

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

Nous soussignés, membres du jury de soutenance de Thèse de Doctorat/PhD en Biochimie soutenue le **19 Décembre 2014 à 14 h 00** par monsieur **SOH OUMBE Valère aimé**, matricule **04V600**, intitulé « **Effets des extraits de *Brillantaisia vogeliana* (Nées) Benth. (Acanthaceae) sur le métabolisme des lipides et le stress oxydatif chez les rats** »,

Certifions qu'il a effectué les corrections conformément aux remarques et recommandations du jury.

En foi de quoi, il lui est délivré cette attestation pour servir et valoir ce que de droit.



Vu

Moundipa Tsevou Paul
Professeur

Fait le... **13 AVR 2015**

Un Membre du Jury

Pr Gouado S.

R. KANSE

Le Président du Jury

Moundipa F. L.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont :

Au Professeur NGOGANG Y. Jeanne, qui a patiemment dirigé et supervisé ce travail malgré ses multiples occupations. Je lui exprime ma profonde reconnaissance. Professeur, vous avez été une maman pour moi.

Au Professeur MOUNDIPA FEWOU Paul, chef de Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé 1, pour l'encadrement administratif et académique qu'il accorde aux étudiants de son Département.

Au Professeur FEWOU Amadou, qui a bien voulu analyser les coupes histologiques réalisées dans ce travail.

Au Professeur KENNE Martin, qui a effectué les analyses statistiques de ce travail.

Aux Drs. NDOMOU Mathieu et PIEME Constant Anatole, qui n'ont ménagé aucun effort pour que ce travail soit réalisé. Vous avez suivi de bout en bout ce travail. Trouvez ici ma parfaite reconnaissance.

Au Dr MBANGUE Madeleine, chef de service des laboratoires à l'Hôpital LAQUINTINIE de DOUALA qui m'a donné la possibilité d'effectuer les analyses biochimiques et hématologiques.

Aux ENSEIGNANTS du Département de Biochimie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé 1, dont les enseignements m'ont été d'une grande utilité.

A tous les membres du jury qui ont bien voulu accepter de juger ce travail.

Au Drs FOTSO Honoré, NGUEPI Evélyne, KOUAM Eric, DJIMELI Bruno, et Pr. LEHMAN Léopold, pour leurs conseils et leur assistance.

A tout le personnel des laboratoires d'Anatomopathologie et Central de l'Hôpital LAQUINTINIE de Douala, surtout aux majors FOAPON Adeline et KAMGA Véronique pour leur aide qui a vraiment été capital pour la réalisation de ce travail.

A ma mère OUMBE Jeanne : tu as été pour moi un soutien incontestable, une confidente, une mère durant toutes ces années ; je ne saurais te remercier assez pour tout cela. Puisse DIEU te récompenser.

A mon épouse KENGNE FANKAM Carinne et mes enfants SOH Marcel Romel et SOH Christian Nathan. Vous avez été pour moi un véritable soutien tant moral que social. Votre participation à la réalisation de ce travail n'a pas été inaperçue. Je vous remercie et que le Tout Puissant vous rende grâce.

A tous mes frères et sœurs. Vous êtes pour moi des personnes chères. Puisse le Tout Puissant vous guider dans tous vos actes.

Aux demoiselles SIBAFFO K. Reine et KOUODJIP N. Larissa pour toute la souffrance endurée pendant tout le temps passé ensemble.

A mes amis TEKWU E, TALLA M, TAMBO C, KOUAM E, BIANG M, YONZO KENGNE A, pour l'esprit d'entraide et le climat d'amitié que nous avons toujours su créer.

A mes camarades de promotion, en particulier, AZANTSA B, MATSINGKOU R, PEYO R, MFOPIT Y, MAMAI W, pour leur franche collaboration.

A tous ceux qui partagent ma peine et qui se réjouissent de ma joie.

QUE LE SEIGNEUR QUI CONNAIT TOUTE CHOSE PUISSE RENDRE GRACE
A TOUS ET A CHACUN POUR MOI.

SOMMAIRE

DEDICACES	i
REMERCIEMENTS	ii
SOMMAIRE	iv
RESUME	viii
ABSTRACT	xi
LISTE DES ABREVIATIONS	xiv
LISTE DES TABLEAUX	xvi
LISTE DES FIGURES	xviii
LISTE DES PUBLICATIONS	xix
INTRODUCTION	1
PROBLEMATIQUE	2
HYPOTHESES	3
OBJECTIFS	4
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE	
I-1 Classification des lipides et lipoprotéines	5
I-1-1 Lipides simples	5
I-1-2 Lipides complexes	6
I-1-3 Dérivés des lipides	7
I-1-4 Lipoprotéines	7
I-1-2 Métabolisme du cholestérol	10
I-1-3 Métabolisme des lipides et des lipoprotéines	11
I-3-1 Métabolisme des lipides simples et complexes	11
I-3-2 Métabolisme des lipoprotéines	14
I-3-3 Régulation du métabolisme des lipides	20
I-1-4 Lipides et obésité	22
I-1-4-1 Propriétés physico-chimiques et métabolisme de l'huile de palme	22
I-1-4-2 Etiologie et manifestation de l'obésité	23

I-1-4-3 Complications liées à l'obésité -----	24
I-1-4-4 Modalités thérapeutiques de l'obésité -----	27
I-2 Stress oxydatif -----	27
I-2-1 Différentes formes de radicaux libres de l'oxygène (ERO) -----	27
I-2-2 Natures et sources de radicaux libres -----	28
I-2-3 Système antioxydant -----	29
I-2- 4 Dégâts cellulaires -----	32
I-3 Plantes médicinales -----	35
I-3-1 Généralités -----	35
I-3-2 Différentes formes d'utilisation des plantes médicinales -----	36
I-3-3 Avantages et inconvénients de la médecine traditionnelle par rapport à la médecine moderne -----	37
I-4 Etude botanique de <i>Brillantaisia vogeliana</i> -----	39
I-4-1 Généralités et aperçu botanique sur <i>Brillantaisia vogéliana</i> -----	39
I-4-2 Utilisation des Acanthacées en médecine traditionnelle -----	40

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II-1 Etude de l'effet des extraits de <i>Brillantaisia vogeliana</i> sur le métabolisme lipidique des rats -----	42
II-1-1 Matériel biologique et chimique -----	42
II-1-2 Réactifs -----	42
II-1-3 Protocole d'extraction des feuilles de <i>Brillantaisia vogeliana</i> -----	43
II-1-4 Préparation des extraits -----	44
II-1-5 Méthodes -----	44
II-2 Détermination des marqueurs du stress oxydatif -----	54
II-2 -1 Préparation de l'hémolysât -----	54
II-2-2 Préparation de l'homogénat 20 % (W/V) -----	55
II-2-3 Détermination de l'activité de la SOD -----	55
II-2-4 Détermination de l'activité de la catalase -----	56

II-2-5 Dosage des groupes thiols non protéiques	58
II-2-6 Détermination du malondialdéhyde (MDA)	59
II-3 Détermination du potentiel antioxydant des extraits	60
II-3-1 Screening phytochimique des extraits..	60
II-3-2 Préparation des différentes des solutions.	62
II-3-3 Utilisation de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).	62
II-3-4 Activité de DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrilhydrazyl) anti-radicalaire	64
II-3-5 Test d'activité anti radicalaire sur les radicaux hydroxyles	65
II-3-6 Détermination du pouvoir réducteur total des différents extraits	66
II-4 Etudes toxicologiques des infusions de <i>Brillantaisia vogeliana</i>	67
II-4-1 Préparation des différentes doses.	67
II-4-2 Toxicité aigüe	68
II-4-3 Toxicité subaigüe	69
II-4-4 Détermination des paramètres biochimiques	69
II-4-5 Etude histologique	79
II-5 Analyses statistiques des résultats	81

CHAPITRE III : RESULTATS

III-1 Etude de la consommation alimentaire et hydrique	82
III-2 Effets des extraits de <i>B. vogeliana</i> sur le métabolisme des lipides	84
III-3 Effets des extraits de <i>B. vogeliana</i> sur le stress oxydatif	85
III-3-1 Effets de consommation de l'huile de palme sur les paramètres du stress oxydatif	85
III-3-2 Effets des extraits de <i>B. vogeliana</i> sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)	86
III-3-3 Effets des extraits de <i>B. vogeliana</i> sur l'activité de la catalase	87
III-3-4 Effets des extraits de <i>B. vogeliana</i> sur les Groupes thiols non protéiques	88
III-3-5 Effets des extraits de <i>B. vogeliana</i> sur la peroxydation lipidique	90
III-4 Potentiel antioxydant et anti radicalaire des extraits	91

III-4-1 Screening phytochimique des différents extraits-----	91
III-4-2 Détermination du potentiel antioxydant par la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)-----	92
III-4-3 Test d'activité anti radicalaire sur les radicaux de DPPH -----	93
III-4-4 Test radicalaire sur les radicaux hydroxyles (HO°) -----	93
III-4-5 Détermination du pouvoir réducteur total des différents extraits -----	94
III-4-6 Corrélation entre la méthode de FRAP et les autres méthodes-----	95
III-4-7 Corrélation entre le pouvoir réducteur total et les autres méthodes -----	96
III -4-8 Concentration inhibitrice 50 (CI50) des différents tests (DPPH, HO°) -----	97
III-5 Etude de la toxicité de l'infusion chez les rats -----	98
III-5-1 Toxicité aigüe-----	98
III-5-2 Toxicité subaigüe-----	100
III-5-3 Analyse histopathologique -----	103

CHAPITRE IV : DISCUSSION

IV -1 Etude de la consommation alimentaire et hydrique -----	107
IV -2 Effets des extraits sur le profil lipidique -----	107
IV -3 Effets des extraits sur le stress oxydatif-----	109
IV -3-1 Effet de la consommation de l'huile de palme sur le stress oxydatif-----	109
IV -3-2 Effets des extraits sur l'activité de la SOD-----	109
IV -3-3 Effets des extraits sur l'activité de la catalase -----	110
IV -3-4 Effets des extraits sur les groupes thiols -----	111
IV -3-5 Effets des extraits sur la peroxydation lipidique -----	112
IV -4 Etude du potentiel antioxydant des extraits-----	114
IV -5 Etude de la toxicité de l'infusion chez les rats -----	117
CONCLUSIONS -----	121
PERSPECTIVES -----	122
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	123

RESUME

Les pathologies liées au métabolisme des lipides demeurent un réel problème de santé publique. Des études ont montré que plusieurs substances naturelles contribuent à la réduction de la charge pondérale avec un effet bénéfique sur la réduction des maladies non transmissibles. La pharmacopée traditionnelle des hauts plateaux de l'Ouest Cameroun a révélé l'action amaigrissante de *Brillantaisia vogeliana*. Cependant plusieurs inconnues telles que le mécanisme d'action de ces substances sur la perte de poids et sur le stress oxydatif d'une part et les études toxicologiques d'autre part entravent une valorisation complète de cette plante. Dans l'optique de vulgariser son utilisation sur des bases scientifiques, quelques extraits issus des feuilles de cette plante ont été testés sur des rats.

Après l'induction d'une hyperlipidémie pendant 2 mois chez les rats mâles de race *Wistar* âgés de 2 mois à l'aide d'huile de palme, ils ont été divisés en deux lots dont l'un a reçu pendant deux mois une alimentation adéquate pour rats enrichie de 10% (poids/poids) d'huile de palme et l'autre, la même alimentation non enrichie. Le premier lot a été par la suite divisé en huit groupes dont chacun a reçu par gavage l'un des extraits suivants : l'infusion, l'extrait hexanique et ses résidus, l'extrait à l'acétate d'éthyle et ses résidus à des doses variant de 3,33 mg/kg/j pour l'extrait d'acétate d'éthyle à 42,00 mg/kg/j pour l'infusion pendant une durée allant de 15 jours à 2 mois. Les activités de quelques enzymes du métabolisme des lipides telles que la lipase sérique, l'hydroxy-méthyl-glutarylCoA réductase et la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) ont été étudiées *in vivo*. L'étude du stress oxydatif a été également faite en mesurant les taux de MDA, des groupes thiols et les activités de la catalase et de la SOD. Les propriétés antioxydantes *in vitro* des différents extraits de plante ont été étudiées en utilisant plusieurs méthodes telles que celles de FRAP; des activités piégeuses des radicaux DPPH et OH[•] et de l'activité réductrice. Les toxicités aiguë et subaiguë de l'infusion aussi réalisées.

Il ressort de cette étude que l'huile de palme réduit de manière significative les activités de la lipase sérique, restaurées après administration des extraits de plante. L'extrait hexanique a montré une augmentation significative de l'activité de la lipase et de la LCAT tandis que ses résidus ont présenté une meilleure inhibition de

l'hydroxyl-méthyl-glutarylCoA réductase. Les taux des groupes thiols non protéiques sériques sont élevés dans le groupe traité par les résidus de l'extrait hexanique et dans les homogénats de foie et de rein, respectivement chez les rats traités par l'extrait hexanique et l'infusion. Les activités de la SOD sont plus importantes après le traitement par les extraits hexaniques dans les hémolysats, les homogénats des foies et dans les homogénats de rein après administration de l'infusion. Les REAE ont montré une meilleure activité de la catalase dans les hémolysats et l'infusion, dans les homogénats. Le résidu de l'extrait hexanique réduit significativement le taux de MDA sérique. Les études toxicologiques des infusions ont révélé des différences significatives entre les taux sériques de GPT et du phosphore lors de la toxicité subaiguë et entre les taux des protéines totales et les activités de l'amylase sériques lors de la toxicité aiguë. L'étude histologique a révélé des légères modifications structurales après 28 jours de traitement. La DL₅₀ de l'infusion de BV est supérieure à 2000 mg/kg. Quant au potentiel antioxydant des extraits de BV, tous les extraits testés représentent des sources potentielles de composés antioxydants. L'extrait à l'acétate d'éthyle a montré une meilleure activité contre les radicaux de DPPH (CI₅₀ = 1,97 µg/ml), de FRAP (930,58 ± 0,89 mg vit C Eq/g d'extrait) et contre les radicaux HO[•], avec ses résidus (CI₅₀ = 7,12 µg/ml). Tous les extraits testés ont également montré un pouvoir réducteur dont le plus intéressant a été trouvé dans les résidus de l'extrait hexanique (DO = 0,38 ± 0,05).

A l'issue de cette étude, *Brillantaisia vogeliana* est une plante douée de plusieurs vertus telles que son effet protecteur contre les maladies non transmissibles et son effet hépato-protecteur à travers le potentiel antioxydant des différents extraits. La DL₅₀ de l'infusion est supérieure à 2000 mg/kg.

Mots clés: *Brillantaisia vogeliana*, lecithine cholesterol acyl transferase, lipase, lipides, hydroxyl-méthyl-glutarylCoA réductase, stress oxydatif, potentiel antioxydant.

ABSTRACT

Lipids metabolism pathologies remain a real public health problem. Several natural substances reduced weight and have benefit effect on non transmitted disease. Traditional pharmacopeia of west Cameroon reveals the weight-loss action of *Brillantaisia vogeliana* however, any study has not been done in order to determine its weight loss mechanism and its action on oxidative stress or toxicological studies to widespread its use on scientific basis. The aim of this work was to experiment leaves extract of this plant on rats.

First of all, we induced hyperlipidemiae in 2 months old male *wistar* rats during 2 months with 10 % (w/w) palm oil supplemented diet in one of two set of rats used in this study while another received unsupplemented diet. After hyperlipidemiae induction, this set was divided into eight groups and each of them received one of the following plant extract: aqueous, hexanic and its residue, ethyl acetate and its residue extracts at the dose ranging from 3.33 mg/kg/day for ethyl acetate extract and its residue to 42.00 mg/kg/day for aqueous extract during a period of 15 days to 2 months.

The study of its properties was assayed *in vivo* by measuring the animal serum lipase, Lecithine Cholesterol Acyl Transferase (LCAT) and hydroxyl-methyl-glutaryl CoA reductase activities. The oxidative stress parameters were also studied by assessing non proteic thiol groups, catalase and SOD activities and lipids peroxidation through the determination of the level of MDA. The antioxidant study *in vitro* consisted of the evaluation of the reducing power, the DPPH and OH radicals scavenging activity and the antioxidant potential by the FRAP method. Acute and sub acute toxicities studies of aqueous extract, were done according to Whitehead and Stallard method (2004).

Those methods revealed interesting results. Palm oil consumption has reduced significantly serum lipase activity in rats restored after treatment. Among these extracts, hexanic extract showed significant the best increased activities of LCAT and lipase while its residues showed the best inhibition of activity of Hydroxyl methyl glutaryl CoA reductase. Serum non proteic thiol groups increased in rats after hexanic extract residue administration and it was found interesting in liver and kidney homogenates in rats fed respectively with hexanic and aqueous extracts. SOD

activities were improved in erythrocytes with hexanic extract while in kidney and liver homogenates, SOD activities were higher in rats treated with the aqueous extract. Catalase studies showed the best activities in erythrocytes in animals treated with ethyl acetate residue while the both kidney and liver homogenate one were higher in rats treated with aqueous extract. Lipid peroxidation studies through the rate of malondialdehyde (MDA) were significantly lower in group of rats fed with hexanic residue extract. Aqueous extract acute and sub-acute toxicities revealed significant difference in serum level of GPT and phosphorus during sub-acute toxicity, total proteins and α -amylase during acute toxicity. Histological analysis of selected organs reveals slight structural modification after 28 days of treatment. LD₅₀ was greater than 2000 mg/kg. The *in vitro* study shows that the different extracts have on DPPH, OH and they have a good antioxidant and reducing power. Excepted DPPH where hexanic, ethyl acetate and aqueous extracts reveal a scavenging effect upper than the one of vitamin C used as standard, others extracts have lower scavenging effect on reducing power, OH radicals scavenging activity and the antioxidant potential by FRAP than the one of this Vitamin C. In fact, all of *Brillantaisia vogeliana* extracts showed good results. Ethyl acetate extract showed the greatest effect on DPPH (CI₅₀ = 1.97 μ g/ml), FRAP (930.58 \pm 0.89 mg vit C Eq/g of extract) and its residue (CI₅₀ = 7.12 μ g/ml) for the radical HO^o. Tested extracts showed also total potential antioxidant which the best was found in hexanic extract residue (OD = 0.38 \pm 0.05).

According to the results of our study, leaves of *Brillantaisia vogeliana* are useful. Results of weight gain confirm its weight loss properties; its influence on lipids metabolism might also show its protective effect against non transmitted diseases. Through the antioxidant potential of different extracts, it could be used to fight against oxidative stress. LD₅₀ of aqueous extract, greater than 2000 mg/kg of body weight showed that it is not toxic and classified in group 5 according to GHS.

Key words: *Brillantaisia vogeliana*, lecithine cholesterol acyl transferase, lipase, lipids, hydroxyl-methyl-glutaryl CoA reductase, oxidative stress, antioxidant potential.

