill. and Perr.) Stem Bark Methanol Extract in Rats and Mice. *International Research Journal of Pharmacy and Medical Sciences*, 1(1): 7 - 10.
- Yen G. and Duh P. (1994). Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42: 629 - 632.
- You C., Su, C. and Zhou, C. (2008). Study on the Effect and mechanisms of *Scutellaria baicalensis* stem-leaf total flavonoid in regulating lipid metabolism. *Journal of Chinese Medicine*, 33, 1064 - 1066.

- You J., Lee Y, Kim S, Kim S. and Changa K. (2014). Ethanol extract of lotus (*Nelumbonucifera*) root exhibits an anti-adipogenic effect in human pre-adipocytes and anti-obesity and anti-oxidant effects in rats fed a high-fat diet. *Nutrition Research*. 34: 258–226.
- Young D. (2001). Effects of diseases on clinical Laboratory Tests, 4th Edition, Vol. 1 and 2. Eds Washington, DC: AACCC Press. 1 - 7,
- Yu X., Fu Y., Zhang D., Yin K. and Tang C. (2013). Foam cells in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*, 424:245 - 252
- Yusuf S., Joseph, P., Rangarajan, S., Islam S., Mente A., Hystad P. and Dagenais G. (2019). Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155 722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study. *The Lancet*, 1 - 14
- Zainal Z., Ong A., May Y., Chang K., Rahim A. and Khaza'ai H. (2020). Acute and Subchronic Oral Toxicity of Oil Palm Puree in Sprague–Dawley Rats. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17 (3404): 2 - 18
- Zaki T. (2017). Rodent models of type 2 diabetes mellitus. *Hebron University Research Journal*, 7: 32 - 56
- Zhao P., Cui H., Shao Z. and Cao L. (2022). Abdominal obesity, chronic inflammation and the risk of non-alcoholic fatty liver disease. *Annals of Hepatology*, 1 - 6

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : Questionne d'enquête ethnobotanique

I. Consentement

Madame/monsieur bonjour. Je m'appelle _____ et je suis étudiant à l'Université de Yaoundé I. Dans le cadre de mes recherches pour la valorisation de nos ressources locales, je vous contacte aujourd'hui pour vous poser quelques questions les plantes que vous utilisez dans le traitement des maladies qui touchent la population. L'avantage direct pour vous à participer à cette enquête est que les informations issues de nos travaux seront partagées avec vous pour permettre une meilleure utilisation ou prescription de ces plantes.

Vous pouvez poser des questions maintenant ou à tout moment pendant l'entretien. Toutes les informations que vous donnerez seront strictement anonymes et confidentielles. Votre nom ne sera associé à aucune de vos réponses ni donné à quiconque en dehors de travail. Veuillez répondre honnêtement aux questions. Si vous ne connaissez pas de réponse, dites-nous que vous ne connaissez pas la réponse. Si vous préférez ne pas répondre à des questions, dites-le. Vous pouvez vous retirer de cet entretien à tout moment. Votre coopération est grandement appréciée. Avez-vous des questions pour moi ? Pouvons-nous procéder à l'entretien ?

II. Identification du répondant

N°	Localisation et date	Réponse
1	Numéro du Questionnaire	
2	Nom de la localité	
3	Nom du répondant	
4	Sexe	
5	Statut (herboriste, guérisseur, simple vendeur.....)	
6	Contact	
7	Site d'enquête	
8	Date du jour	
9	Langue de l'enquête	

III. Données ethnopharmacologiques

1. Quelles sont les plantes que vous utilisez dans le traitement des maladies affectant l'homme ?

Remplir le tableau ci-dessous

N°	Nom commun ou vernaculaire de la plante	Nom en français	Utilisation/ Traitement	Partie de la plante utilisée	Mode de préparation	Dose d'administration (Verre)	Fréquence d'utilisation	Lieu de récolte