LISTE DES ABREVIATIONS

ACAT: Acyl CoA Cholestérol Acyl Transférase
ADP : Adénosine diphosphate
AG : Acide gras
AMPC: Adénosine monophosphate cyclique
Apo : Apo-lipoprotéine
ATP : Adénosine triphosphate
CETP : Cholestérol ester transfer protein
ADN : Acide Désoxyribonucléique
EC : Ester de cholestérol
ERO : Espèces réactives oxygénées
FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power
GAPDH: Glycéraldehydophosphodéshydrogénase
G6PDH : Glucose 6 phospho-déshydrogénase
GPX : Glutathion peroxydase
HL : Lipase hépatique
HDL : Lipoprotéine de haute densité
IDL : lipoprotéine de densité intermédiaire
IMC : Indice de masse corporelle
LCAT: Lécithine cholestérol acyl transférase
LDL : Lipoprotéine de faible densité
LDLR: Récepteur des lipoprotéines de faible densité
Lp : Lipoparticule
LPL : Lipoprotéine lipase
MG : Monoglycérol
MTP : Microsomal Triglyceride Transfert Protein
NADPH: Nicotinamide adenosinediphosphate
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAI : Plasminogènes activateur-inhibiteurs
PARP : Poly ADP ribose polymérase

PKC : Phosphokinase C

SREBP: Sterol regulatory element binding proteins

TBHQ: Mono tertio butyl hydroquinone

TG : Triglycérides

TNF α : Tumor necrosis factor alpha

VHD : Vascular heard disease

VLDL: Lipoprotéines de très faible densité

WHO : World Health Organisation

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines-----	8
Tableau II : Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonction des principales apolipoprotéines humaines -----	20
Tableau III : Répartition des rats -----	45
Tableau IV: Etalonnage de l'activité de la catalase -----	57
Tableau V: Etude de la consommation alimentaire et hydrique par groupe avant et pendant l'administration des différents extraits -----	82
Tableau VI: Variation des poids après administration des différents extraits -----	83
Tableau VII : Taux de triglycérides et activités de la lipase sérique chez les rats après le traitement par les extraits des feuilles de <i>B. vogeliana</i> . -----	84
Tableau VIII : Taux de cholestérol, activités de l'hydroxyl méthyl glutaryl CoA réductase et de la lécithine cholestérol acyl transférase chez les rats après le traitement par les extraits-----	85
Tableau IX: Consommation de l'huile de palme et variation des paramètres du stress oxydatif -----	85
Tableau X : Activité <i>in vivo</i> de la super oxyde dismutase des rats après administration des extraits de <i>Brillantaisia vogeliana</i> -----	86
Tableau XI: Activité de la catalase <i>in vivo</i> après administration des différents extraits	87
Tableau XII: Taux des groupes thiols non protéiques après administration des extraits de <i>Brillantaisia vogeliana</i> -----	89
Tableau XIII: Taux de MDA des rats après le traitement par les extraits des feuilles de <i>Brillantaisia vogeliana</i> -----	90
Tableau XIV: Screening phyto-chimique des différents extraits de <i>Brillantaisia vogeliana</i> -----	91
Tableau XV: Corrélation entre la méthode de FRAP et les autres méthodes pour les différents extraits -----	96

Tableau XVI: Corrélation entre le pouvoir réducteur total et les autres méthodes pour les différents extraits -----	97
Tableau XVII : Concentrations inhibitrices 50 (CI ₅₀) des différents tests (DPPH, HO°)-----	98
Tableau XVIII : Poids corporel et consommations alimentaire et hydrique des rats après 14 jours de traitement. -----	99
Tableau XIX : Poids des organes des rats -----	99
Tableau XX : Paramètres hématologiques après 14 jours de traitement par l'infusion de <i>B. vogeliana</i> -----	99
Tableau XXI: Effets de l'administration orale des infusions sur les paramètres biochimiques-----	100
Tableau XXII: Poids corporel, consommations alimentaire et hydrique des rats après 28 jours de traitement. -----	101
Tableau XXIII : Poids des organes des rats traités -----	101
Tableau XXIV : Effets de l'administration de l'infusion sur les paramètres biochimiques -----	102
Tableau XXV : Paramètres hématologiques après 28 jours de traitement par l'infusion de <i>B. vogeliana</i> -----	103

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Digestion et absorption des lipides -----	13
Figure 2: Métabolisme des chylomicrons -----	15
Figure 3: Transformation plasmatique des VLDL en LDL-----	17
Figure 4: Métabolisme des cholestérols HDL -----	19
Figure 5: Protocole d'extraction des feuilles de <i>Brillantaisia vogeliana</i> -----	43
Figure 6: Potentiel antioxydant des différents extraits de <i>Brillantaisia vogeliana</i> -----	92
Figure 7: Inhibition des radicaux de DPPH par les extraits des feuilles de <i>Brillantaisia vogeliana</i> . -----	93
Figure 8: Inhibition des radicaux de HO° par les extraits de <i>Brillantaisia vogeliana</i> ---	94
Figure 9: Variation du pouvoir réducteur total de différents extraits en termes d'évaluation d'absorbance en fonction des concentrations -----	95
Figure 10: Microphotographies d'une section de foie des rats traités à différentes concentrations -----	103
Figure 11: Microphotographies d'une section de rein des rats traités à différentes concentrations -----	104
Figure 12: Microphotographies d'une section de cœur des rats traités à différentes concentrations -----	104
Figure 13: Microphotographies d'une section de poumon des rats traités à différentes concentrations -----	105
Figure 14: Microphotographies d'une section de rate des rats traités à différentes concentrations-----	106

La faim et la malnutrition demeurent un problème de santé publique malgré les efforts déployés par les gouvernements, les ONG et les organismes internationaux. Les dyslipidémies sont à l'origine de plusieurs pathologies dites non transmissibles telles que le diabète de type 2, l'hypertension artérielle, le syndrome d'apnée, certaines formes de cancers et surtout les maladies cardiovasculaires (Scheen, 2001; Carl *et al.*, 2009). Le syndrome d'immunodéficience acquis s'accompagne également des troubles du métabolisme des lipides.

Les transitions nutritionnelles et épidémiologiques, l'urbanisation et l'exode rural observés en Afrique et particulièrement au Cameroun depuis quelques décennies sont à l'origine des maladies dites non transmissibles dont la plupart entraînent des dysfonctionnements du métabolisme des lipides (Maire et Delpeuch, 2004). Le diabète sucré ou l'hypertension artérielle représentent 30 % de la mortalité mondiale ; La cardiopathie coronarienne concernerait 7,6 millions de sujets et 5,7 millions de personnes souffriraient d'accidents vasculaires cérébraux (Hossain *et al.*, 2007). Plus de 80 % de ces décès interviennent dans des pays à revenu moyen ou faible.

Dans les pays en développement, parmi les maladies non transmissibles, les maladies cardiovasculaires sont à l'origine de plus de 75 % des décès et sont responsables de 10 % des invalidités (Levenson *et al.*, 2002). La part d'origine due au changement de mode d'alimentation est énorme et représenterait environ 90% des causes des maladies (Pamplona, 2000). En effet, un régime alimentaire hypercalorique et/ou hyperlipidémique peut entraîner l'obésité, considérée comme un facteur important de risque cardiovasculaire.

Selon le rapport publié par l'OMS (1998) plus de 17% de la population mondiale souffraient de l'obésité. Les prévalences élevées de 32 et 35% sont respectivement trouvées aux Etats-Unis et au Koweït. Cette prévalence est en nette augmentation dans les pays en voie de développement. Au Cameroun, Etoundi *et al.* (2001) ont montré que 33,33% de femmes habitant dans la région de Foto à l'Ouest-Cameroun étaient obèses. Ces dernières années, l'obésité a atteint des proportions épidémiques tant chez les enfants

que les adultes (Carl et *al.*, 2009). Cette augmentation de l'incidence de l'obésité et des maladies dites non transmissibles y afférentes seraient aussi la conséquence des politiques de santé mal élaborées. En effet, depuis une quinzaine d'années, en dépit des données scientifiques contradictoires, la politique de santé du gouvernement met l'accent sur la lutte contre l'épidémie du SIDA et l'éradication des maladies transmissibles. Les premières politiques nationales de contrôle des maladies non transmissibles ont été élaborées il y a plus de 10 ans (Njamnshi et *al.*, 2006).

Une bonne régulation du métabolisme des lipides réduirait les conséquences néfastes des maladies non transmissibles (scheen, 2001) et améliorerait sans aucun doute l'état de santé des sujets déjà atteints de ces maladies non transmissibles ou d'autres pathologies majeures au cours desquelles se greffent des dyslipidémies.

Certaines études ont montré que plusieurs substances naturelles contribuent à la réduction de la charge pondérale avec un effet bénéfique sur les maladies non transmissibles et le stress oxydatif responsable de plusieurs autres maladies.

PROBLEMATIQUE

Parmi les maladies non transmissibles, l'hypertension est le premier facteur de risque pour les maladies cardiovasculaires (MCV) telles que l'infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux ou congestion cérébrale et l'insuffisance cardiaque, les maladies des artères coronaires et d'autres maladies comme la rétinopathie et l'insuffisance rénale, en Afrique. Par conséquent, les MCV se sont imposées comme la principale cause de décès en Afrique et les nombres croîtront davantage au cours des prochaines décennies à cause de l'urbanisation croissante et les changements du mode de vie y relatifs. En 2000, environ 80 millions d'adultes souffraient d'hypertension en Afrique subsaharienne et les prévisions fondées sur les données épidémiologiques actuelles estiment que ce nombre atteindra 150 millions en 2025 (Carl et *al.*, 2009).

Par ailleurs, les pays d'Afrique subsaharienne font face à une transition épidémiologique avec une augmentation de la prévalence du diabète (WHO, 2008). En 2010, 12,1 millions

de personnes vivaient avec le diabète en Afrique et cette prévalence atteindra 23,9 millions en 2030 (Sicree et *al.*, 2009). Au Cameroun, en 1997, on avait estimé à 5,7 % de cas de diabète dans les zones urbaines et environ 70 % des cas restaient encore non diagnostiqués (Mbanya et *al.*, 1997).

Selon un rapport publié par l'ONUSIDA (2009), 5,3 % de la population camerounaise de la tranche d'âge de 15 à 49 ans étaient porteurs du VIH/SIDA, l'une des pathologies courantes s'accompagnant des dyslipidémies et de la production des radicaux libres.

Le métabolisme des lipides, peut entraîner la production des radicaux libres. En effet au cours de l'oxydation des acides gras, une surconsommation de l'oxygène peut activer la NADPH oxydase (Chigetada et *al.*, 2004) et générer le radical superoxyde. Une augmentation de la masse du tissu adipeux entraîne une production excessive des radicaux libres et une diminution significative des activités des enzymes antioxydantes (Hisham and Mohammed, 2011) aboutissant ainsi au stress oxydatif. Ce dernier est à l'origine de plusieurs états physiopathologiques tels que la neurodégénération, la mutagénèse, les vieillissements et surtout les maladies cardiovasculaires et les cancers (Carl et *al.*, 2009).

La prise en charge d'un patient souffrant de l'une des maladies suscitées est très longue, difficile et très coûteuse (SNDLF, 2001) ; d'où la nécessité de la recherche des solutions dans la pharmacopée traditionnelle. Ceci justifie notre travail sur *Brillantaisia vogeliana* dont les effets amaigrissants et hypolipémiants avaient été abordés par Noubissi en 1998.

HYPOTHESES

Hypothèse 1 : Les extraits de *B.v. n* ont pas d'effets sur les activités des enzymes clés du métabolisme lipidique.

Hypothèse 2 : Les extraits de *B.v.* ne contiennent pas de composés antioxydants capables de protéger l'organisme contre le stress oxydatif.

Hypothèse 3 : L'extrait aqueux de *B.v.* n'est pas toxique.

OBJECTIFS

❖ Objectif général

Etudier le mécanisme d'action des extraits de *Brillantaisia vogeliana* sur le métabolisme lipidique et leur effet sur le stress oxydatif chez les rats et la toxicité de l'extrait aqueux.

❖ Objectifs spécifiques

- Déterminer les effets des différents extraits des feuilles de *Brillantaisia vogeliana* sur les activités de la lipase sérique, la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) et de l'hydroxyméthyl glutaryl CoA réductase (HMGCoA Réductase)
- Déterminer le potentiel antioxydant de ces extraits ainsi que leurs effets sur certains paramètres pro et anti oxydants.
- Etudier les toxicités aiguë et subaiguë de l'infusion des feuilles de cette plante.

I-1- LIPIDES ET LIPOPROTEINES

I-1-1 CLASSIFICATION DES LIPIDES ET LIPOPROTEINES

Les lipides sont les esters d'acides gras. Ils forment un groupe très hétérogène de composés dont les structures sont différentes, et que l'on a réuni en raison de leur insolubilité dans l'eau et de leur solubilité dans les solvants organiques. Notons que ces critères de solubilité ne sont pas absolus car on définit encore les lipides comme des composés comportant dans leur molécule une chaîne aliphatique d'au moins quatre atomes de carbone, l'acide butyrique faisant l'exception (weil, 2001).

Les termes de graisses et huiles désignent des mélanges de lipides respectivement solides et liquides à température ordinaire. Les huiles sont des nutriments importants et des sources énergétiques particulièrement constituées de triglycérides dont ceux alimentaires sont composés d'acides gras qui varient avec la longueur de la chaîne, du degré d'insaturation, de l'orientation isomérique de la double liaison et de leur position dans la molécule de triglycéride (Hassel et *al.*, 1997).

La capacité de synthèse des lipides de divers organismes a fait que l'on connaisse aujourd'hui près d'un millier de lipides différents. La classification de ceux-ci tient compte essentiellement de leurs caractéristiques structurales. Il arrive cependant qu'un type de lipide puisse appartenir à deux groupes différents. Chimiquement, les lipides peuvent être divisés en deux groupes principaux : les lipides simples et les lipides complexes.

I-1-1-1 Lipides simples

Parmi les lipides simples, on distingue :

- les glycérides encore appelés acyl-glycérols qui sont des composés obtenus par estérification des fonctions alcool du glycérol par des acides gras. C'est ainsi qu'on distinguera des mono, des di- et des tri-acyl-glycérols. Ils diffèrent par la nature et la position des acides gras estérifiés.

- Les cériques ou cires qui sont des esters formés par l'union d'un acide gras et d'un alcool aliphatique à longue chaîne.
- Il existe aussi des esters de cholestérol et d'acides gras appelés cholestérides.

I-1-1-2 Lipides complexes

Ce sont des composés dont l'hydrolyse libère des substances autres que l'alcool et les acides gras habituellement retrouvés au cours de l'hydrolyse des lipides simples. Les lipides complexes sont essentiellement des constituants structuraux des membranes cellulaires. Dans ce groupe de lipides, on distingue les phospholipides et les glycolipides.

- **Les phospholipides**

- Les glycérophospholipides encore appelé phosphatides sont les plus nombreux de la famille des phospholipides. Ils résultent de l'estérification du glycérol par deux acides gras et par l'acide phosphorique estérifié à son tour par un alcool qui peut être la sérine, la choline, l'inositol ou l'éthanolamine.
- Les plasmalogènes ou alkénylphosphatides se distinguent des glycérophospholipides par le fait que l'acide gras en position 1 est remplacé par un alcool gras lié par une liaison éther-oxyde.
- Les sphingolipides contiennent à la place du glycérol, un aminoalcool à longue chaîne dont le plus fréquent est la sphingosine. Cette dernière liée à un acide gras par sa fonction amine forme une céramide. Parfois ces céramides peuvent se lier par leur fonction alcool primaire à une phosphorylcholine pour donner naissance à une sphingomyéline.

- **Les glycolipides**

Ce sont des lipides caractérisés par la présence dans leur molécule d'un ou de plusieurs oses. Ce sont des sphingoglycolipides. C'est ainsi qu'on a :

- Dans le cas des galactolipides, l'ose fixé sur la céramide est un galactose donnant les cérébrosides. Le galactose peut être estérifié par une molécule d'acide

sulfurique. On parle alors de sulfatides. On trouve ces galactolipides dans le tissu rénal et nerveux chez les mammifères.

- Les gangliosides ont la structure d'un lactosylcéramide sur lequel sont fixées une ou plusieurs molécules de galactose. L'acide caractéristique des gangliosides est l'acide neuraminique qui existe sous forme N-acétylée ou N-glycosylée. Le cerveau en est particulièrement riche.

I-1-1-3 Dérivés des lipides

- Les stéroïdes représentent une famille de composés très nombreux et très variés. Ce sont des composés dérivant d'un noyau polycyclique à 17 atomes de carbone, appelé noyau du cyclopentanophénanthrène. Les stérols sont un groupe très important de lipides que l'on trouve pratiquement chez tous les eucaryotes. Parmi ceux-ci on peut citer le cholestérol, principal stérol des vertébrés; l'ergostérol, précurseur naturel de la vitamine D et principal stérol des champignons. Les stérols donnent, par estérification de la fonction alcoolique en position 3 par des acides gras, des stérides dont l'accumulation dans les veines et les artères des mammifères est pathologique (athérome). Il existe plusieurs dérivés des stérols tels que les acides biliaires, les hormones stéroïdes, les ecdystéroïdes (weil, 2001).
- Les vitamines liposolubles : Elles sont classées dans les lipides en raison de leurs caractères de solubilité. Il s'agit des vitamines A, D, E, K. Ce sont des substances associées aux lipides alimentaires et qui sont d'origine très variée : les vitamines E et K sont des quinones à chaîne isoprénique, la vitamine A est un caroténoïde et la vitamine D est un dérivé du stérol.

I-1-1-4 Lipoprotéines

Les lipoprotéines sont des édifices macromoléculaires chargés de véhiculer les lipides dans divers compartiments extracellulaires. Elles consistent en une vaste famille de particules. Initialement subdivisées en plusieurs sous-groupes distincts sur la base de caractéristiques physico-chimiques, elles forment deux principales classes de

lipoprotéines avec des mobilités électrophorétiques comparables à celles des globulines α et β .

Tableau I : Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines (Chapman, 1980)

Type de lipoprotéines	Mobilité électrophorétique	Densité (g/ml)	Taille (nm)	Proportion EC/TG	Principale apolipoprotéines (APO)
Chylomicrons	Pas de migration	0,93	75-1 200	1/19	B48, E, C
VLDL	Pré β	0,94-1,006	30-80	1/3,3	B100, E, C
IDL	pré β lent	1,006-1,019	27-5	1/3,5	B100, E
LDL	B	1,019-1,063	18-27	1/0,23	B100
HDL2	A	1,063-1,125	9-12	1/0,22	AI, AII, C
HDL3	A	1,125-1,210	7-9	1/0,19	AI, AII, C

IDL: Intermediate Density Lipoprotein; EC : esters de cholestérol; TG : Triglycérides ; HDL: High density lipoprotein.

La généralisation de la technique d'ultracentrifugation a permis de proposer une classification plus fine et plus complète des lipoprotéines plasmatiques (Chapman, 1980). Ainsi, si l'on considère la densité hydratée des lipoprotéines, proportionnelle à la quantité de lipides (densité inférieure à 1 g/ml) et de protéines (densité supérieure à 1 g/ml), on distingue aujourd'hui six populations de lipoprotéines plasmatiques chez la plupart des vertébrés (tableau I). Dans le sérum d'un sujet à jeun, les lipoprotéines se répartissent dans un gradient de concentration en trois principales zones de densité :

- Les lipoprotéines de très faible densité ou VLDL ($0,94 < d < 1,006$) qui représentent moins de 15% des lipoprotéines du plasma, contiennent principalement des triglycérides,
- Les lipoprotéines de faible densité ou LDL, ($1,006 < d < 1,063$) représentant 55% des lipoprotéines plasmatiques,

- Les lipoprotéines de très haute densité ou HDL ($1,063 < d < 1,210$) qui représentent 30% des lipoprotéines plasmatiques. Elles possèdent très peu de lipides neutres, surtout les esters de cholestérol, par contre les composants de surface tels que les phospholipides, le cholestérol libre et les apolipoprotéines sont importants.

Les HDL sont subdivisés en trois zones d'inégale importance : les HDL1, les plus légères représentent une fraction mineure contenant une activité lipoprotéinique appelée Lp(a); les HDL2 plus denses ont une concentration variable, habituellement beaucoup plus importante chez l'enfant et la femme que l'homme et enfin les HDL3 qui représentent la fraction la plus dense et quantitativement la plus importante des HDL, de concentration à peu près identique dans les deux sexes (stryer, 1985).

Il existe une zone de faible amplitude appelée IDL (intermediate density lipoproteins) qui est une sous fraction de densité intermédiaire entre celle des LDL et les VLDL quantitativement mineure à jeun. Notons aussi l'existence des chylomicrons qui s'isolent à une densité inférieure à celle des VLDL ($d < 0,94 \text{ g/cm}^3$). Ils existent chez le sujet normal pendant les périodes postprandiales expliquant la lactescence du sérum. Ces chylomicrons sont constitués à 90% de triglycérides d'origine alimentaire (Chapman, 1980).

Les lipoprotéines, constituées des lipides hydrophobes sont entourées de lipides polaires suivi d'une couche d'apoprotéines. Il existe plusieurs classes d'apolipoprotéines : AI, AII, AIV, B100, B48, CI, CII, CIII, D et E. Ces complexes solubilisent fortement les lipides non polaires (Stryer, 1985). Ces apolipoprotéines, par leurs points isoélectriques variés, donnent aux lipoprotéines des mobilités différentes en électrophorèse. C'est ainsi que les HDL ou α -lipoprotéines riches en apoA migrent parmi les α -globulines, les LDL ou β -lipoprotéines migrent au contraire parmi les β -globulines et les VLDL qui migrent entre les α -lipoprotéines et les β -lipoprotéines sont désignés par α -2-lipoprotéines ou pré β -lipoprotéines.

Le centre des lipoprotéines, lipidique et hydrophobe, constitué d'esters de cholestérol et de triglycérides, est recouvert d'une enveloppe amphiphile dont les

principaux constituants sont les phospholipides, le cholestérol non-estérifié et les apolipoprotéines. Ces dernières confèrent à chaque édifice lipoprotéique ses propriétés fonctionnelles et son devenir métabolique.

I-1-2 Métabolisme du cholestérol

Le cholestérol peut être soit d'origine alimentaire ou alors synthétisé dans l'organisme à partir de l'acétyl CoA qui est le principal produit final de la dégradation enzymatique des macromolécules. Ce n'est qu'en cas de consommation excessive des protéines ou de certaines maladies que leur catabolisme produit de l'acétylCoA (Thomas et *al.*, 2012). Les acides gras non essentiels, les acide gras trans, les graisses saturées et les hydrates de carbone raffinés sont généralement des sources excessives d'acétyl CoA destiné à la biosynthèse du cholestérol.

En effet, deux molécules d'acétyl CoA, sous l'action d'une thiolase, se condensent de façon réversible, pour former l'acétoacétyl CoA qui s'associe à son tour à une nouvelle molécule d'acétyl CoA pour donner le 3-hydroxy 3-méthyl glutayl CoA. Cette dernière réaction est catalysée par l'hydroxy méthyl glutayl CoA synthétase. Ce 3-hydroxy 3-méthyl glutayl CoA cytosolique est réduit par l'hydroxy-méthyl-glutayl CoA réductase en mévalonate. Le mévalonate ainsi formé est activé par trois phosphorylations successives produisant le 5-pyrophosphomévalonate, qui après décarboxylation donne une molécule d'isoprenoïde activée appelée isopentenyl pyrophosphate qui reste en équilibre avec son isomère le diméthylallyl pyrophosphate. Une molécule d'isopentenyl pyrophosphate se condense avec une molécule de diméthylallyl pyrophosphate pour générer le géranyl pyrophosphate qui, à son tour se lie à une molécule d'isopentenyl pyrophosphate pour donner le fanésyl pyrophosphate. Enfin, sous l'action de la squalène synthase, deux molécules de fanésyl pyrophosphate se condensent pour produire le squalène qui, après deux cyclisations respectivement catalysées par les squalènes monooxygénase et 2,3 époxydase produit le lanostérol (Stryer, 1985 ; Sing et *al.*, 2003). Le squalène est transformé en cholestérol à travers une série de 19 réactions (Herman, 2003).

Chez les adultes normaux, le cholestérol est synthétisé approximativement à un taux d'1g par jour et environ 0,3g est consommé par jour. La régulation permet de maintenir le taux de cholestérol à 1,5-2 g/l. Cette régulation inclut le rétrocontrôle des médiateurs de transcription de plusieurs gènes des stérols, les taux limitant des hydroxy méthyl glutayl CoA réductase et synthétase aussi bien que les variétés des mécanismes post transcriptionnels. En effet, l'approvisionnement cellulaire en cholestérol est régulé par quatre mécanismes distincts : la régulation en amont de sa biosynthèse à travers le contrôle de l'activité et le niveau de l'hydroxy méthyl glutayl CoA réductase, la régulation en aval à travers le contrôle de l'activité de la squalène monoxygénase par le « squalène supernatant protein factor », la régulation de l'excès du cholestérol libre intra cellulaire par les activités des acyl CoA transférases tels que la LCAT et l'ACAT et enfin par la régulation du taux de cholestérol plasmatique à travers les récepteurs des LDL des médiateurs du transport reverse du HDL (Thomas et *al.*, 2012).

I-1-3 Métabolisme de lipides et des lipoprotéines

I-1-3-1 Métabolisme des lipides simples et complexes

Les lipides constituent une famille hétérogène de molécules hydrophobes insolubles dans les milieux biologiques aqueux. Les principaux lipides de l'alimentation humaine ou animale sont constitués essentiellement de triacylglycérols (triglycérides), de phospholipides et de stérols. La digestion de ces lipides est sous la dépendance des enzymes pancréatiques et des sels biliaires (Sylva, 1998). Lors de la digestion, ces lipides alimentaires subissent une attaque très partielle par la lipase salivaire au niveau de la bouche. Une fois arrivés dans l'estomac, ils ne font l'objet d'aucune action enzymatique mais la mise à la température du corps rend liquide la quasi-totalité des lipides et les prépare en fines gouttelettes. La richesse du repas en lipides retarde l'ouverture du pylore et stimule la sécrétion de la gastrine antrale.

C'est au carrefour duodénal que la digestion des lipides est maximale. Les lipides alimentaires sont hydrolysés à ce niveau par les enzymes pancréatiques telles que les lipases, les phospholipases et le cholestérol estérase.

L'action complète de la triglycéride lipase (pancréatique) conduit à la libération de 2 acides gras et du 2-monoacylglycérol. Seuls les esters des fonctions alcools primaires du triglycéride sont hydrolysés. Cette enzyme n'agit pas sur les lipides en solution, mais seulement sur les micelles de triglycérides. Il existe une lipase gastrique, différente de la lipase pancréatique, qui interviendrait aussi dans la digestion des graisses.

Les phospholipases qui hydrolysent les phospholipides sont au nombre de quatre : Les phospholipases A1 et A2 libèrent respectivement les acides gras qui estérifient les fonctions alcools primaire et secondaire du glycérol. Les composés privés de ces acides gras sont appelés des lysophospholipides. La phospholipase C hydrolyse la liaison ester entre le glycérol et le groupement phosphate libérant ainsi la base azotée phosphorylée et un diglycéride. Enfin la phospholipase D scinde la liaison ester entre la base azotée et l'acide phosphorique, libérant ainsi la base et un acide phosphatidique (Weil, 1997).

Le cholestérol estérase hydrolyse la liaison ester des stérides, forme sous laquelle se trouve en général le cholestérol alimentaire, libérant ainsi le stérol et l'acides gras.

Les sels biliaires, grâce à leur bipolarité solubilisent les particules de graisses neutres prêtes à subir l'action de la lipase pancréatique. Les produits de la digestion des lipides sont des mono glycérides, des acides gras, du cholestérol et des lysophospholipides. Ces nutriments sont associés aux sels biliaires sous forme de micelles qui permettent leur absorption par la bordure en «brosse» des entérocytes (Jacotot et Le Parco, 1999).

L'absorption des lipides se fait sur toute la longueur du grêle et plus précisément dans la première moitié. Les lipides du bol alimentaire, les acides gras et le cholestérol sont absorbés au niveau de l'intestin. Ils sont ensuite sécrétés dans la lymphe initiant ainsi la voie exogène ou hétérogène de transport des lipides. Dans les entérocytes, les lipides sont synthétisés à nouveau à partir du glycérophosphate pour les phospholipides via la voie de KENNEDY et à partir des mono glycérides pour les triglycérides à travers la voie de CLARK et HUBSHER. Le cholestérol est en partie estérifié et l'autre partie est réexcrétée vers la lumière intestinale (Fig 1).

Absorption des lipides

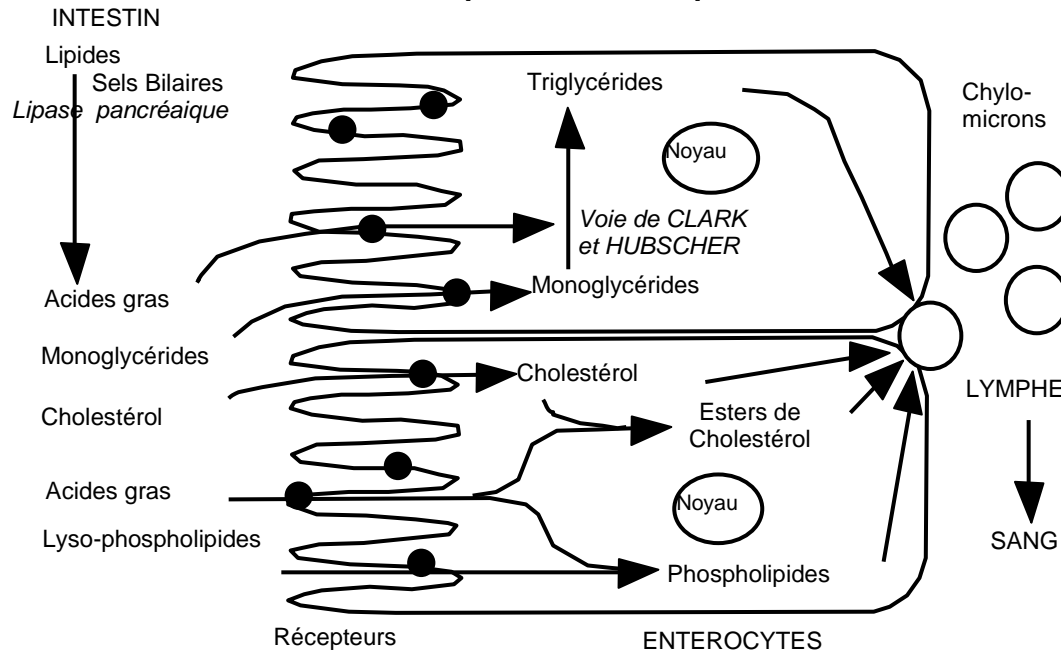


Figure 1: Digestion et absorption des lipides (Raisonnier, 2004)

Notons qu'un grand nombre de protéines cellulaires distinctes peuvent influencer positivement ou négativement l'absorption intestinale des acides gras et du cholestérol alimentaires. Par exemple, la Microsomal Triglyceride Transfert Protein, MTP joue en particulier un rôle essentiel dans l'assemblage et la sécrétion des lipoprotéines riches en triglycérides, qu'il s'agisse des chylomicrons dans l'entérocyte ou des VLDL dans l'hépatocyte. Un déficit de MTP se caractérise par une mal absorption sévère des graisses associées à l'absence quasi-complète des chylomicrons et des VLDL plasmatiques (Toussaint et *al.*, 2003).

Tous ces lipides absorbés sont transférés dans les cellules d'une membrane à une autre, soit du site de synthèse vers diverses membranes de la même cellule. Ce transport intracellulaire nécessite l'aide des « Carrier Proteins » (Weil, 1997).

Le transport par voie sanguine des lipides synthétisés dans le foie vers divers tissus en particulier le tissu adipeux (lieu de stockage des triglycérides) ou le muscle (lieu d'utilisation des acides gras pour la production d'énergie) se fait sous forme de lipoprotéines. Après la réaction avec les récepteurs cellulaires spécifiques, les

lipoprotéines sont remaniées en partie grâce à la lipoprotéine lipase qui hydrolyse les triacylglycérols présents dans la lipoprotéine, avec la libération d'acides gras qui pourront être alors métabolisés dans les cellules (Weil, 2001).

Les chylomicrons synthétisés dans les entérocytes prennent en charge et transportent le cholestérol alimentaire. Ce cholestérol est transformé en ester de cholestérol au sein des entérocytes par une enzyme spécifique localisée dans le réticulum endoplasmique, l'Acyl CoA Cholestérol Acyl Transférase ou ACAT (Raisonnier, 2004).

Les lipides qui ne sont pas absorbés se trouvent dans la matière fécale en compagnie des lipides déversés dans l'intestin par la bile (stéroïdes) et ceux excrétés à travers la barrière intestinale.

I-1-3-2 Métabolisme des lipoprotéines

Les lipoprotéines sont des formes de transport des graisses hydrophobes dans le plasma sanguin. De structure globulaire, elles sont constituées de triglycérides, entourés de protéines, d'esters de cholestérol et de phospholipides. Les lipoprotéines majeures sont les chylomicrons, les VLDL, les LDL et Les HDL.

Les chylomicrons sont les lipoprotéines les plus nombreuses. Ils transportent les triglycérides, le cholestérol et d'autres lipides alimentaires de l'intestin aux tissus adipeux et au foie. Leur faible densité est liée au fait qu'ils sont très riches en triacylglycérols et ont un contenu protéique inférieur à 2%. Les triglycérides des chylomicrons sont hydrolysés quelques minutes plus tard par les lipases localisées dans les capillaires des tissus adipeux et d'autres tissus périphériques (Figure 2). Le résidu riche en cholestérol ou remnant est récupéré par le foie (Weil, 1997).

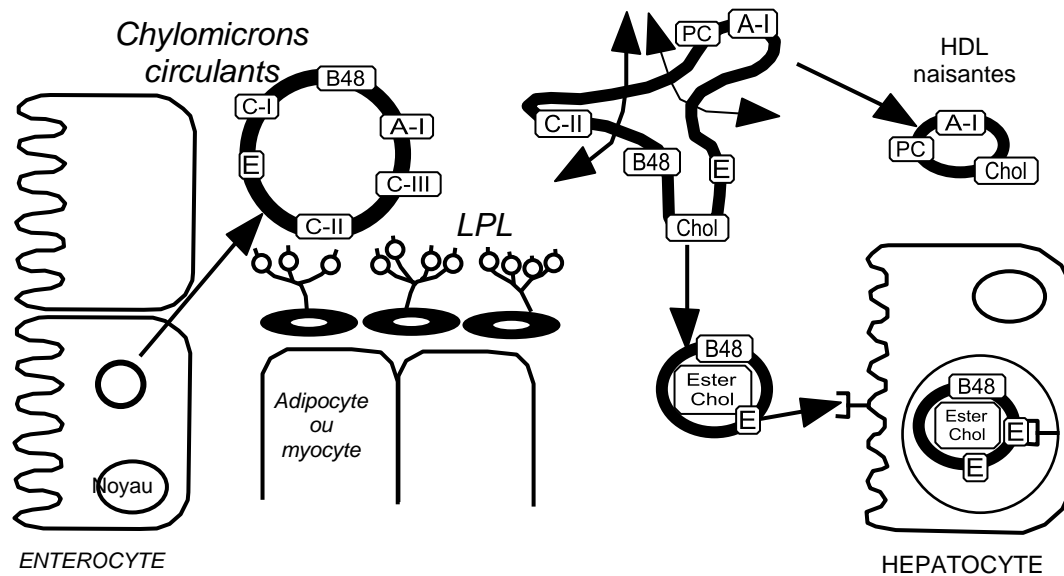


Figure 2: Métabolisme des chylomicrons (Raisonnier, 2004)

Les apoC-II incluses dans la couche périphérique des chylomicrons permettent leur reconnaissance et leur dégradation plasmatique très rapide par les lipoprotéines lipases. Ces lipoprotéines lipases synthétisées par les tissus adipeux et musculaire, après leur sécrétion, restent fixées aux cellules endothéliales, flottant librement dans la lumière des capillaires irrigant ces tissus. Les acides gras libérés lors de l'hydrolyse des triglycérides pénètrent dans les tissus sous-jacents : les cellules musculaires les utilisent comme substrat énergétique et les cellules adipeuses les ré-estérifient sous forme de triglycérides de réserve. L'hydrolyse des triglycérides des chylomicrons entraîne la mise en circulation des HDL naissantes ou pré- β -HDL constitués des phospholipides, de cholestérol et des apolipoprotéines de petite masse (principalement apo A). Les édifices résiduels enrichis en apo B48 et E sont reformés autour des esters de cholestérol et des molécules restantes de triglycérides. Ces «remnants» de chylomicrons de diamètre très réduit, encore appelés β -VLDL intestinales (de densité VLDL, mais de mobilité électrophorétique β) sont dégradés par le foie qui les capte grâce à des récepteurs reconnaissant les apo E (Fig 2).

- **Transformation plasmatique des VLDL en LDL (Figure 3)**

Les VLDL sont principalement synthétisés par le foie. Ils transportent les triglycérides de synthèse endogène aux tissus adipeux. Les résidus sont transformés en

LDL riches en ester de cholestérol. La plupart de cholestérol des LDL est estérifiée par l'acide linoléique sous l'action de l'ACAT. Le LDL transporte le cholestérol aux tissus périphériques et régule la synthèse de novo du cholestérol (Stryer, 1985).

La synthèse des VLDL est réalisée de façon continue par les cellules hépatiques permettant la sécrétion permanente des triglycérides de synthèse endogène. Naturellement, cette synthèse augmente considérablement après les repas, pour revenir à l'état basal à jeun. La dégradation plasmatique des VLDL est identique à celle des chylomicrons, dépendante des lipoprotéines lipases activées par les apoC-II présentes à la surface des VLDL. L'hydrolyse des triglycérides assure un apport régulier d'acides gras aux tissus adipeux et musculaire. Il se forme alors des édifices plus petits, enrichis en apoB100 et E qui se restructurent autour des esters de cholestérol et des molécules restantes de triglycérides. Les « remnants » de VLDL ainsi formés sont des édifices plus petits que les VLDL, appelés IDL ou β -VLDL hépatiques dont le métabolisme suit immédiatement celui des VLDL. Ceux-ci peuvent être transformés soit par la voie des récepteurs, soit par la voie de la lipase hépatique. En effet, une grande quantité des IDL formés est internalisée et dégradée dans le foie via les récepteurs B/E (récepteur des LDL) qui reconnaissent les apoE et les apoB100, tandis qu'une petite quantité de particules IDL est dégradée dans la circulation par la lipase hépatique qui transforme les IDL en LDL, considéré comme produit terminal du catabolisme des VLDL et des IDL. La reconnaissance des LDL par les apoB100 se fait au niveau des récepteurs B/E, cette captation bien que principalement hépatique, a lieu aussi dans toutes les cellules de l'organisme.

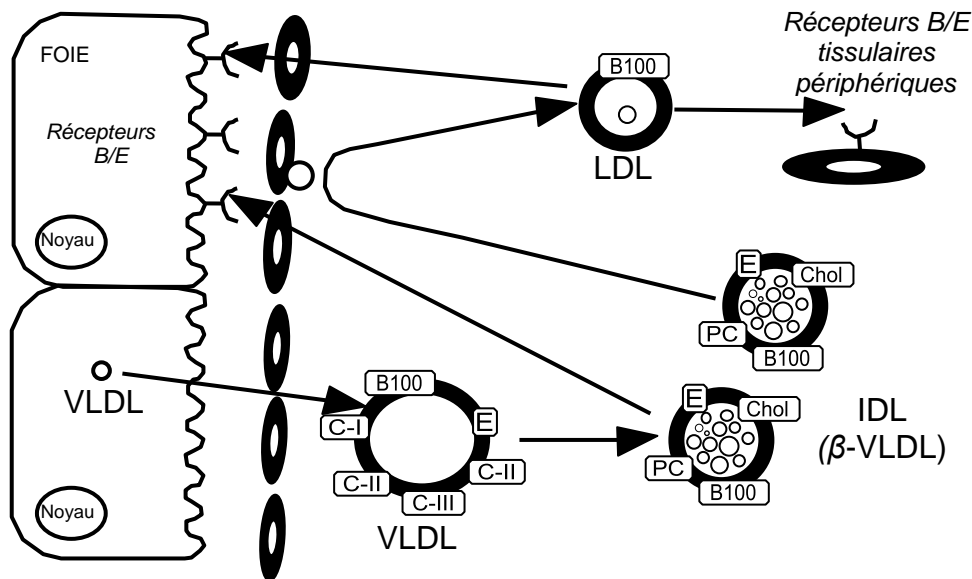


Figure 3: Transformation plasmatique des VLDL en LDL (Raisonnier, 2004)

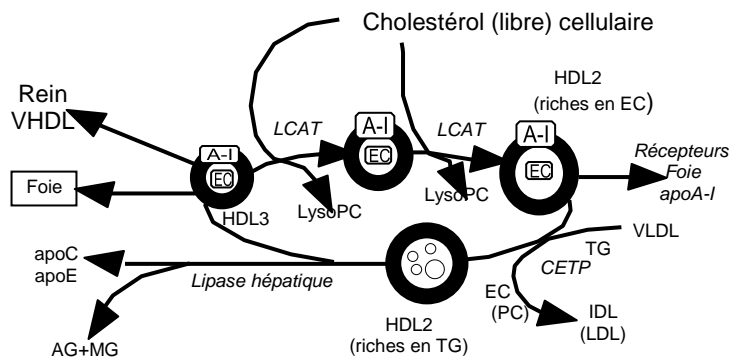
- **Métabolisme des HDL**

Les HDL synthétisés par le foie sont riches en phospholipides et en cholestérol. Ils transportent le cholestérol des tissus périphériques vers le foie où il est catabolisé en acides biliaires (Toussaint et *al.*, 2003).

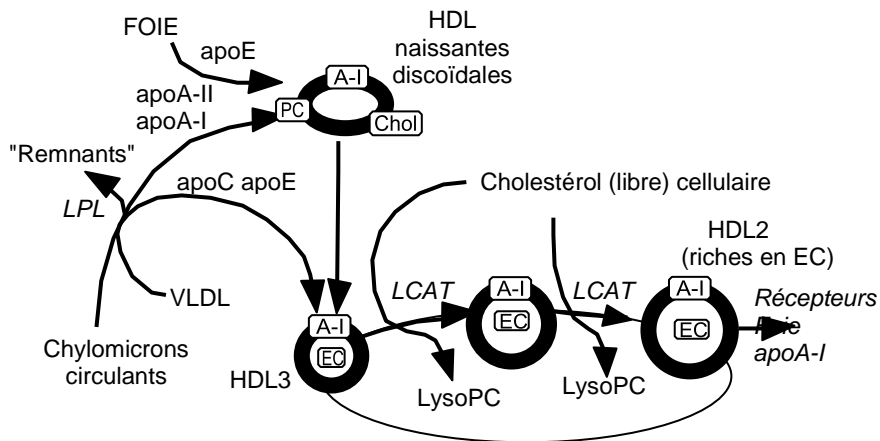
A l'origine de la voie métabolique anti-athérogène, ce sont les HDL naissantes qui constituent les accepteurs initiaux du cholestérol. L'origine des HDL est tissulaire, plasmatique ou mixte. Le foie sécrète des HDL discoïdales essentiellement composées d'apo E. Dans la circulation les replis formés à partir des éléments de surface des chylomicrons et des VLDL, lors de l'hydrolyse des triglycérides, représentent une source importante d'HDL discoïdales contenant principalement apo A-I et apo C. Les HDL discoïdales riches en phospholipides peuvent s'enrichir en molécules de cholestérol issues des cellules périphériques. Les molécules excédentaires de cholestérol issues de l'enveloppe périphérique des HDL et estérifiées par la LCAT migrent au centre des édifices, transformant les HDL discoïdales en HDL3 sphériques qui à leur tour, sont capables de capter le cholestérol membranaire et après une nouvelle action de la LCAT en édifices de plus en plus riches en esters de cholestérol (kuivenhoven et *al.*, 1997). Les HDL2 ainsi obtenus ont une densité plus légère et un diamètre plus grand que les HDL3 (Fig 4a). Notons que la captation du cholestérol membranaire par les HDL réalise ce

qu'on appelle le transport «reverse» du cholestérol car les HDL2 ainsi formées sont en grande partie reconnues et dégradées dans les cellules hépatiques par l'intermédiaire des récepteurs qui reconnaissent les apoA-I présentes sur la structure des HDL. Le cholestérol ainsi retourné au foie est éliminé dans la bile ou dégradé en acides biliaires. Dans ce transport «reverse» de cholestérol, seules certaines HDL ne contenant pas d'apoA-II mais constituées d'apoA-I, appelées lipoparticules LpA-I, sont capables d'induire ce mouvement de cholestérol hors des cellules (Jonas, 2000).

Une fraction d'HDL2 peut se retransformer en HDL3 sous l'effet cumulé de deux étapes métaboliques. La première étape est réalisée par un groupe de protéine appelées cholestérol ester transfer proteins (CETP) qui effectue un échange des molécules d'ester de cholestérol des HDL2 par des molécules de triglycérides venant des lipoprotéines riches en triglycérides, essentiellement des VLDL (Lagrost, 1999). Cette action a pour effet d'enrichir les HDL2 en triglycérides et les VLDL, en esters de cholestérol. Dans une deuxième étape, la lipase hépatique hydrolyse ces molécules de triglycérides et transforme les HDL2 en HDL3, édifices de densité plus lourde et de diamètre plus petit (Fig 4b).



a)



b)

Figure 4: Métabolisme des cholestérols HDL (Raisonnier, 2004)

- **Les apolipoprotéines**

Initialement, les apolipoprotéines ont été subdivisées en trois sous-familles distinctes selon la nomenclature A, B et C. les apoA sont principalement associées aux HDL, les apoB aux LDL et les apoC aux VLDL et HDL. En fait, bien qu'encore couramment utilisée de nos jours, cette nomenclature a considérablement évolué au cours des trente dernières années, en raison de la découverte de nouvelles apolipoprotéines et de profils de distribution spécifique au sein des lipoprotéines plasmatiques (Tableau II). Par exemple, alors que les apolipoprotéines A-I et A-II se localisent quasi-exclusivement dans les HDL, l'apolipoprotéine A-IV peut aussi s'associer aux lipoprotéines riche en TG ; les apolipoprotéines B se localisent non seulement dans les LDL, mais également dans les VLDL et les chylomicrons. En plus, les apoE, comme les apoC ne sont pas associées à un seul type de lipoprotéines, mais se retrouvent à la fois dans les VLDL et les HDL (Tableau II) (Chapman, 1980).