2. Avez-vous d'autres informations à partager ? Si oui préciser _____

IV. Conclusion

1. Pouvons-nous vous contacter plutard au besoin : OUI _____ NON _____

Merci d'avoir participé a cet entretien

Annexe 2 : Résultats de l'enquête ethnopharmacologique

➤ Identification

✓ Répartition des répondants en fonction du sexe

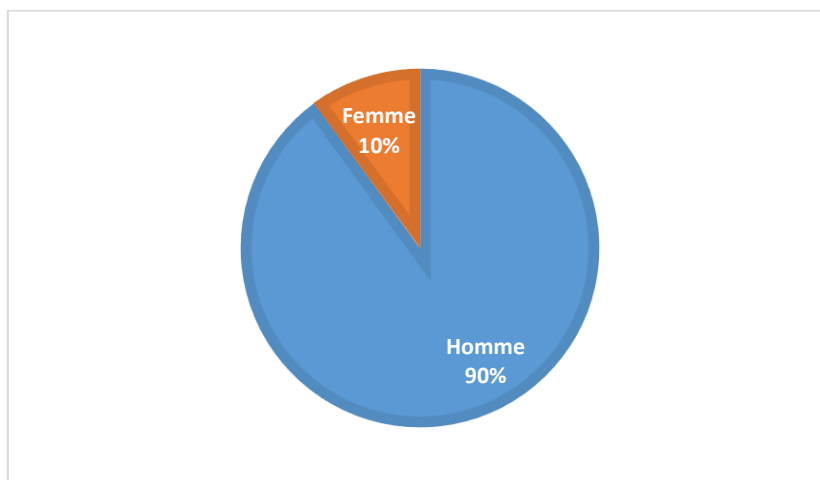
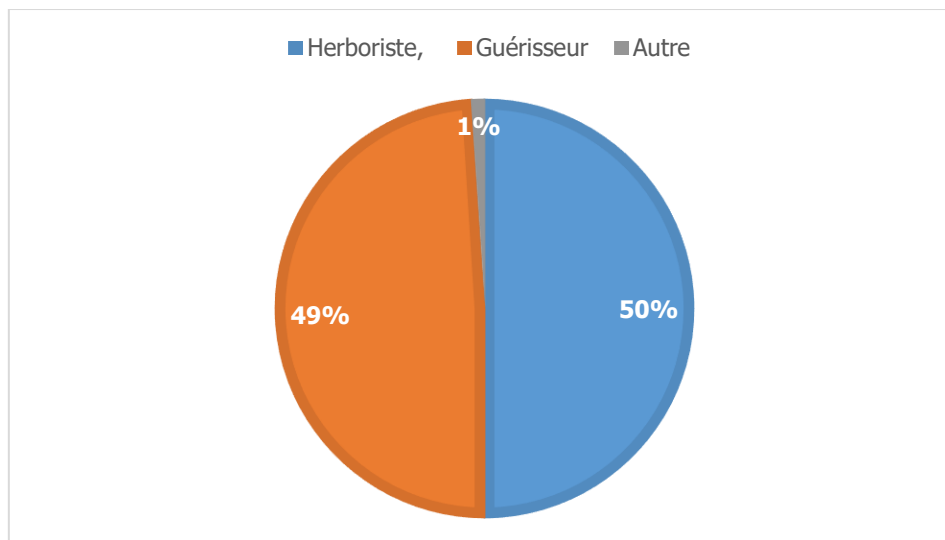


Figure 1 : Répartition des répondants en fonction du sexe

✓ Site d'enquête

Site d'enquête : marchés Mokolo et Mfoundi.