Tableau II : Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonction des principales apolipoprotéines humaines (Toussaint et *al.*, 2003).

Apolipoprotéines	Tissu	Distribution	Fonction
AI	Foie, intestin	Chylomicron, HDL	Activateur de la LCAT
AII	Foie (intestin)	HDL	Régulateur de la HL
AIV	Foie, intestin	Chylomicron, HDL	Activateur de la LCAT, transport reverse du cholestérol.
AV	Foie	?	Métabolisme des lipoprotéines riches en TG
B100	Foie	VLDL, IDL, LDL	Synthèse et sécrétion des VLDL, ligand du récepteur LDLR
B48	Intestin	chylomicron	Synthèse et sécrétion des chylo, ligand du récepteur B48R
CI	Foie (intestin)	Chylomicron, HDL, VLDL	Inhibiteur de la CETP, activateur de la LCAT
CII	Foie (intestin)	Chylomicron, HDL, VLDL	Activateur physiologique de la LPL
CIII	Foie (intestin)	Chylomicron, HDL, VLDL	Inhibiteur physiologique de la LPL
D (apo AIII)	Foie, intestin, rate, pancréas, cerveau, rein, surrénales	HDL, VLDL, LDL	Transport reverse du cholestérol
E	Foie, cerveau, macrophage	Chylomicron, VLDL, IDL, LDL	Ligand des récepteurs LDLR et LRP
F	foie	LDL	Inhibiteur de la CETP
G	?	HDL	?
H	?	HDL	?
J (clusterine)	?	HDL	Anti-inflammatoire

I-1-3-3 Régulation du métabolisme des lipides

La libération des acides gras par le tissu adipeux est contrôlée par la vitesse de l'hydrolyse des triacylglycérols et par celle de l'estérification du glycérol par les acyl-CoA.

La vitesse de l'hydrolyse des triacylglycérols est accélérée par des hormones (glucagon, adrénaline, noradrénaline, etc.) qui se fixent sur la surface de la cellule-cible. Elle est aussi accélérée par la stimulation de l'adényl-cyclase transforme l'ATP en AMPc

qui active la protéine kinase A qui phosphoryle la lipase déphosphorylée (inactive dans les adipocytes) en lipase active (phosphorylée). La vitesse de l'hydrolyse ainsi augmentée et ceci est un signal pour l'utilisation des acides gras par les tissus tels que le coeur, le muscle squelettique et le foie.

Dans le foie, la β -oxydation et la ré-estérification des acyl-CoA sont possibles. La vitesse de l'oxydation des acides gras est déterminée par le taux d'entrée des acyl-CoA dans la mitochondrie par l'intermédiaire de l'activité de l'acyl-carnitine transférase. Ce taux peut être modifié par le malonyl-CoA (produit de carboxylation de l'acétyl-CoA) qui inhibe l'acyl-carnitine transférase 1 (Weil, 2001). Lorsque la concentration du malonyl-CoA est suffisante pour inhiber l'acyl-carnitine transférase 1 (ce qui maintient les acides gras dans le cytoplasme), la lipogenèse est stimulée.

En cas de jeûne, la libération des acides gras par le tissu adipeux s'accroît et la céto-genèse s'accélère. Après un jeûne prolongé de 2 ou 3 semaines, le taux sanguin en corps céto-gènes augmente et le cerveau s'adapte à l'utilisation de ces derniers qui assurent 70 % des besoins énergétiques.

Le diabète sucré sévère est provoqué par une insuffisance de la sécrétion ou d'action de l'insuline. Il provoque une mauvaise utilisation du glucose. Les personnes malades ne peuvent pas synthétiser des acides gras et des triacylglycérols à partir des glucides ou des acides aminés. La vitesse d'oxydation des acides gras et des acides aminés est accrue ainsi que la formation des corps cétoniques. Ces malades perdent donc du poids.

L'insuline a un effet antilipolytique. Elle permet le transport du glucose dans le tissu adipeux, ce qui stimule la lipogenèse et réduit la lipolyse. Dans ces conditions, le pyruvate déshydrogénase et l'acétyl-CoA carboxylase sont stimulées pour la production respective de l'acétyl-CoA et du malonyl-CoA.

L'insuline stimule aussi la synthèse du cholestérol dans le foie provoquant l'activation par déphosphorylation, de la HMG CoA réductase. Elle active les phosphatases aussi bien dans le foie que dans les adipocytes. Dans ces conditions et sous

son action, la HMG-CoA réductase active prédomine dans les cellules hépatiques et oriente la synthèse vers le cholestérol alors que le triglycéride lipase est inactivée dans les adipocytes.

I-1-4 Lipides et obésité

I-1-4-1 Propriétés physico-chimiques et métabolisme de l'huile de palme

L'huile de palme, extraite par pression à chaud de la pulpe des fruits du palmier à huile (*Elaeis guineensis*), est le produit végétal le plus riche en β -carotène (500-700 mg/l) qui lui donne une teinte jaune orangé à rouge selon sa concentration en caroténoïdes. L'huile de palme et ses fractions contiennent les tocophérols. Elle est spécialement riche en γ -tocotriénols, qui, physiologiquement actifs, comme la vitamine E, sont des précieux antioxydants (Sundram et Top, 1994). D'une manière générale, elle contient 50 % d'acides gras saturés, 40 % d'acides gras insaturés et 10 % d'acide gras polyinsaturés (Hassel et al., 1997). L'huile de palme contient une forte proportion d'acide palmitique (40,6 %) et une quantité considérable d'acide oléique (43,4 %) et linoléique (8,3 %), ce qui rend celle-ci plus insaturée que l'huile de coco. Sa richesse en acides gras saturés la rend semi-solide à température ambiante, son point de fusion se situe entre 35 et 42 °C (Edem et Akpanabiatou, 2006).

Quant à ses propriétés chimiques, son indice d'iode se situe entre 44 et 58; son indice d'acide est de 105 tandis que son indice de saponification varie entre 195 – 205. Cette huile contient des matières non saponifiables (0,5 %) et un taux d'acides gras libres compris entre 3 % à 5 %. Ses propriétés optiques montrent un indice de réfraction compris entre 1,453 – 1,456.

L'analyse de sa composition chimique révèle la présence des acides gras saturés dont les principaux sont l'acide palmitique, l'acide stéarique et l'acide myristique; les acides gras mono-insaturés dont l'acide oléique et les acides gras poly-insaturés représentés par les acides linoléique et linoléique.

La composition en acide gras de l'huile influence le catabolisme du cholestérol total et des lipoprotéines. En effet, Khosla et Hayes (1991) ont montré une diminution

des concentrations des cholestérols LDL et total chez les singes nourris à 90% d'huile de palme et 10% d'huile de soja contenu dans l'aliment riche en acides C14 :0 et C18 :1 comparé à ceux nourris à 90% d'huile de coco et 10% de soja riche en acide C12:0 et C14:0. Hennessy et *al.*(1992) ont montré qu'une administration à long terme des huiles de coco et de maïs à 31% de calories avec (0,1%) ou sans cholestérol alimentaire a un effet sur le cholestérol plasmatique, les lipides hépatiques et les récepteurs mRNA des LDL. Ce qui suggère en effet, qu'une alimentation fortement riche en acides gras saturés et en cholestérol peut augmenter ou favoriser l'accumulation des triglycérides et du cholestérol dans le foie due à une diminution voire une suppression du nombre de récepteurs mRNA du cholestérol LDL hépatique.

I-1-4-2 Etiologie et manifestation de l'obésité

L'obésité est définie comme un excès de graisses corporelles ou alors un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 29,9 kg/m². La prise de poids peut résulter d'un apport énergétique alimentaire supérieur aux dépenses du métabolisme basal, du travail et de l'exercice physique, et ce, pendant une durée prolongée. Une alimentation riche en lipides la favorise que celle riche en glucides, qu'ils soient simples ou complexes. Il s'agit rarement des troubles endocriniens. Un excès alimentaire même minime peut conduire à l'obésité en quelques années. Par exemple, la consommation de 100 Kcal en trop chaque jour (220g de bière, 2 cuillerées de sucre, 100g de porridge de maïs) fait prendre 3kg par an, soit 15kg en 5 ans (Kamgang et *al.*, 2009).

D'autres causes métaboliques, endocriniennes ou génétiques contribuent aux effets du déséquilibre entre les apports alimentaires et les dépenses énergétiques. Chez les gens aisés, l'obésité résulte en partie de la sédentarité et peu d'activités physiques, contrairement aux paysans qui effectuent un dur labeur aux champs et parcourent des longues distances à pieds (Etoundi Ngoa et *al.*, 2001).

Jadis rencontrée uniquement chez les adultes, l'obésité atteint aujourd'hui les enfants tant dans les pays développés que ceux en voie de développement. Par exemple en Australie, 25 % d'enfants âgés de 8 ans et 29 % de 14 ans sont obèses (Lawrence et

Raechi, 2008). Les nourrissons non allaités deviennent plus facilement et généralement obèses (Prandan et *al.*, 2002) .

Sur le plan génétique, la vie sédentaire et le régime alimentaire hypercalorique créent des nouvelles conditions physiologiques capables de changer le niveau d'expression de certains gènes impliqués dans le métabolisme des carburants et la régulation du poids corporel (Bougnères, 2002).

On estime l'obésité en fonction de la taille, du sexe et de l'âge. On peut aussi recourir à la mesure des plis cutanés avec un pied à coulisse pour évaluer la graisse sous cutanée. On distingue les différentes catégories d'obésité en fonction de l'IMC. C'est ainsi qu'on peut avoir les degrés I (IMC compris entre 25-29,9), les degrés II (IMC compris entre 30-40) et les degrés III (avec IMC supérieur à 40). Les manifestations physiologiques dépendent du degré d'obésité et de ses complications chez le sujet. L'obésité centrale paraît à l'origine d'un groupe de manifestations connues sous le nom de syndrome métabolique (Lawrence et Raechi, 2008). Les facteurs de risques sont acquis pendant l'enfance et pour les éviter, il faut des mesures préventives telles que l'allaitement maternel sur une longue durée et les promotions préventives et sanitaires précoces pendant l'enfance (Merker et *al.*, 2002).

I-1-4-3 Complications liées à l'obésité

L'obésité est aujourd'hui reconnue comme l'un des problèmes majeurs de santé. Les coûts annuels engendrés par ses complications sont estimés à un tiers du budget mondial de la santé (Keller, 2002). Le risque médical est inégalement réparti selon les sujets à cause des différences liées au profil génétique. Certains super-obèses présentent peu de complications ou alors des complications légères. Par contre, certaines pathologies apparaissent chez les patients qui ne présentent qu'une dizaine de kilos supplémentaires.

En général, trois facteurs de risques sont recherchés systématiquement : le pourcentage de surpoids, le sexe et la répartition de la masse grasse (androïde ou gynoïde). Dans tous les cas, l'obésité reste une maladie qui accroît les risques médicaux.

Les différents types de complications engendrées par l'obésité peuvent être, cardiovasculaires, respiratoires, ostéo-articulaires ou reproductrices.

a) Les complications cardiovasculaires : Le risque des complications est majoré par l'apparition des maladies liées à l'obésité comme le diabète non insulino-dépendant, l'hypertension artérielle et les dyslipidémies (Pradhan *et al.*, 2002). Elles peuvent être dues à une interaction entre les facteurs nutritionnels, le système nerveux sympathique et parasympathique et l'endothélium qui produit les substances vasodilatatrices et vasoconstrictrices (Un Das, 2001). L'obésité est à l'origine de plusieurs troubles cardiovasculaires tels que le risque d'infarctus, l'insuffisance cardiaque congestive, la mort subite, les accidents thromboemboliques et vasculaires cérébraux et les troubles veineux. En effet, le dépôt de plaque de graisse le long des artères accentue le risque d'infarctus du myocarde. Il entraîne également une diminution du flux sanguin qui peut aboutir à une nécrose des zones non irriguées. En outre, une concentration importante de graisse dans le sang entraîne des dépôts qui ralentissent la circulation sanguine. Cela peut être des sources de douleurs ou de problèmes dont les plus fréquents sont les varices, les phlébites, les œdèmes et les jambes lourdes.

b) Les complications respiratoires : Plusieurs personnes obèses présentent des altérations des fonctions respiratoires. L'accumulation des graisses au niveau du diaphragme des côtes et de l'abdomen gêne l'expansion de la cage thoracique. Il en résulte une diminution du volume de la réserve expiratoire et une baisse de l'oxygène dans le sang artériel. Les complications les plus fréquentes sont les syndromes d'apnée du sommeil et de Pickwick. Les syndromes d'apnée du sommeil dont les signes évocateurs sont une fatigue permanente, des épisodes d'endormissement le jour et une irritabilité. Souvent associé au ronflement, il est à l'origine d'accidents cardiovasculaires ou cérébraux. Le syndrome de Pickwick touche 4 fois l'homme que la femme. Le sujet s'endort à tout moment de la journée mais plutôt pendant la période d'inactivité ou après les repas (Rachid, 2012).

c) Les complications ostéo-articulaires : Un surpoids augmente la pression sur les articulations porteuses. Les muscles, par le soutien qu'ils assurent, protègent les articulations. En cas d'obésité, certaines articulations souffrent particulièrement. C'est le cas de l'arthrose du genou qui est 3 fois plus fréquente chez les personnes obèses. De même, la colonne vertébrale qui supporte l'ensemble des parties hautes du corps peut subir des déformations du fait de la surcharge pondérale. Celles-ci sont à l'origine de mal de dos fréquents.

d) Les complications au niveau de la fonction de reproduction. Chez la femme obèse, les perturbations du cycle menstruel sont fréquentes. Elles s'accompagnent d'une raréfaction des ovulations et d'une baisse de fertilité (Bruneau et *al.*, 1999). Une élévation des taux de testostérone entraîne une masculinisation ou une hyper androgénie avec une stérilité relative c'est-à-dire le syndrome des ovaires polykystiques (Kousta et Franks, 2006). Si l'excès d'androgènes se prolonge, un hirsutisme peut apparaître. Tandis que chez l'homme, en cas d'obésité particulièrement sévère, le taux de testostérone tend à s'abaisser.

Il existe d'autres complications médicales telles que la fragilité de la peau des obèses, les problèmes dermatologiques facilités par la macération des plis cutanés, les troubles digestifs. L'obésité présente des risques chirurgicaux et anesthésiques. Elle est étroitement associée aux différentes maladies cardiovasculaires, locomotrices, métaboliques et psychiques. Le syndrome métabolique est la complication la plus marquante de l'obésité. Leur traitement et leur prévention sont des défis majeurs qui restent encore à relever, étant donné les difficultés et les nombreux échecs du traitement de l'obésité.

I-1-4-4 Modalités thérapeutiques de l'obésité

L'obésité représente un problème médical majeur. Son traitement repose sur un double principe logique : la diminution d'apport énergétique à travers la réduction de la ration d'aliments à chaque repas et l'augmentation de la dépense énergétique via une activité physique plus soutenue (Luycky et Scheen, 2000). Malgré sa simplicité, ce

principe est d'application difficile pour ceux qui ont déjà été obèses. Scheen (2001) a démontré que le changement de style de vie pendant 3 ans chez les obèses présentant une intolérance au glucose réduit le risque du diabète de type 2 de 58%. Cependant, certains experts affirment qu'un traitement n'est requis que pour les obésités de degré II et III, car un IMC compris entre 25-29,9 n'a que peu d'impact sur la santé et l'espérance de vie. Bien que ces degrés d'obésité soient tous passés par le degré I, il est donc important d'éviter l'évolution vers une aggravation.

I-2 STRESS OXYDATIF

I-2-1 Différentes formes d'espèce oxygénées réactives

Un radical libre est une espèce chimique, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher (oxydant), soit en céder (réducteur) un électron. Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux. L'O₂ est une molécule biradicalaire formée de deux atomes présentant sur leur orbitale externe deux électrons non appariés. Il est donc susceptible de capter facilement 1 puis 2 électrons pour être partiellement réduit en O₂•⁻, puis en H₂O₂. Il est ainsi à l'origine de la formation d'espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species ou ROS) L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène tels que l'anion superoxyde (O₂•⁻), le radical hydroxyle (OH•) et certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (Andréa et *al.*, 2005).

L'anion superoxyde (O₂•⁻) est un radical chargé négativement provenant de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire qui capte un électron. La dismutation de cet O₂•⁻ entraîne la formation d'oxygène fondamental et de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui n'est pas un radical libre au sens propre mais il est extrêmement réactif et possède un fort pouvoir oxydant. De plus, sa capacité à traverser les membranes biologiques fait qu'il peut se retrouver à une grande distance de son lieu de production. Selon la réaction de Fenton, l'H₂O₂ se décompose, en présence d'ions ferreux (Fe²⁺), en un ion OH⁻ et un radical hydroxyle (OH•) selon l'équation ci-dessous :



Cette réaction s'interrompt rapidement par épuisement du fer ferreux, excepté en présence d'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) qui régénère Fe_3^+ en Fe_2^+ selon la réaction d'Haber-Weiss : ($\text{O}_2^{\bullet-} + \text{Fe}_3^+ \rightarrow \text{O}_2 + \text{Fe}_2^+$). Ainsi, la présence simultanée de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), d'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) et de fer permet la production de radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$) qui est la plus instable et la plus réactive de toutes les espèces dérivées de l'oxygène. La diffusion limitée de ce radical lui permet de réagir avec de nombreuses espèces moléculaires se trouvant à proximité (protéines, lipides, ADN...) entraînant ainsi de multiples dommages cellulaires. L' $\text{OH}\cdot$ apparaît comme l'espèce radicalaire ayant un rôle majeur dans la cytotoxicité des ROS (Gutteridge & Halliwell, 1993).

I-2-2 Nature et sources des radicaux libres

Les espèces réactives oxygénées les plus couramment rencontrées sont: le radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$), le radical superoxyde ($\text{RO}_2\cdot$) et le radical peroxyde ($\text{RO}_2\cdot$). Le dioxyde d'azote ($\text{NO}_2\cdot$) et l'oxyde nitrique ($\text{NO}\cdot$) sont des radicaux libres azotés. Les radicaux libres d'oxygène et d'azote peuvent être également convertis en espèces non radicalaires, mais également réactives, comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloridrique (HOCl), l'acide hypobromeux (HOBr) et les peroxydinitrites (ONOO^-) (Halliwell, 1991; Andrea *et al.*, 2005). Tous ces radicaux peuvent avoir une source endogène ou exogène.

In vivo, les enzymes pro-oxydantes, incluant la NADPH-oxydase (Chen *et al.*, 1997), la NO-synthase (Stuehr *et al.*, 1990) ou la chaîne du cytochrome P-450 (Stief, 2000) peuvent générer des radicaux libres oxygénés.

L'organisme est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des RL. Les rayonnements UV induisent la synthèse des radicaux $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{OH}\cdot$, O singulet et des molécules génératrices de RL, comme H_2O_2 par l'intermédiaire d'agents photo-sensibilisants. Les radiations ionisantes provoquent également la génération de RLO. L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de RL selon divers mécanismes. La xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le principal

métabolite de l'éthanol, l'acétaldéhyde, avec production d'O₂^{•-}. L'éthanol stimule également la production d'anion O₂^{•-}. L'alcool peut également diminuer l'activité des enzymes de protection comme SOD-GSH-Px (Sebastian *et al.*, 1999). Des toxiques tels que l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂), présents dans notre environnement (suies, goudron, tabac, polluants industriels), participent également à la genèse de radicaux libres : ils sont responsables d'une auto-oxydation des AGPI saturés des alvéoles pulmonaires. D'autres agissent par transfert d'électrons. Il en est ainsi du tétrachlorure de carbone (CCl₄) dont la toxicité s'exerce par l'intermédiaire des radicaux CCl₃[•]. La réaction de transformation du CCl₄ en CCl₃[•] s'effectue, soit sous l'action de cytochromes P450 hépatiques selon l'équation: $CCl_4 + e^- \rightarrow Cl^- + CCl_3^\bullet$ Ou alors en présence du fer ferreux selon l'équation: $CCl_4 + Fe^{2+} \rightarrow Cl^- + CCl_3^\bullet$

Il a été démontré que le CCl₃[•] était capable d'induire l'auto-oxydation des AGPI, et donc de provoquer une augmentation importante des hydroperoxydes (Padma *et al.*, 1999). Enfin, des antibiotiques anticancéreux, tels que les anthracyclines, sont également capables de générer des RL. La formation d'espèces radicalaires serait responsable de leur mode d'action anticancéreux et de leur toxicité (Sinha *et al.*, 1989).

I-2-3 Systèmes antioxydants

Les radicaux libres sont produits spontanément et de manière continue au sein de notre organisme. La production des espèces oxygénées réactives, lorsqu'elle n'est plus contrôlée par les défenses antioxydantes, entraîne de nombreuses perturbations appelées stress oxydant. Le maintien d'un niveau non cytotoxique de ROS est assuré par des systèmes antioxydants. On peut définir les antioxydants comme des molécules qui empêchent ou diminuent l'oxydation d'autres molécules. Ils sont capables d'arrêter les réactions d'oxydo-réduction en chaîne en s'oxydant, à leur tour, limitant ainsi l'action destructrice des radicaux libres. Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires. Les antioxydants sont des systèmes

enzymatiques ou non-enzymatiques (Packer et al, 1997; Mates et al, 1999; Powers & Lennon, 1999 ; Dröge, 2002).

I-2-3-1. Systèmes antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion reductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS.

- **Superoxyde dismutase (SOD)**

Cette enzyme catalyse la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 . La SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD). Il a été récemment montré que la Cu/Zn-SOD était également présente dans l'espace inter-membranaire (Okado-Matsumoto & Fridovich, 2001; Sturtz et al., 2001). La distribution de ces différentes isoformes varie selon le tissu. Dans le muscle, environ 65 à 85% de l'activité de la SOD se trouvent dans le cytosol tandis que les 15 à 35% restants sont localisés dans les mitochondries. Cependant, la Mn-SOD semble indispensable à la vie puisque sa mutation est non viable (Huang et al., 2001). Ceci n'est pas le cas pour la forme cytosolique (Sentman et al., 2006).

- **Glutathion peroxydase (GPx) et reductase (GR)**

La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de cette réaction, deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG) (Mates et al., 1999; Powers & Lennon, 1999). Il existe également une glutathion peroxydase associée à la membrane mitochondriale, la phospholipide-hydroperoxyde glutathion peroxydase (PHGPx) qui est spécifiquement impliquée dans la diminution de la peroxydation lipidique (Mates et al., 1999 ; Nomura et al., 2000). La glutathion reductase, quant à

elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction.

- **Catalase**

La catalase est également responsable de l'élimination d' H_2O_2 par sa transformation en H_2O et O_2 . Contrairement à la GPx, l'affinité de la catalase pour l' H_2O_2 est élevée seulement lorsque les teneurs en peroxyde d'hydrogène sont accrues (Mates et *al.*, 1999; Powers & Lennon, 1999). Cette enzyme est abondante dans le foie et les globules rouges. Elle se retrouve préférentiellement dans les peroxysomes et en plus faible quantité dans le cytosol.

I-2-3-2 Systèmes antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines E et C.

- **Oligoéléments**

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc ; la catalase, du fer et la GPx, du sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action prooxydante à travers la réaction de Fenton ou d'Haber-Weiss.

- **Glutathion**

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les

niveaux de peroxydation lipidique (Packer et *al.*, 1997; Power & Lennon, 1999). Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d'H₂O₂ est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (Ji et *al.*, 1992).

- **Ubiquinones et cytochrome C**

Les ubiquinones, sous leur forme semi-radicalaire, jouent un rôle fondamental dans la production de ROS. Inversement, sous la forme "ubiquinol", ils agissent comme antioxydant (Power & Lennon, 1999). L'ubiquinol protège les membranes de la peroxydation lipidique par une diminution de la formation et de la propagation de radicaux peroxylys. L'ubiquinone est également impliquée dans la régénération de la vitamine E ce qui amplifie son rôle protecteur contre les ROS (Packer et *al.*, 1997).

Le cytochrome C présent dans l'espace inter-membranaire a un rôle dans la détoxification par la captation de l'électron libre d'O₂^{•-} produit au niveau de la chaîne respiratoire. Ainsi réduit, il cède cet électron au complexe IV formant du cytochrome C oxydé et de l'H₂O (Skulachev, 1998).

- **Vitamine E et vitamine C**

Les vitamines E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent les vitamines les plus importantes dans la lutte contre le stress oxydant. La vitamine E étant liposoluble se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (Packer et *al.*, 1997; Evans, 2000).

La vitamine C quant à elle, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et le liquide extracellulaire; elle peut capter directement l'O₂^{•-} et l'OH[•]. Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et permettre ainsi une meilleure efficacité de la vitamine E (Packer et *al.*, 1997; Evans, 2000).

I-2-4 Dégâts cellulaires

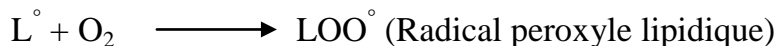
Les dommages induits par les ROS sont : la peroxydation des lipides, l'oxydation des protéines et les mutations de l'ADN. Ces altérations peuvent conduire à des pertes de

fonction et d'intégrité, voire à la mort cellulaire. Les ROS initient également l'apoptose en activant l'ouverture du pore de transition de perméabilité (PTP).

I-2-4-1 Peroxydation lipidique

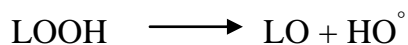
Les premières cibles des ROS sont les lipides, notamment ceux présents sur les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Pamplona et *al.*, 2000 ; Hulbert, 2005). L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs. La peroxydation de lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (Hong et *al.*, 2004). Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN (Marnett, 1999). Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), les substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) sont étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique. La peroxydation lipidique est la chaîne des réactions non enzymatiques des radicaux libres la plus courante et elle se déroule en plusieurs étapes : initiation, propagation, branchement et terminaison (Antolovich, 2002).

Initiation : $LH + R^\circ \longrightarrow L^\circ + RH$ où LH est une molécule de substrat. Un lipide réagit avec un radical R° , initiant ainsi l'oxydation qui génère les radicaux lipoyles L° hautement actifs pouvant réagir rapidement avec l'oxygène pour former un radical peroxyde lipidique LOO° selon l'équation suivante :

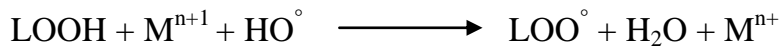
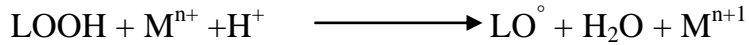


Propagation : ces radicaux peroxydes sont des chaînes transporteuses des réactions qui peuvent plutar oxyder les lipides et produire les hydroperoxydes (LOOH), qui en retour vont hydrolyser plusieurs composés tels que les alcools, les aldéhydes, les cétones, les hydrocarbonés et les radicaux comme les alcoxydes (LO°).

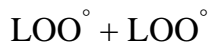
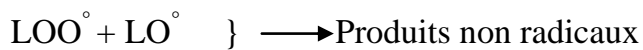
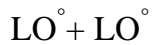
Branchement : il peut se résumer comme suit



L'hydrolyse des hydroperoxydes nécessite une transition catalysée par les ions métalliques comme dans les réactions analogues avec le peroxyde d'hydrogène, produisant les radicaux peroxy et alcoxy lipidiques.



Terminaison : la réaction terminale implique la combinaison des radicaux pour former les produits non radicaux :



I-2-4-2 Oxydation des protéines

De façon comparable à l'oxydation des lipides, les protéines sont aussi susceptibles d'être oxydées par les ROS. Cette oxydation provoque l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine (Peng et *al.*, 2000 ; Levine, 2002). Ces réactions d'oxydation, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu_2^+ et le Fe_2^+ , peuvent être classées en deux catégories, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne protéique d'une part, et les modifications des peptides par l'addition de produits issus de la peroxydation lipidique. Ces changements sont tels qu'ils conduisent à une modification structurale des protéines dont les conséquences majeures sont la perte de fonction catalytique, l'augmentation de la sensibilité aux protéases... (Levine, 2002).

I-2-4-3 Dommage de l'ADN

Le stress oxydant étant principalement d'origine mitochondriale, ces organites sont les premières cibles des ROS. En effet, le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant qui est 10 fois supérieure à celle du génome nucléaire (Richter et *al.*, 1988). Les mécanismes explicatifs proposés sont : l'absence d'histones protectrices autour de l'ADN mitochondrial, sa localisation proche de la membrane interne, des mécanismes de réparations frustrés et une structure circulaire sans introns augmentant statistiquement le risque de mutations pathogènes (Cortopassi et *al.*, 1992;

Ames et *al.*, 1993). Les dysfonctionnements de la chaîne respiratoire pourraient augmenter la production de ROS et induire ainsi une augmentation progressive des mutations du génome mitochondrial et des protéines synthétisées. Comme le génome mitochondrial code pour quelques sous-unités de protéines impliquées dans la phosphorylation oxydative, leur défaut d'expression pourrait exacerber la fuite d'électrons de la chaîne respiratoire au profit de la production de ROS. Ainsi, plus la fuite d'électrons est importante, plus la formation de ROS provoquant de nombreuses mutations mitochondriales aggraverait ce phénomène (Wong & Cortopassi, 1997 ; Beckman & Ames, 1998).

Les fonctions de la mitochondrie sont donc particulièrement exposées aux dommages oxydatifs provoquant principalement une diminution de la synthèse d'ATP mais aussi engageant la cellule dans un programme d'apoptose avec l'induction du pore de transition de perméabilité (PTP) qui est un complexe multiprotéique avec de nombreuses protéines.

I-3 PLANTES MEDICINALES

I-3-1 Généralités

On appelle plante médicinale, toute plante possédant dans au moins l'un de ses organes certaines substances ayant des vertus thérapeutiques ou pouvant servir de précurseurs pour la synthèse des médicaments (Sofowora, 1982). L'utilisation des plantes médicinales à travers le monde entier a précédé l'avenue d'antibiotiques et autres médicaments modernes (Akinyemi et *al.*, 2005). De plus, une proportion significative des produits pharmaceutiques d'usage actuel dérivent des plantes, qui restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments (Cowan, 1999 ; Rankin et *al.*, 2002). L'OMS recommande, encourage cette pratique surtout dans les pays où l'accès aux médicaments conventionnels n'est pas adéquat (Krishma et *al.*, 2004). L'OMS estime à 80%, la proportion de la population mondiale du tiers monde qui dépend de la médecine traditionnelle, source végétale de constituants différents des sources alimentaires (Srinivasan, 2005). De nos jours, les progrès de la Biochimie, de l'analyse organique et

pharmacologique, ainsi que ceux de la physiologie végétale ont permis de commencer un tri rationnel dans la masse d'action attribuée aux plantes détruisant certaines légendes mais établissant certains usages anciens. Les produits naturels dérivés des plantes médicinales sont une source abondante de composés biologiquement actifs qui sont à la base du développement des nouveaux produits chimiques pharmaceutiques. Il y a environ 500 000 espèces végétales dans le monde parmi lesquelles seulement 1 % ont déjà été investigués (Enzo, 2006).

I-3-2 Différentes formes d'utilisation des plantes médicinales

Dans la médecine orthodoxe, une plante peut faire l'objet de plusieurs processus chimiques avant que ses ingrédients actifs ne soient extraits, épurés et rendus consommables, alors que dans la médecine traditionnelle, une plante est simplement mangée crue, préparée ou infusée dans de l'eau ou du vin naturel, ou même préparée comme nourriture (Conway, 1973).

Traditionnellement, l'eau est le solvant le plus fréquemment utilisé pour la préparation des médicaments à partir des plantes entières ou des parties des plantes, même si quelques fois, l'alcool est également utilisé. D'une manière générale, le mode de préparation peut conditionner l'efficacité du produit obtenu (Sofowora, 1996). On distingue plusieurs types de préparations (Pousset, 1989) dont on peut citer :

-L'infusion : elle consiste à verser de l'eau bouillante sur le matériel végétal, à le couvrir et à laisser au repos pendant un temps prédéfini. Après filtration, on obtient un extrait aqueux contenant le ou les principes actifs que l'on boit chaud ou froid.

-La macération : c'est l'opération qui consiste à faire tremper la plante ou une partie de la plante dans le solvant adéquat (eau, alcool,...), puis laisser pendant un temps nécessaire pour extraire les produits solubles.

-La décoction : elle se prépare en mettant à bouillir un mélange de plante et d'eau. L'ébullition doit être progressive et nécessite un temps plus ou moins long. La décoction obtenue se boit chaude ou froide.

-Le cataplasme : il consiste à délayer dans un liquide, des poudres ou des farines jusqu'à obtenir une consistance de pâte molle. Cette pâte est étalée sur un linge et renversée sur la partie à traiter de manière à être en contact direct avec le corps.

-La décoction-infusion : elle consiste à faire une décoction pour un premier temps et à laisser infuser le temps nécessaire avant de filtrer.

-La concoction : c'est la préparation faite d'un mélange de plusieurs ingrédients.

En plus de ces méthodes traditionnelles de préparation, de nouvelles méthodes ont vu le jour avec le développement des connaissances en chimie des plantes (WHO, 1998). On peut citer entre autres : des gélules faites à base de la poudre de plante micronisée, des extraits secs en gélule ou encore des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation en flacon ou en microcapsules tamponnées.

I-3-3 Avantages et inconvénients de la médecine traditionnelle par rapport à la médecine moderne

De nos jours, il existe une vaste littérature sur la médecine traditionnelle avec les botanistes qui décrivent les plantes utilisées pour le traitement des différentes maladies, les phytochimistes pour les constituants chimiques et les pharmacologistes pour l'efficacité thérapeutique des extraits ou les composés particuliers.

Dans la majorité des cas, pour les tradipraticiens, les plantes médicinales sont plus curatives que préventives pour les différents maux. La disponibilité permanente des plantes comme agent thérapeutique direct et leur aspect économique les rendent plus attractives comparée à la médecine moderne (Agbor et *al.*, 2007). Par exemple il y a une demande croissante d'utilisation des produits naturels anti-diabétiques à cause des effets secondaires liés à l'utilisation de l'insuline et les produits hypoglycémiant. Plus de 400 plantes ont un effet hypoglycémiant et plusieurs de ces plantes ont une bonne réputation en médecine traditionnelle pour leurs activités anti-diabétiques (Krishma et *al.*, 2004).

La résistance accrue de plusieurs pathogènes aux agents thérapeutiques couramment utilisés tels que les antibiotiques et antiviraux a abouti à la découverte des nouveaux composés anti-infectueux. La médecine traditionnelle couplée à la médecine

moderne donne une meilleure satisfaction liée à l'interaction potentielle entre les extraits de plantes et les médicaments. En effet, la médecine traditionnelle contient plusieurs ingrédients. Elle produit un nombre élevé de composés pharmacologiquement actifs et un spectre d'interaction satisfaisant. Par exemple, selon Izzo (2004), les flavonoïdes inhibent certaines activités biologiques et ont l'habilité de moduler plusieurs enzymes et récepteurs cellulaires grâce à leurs propriétés antioxydantes alors que les médicaments synthétiques contiennent habituellement une seule entité chimique impliquant donc les interactions médicaments-médicaments uniquement. Les composés phytochimiques tels que la pipérine, les flavonoïdes, les triterpénoïdes, les anthraquinones, les polyphénols et les alcaloïdes interagissent avec le système cytochrome P450 et l'inhibent. Ce qui peut avoir un impact pharmacocinétique sur une co-administration des médicaments métabolisés par ce système (Zhou *et al.*, 2000).

L'utilisation des plantes médicinales par les enfants, les femmes enceintes et les vieillards n'est pas recommandée à cause de l'effet potentiel sur le développement des cellules et des tissus. Donc cette administration doit être extrêmement examinée car il existe une différence entre les adultes et les enfants au niveau de l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion de certaines substances. Ces enfants peuvent être plus vulnérables aux effets secondaires de la médecine traditionnelle (Woolf, 2003).

L'évaluation scientifique moderne des plantes médicinales concerne principalement la validation de leur utilisation traditionnelle et l'identification des composés actifs des extraits et préparations. Cependant, ceci pourrait être important dans le cas où la plante en question produit aussi des composés potentiellement toxiques. C'est ainsi qu'un nombre de composés agirait en synergie pour produire l'effet thérapeutique observé. Donc la séparation individuelle des composés peut entraîner soit la perte, soit la réduction de l'activité ou de l'effet désiré (Enzo, 2006). Une étude continue des plantes médicinales traditionnelles est requise non seulement pour établir les bases scientifiques de leur activité mais pour améliorer la qualité, l'efficacité et la satisfaction de telles préparations.

I-4 ETUDE BOTANIQUE de *Brillantaisia vogeliana*

I-4-1 Généralités et aperçu botanique sur *Brillantaisia vogeliana*

Le genre *Brillantaisia* comprend environ 20 espèces réparties à Madagascar et en Afrique tropicale. Dans ce genre, on retrouve les plantes herbacées. Ces plantes ont des feuilles simples, cordiformes qui présentent des pétioles ailés. L'inflorescence se fait en panicules, en grappes ou en épis munis de bractées. Les fleurs sont rouges ou violettes et portent des calices à 5 sépales. La corolle à un tube court et épais et elle comporte un pli transversal et un limbe bilabié. On y retrouve également 2 à 4 étamines, des anthères fertiles à 2 loges parallèles. L'ovaire est multiovulé, la capsule est linéaire et tétragonée et elle présente 2 loges oligospermes. Chaque fruit porte 6 à 8graines (Heine, 1938).

Brillantaisia vogeliana est une plante pérenne, glabrescente ou légèrement pubérulente de hauteur variant de 50 à 150 cm. Les tiges sont subquadrangulaires. Les pétioles poilus mesurent 1,5 à 6 cm. Le limbe des feuilles est très mince et présente une forme ovale acuminée, à pointe arrondie. Les feuilles mesurent de 5 à 13 cm de long pour 3,5 à 8cm de large, leurs bordures ont des dents arrondies et obliquement triangulaires. Ces dents mesurent elles mêmes 3 à 5mm. Le limbe porte sur les deux faces des poils fins et dispersés et 9 à 10 paires de nervures latérales. Les inflorescences sont terminales, plus ou moins interrompues par des petites feuilles sessiles. Les bractées de 5 mm de long sont lancéolées et arrondies. Les bractéoles ont 2 à 3 mm. Le pétiole de 7 à 8 mm de long est densément cilié et porte des poils glanduleux. La corolle d'environ 2,5 cm est de couleur violet foncé. Elle est glabre, porte un tube de 10 mm et sa lèvre supérieure de 1,5 mm porte deux pointes quand celle inférieure a 3 lobes de 2x2 mm. Les filets mesurent 1 cm. Les anthères sont rudimentaires et mesurent 5mm comme les staminodes. L'ovaire mesure 4,5mm et le style, 15 mm. La capsule est finement pubescente et mesure 10 à 17 mm. On compte dans chaque loge 18 à 28 graines (Photo SOH OUMBE, 2014). Cette plante se trouve au Ghana, au Nigeria, au Sao-Thomé, au Gabon, au Cameroun, au Congo (Noubissi, 1998).



Brillantaisia vogeliana (Photo SOH OUMBE, 13 Janvier 2014)

I-4-2 Utilisation des Acanthacées en médecine traditionnelle

Les acanthacées sont largement utilisées dans la pharmacopée africaine où elles permettent de traiter de nombreuses maladies.

Les investigations pharmacologiques ont montré que les infusions des tiges et des feuilles de *Hygryphila auriculata* possèdent des activités antioxydantes et hépatoprotectrices. Ces infusions sont aussi utilisées pour traiter la fièvre, la diarrhée et les inflammations (Sharmugasundaram et Venkataraman, 2005).

Les extraits éthanoliques des feuilles de *Nelsonia canescens* ont montré les activités analgésiques et anti-inflammatoires (Oweyele, 2005). Les extraits des racines et des tiges de cette plante traitent la diarrhée, la fièvre, les vomissements, l'hypertension, les nausées gestationnelles, les inflammations et la variole

D'après les travaux de Telefo et *al.* (2004), une combinaison de *Dicliptera verticillata* avec *Aloe buttneri*, *Justicia insularis* et *Hibiscus macranthus* induit efficacement la production de l'oestradiol.

D'après Sawadogo et *al.* (2006), les acanthacées sont largement utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso. C'est ainsi que les extraits des feuilles et des tiges de *Blepharis linearifolia* sont utilisées pour traiter le paludisme, les MST, la fièvre, les inflammations, la rubéole et le panaris tandis que les tiges, les feuilles et les inflorescences de *Lepidagathis anobrya* traitent le paludisme, la migraine, les convulsions hyperpyrétiques et les morsures de serpent.

Le jus des feuilles de *Barleria grandiflora* est utilisé pour lutter contre les ulcères buccaux dans certaines ethnies de la région de Vidarbha de Maharashtra en Inde (Sawarkar et *al.*, 2009).

L'infusion des feuilles de *Brillantaisia vogeliana* est utilisée par les populations de Bandjoun dans la région de l'Ouest Cameroun par les femmes enceintes pour faciliter l'accouchement. Or l'utilisation des plantes médicinales par les femmes enceintes n'est pas recommandée. Noubissi (1998) a montré l'effet amaigrissant et hypolipémiant de quelques extraits des feuilles de cette plante. En effet, de nos jours très peu d'études scientifiques ont été faites sur *Brillantaisia vogeliana*, et pour une meilleure valorisation sur des bases scientifiques, des études du mécanisme d'action, des effets cardioprotecteurs, de la toxicité de l'extrait aqueux utilisé par les populations locales, de la composition chimique des extraits sont indispensables. Pour réaliser toutes ces études, le matériel et les différentes méthodes sont consignés dans la partie suivante.

II-1 ETUDE DE L'EFFET DES EXTRAITS DE *Brillantaisia vogeliana* SUR LE METABOLISME LIPIDIQUE CHEZ LES RATS

II-1-1 Matériel biologique

Les feuilles de *Brillantaisia vogeliana* sont récoltées au mois de Mars, au quartier Emanà à Yaoundé, puis séchées à l'abri de la lumière vive.

Les expériences sont effectuées sur des rats mâles albinos de souche wistar. Ils sont âgés de 2 mois et pèsent en moyenne 170-196 g. Ils sont soumis à une alimentation standardisée de composition suivante : Protéines brutes (14,5%), Matière grasse constituée de tourteaux de palmiste et d'arachide (8%), Fibre (7%), Sel de cuisine (0,21 %), Vitamine A (10000 UI/Kg), Vitamine D (1500 UI/Kg), Vitamine E (45 mg/Kg).