✓ Répartition des répondants en fonction de leur statut



$n = 6$

Figure 2 : Répartition des répondants en fonction de leur statut

➤ Données ethnopharmacologique des plantes

Tableau 1 : Plantes et utilisations

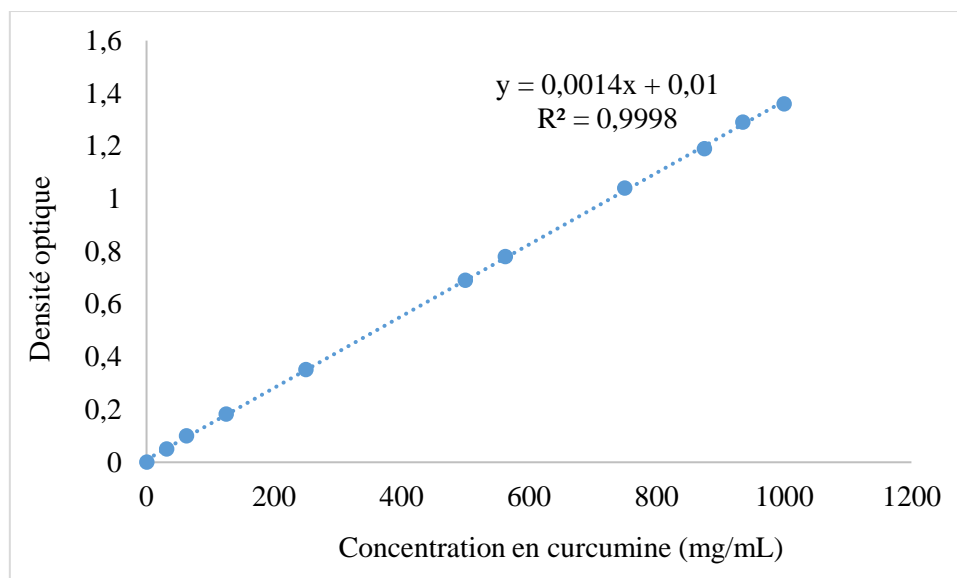
N°	Nom commun ou vernaculaire de la plante	Nom en français	Utilisation/ Traitement	Partie de la plante utilisée	Mode de préparation	Dose d'administration (Verre)	Lieu de récolte
1	Ail	Ail	Maladie de la peau	Gousse	Décoction	1 verre/jour	Marché local
			Fatigue			2 verres/jours	
2	Grosse cerise rouge	Amvout	Réduction du sucre	Fruits	Macération aqueuse	2 verres/jours	Zone forestière (Ngoumou)
			Perte de poids				
			Fatigue	Fruits			
			Fatigue	Fruits		1 verre et demi/jour	

3	Amuk (ewondo)	Petit détar	Baisse du rythme cardiaque	Ecorces	Décoction	1 verre/jour	Extrême-Nord (Kousserie & Kaélé), zone forestière
			Douleur thoracique	Ecorces et fruits			
			Consomment énormément d'eau	Ecorces			
			Gonflement des articulations				
			Essoufflement				
	Anémie et diarrhée	Ecorces	2 verres/ jour	1 verres/jour			
4	Cérise noire ou prune noire	Prune noire	Urine beaucoup	Fruits	Macération aqueuse	1 verre et demi/jour	zone forestière (Adamaoua, Garoua, Centre)
			Baisse du rythme cardiaque				
			Baisse du rythme cardiaque		Macération dans le vin de palm	1 verres/jour	
			Baisse du rythme cardiaque				
5	Moabi	Moabi	Fatigue	Fruits	Décoction	1 verre/jour	zone forestière (Centre)
			Mal de tête	Feuilles	Macération dans le vin de palm & décoction		
			Essoufflement	Ecorces			
6	Esock	Esock	Mal de ventre	Ecorces	Macération dans le vin de palm	Consommations régulière	zone forestière (Centre)

Annexe 3 : Réactifs dosage des polyphénols totaux

Folin (0,2N).....10 %

Annexe 4 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux



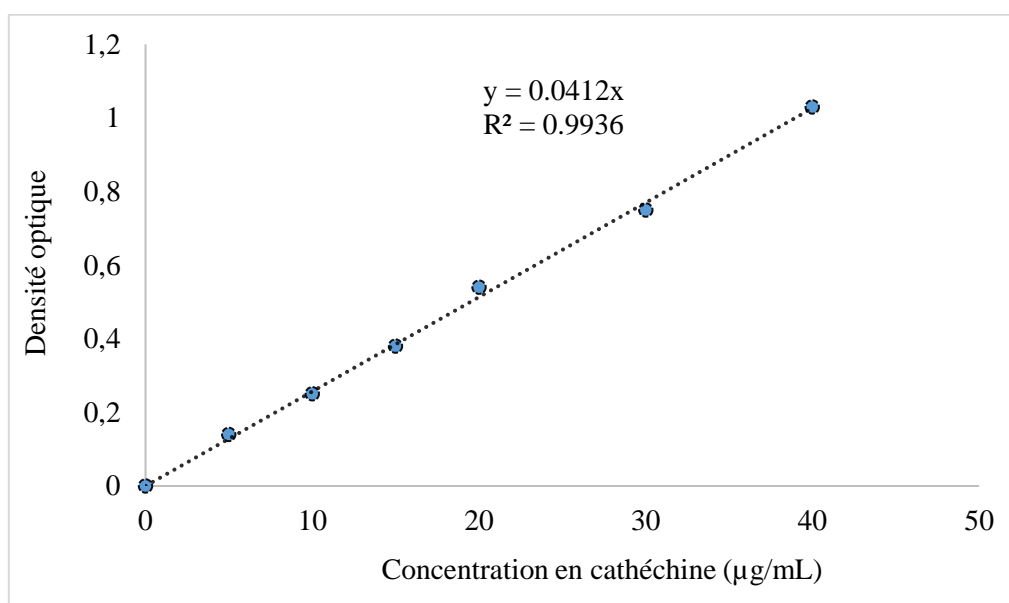
Annexe 5 : Réactifs dosage des flavonoïdes totaux

Ethanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$).....95 %

Chlorure d'alumine (AlCl_3).....10 %

Acétate de potassium (CH_3COOK).....1 M

Annexe 6 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux



Annexe 7 : Réactifs et préparation de la solution de streptozotocine

Réactifs : La streptozotocine (Sigma Chemical Co) ; Tampon citrate 100 mM, pH 4,5 et NaCl 150 mM.

Préparation de la solution de streptozotocine : La streptozotocine a été dissoute dans du tampon citrate 100 mM, pH 4,5 ; NaCl 150 mM.

Annexe 8 : Réactifs évaluation de l'activité anti radicalaire

DPPH.....	0,025 g/L
Ethanol.....	95%

Annexe 9 : Réactifs évaluation de la capacité réductrice du phosphomolybdène

Molybdate d'ammonium.....	0,4 M
Phosphate de sodium.....	28 mM
Acide sulfurique.....	4 mM

Annexe 10 : Réactifs évaluation de la capture du glucose

Solution glucosée.....	5 g/L.
Kit du glucose de marque SGM <i>Italia</i> .	

Annexe 11 : Réactifs de dosage de la créatinine plasmatique

Etalon.....	2 mg dL
Acide picrique.....	8,8 mmol/L
NaOH.....	0,4 M

Annexe 12 : Réactifs de dosage de l'urée plasmatique

Réactif 1 (tampon) :	Tampon phosphate pH 6,7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Salicylate de sodium	400 mmol/L
	Nitroprusiate	10 mmol/L
Réactif 2 (NaClO) :	Hypochlorite de sodium	140 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	150 mmol/L
Réactif 3 (enzyme) :	Uréase	30 000 U/L
Standard :	Urée	50 mg/dL

✓ **Préparation et stabilité des réactifs**

Les réactifs R1 et R3 ont été mélangés puis homogénéisés avec douceur jusqu'à dissolution des constituants. L'ensemble (R1 + R3) a ainsi constitué la solution de travail. Cette dernière est stable pendant 4 semaines entre 2 et 8°C ou une semaine à température ambiante (15 – 25°C). Le réactif 2 (R2) est quant à lui directement utilisé.

Annexe 13 :

➤ **Substrats GOT :** Acide L -aspartique: 2,66 g α -Cetoglutarate : 30 mg

Ces deux réactifs ont été dissous dans 20 mL de tampon phosphate pH 7,4. Le pH de cette solution a été ajusté à 7,5 avec du NaOH (0,4 N) et le volume a été complété à 100 mL avec du tampon phosphate 0,1 M. Nous avons obtenu un substrat avec des concentrations en α -Cetoglutarate de 2 mM et en acide Aspartique de 200 mM.

➤ **Substrat GPT** : L-alanine: 1,78 g et α -Cetoglutarate: 30 mg

Ces deux réactifs ont été dissous dans 20 mL de tampon phosphate pH 7,4, le pH de la solution est ajusté à 7,5 avec du NaOH (0,4 N). Le volume a été complété à 100 mL avec du tampon phosphate. Le substrat obtenu a une concentration en α -cetoglutarate de 2 mM et en α -L alanine de 200 mM.

➤ **Tampon phosphate (0,1M) pH 7,4**

Le phosphate disodique (13,40 g) a été dissout dans 500 mL d'eau désionisée. 1,36 g de phosphate monopotassique ont été également dissous dans 100 mL d'eaudésionisée. La solution de phosphate disodique a été titrée par la solution de phosphate monopotassique jusqu'au pH 7,5. Le volume a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

➤ **Réactif de coloration**

Il a été préparé en dissolvant 0,0198 g de 2-4 dinitrophénylhydrazine dans 100 mL de HCl (1 N).