II-1-2 Protocole d'extraction des feuilles de *Brillantaisia vogeliana*

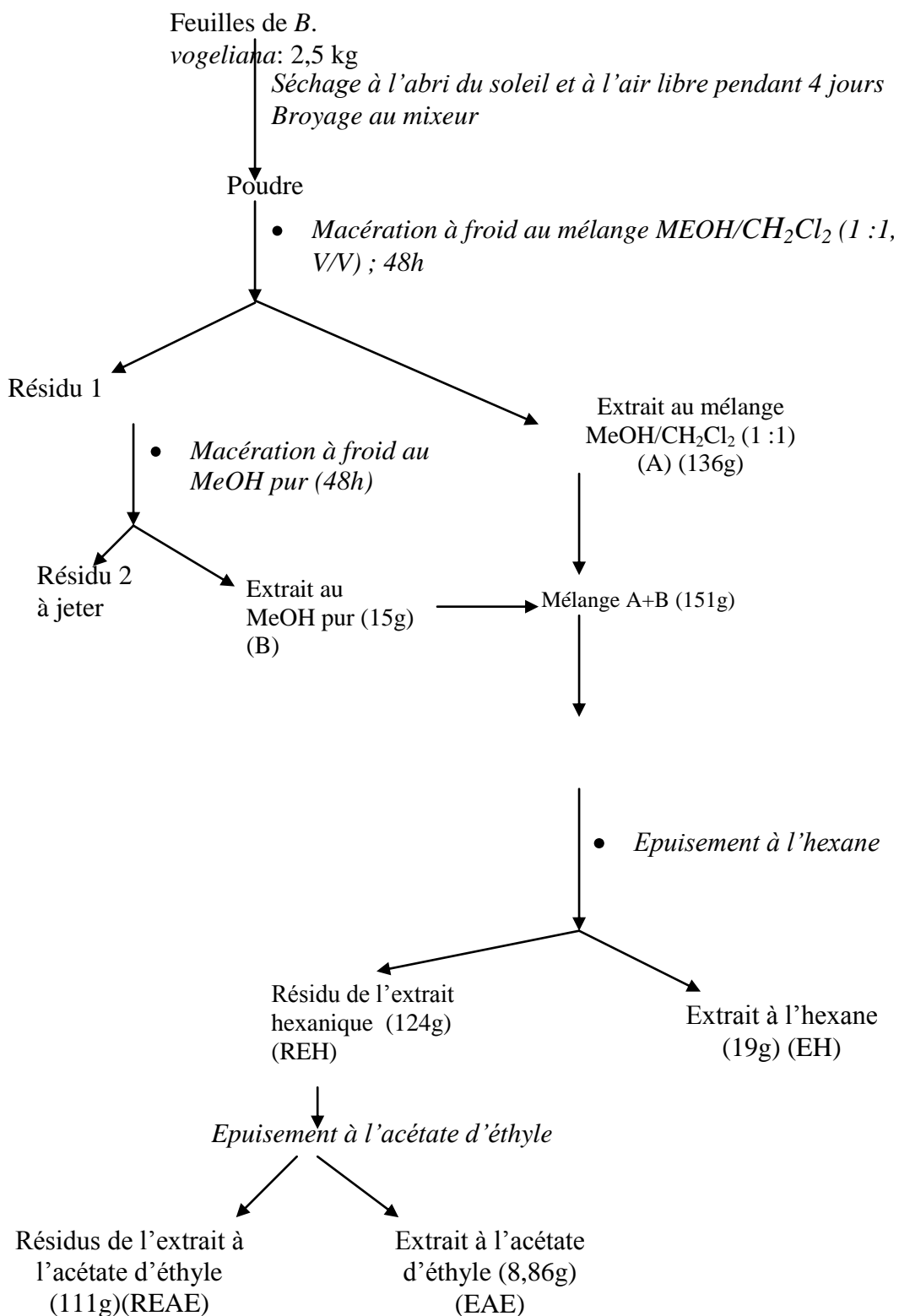


Figure 5: Protocole d'extraction des feuilles de *Brillantaisia vogeliana*

II-1-3 Préparation des extraits

Infusion : 500 g de poudre des feuilles de *B. vogeliana* sont dissous dans 500 ml d'eau distillée bouillie, puis laissés infuser pendant 24h. Après filtration sous vide à l'aide du papier wattman n° 3, le filtrat est séché à l'étuve à 40°C pendant 48 h. La poudre obtenue avec un rendement de 6,2 % est conservée à + 4°C et reconstituée dans de l'eau distillée chaude au moment de l'utilisation. Le rendement a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Rd} = \frac{\text{Masse de l'extrait}}{\text{Masse de la poudre}} * 100$$

Extrait à l'hexane : 5g de cet extrait sont mélangés à 1ml de DMSO à 0,2 %, le volume est complété à 500 ml avec de l'eau distillée. Cet extrait est conservé à + 4°C jusqu'au moment de l'emploi.

Résidu d'extrait hexanique : 5g de résidu de l'extrait à l'hexane sont dissous dans 500 ml d'eau distillé et conservés à + 4°C jusqu'au moment de son emploi.

Résidu d'extrait à l'acétate d'éthyle : On dissout 5g de résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle avec 1 ml de DMSO à 0,2 %. On complète ce volume à 500 ml avec de l'eau distillée et on conserve cette solution à + 4°C jusqu'au moment de l'emploi.

Extrait à l'acétate d'éthyle : A 100 mg d'extrait à l'acétate d'éthyle, on ajoute 2 gouttes de Tween 20 à 0,1% et on complète le volume à 100 ml avec de l'eau distillée. La solution obtenue est conservée à + 4°C jusqu'au moment de l'emploi.

II-1-4 Méthodes

II-1-4-1 Nutrition des rats

Cette étude est effectuée sur 70 rats répartis en plusieurs lots.

Lot 1 ou lot témoin de 14 rats qui reçoit une alimentation standard.

Lot 2 ou lot essai de 56 rats reçoit pendant 16 semaines la même alimentation que le lot témoin, enrichie de 10% (P/P) en huile de palme.

Après 8 semaines, les rats de ce lot essai sont répartis en 8 groupes essais de 7 rats chacun. Chaque groupe logé dans la même cage reçoit tous les matins entre 7h et 9h par

gavage l'un des produits suivants : l'infusion (IN), l'extrait à l'acétate d'éthyle (EAE), le résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle (REAE), l'extrait hexanique (EH) et le résidu de l'extrait hexanique (REH). Les groupes contrôles reçoivent soit de l'eau distillée, soit du tween 20 à 0,1 % ou du DMSO à 0,2 %. Cette répartition est résumée dans le tableau III ci après.

Tableau III : Répartition des rats du groupe essai

Essai	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8
Alimentation								
Aliment standard + 10% Huile de palme + eau distillée à volonté : Contrôle des groupes E2 et E5	+	-	-	-	-	-	-	-
Alimentation enrichie + 42 mg/kg/j d'infusion de <i>B.v.</i> pendant 8 semaines.	-	+	-	-	-	-	-	-
Alimentation enrichie + 33,33 mg/kg/j pendant 15 jours la solution de l'extrait à l'hexane.	-	-	+	-	-	-	-	-
Alimentation enrichie + DMSO à 0,2% pendant 15 jours : contrôle des groupes E3 et E8.	-	-	-	+	-	-	-	-
Alimentation enrichie + 33,33 mg/kg/j pendant 15 jours de la solution de résidu de l'extrait hexanique.	-	-	-	-	+	-	-	-
Alimentation enrichie + 3,33 mg/kg/j pendant 15 jours de la solution de l'extrait à l'acétate d'éthyle	-	-	-	-	-	+	-	-
Alimentation enrichie + du tween 20 à 0,1% V/V pendant 15 jours : Contrôle du groupe E6	-	-	-	-	-	-	+	-
Alimentation enrichie + 3 mg/kg/j pendant 15 jours solution résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle.	-	-	-	-	-	-	-	+

II-1-4-2 Prélèvements

Les rats sont pesés une fois par semaine et le jour du prélèvement sanguin. Les prélèvements sont effectués par le sinus retro-orbitaire chez tous les rats sous légère anesthésie aux vapeurs d'éther après 12h de jeûn, avant et après administration des différents extraits.

Le sang est prélevé dans des tubes secs, des tubes héparinés ou contenant de l'EDTA, en fonction des paramètres à analyser. Les prélèvements des tubes secs et héparinés sont placés directement dans la glace, puis centrifugés à 3000 trs/min pendant 5 min à + 4°C. Le sérum et le plasma obtenus sont aliquotés et conservés à -20 °C pour tous les dosages ultérieurs. Les prélèvements dans les tubes à EDTA sont utilisés pour la détermination du taux d'hémoglobine.

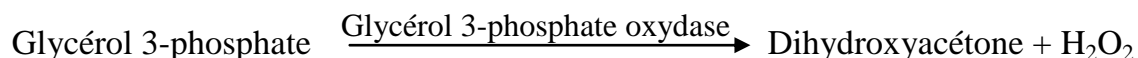
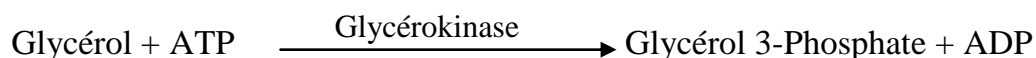
II-1-4-3 Détermination des paramètres lipidiques sanguins

Les concentrations sériques, en triglycérides, en cholestérol total, en cholestérol HDL sont déterminées par les méthodes enzymatiques. Le taux de cholestérol LDL est calculé par la formule de Friedewald *et al.* (1972).

- **Dosage des triglycérides (Kit Biomérieux)**

Principe

Les triglycérides présents dans les échantillons de sérum sont dosés selon le schéma réactionnel suivant :



La quinonéimine colorée en rose absorbe la lumière monochromatique de longueur d'onde égale à 500 nm. Cette absorbance (Abs) est proportionnelle à la concentration sérique en triglycérides.

Mode opératoire

On dépose dans trois tubes à hémolyse respectivement 10 µl de sérum à doser, 10 µl de sérum étalon et 10 µl d'eau distillée (tube blanc). Après avoir ajouté 1ml de la solution enzymatique reconstitué dans le tampon Tris (pH 8,6), les tubes sont homogénéisés aux vortex et incubés pendant 10min à la température du laboratoire (25±3°C). L'absorbance est lue au spectrophotomètre à 500nm contre le tube blanc.

Expression des résultats

La concentration des triglycérides est calculée de la manière suivante :

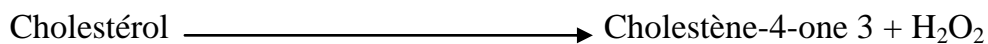
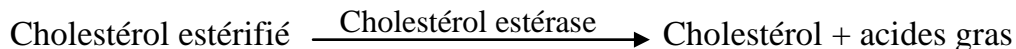
$$\text{Taux de triglycérides (g/l)} = (\text{Abs}_{\text{échantillon}} / \text{Abs}_{\text{étalon}}) \times C_{\text{étalon}} \text{ (2g/l)}$$

où Abs est l'absorbance et $C_{\text{étalon}}$, la concentration de l'étalon. $C_{\text{étalon}} = 2\text{g/l}$

- **Dosage du cholestérol total (Kit Biomérieux)**

Principe

Le cholestérol est dosé selon le schéma réactionnel suivant :



L'eau oxygénée pro Cholestérol oxydase ino antipyrine et le phénol en présence de la peroxydase pour libérer une quinonéimine colorée en rose dont l'absorbance maximum se situe à 500nm.



L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration du cholestérol total dans le sérum.

Mode opératoire

Dans trois tubes à hémolyse étiquetés essai, étalon et blanc contenant respectivement 10µl de sérum à tester, 10 µl de la solution étalon de cholestérol ou de l'eau distillée, on ajoute 1ml de solution enzymatique reconstituée dans le tampon phosphate phénolique. Les tubes sont homogénéisés aux vortex et incubés pendant 10min à la température du laboratoire ($25 \pm 3^{\circ}\text{C}$). L'absorbance est lue à 500nm contre le tube blanc.

Expression des résultats

Concentration (g/l) = $(\text{Abs}_{\text{échantillon}} / \text{Abs}_{\text{étalon}}) \times n$, où n, le titre de la solution étalon est de 2 g/l et Abs est l'absorbance.

- **Dosage du cholestérol HDL**

Principe

Les fractions de cholestérol sérique liées aux chylomicrons, aux VLDL et aux LDL sont précipitées par l'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium (Burstein et *al.*, 1973). Le cholestérol lié aux HDL est dosé dans le surnageant de la même manière que le cholestérol total.

Mode opératoire

Dans un tube à hémolyse contenant 500µl de sérum, on ajoute 50 µl de réactif précipitant. On homogénéise correctement. Après 10min d'incubation à la température du laboratoire ($25 \pm 3^{\circ}\text{C}$), on procède à une centrifugation de 10 min à 5000 tours/min.

Dans trois tubes à hémolyse contenant respectivement 50 µl de surnageant de cette centrifugation, 50 µl de la solution de calibration et 50 µl d'eau distillée (blanc). On ajoute respectivement 1 ml de mélange enzymatique. L'ensemble est homogénéisé et incubé pendant 10 min à la température du laboratoire ($25 \pm 3^{\circ}\text{C}$). L'absorbance est lue à 500 nm contre le tube blanc.

Expression des résultats

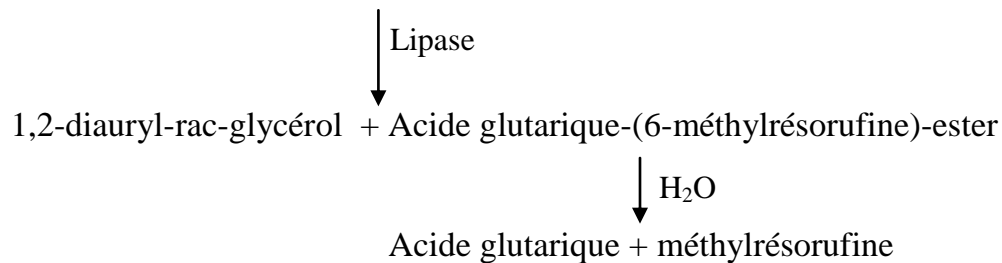
Concentration (g/l) = (Abs_{Essai}/ Abs_{étalon}) x n, n, le titre de la solution étalon est 0,60 g/l et Abs est l'absorbance.

II-1-4-4 Détermination des activités de la lipase sérique

Principe

La lipase catalyse l'hydrolyse du substrat chromatique 1,2-diauryl-rac-glycéro-3-acide glutarique-(6-méthylrésorufine)-ester donnant du 1,2-diauryl-rac-glycérol et de l'acide glutarique-(6-méthylrésorufine)-ester, un produit intermédiaire instable. En solution alcaline, celui-ci se décompose spontanément en acide glutarique et en méthylrésorufine. La concentration catalytique est déterminée à partir de la vitesse de formation du colorant rouge mesurée à 570 nm selon l'équation:

1,2-diauryl-rac-glycéro-3-acide glutarique-(6-méthylrésorufine)-ester



Mode Opérateur

Pré-incuber les réactifs à 37°C pendant quelques minutes. Déposer dans trois tubes à hémolyse 800 µl de réactif A. Y ajouter respectivement 12 µl de sérum à doser, 12 µl de sérum étalon et 12 µl d'eau distillée (tube blanc). Mélanger, puis insérer la cuve dans le spectrophotomètre. Mettre le chronomètre en marche. Incuber pendant 5 minutes exactement, y ajouter 400 µl de réactif B et bien mélanger. Après 3 minutes, noter l'absorbance initiale et effectuer de nouvelles lectures toutes les minutes pendant 3 minutes. Lire l'absorbance au spectrophotomètre à 500nm contre le tube blanc. Calculer la variation d'absorbance moyenne par minutes ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$).

Expression des résultats

Les activités de la lipase (U/l) des échantillons sont calculées selon la formule suivante :

$$\frac{\Delta \text{Abs/min échantillon}}{\Delta \text{Abs/min étalon}} \times C \text{ étalon (U/l)}$$

où Abs est l'absorbance et $C_{\text{étalon}}$, la concentration de l'étalon est égale à 253 U/l.

II-1-4-5 Détermination des activités de l'hydroxyl méthyl glutaryl CoA réductase sérique

Principe

L'hydroxy-méthyl-glutarylCoA réductase catalyse la réduction l'hydroxy-méthyl-glutarylCoA (HMG-CoA) en présence du NADPH + H⁺ pour donner le coenzyme A et le mévalonate. La mesure de son activité est basée sur la diminution de l'absorbance à 340 nm. Cette diminution de l'absorbance représente l'oxydation du NADPH et l'apparition du NADP⁺ selon l'équation suivante :



Mode opératoire

On dépose dans quatre tubes à hémolyse respectivement 5 µl de sérum à doser, 5 µl de sérum étalon et 5 µl d'eau distillée (tube blanc réactif) dans les trois premiers et 5 µl de pravastatine dans le dernier. On ajoute respectivement 915 µl, 915µl, 920µl de réactif de travail dans les premiers et 910µl dans le dernier. On ajoute 20 µl de Solution de NADPH et 60µl deHMG-CoA. On ajoute 5 µl de HMGR uniquement dans les tubes étalon et inhibiteur. Mélanger au vortex pendant 5 secondes et lire les absorbances toutes les 15 sec pendant 5 min à 340 nm à + 37°C.

Expression des résultats

Les activités spécifiques de l'hydroxyl méthyl glutarylCoA réductase en unité /mg de protéine (U/mgP) des échantillons sont calculées selon la formule suivante :

$(\Delta \text{Abs/min échantillon} - \Delta \text{Abs/min blanc} \times \text{TV}) / (12,44 \times V \times C \times I)$ où Abs est l'absorbance.

TV : Volume total de la réaction (1 ml)

12,44 : Coefficient d'extinction molaire de 2 molécules de NADPH consommées au cours de la réaction

V : Volume de l'enzyme utilisé dans la réaction (0,005 ml)

C : Concentration de l'enzyme en mg-protéine par ml (0,6 mgP/ml)

l : Trajet optique (1 cm)

Une unité d'activité se définit comme la concentration d'enzyme en UI/l qui convertit 1 μ mole de NADPH en NADP⁺ par minute à 37 °C.

II-1-4-6 Détermination des activités de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) plasmatique

Principe

La LCAT catalyse la synthèse des esters de cholestérol du plasma par transfert d'un acyl en position sn 2 de la lécithine au cholestérol. La détermination de l'activité de la LCAT se fait par la méthode fluorimétrique. L'échantillon est incubé à + 37°C avec le substrat fluorescent de la LCAT qui émet la fluorescence à 470 nm. Lorsque le substrat est hydrolysé par la LCAT, un monomère est libéré et émet la fluorescence à 390 nm. L'activité de la LCAT est mesurée comme une variation des rapports (470/390) des intensités de l'émission à 470 nm et 390 nm.

Mode opératoire

Prendre deux tubes à essai dans lesquels on met 1 ml de substrat de LCAT. Y ajouter 200 μ l de tampon de travail et ajouter ensuite respectivement 5 μ l d'eau déminéralisée, et 5 μ l de sérum. Incuber pendant 6h à +37°C, prélever 100 μ l de ce mélange et ajouter 300 μ l réactif de lecture. Bien mélanger au vortex pendant 5 secondes et lire immédiatement la fluorescence à une longueur d'excitation de 390 nm et 470 nm.

Expression des résultats

Les intensités d'émission à 390nm et 470 nm représentent l'émission du substrat hydrolysé (390 nm) et non hydrolysé (470 nm). En présence de la LCAT, le rapport de ces deux intensités d'émission (470/390) indique une augmentation de la concentration du

monomère (produit de l'hydrolyse) qui émet à 390 et simultanément la diminution de la concentration du substrat non hydrolysé de la LCAT qui émet à 470 nm.

II-2 DETERMINATION DES MARQUEURS DU STRESS OXYDATIF

II-2 -1 Préparation de l'hémolysât

1 ml de sang total prélevé dans le tube hépariné est récupéré et lavé trois fois avec 4 ml d'une solution physiologique saline (NaCl 0,9%). L'hémolysât est préparé en lysant 50 µl de culot avec 950 µl d'eau distillée (Srinivasan et Menon, 2003). Le surnageant séparé par centrifugation à 2500trs/min pendant 10 min à + 4°C est utilisé pour la mesure des activités des enzymes antioxydantes tels que la catalase et le superoxyde dismutase.

II-2-2 Préparation des différents homogénats 20 % (W/V)

Tous les rats sous légère anesthésie à la vapeur d'éther sont sacrifiés par décapitation. Après les prélèvements sanguins, le foie et le rein de chaque rat sont récupérés, lavés et pesés. Cinq (5) g de chaque organe sont découpés à l'aide des ciseaux et mis dans des tubes bien identifiés ; ils sont ensuite homogénéisés au Potter dans 25 ml de solution de KCl 0,150 M. Le mélange est centrifugé à 3000 trs/min pendant 10 min à + 4°C. Un homogénat 20 % est ainsi préparé pour chaque organe (Srinivasan et Menon, 2003). Les surnageants sont recueillis, aliquotés suivant le nombre de dosage à effectuer, puis congelés à -20°C.

II-2-3 Détermination de l'activité de la SOD (Misra et Fridovish, 1972)

Principe

La SOD présente dans l'échantillon inhibe l'oxydation de l'adrénaline en adrenochrome.

Mode opératoire

0,2 ml d'hémolysât ou d'homogénat est ajouté à 2,5 ml de tampon carbonate 0,05 M (pH 10,2). Ceci permet d'équilibrer le spectrophotomètre. La réaction commence par addition de 0,3 ml de solution fraîchement préparée d'adrénaline 0,3 mM au mélange

échantillon- tampon. Le mélange est rapidement homogénéisé par inversion et placé au spectrophotomètre.

Par ailleurs, le tube blanc contient 2,5 ml de tampon, 0,3ml de substrat d'adrénaline et 0,2 ml d'eau distillée. La variation de l'absorbance (Δ Abs) à 480 nm est déterminée toutes les 30 secondes pendant 150 secondes.

Expression des résultats

$$\text{Abs réelle essai} = (\text{Abs}_{\text{essai}} - \text{Abs}_{\text{témoin}})$$

$$\Delta\text{Abs}/\text{min} = (\text{Abs}_{150 \text{ sec}} - \text{Abs}_{30 \text{ sec}}) / 2.$$

$$\% \text{ inhibition} = 100 - (\text{Abs} \times 100) / \text{Abs blanc} \times \text{min}^{-1}$$

$$50\% \text{ d'inhibition} = 1 \text{ unité}$$

$$X\% \text{ d'inhibition} = y \text{ unités}$$

Abs = absorbance

$$\text{Unité de SOD} = \frac{\text{Nombre d'unités de SOD} / \text{ml}}{\text{Taux d'hémoglobine ou de protéine (mg/ml)}}.$$

Une unité de l'activité de la SOD est définie comme la quantité de SOD nécessaire pour causer 50% d'inhibition de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome pendant 1min.

II-2-4 Détermination de l'activité de la catalase (Sinha, 1972)

Principe

Le peroxyde d'hydrogène qui est hydrolysé en présence de la catalase se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable. Ce dernier sera ensuite décomposé par la chaleur pour former un complexe vert qui absorbe à la longueur d'onde de 570 nm. L'activité de la catalase proportionnelle à la densité optique est déterminée grâce à une courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Dans un tube à essai et blanc, on met respectivement 50 μ l d'échantillon (hémolysât ou homogénat) ou d'eau distillée et 750 μ l de tampon phosphate (0,1 M ; pH

7,5). Le chronomètre est déclenché lorsqu'on ajoute 200 µl de substrat peroxyde d'hydrogène (50 mM). Dans le tube témoin, introduit 50 µl d'échantillon (hémolysât ou homogénat), 950 µl de tampon phosphate (0,1M, pH 7,5). Après 1 min, la réaction est arrêtée par l'ajout de 2 ml de la solution de dichromate/acide acétique. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 10 min et après refroidissement à la température du laboratoire ($25 \pm 3^\circ\text{C}$), la densité optique est lue à 570 nm contre le blanc.

Expression des résultats

L'activité de la catalase proportionnelle à la densité optique est déterminée grâce à une courbe d'étalonnage. En effet, une gamme d'étalon de 0 à 8 mM est établie comme indique le tableau IV.

Tableau IV : Etalonnage de l'activité de la catalase

N° tubes	1	2	3	4	5
Volume de H ₂ O ₂ , 50 mM (µl)	0	20	40	80	160
Eau distillée (µl)	1000	980	960	920	840
Solution de dichromate/ acide acétique, 10 mM (ml)	2	2	2	2	2

La quantité de peroxyde d'hydrogène est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage et l'activité spécifique de la catalase est exprimée soit en mM de H₂O₂/min/g de tissu dans l'homogénat ou alors en mM de H₂O₂/min/g d'hémoglobine dans l'hémolysât. L'absorbance réelle de l'essai = (Abs_{essai} - Abs_{témoin}).

II-2-5 Dosage des groupes thiols non protéiques (Ellman, 1959)

Principe

Le groupement SH réduit le DTNB (acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) en TNB [acide 5-thio (2-nitrobenzoïque)], coloré en jaune, dont l'absorbance à 412 nm est proportionnelle à la quantité de groupe SH du milieu.

Mode opératoire

Dans deux tubes étiquetés blanc et essai, introduire 900µl de réactif d'Ellman et y ajouter respectivement 100µl d'eau désionisée ou d'échantillon (sérum ou homogénat) à analyser. Après incubation à température ambiante ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) pendant 30 minutes, l'absorbance est lue à 412 nm contre le tube blanc.

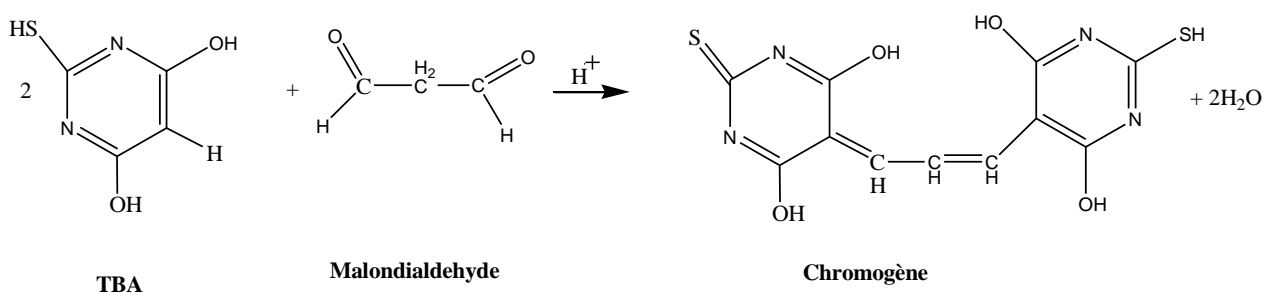
Expression ds résultats

La concentration en groupement SH est déterminée en utilisant le coefficient d'extinction molaire du TNB ($\epsilon = 1,36.10^4 \text{ l.M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) grâce à la formule $C=DO/\epsilon lP$ avec P, la concentration en protéines en g/l et l, le trajet optique (1 cm). Les résultats sont exprimés en µmol/g de protéines.

II-2-6 Détermination du malondialdéhyde (MDA) (Yagi, 1976)

Principe

Cette méthode est basée sur la réaction du dialdéhyde malonique (MDA) avec l'acide thiobarbiturique (TBA) en milieu acide pour former un composé dont la coloration rose est proportionnelle à la concentration du MDA. L'équation de la réaction est la suivante :



Mode opératoire

Dans des tubes à vis bien étiquetés blanc et essai, 100µl d'échantillon ou d'eau distillée, 400µl de réactif de TBA sont hermétiquement fermés. Le mélange est chauffé au bain Marie pendant 15minutes à $+ 80^\circ\text{C}$. Après refroidissement dans un bain d'eau froide pendant 30minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation de gaz

formés lors de la réaction, l'absorbance du surnageant obtenu après centrifugation à 3000 tours/min pendant 5 minutes est lue à 532 nm contre le tube blanc.

Expression des résultats

La concentration de TBARS est déterminée en utilisant le coefficient d'extinction molaire du MDA ($\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ l. M}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$) grâce à la formule $C = DO/\epsilon l$ avec l , le trajet optique (1 cm). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{mol/l}$.

II-3 Détermination du potentiel antioxydant des extraits

II-3-1 Screening phytochimique des extraits

Les méthodes de Trease et Evans (1983) sont utilisées. Elles mettent en œuvre des réactions en tubes soit par précipitation, soit par coloration comme indication d'un test positif. Ces tests sont qualitatifs et non quantitatifs. Le DMSO, le tween 20 ou l'eau distillée sont utilisés comme contrôle négatif.

- **Test des alcaloïdes**

Solution à analyser : Introduire 100 mg d'extrait à analyser dans un erlenmeyer de 250 ml. Ajouter de l'acide sulfurique dilué à 10 % dans de l'eau distillée. Agiter sur le vortex et laisser en macération pendant 24 h à la température du laboratoire. Filtrer sur papier filtre (Whatman N°3), laver à l'eau distillée et compléter le volume à 50 ml avec de l'eau distillée.

Réaction de précipitation. Pour ce test, nous avons opéré avec un témoin : la nicotine extrait du tabac de la cigarette de marque « *Benson* ». Prendre 5 tubes à essai, introduire 1 ml de chaque filtrat dans des tubes différents de même que les contrôles. Ajouter 5 gouttes de réactif de Mayer dans chaque tube. En laissant reposer pendant 10 min, la turbidité ou la précipitation avec ce réactif est pris comme une première évidence de la présence des alcaloïdes.

- **Test des saponosides**

A 0,5 ml de chaque solution des différents extraits précédemment préparée. On ajoute 4 ml d'eau distillée. Après agitation sur le vortex, l'intensité de l'écumage indique la présence des saponosides.

- **Test des glycosides**

A 0,5 ml de chaque solution des différents extraits précédemment préparée ainsi que les différents contrôles, on ajoute 2 ml d'acide sulfurique concentré et on chauffe le mélange pendant 3 minutes à 80°C ; 0,5 ml d'une solution de NaOH 1 N et 1ml de la liqueur de Fehling sont également ajoutés à ce mélange. Un précipité rouge brique formé au fond des tubes indique la présence des glycosides.

- **Test des polyphénols**

Test des phénols : On introduit dans des tubes à essai différents, 1 ml de chlorure ferrique à 1 %, puis 0,5 ml de chaque extrait et leur contrôle respectif. Après ajout de quelques gouttes de ferricyanide de potassium, l'apparition d'un précipité vert indique la présence des groupes phénols.

Test des tanins : On introduit 0,5 ml de chaque extrait et leur contrôle respectif dans des tubes à essai différents ; on y ajoute 1 ml de chlorure ferrique à 1 %. Il se développe une coloration bleu noirâtre ou verdâtre indiquant la présence des tanins.

Test des flavonoïdes: L'introduction de 1 ml de NaOH 1N à 0,5 ml de chaque extrait ainsi que leur contrôle dans des tubes à essai différents, donne une coloration jaune. Le changement de coloration à l'ajout de quelques gouttes de HCl 1N indique la présence des flavonoïdes.

- **Test des huiles**

On dépose quelques gouttes de chaque extrait sur du papier filtre. Après séchage et évaporation, la translucence du papier filtre indique la présence des huiles.

- **Test des glycosides cardiaques**

Après avoir introduit 0,5 ml de chaque extrait ainsi que leur contrôle respectif dans des tubes à essai différents on y ajoute 1 ml de chloroforme, puis 1 ml d'acide sulfurique à 10 %. La couleur rouge marron à l'interphase indique la présence du noyau stéroïde (portion aglycone des glycosides cardiaques).

- **Test des stérols et triterpènes**

On ajoute 0,5 ml de chloroforme et 0,5 ml d'anhydride acétique à 0,5 ml de chaque extrait et leur contrôle respectif. L'addition de 2 ml d'acide sulfurique concentré et l'apparition de la coloration verte ou violette dans le surnageant indique la présence des stérols et triterpènes

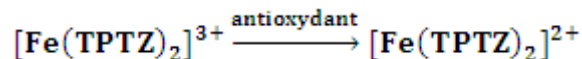
II-3-2 Préparation des différentes solutions.

Les différents extraits et la vitamine C servant de standard sont préparés dans une solution de méthanol à 2% à la concentration de 1000 µg/ml. Une série de dilution suivant une progression géométrique de raison 2 est ensuite réalisée et permet d'obtenir les concentrations suivantes : 50-100-200-400-800 µg/ml. Les extraits à l'acétate d'éthyle et hexanique sont préalablement dissous respectivement dans du tween 20 à 0,1% et du DMSO à 0,2 %.

II-3-3 Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Benzie et Strain, 1996)

Principe

Le FRAP mesure la capacité des échantillons à réduire le fer à un pH de 3,6. Une intense coloration bleue est formée lorsque le complexe tripyridyltriazine ferrique est réduit en tripyridyltriazine ferreux en milieu acide et l'absorbance est mesurée à 593 nm.



Mode opératoire

75 µl d'extrait, de vitamine C dilués et de méthanol à 2 % sont respectivement introduits dans deux tubes étiquetés blanc et essai contenant 2 ml de réactif de FRAP. On incube à

la température du laboratoire ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) pendant 12 min et on lit l'absorbance (Abs) des tubes essai et étalon contre le tube blanc à 593 nm

Expression des résultats

L'activité antioxydante des différents extraits, exprimée en pourcentage d'inhibition est déterminée par la formule suivante :

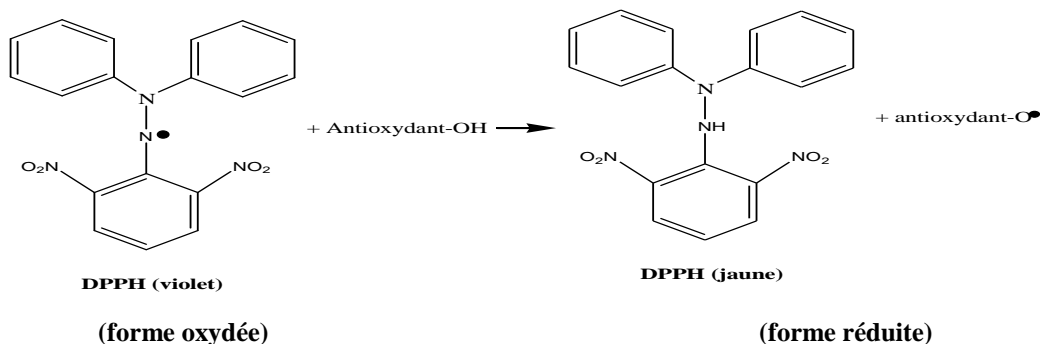
$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{Blanc}} - \text{Abs}_{\text{échantillon ou étalon}}}{\text{Abs}_{\text{Blanc}}} \times 100$$

Avec Abs = l'absorbance

II-3-4 Méthode de DPPH (2,2 Diphényl-2-picilhydrazyl) anti-radicalaire

Principe

En présence d'un anti oxydant, le DPPH oxydé de couleur violette est réduit pour donner une coloration jaune. La diminution de l'absorbance est mesurée à 517 nm. Cette technique permet de déterminer l'activité antiradicalaire d'une substance selon l'équation suivante (Katalinié et *al.*, 2003):



Mode opératoire

20 μl d'extrait, de vitamine C dilués ou de méthanol à 2 % sont respectivement introduits dans des tubes bien étiquetés essai, étalon et blanc contenant 2 ml de réactif d'une solution méthanolique de DPPH (0.3 mM). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité à la température ambiante ($25 \pm 3^\circ\text{C}$), l'absorbance (Abs) est mesurée au spectrophotomètre à 517 nm contre le tube blanc.

Expression des résultats

L'activité antioxydante des différents extraits, exprimée en pourcentage d'inhibition est déterminée selon la formule de Yen et Duh (1994) suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{Blanc}} - \text{Abs}_{\text{échantillon ou étalon}}}{\text{Abs}_{\text{Blanc}}} \times 100$$

Avec Abs, l'absorbance

II-3-5 Test d'activité antiradicalaire sur les radicaux hydroxyles (HO°) (Yu et al., 2004)

Mode opératoire

1,5 ml d'extrait, de vitamine C dilués ou de méthanol à 2 % sont respectivement introduits dans des tubes bien étiquetés essai, étalon et blanc. On ajoute successivement 60 µl de FeCl₃ 1mM, 90µl de 1,1 o-phénathroline 1mM, 2,4 ml de tampon phosphate 0,2 M, pH 7,8 et 150 µl de H₂O₂ 0,17 M. le mélange est alors homogénéisé et incubé à température du laboratoire (25 ± 3°C) pendant 5 minutes, au bout desquelles l'absorbance est lue à 560 nm contre le blanc.

Expression des résultats

L'activité antioxydante des différents extraits, exprimée en pourcentage d'inhibition est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{Blanc}} - \text{Abs}_{\text{échantillon ou étalon}}}{\text{Abs}_{\text{Blanc}}} \times 100$$

Avec Abs, l'absorbance

II-3-6 Détermination du pouvoir réducteur total des différents extraits

Principe

Le pouvoir réducteur est basé sur la transformation du Fe (III) en Fe (II) en présence de l'antioxydant des échantillons.

Mode opératoire

1 ml d'extrait, de vitamine C dilués ou de méthanol à 2 % sont respectivement introduits dans des tubes bien étiquetés essai, étalon et blanc. On ajoute ensuite 2,5 ml de tampon phosphate 0,2 M, pH 6,6 et 2,5 ml de ferricyanure de potassium à 1 %. Le mélange ainsi obtenu est homogénéisé et incubé à + 50 °C pendant 20 min. Ensuite 2,5 ml de TCA à 1 % y sont ajoutés et le mélange est centrifugé à 3000 trs/min pendant 10 min. A 2,5 ml du surnageant obtenu après centrifugation, on ajoute 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de FeCl₃ à 0,1 %. Le mélange est alors homogénéisé et l'absorbance (Abs) est lue à 700 nm contre le tube blanc.

Expression des résultats

L'activité antioxydante des différents extraits, exprimée en pourcentage d'inhibition est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{Blanc}} - \text{Abs}_{\text{échantillon ou étalon}}}{\text{Abs}_{\text{Blanc}}} \times 100$$

Avec Abs, l'absorbance

II-4 Etudes toxicologiques de l'infusion de *Brillantaisia vogeliana*

Ces études consistent à gaver les rats femelles nullipares et non gestantes pendant 14 et 28 jours avec l'infusion de *Brillantaisia vogeliana* afin d'évaluer leur effet sur certains paramètres biochimiques, hématologiques et histologiques des organes ayant diverses fonctions comme le foie, le cœur, la rate, le poumon et les reins. Il s'agissait de faire une étude de la toxicité aigüe et la toxicité sub-aigüe.

II-4-1 Préparation des différentes doses

500 g de poudre des feuilles de *Brillantaisia vogeliana* sont dissous dans 1000 ml d'eau distillée bouillie et laissés infuser pendant 24h. La suspension est filtrée à l'aide du papier filtre whattman N°3 et le filtrat est ensuite séché à l'étuve à + 40°C. Le rendement est de 6,8 % et la masse obtenue est conservée à + 4°C.

Préparation de la solution de 20 mg/ml : 1000 mg de la masse précédente de *Brillantaisia vogelianas* sont reconstitués dans 50 ml d'eau distillée bouillie. La solution obtenue est donnée quotidiennement aux rats aux doses de 250 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg et 2000 mg/kg de poids corporel. Les différents volumes à administrer sont calculés à partir de la formule suivante proposée par Bopda en 2008:

$$V = \text{Dose à administrer (mg/kg)} \times \text{poids (kg)} / \text{concentration stock de l'extrait (mg/ml)}.$$

II-4-2 Toxicité Aigue

II-4-2-1 Etude pilote.

Une étude pilote est menée afin de déterminer la dose unique à utiliser dans l'étude principale. Elle consiste à administrer à un rat femelle, l'infusion à la dose de 300 mg/kg de poids corporel et à observer celui-ci pendant 7 jours. Ici deux situations peuvent se présenter:

- Si le premier rat meurt, on prend un second à qui on administre la dose de 50 mg/kg de poids corporel et on l'observe pendant 7 jours ainsi de suite jusqu'à la dose de 5 mg/kg de poids corporel.
- Si le rat ne meurt pas et qu'il n'y ait eu aucune manifestation des effets de toxicité, un autre est alors soumis à une dose de 2000 mg/kg de poids corporel, ainsi de suite jusqu'à la dose de 5000 mg/kg si possible.

Si aucun effet toxique n'est observé à 2000 mg/Kg de poids corporel, celle-ci est retenue pour l'étude principale.

II-4-2-2 Etude principale

Le travail a été réalisé sur 12 rats femelles de poids corporel compris entre 155 et 178g. Ils ont été acclimatés pendant 7 jours avant d'être divisés en deux groupes de 6 rats chacun dont un groupe contrôle et un groupe essai.

A la veille de l'administration de l'extrait, les rats sont soumis à un jeûne de 16 h mais ils ont accès à l'eau à volonté. Ils sont pesés juste avant l'administration de l'extrait qui se fait par gavage. Le groupe contrôle reçoit de l'eau distillée tandis que le groupe essai reçoit une dose unique de 2000 mg /kg de poids corporel de l'infusion de plante.

Après l'administration de l'extrait, les rats sont observés pendant 4h avant de leur fournir de la nourriture. A partir de ce moment, ils auront accès à l'aliment et à l'eau *ad libitum*. On les observe une fois par jour pour noter les éventuels signes de toxicité tels que la diarrhée, le toilettage, agitations, perte de poils sur le corps. Ils sont pesés tous les 3 jours, les quantités d'aliments et d'eau consommées sont enregistrées.

Après 14 jours d'observation, les rats sont mis à jeûn pendant 12h et sacrifiés par décapitation sous légère anesthésie. Le sang est recueilli dans des tubes sec et à EDTA pour la détermination respective des paramètres biochimiques et hématologiques. Les organes tels que le foie, le rein, la rate, le poumon, et le cœur sont immédiatement prélevés, lavés dans une solution physiologique de NaCl 0,9 %, pesés et conservés dans une solution de formol à 10 % pour les analyses anatomopathologiques.

II-4-3 Toxicité subaiguë

Des rats femelles de poids corporels compris entre 150 et 195g sont acclimatés pendant 5 jours dans des cages. Ils sont ensuite divisés en 4 groupes dont un groupe contrôle et trois groupes essais de 6 rats chacun.

Le contrôle reçoit de l'eau distillée et les groupes traités reçoivent l'infusion de *Brillantaisia vogeliana* quotidiennement par gavage à la dose de 250, 500, 1000 mg/kg, pendant 28 jours. Les animaux sont régulièrement pesés à la fin de chaque semaine. L'eau et les aliments sont disponibles et leurs consommations sont enregistrées tous les jours. A la fin de l'expérience (28^e jour), les rats sont mis à jeûne pendant 12h (toute la nuit) et sacrifiés par décapitation après une légère anesthésie. Le sang est recueilli dans les tubes sec et à EDTA pour la détermination des paramètres biochimiques et hématologiques respectivement. Les organes tels que le foie, le rein, la rate, le poumon et le cœur sont immédiatement prélevés, lavés dans une solution physiologique de NaCl 0,9 %, pesés et conservés dans une solution de formol à 10 % pour les analyses anatomopathologiques.