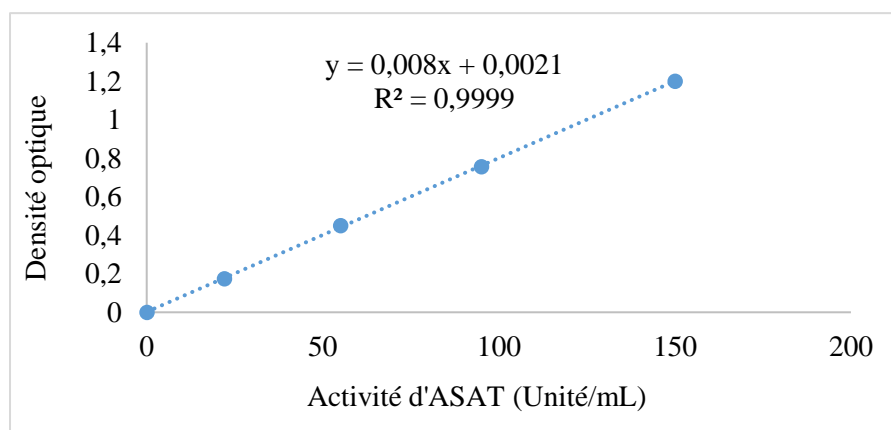
➤ **NaOH (0,4 N)**

Seize (16) g de NaOH ont été dissout dans 1000 mL d'eau distillée.

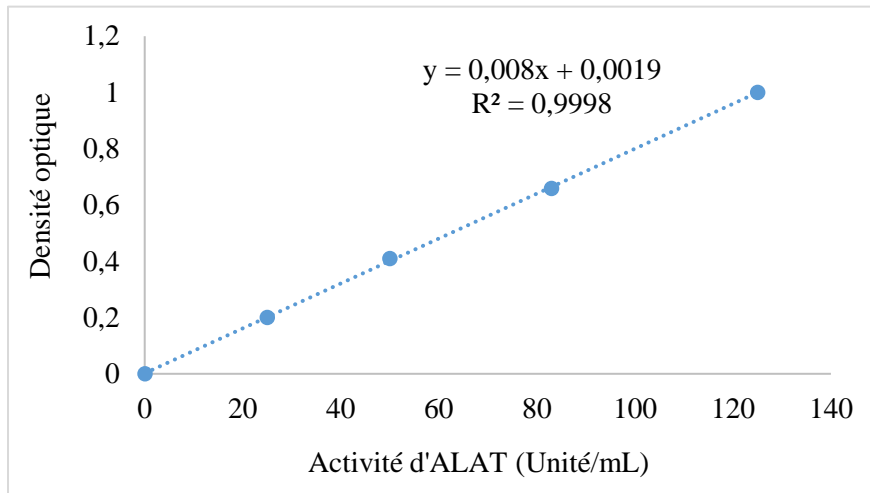
➤ **Etalon pyruvate (2 mM)**

Vingt-deux (22) mg de pyruvate de sodium ont été dissout dans 100 mL de tampon phosphate 0,1 M (pH 7,5).

Annexe 14 : Courbe d'étalonnage ASAT



Annexe 15 : Courbe d'étalonnage ALAT



Annexe 16 : Composition alimentaire des animaux

Les animaux utilisés dans les expérimentations des parties I et II étaient nourris à base d'une alimentation dont la composition (pour 100 g) est la suivante :

- 20 % (p/p) protéines (1kg de lait et 4kg de farine de poisson) ;
- 55 % (p/p) de glucides (15L d'amidon de maïs et 5kg de farine de blé) ;
- 10 % (p/p) de lipides (1L d'huile végétale de marque mayor) ;
- 4 % (p/p) de sels minéraux (0,2% de sel de cuisine et 3,8% de farine d'os soit ½ kg),
- 1 % (p/p) de polyvitamines ;
- 2 % (p/p) de fibres (cellulose) ;
- 8 % (p/p) d'eau.

**PUBLICATIONS ISSUES DES
TRAVAUX**

PUBLICATIONS ISSUES DES TRAVAUX

1. **Youovop Fotso Janvier**, Guy Roussel Nguemto Takuissu, Judith Laure Ngondi and Julius Enyong Oben. (2022). Acute and sub-chronic toxicity studies of aqueous bark extract of *Detarium microcarpum* Guill. and perr in albinos *Wistar* rat. *Toxicology and Environmental Health Sciences*.
2. **Youovop Fotso Janvier**, Mbaississem Walendom D, Ngondi J. L. and J. Oben. (2020). The Potential Effect of Aqueous Extract of *Detarium microcarpum* Bark on Certain Metabolic Disorders Associated with an Atherogenic diet in rats. *Journal of Food Research*; 9 (5): 107 – 112.