Les paramètres biochimiques étudiés incluent la créatinine, le calcium, le phosphore inorganique, les protéines totales, les transaminases, l'alpha-amylase, la phosphatase alcaline et l'urée.

Quant aux paramètres hématologiques, ils ont été déterminés grâce à un analyseur automatique (ABX PENTRA 60).

II-4-4 Détermination des paramètres biochimiques

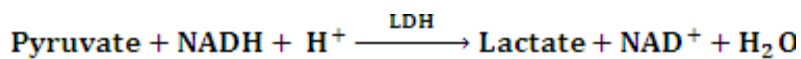
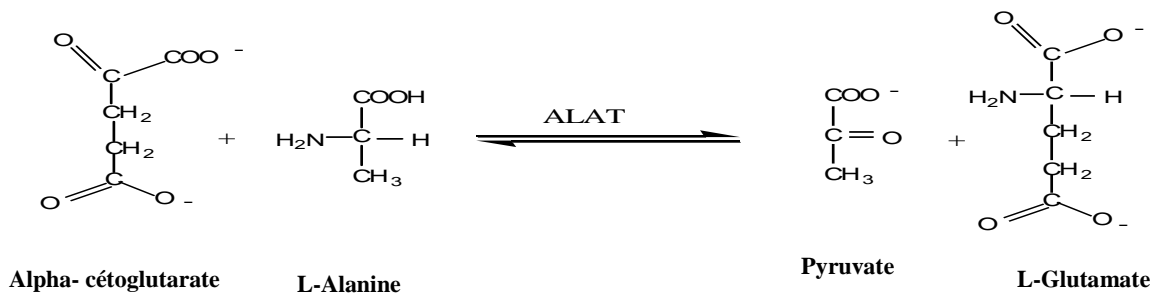
- **Mesure de l'activité des transaminases**

Elle concerne la mesure de l'activité des transaminases glutamique pyruvate (GPT) et oxalo-acétique (GOT) dans le sérum.

- **Mesure de l'activité de GPT**

Principe

La mesure de l'activité des transaminases glutamique pyruvate (GPT) se fait selon les réactions suivantes :



La diminution de l'absorbance à 340 nm est liée à la conversion du NADH en NAD⁺ et est proportionnelle à l'activité de la GPT présente dans le spécimen.

Mode opératoire

Introduire dans deux cuves de lecture bien étiquetés blanc et essai 1 ml de réactif, puis laisser la température s'équilibrer à + 37°C dans le spectrophotomètre pendant 5min. Ajouter respectivement 100µl de spécimen ou d'eau distillée et bien mélanger au vortex. Après 1 min, enregistrer l'absorbance initiale à 340nm puis toutes les minutes pendant 3 min. Calculer la moyenne des variations d'absorbance par min (ΔAbs/min).

Expression des résultats

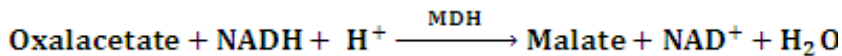
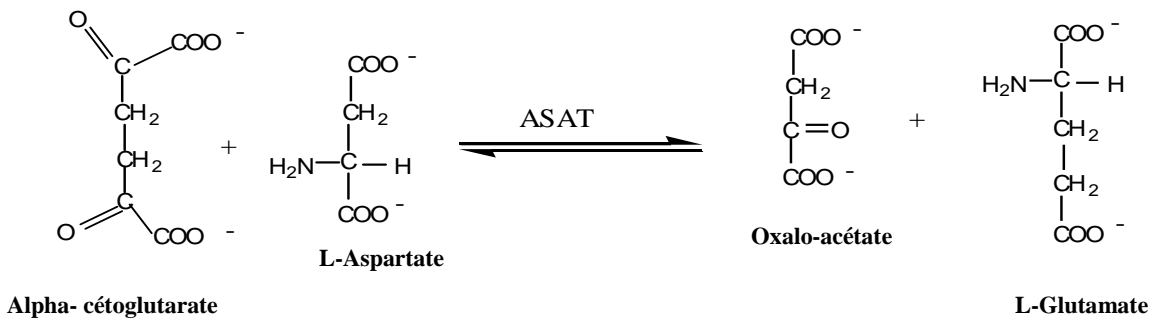
Après avoir calculé la variation moyenne des absorbances par min ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$), le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{Activité de la GPT (UI/l)} = (\Delta\text{Abs}/\text{min}) \times 1746 \quad (1746 \text{ est le facteur théorique})$$

- Mesure de l'activité de GOT

Principe

La détermination de l'activité de l'aspartate aminotransférase (GOT) se fait selon la réaction suivante:



La diminution de l'absorbance à 340 nm est liée à la conversion du NADH en NAD^+ et est proportionnelle à l'activité de la GOT présente dans le spécimen.

Mode opératoire

Introduire dans deux cuves de lecture bien étiquetées blanc et essai, 1 ml de réactif, puis laisser la température s'équilibrer à $+37^\circ\text{C}$ dans le spectrophotomètre pendant 5min. Ajouter respectivement 100 μl de spécimen ou d'eau distillée et bien mélanger au vortex. Après 1 min, enregistrer l'absorbance initiale à 340nm puis toutes les minutes pendant 3 min. Calculer la moyenne des variations d'absorbance par min ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$).

Expression des résultats

Après avoir calculé la variation moyenne des absorbances par min ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$) le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{L'activité de la GOT (UI/l)} = (\Delta\text{Abs}/\text{min}) \times 1746 \quad (1746 \text{ est le facteur théorique})$$

- **Dosage de la créatinine**

Principe

La créatinine réagit avec l'acide picrique en milieu alcalin pour former un complexe rouge-orangé dont la cinétique de développement est mesurée à 490 nm.

Mode opératoire

On dépose dans trois tubes à hémolyse étiquetés essai, étalon et blanc respectivement 100 µl de sérum à doser, 100 µl de sérum étalon et 100 µl d'eau distillée (tube blanc). On y ajoute 1 ml de réactif de travail et on agite au vortex pendant 30 secondes. On agite au vortex pendant 30 secondes et on lit immédiatement l'absorbance initiale (Abs1) à 490 nm contre le tube blanc et la 2^e absorbance (Abs2) exactement 2 min après la première.

Expression des résultats

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\frac{(\text{Abs2}-\text{Abs1})_{\text{échantillon}} \times C_{\text{étalon}}}{(\text{Abs2}-\text{Abs1})_{\text{étalon}}}$$

avec Abs, l'absorbance et $C_{\text{étalon}}$, la concentration de l'étalon. $C_{\text{étalon}} = 20 \text{ mg/l}$

- **Dosage de α -amylase**

Principe

En présence de l' α -amylase, le chloro 2-nitro 4-phényl maltotrioside (CNPG₃) est hydrolysé en produisant directement le chloro 2-nitro 4-phénol (CNP) selon l'équation :



L'activité de l'amylase est déterminée par la mesure à 405 nm, de la vitesse de formation du CNP, qui lui est directement proportionnelle.

Mode opératoire

Laisser les cuves contenant 1 ml de réactif de travail s'équilibrer à + 37°C au spectrophotomètre et y ajouter respectivement 15 µl de sérum à doser, 15 µl de sérum étalon et 15 µl d'eau distillée (tube blanc). Bien mélanger et lire l'absorbance initiale

après 1 min, à 405nm puis toutes les minutes pendant 3 minutes. Calculer la variation des absorbances moyennes par minute ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$).

Expression des résultats

Calculer la variation moyenne des absorbances par minute ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$). L'activité de l'amylase en U/lest déterminée grâce à la formule suivante :

$$(\Delta\text{Abs}/\text{min}_{\text{échantillon}} - \Delta\text{Abs}/\text{min}_{\text{blanc}}) \times 4640$$

où Abs est l'absorbance

- **Dosage du calcium**

Principe

En milieu alcalin, le O-crésolphtaléine complexon ou CPC réagit avec les ions calcium pour former un complexe coloré rouge foncé dont l'absorbance, mesurée à 570nm, est proportionnelle à la concentration en calcium présent dans le spécimen.

Mode opératoire

Prendre trois tubes à essai bien étiquetés blanc, étalon et essai dans lesquels on met 1 ml de réactif de travail, ajouter respectivement 25 μl d'eau déminéralisée (blanc), 25 μl d'étalon ou 25 μl de sérum. Bien mélanger au vortex et incubé pendant 5 minutes à la température du laboratoire ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). Lire les absorbances à 570 nm contre le tube blanc.

Expression des résultats

La concentration en calcium (mg/dl) est déterminée par la formule suivante :

$$\frac{\text{Abs (échantillon)} \times C_{\text{étalon}}}{\text{Abs (étalon)}}$$

où Abs est l'absorbance et $C_{\text{étalon}}$, la concentration de l'étalon. $C_{\text{étalon}} = 100 \text{ g/l}$

- **Dosage des protéines totales**

Principe

Dans La méthode colorimétrique de Gornall les liaisons peptidiques (au moins quatre) des protéines réagissent avec les ions cuivriques Cu^{2+} en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéines du spécimen, est mesurée à 550nm.

Mode opératoire

On dépose dans trois tubes à hémolyse bien étiquetés essai, étalon et blanc respectivement 20 μl de sérum à doser, 20 μl de sérum étalon ou 20 μl d'eau distillée (tube blanc). On y ajoute 2 ml de réactif de travail. On mélange bien au vortex et on laisse reposer pendant 10 min à température ambiante ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). On lit les absorbances à 550 nm contre le tube blanc.

Expression des résultats

La concentration en protéines totales est déterminée suivant la formule ci-dessous :

$$\frac{\text{Abs (échantillon)} \times C_{\text{étalon}}}{\text{Abs (étalon)}}$$

où Abs est l'absorbance et $C_{\text{étalon}}$, la concentration de l'étalon. $C_{\text{étalon}} = 80\text{g/l}$

- **Dosage des phosphatases alcalines**

Principe

En milieu alcalin, les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate en p-nitrophénol et phosphate. La vitesse d'apparition du p-nitrophénol, suivie par la variation de l'absorbance à 405 nm, est proportionnelle à l'activité des phosphatases alcalines présentes dans l'échantillon.

Mode opératoire

Laisser les cuves bien étiquetées essai, étalon et blanc contenant 1 ml de réactif de travail s'équilibrer à $+ 37^\circ\text{C}$ au spectrophotomètre et y ajouter respectivement 10 μl de sérum à doser, 10 μl de sérum étalon ou 10 μl d'eau distillée (tube blanc). Bien mélanger

et lire l'absorbance initiale après 1 min, à 405nm puis toutes les minutes pendant 3 minutes. Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute (Δ Abs/min).

Expression des résultats

L'activité de la phosphatase alcaline en U/l est déterminée d'après la formule suivante :

$$\frac{(\Delta\text{Abs}/\text{min})_{\text{échantillon}} \times C_{\text{étalon}}}{(\Delta\text{Abs}/\text{min})_{\text{étalon}}}$$

où Abs est l'absorbance et $C_{\text{étalon}}$, la concentration de l'étalon. $C_{\text{étalon}} = 187 \text{ UI/l}$

- **Dosage du phosphore inorganique**

Principe

En milieu acide, les ions phosphates forment avec le molybdate d'ammonium un complexe phospho-molybdique. L'absorbance mesurée à 340 nm est proportionnelle à la concentration en ions phosphates présents dans l'échantillon.

Mode opératoire

On dépose dans quatre tubes à hémolyse bien étiquetés essai, étalon et blanc réactif respectivement 20 μl de sérum à doser, 20 μl de sérum étalon ou 20 μl d'eau distillée (tube blanc réactif) dans les trois premiers et 20 μl de sérum à doser dans le dernier étiqueté blanc échantillon. On ajoute 1 ml de réactif de travail dans les premiers et 1 ml de solution de NaCl 9g/l. Bien mélanger au vortex et incuber pendant 2 min à température ambiante ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). Lire l'absorbance de l'étalon et de l'essai contre le tube blanc réactif à 340 nm.

Expression des résultats

La concentration en phosphore inorganique est déterminée d'après la formule suivante :

$$\frac{\text{Abs}_{\text{échantillon}} - \text{Abs}_{\text{blanc échantillon}} \times C_{\text{étalon}}}{\text{Abs}_{\text{étalon}}}$$

où Abs est l'absorbance et $C_{\text{étalon}}$, la concentration de l'étalon est égale 5mg/dl

- **Dosage de l'urée**

Principe

La méthode enzymatique et colorimétrique est basée sur l'action spécifique de l'uréase qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et carbonate. Les ions ammoniums forment ensuite avec le chlore et le salicylate un complexe coloré bleu-vert. L'intensité de la coloration, proportionnelle à la concentration en urée dans l'échantillon, est mesurée à 600 nm.

Mode opératoire

Les réactifs et les spécimens sont ramenés à la température ambiante ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). Prendre trois tubes à essai étiquetés blanc, étalon et essai dans lesquels on met 1 ml de réactif de travail, ajouter respectivement 5 μl d'eau déminéralisée, 5 μl d'étalon ou 5 μl de sérum. Bien mélanger au vortex et incuber pendant 4 minutes à la température du laboratoire ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). Ajouter 1ml de réactif alcalin dilué. Bien mélanger au vortex et incuber laisser pendant 8 minutes à température ambiante ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). Lire les absorbances à 600 nm contre le tube blanc.

Expression des résultats

La concentration en urée (g/l) est déterminée d'après la formule suivante :

$$\frac{\text{Abs (échantillon)} \times C_{\text{étalon}}}{\text{Abs (étalon)}}$$

où Abs est l'absorbance et $C_{\text{étalon}}$, la concentration de l'étalon. $C_{\text{étalon}} = 0,5\text{g/l}$

II-4-5 Etude histologique

Cette étude a été réalisée au laboratoire d'anatomo-pathologie de l'hôpital LAQUINTINIE de Douala suivant le protocole ci-dessous :

- **Etude macroscopique**

Ici il s'agissait d'examiner à l'œil nu les organes fixés dans du formol à 10% et contenus dans des flacons différents. Chaque flacon renfermait cinq organes que nous avons

identifiés : le foie, le poumon, le rein, le cœur et la rate, 2 à 3 prélèvements ont été effectués au niveau de chaque organe et placés dans une cassette bien étiquetée.

L'ensemble des prélèvements obtenus a été destiné à l'étude histologique après traitement selon le protocole ci-dessous :

- **Protocole de traitement des prélèvements**

Circulation

La circulation est un ensemble de trois opérations successives : la déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation.

- Pour la déshydratation, on laisse séjourner les prélèvements dans les bacs d'alcool de titres croissants (de 70% à 100%) ; cet alcool sert à éliminer l'eau des tissus selon le protocole suivant :
 - 1^{er} bac (alcool à 70%) : 30 min
 - 2^{ème} bac (alcool à 80%) : 30 min
 - 3^{ème} bac (alcool à 90%) : 1h
 - 4^{ème} bac (alcool à 95%) : 1h
 - 5^{ème} bac (alcool à 100%) : 1h
- Pour l'éclaircissement, on fait séjourner les tissus déshydratés dans du xylène. Cette opération permet de clarifier les tissus et de remplacer l'alcool présent dans ces derniers par du xylène (miscible à la paraffine). Il est important d'utiliser deux bacs au moins pour un minimum de deux heures au total.
- L'imprégnation, dernière étape de la circulation, permet d'inclure la paraffine dans les tissus. Pour cela, on fait séjourner les prélèvements dans de la paraffine fondue à 70°C pendant au moins deux heures. Deux à trois bacs sont nécessaires.

Enrobage

On procède à l'enrobage qui consiste à inclure les tissus dans la paraffine. Dans un moule où le tissu est préalablement placé et bien orienté, on verse de la paraffine fondue. On place ensuite la cassette débarrassée de son couvercle sur le moule et on complète le remplissage à la paraffine fondue. On fait refroidir cet ensemble à l'aide d'un

accumulateur de froid. Le bloc de paraffine peut alors être séparé du moule. On place les blocs de paraffine au congélateur pour environ deux heures et on procède à la coupe.

Coupe au microtome

On prend chaque bloc, on le fixe au microtome et on y réalise des coupes fines de trois à quatre micromètres d'épaisseur. Ces coupes s'agencent pour former un ruban qu'on défripe dans un bain Marie.

Les coupes intéressantes sont détachées des autres et pêchées avec des lames porte-objet sur lesquelles elles s'étalent. Ces lames sont enfin séchées à l'air libre, puis colorées à l'hématoxyline-éosine.

- **Coloration à l'Hématoxyline-éosine**

Principe

Ici, il s'agit d'une technique basée sur la coloration bichromique associant une laque nucléaire (hématoxyline) et un colorant cytoplasmique (éosine).

Technique

- * Déparaffinage dans deux bacs de xylène (deux minutes par bac)
- * Réhydratation : passer successivement dans l'alcool absolu (2 min), l'alcool à 95 % (2min), l'alcool à 80% (2 min) et l'eau courante (trois à cinq plongées)
- * Carbonate de lithium (1 min)
- * Rinçage à l'eau
- * Coloration dans hémalun (5 min)
- * Rinçage à l'eau courante
- * Eau acétifiée à 0,025% (30 s)
- * Rinçage à l'eau
- * Eau ammoniacale (30 s)
- * Rinçage à l'eau courante
- * Coloration dans une solution aqueuse d'éosine à 1% (5 à 7 min)
- * Rinçage rapide à l'eau courante
- * Différenciation : l'alcool à 80 % puis à 95 % (2 min),

- * alcool absolu : 1^{er} bac (2 min) et 2^{ème} bac (2 min)
- * Xylène : 1^{er} bac (2 min) et 2^{ème} bac (2 min)
- * Montage à l'Eukitt et fin de traitement
- * Observation au microscope optique

II-5 ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS

Les résultats sont donnés sous la forme de moyenne plus ou moins écart type. Le logiciel SigmaStat version 3.5 a été utilisé pour les analyses statistiques. Le Student « t » test a été utilisé dans la comparaison de deux moyennes tandis que la comparaison multiple a été faite par le test de Student Newmann keuls. Nous avons considéré qu'une différence est significative quand le risque d'erreur était inférieur à 5 %.

L'ensemble de ces méthodes a permis d'obtenir les résultats qui font l'objet de la partie suivante.

III –1 Etude de la consommation alimentaire et hydrique

Le tableau V ci-dessous présente les consommations alimentaire et hydrique des animaux au cours du traitement par les extraits de plante. Il en ressort une diminution significative dans le lot qui a consommé de l'huile de palme et le lot qui a reçu une alimentation sans huile.

Tableau V: Etude de la consommation alimentaire et hydrique par groupe avant et après l'administration des différents extraits

Groupes	Aliment (g/jour)		Eau (ml/jour)	
	Avant	Après	Avant	Après
*Témoins négatif (N=7)	36,48 ±3,66	36,86 ± 2,29	14,33 ± 2,33	17,65 ± 4,60
** Témoin positif (N=7)	53,35 ± 4,65 ^c	53,10 ± 3 ,45 ^c	49,41 ± 4,58 ^c	48,50 ± 3,85 ^c
*** IN (N=7)	52,55 ±2,45	45,40 ± 2,70 ^{ac}	52,50 ± 6,25	48,39 ± 8,09 ^c
§ REH (N=7)	55,38 ±1,62	47,50 ± 2,98 ^{ac}	51,75 ± 9,25	47,73 ± 7,35 ^c
§§ EH (N=7)	51,63 ± 0,38	48,89 ± 3,31 ^c	58,75 ± 1,25	46,25 ± 4,36 ^{ac}
PP REAE (N=7)	55,00 ± 5,00	48,35 ± 3,45 ^{ac}	42,50 ± 2,50	38,63 ± 3,83 ^{ac}
P EAE (N=7)	52,50 ± 2,50	45,17 ± 2,09 ^{ac}	46,25 ± 1 ,25	45,65 ± 1,25 ^c

*Sans huile +Eau distillée, ** Huile + eau distillée, *** Huile + Infusion, §Huile + Résidu de l'extrait hexanique, §§Huile + Extrait hexanique, P Huile + Extrait à l'acétate d'éthyle, PP Huile + Résidu de l'extrait à l'acétate d'Ethyle. ^a Différence significative avec le contrôle, ^b Différence significative avec le témoin positif, ^c Différence significative avec le groupe témoin négatif, P<0,05.

Après le traitement, on a observé une diminution significative (P<0,05) de la consommation alimentaire entre les groupes témoin négatif et essais d'une part et

uniquement entre les groupes traités par les infusions, les REH, les EAE, les REAE et leurs contrôles respectifs d'autre part.

La variation de la consommation en eau montre une diminution significative ($P < 0,01$) entre les lots essai comparée au lot témoin avant et après le traitement. Bien que les quantités d'eau consommées varient entre $38,63 \pm 3,83$ ml/jour pour les REAE et $48,39 \pm 8,09$ ml/jour pour les infusions, les diminutions significatives ont été observées seulement entre les groupes traités par les EH et les REAE et leurs contrôles respectifs (Tableau V).

Tableau VI: Variation des poids après administration des différents extraits

Groupes	Poids initial (g)	Poids final (g)	Variation pondrale (g)
*Témoin négatif (N =7)	212,14± 18,45	247,18 ± 19,52	+35,00 ± 4,21
** Témoin positif (N =7)	232,50± 26,79	273,75 ± 51,86	+ 41,26 ± 5,65
*** IN (N =7)	233,00 ± 38,67	210,00 ± 18,37	-23,00 ± 2,72 ^{abc}
§ REH (N =7)	236,50± 18,9	219,00 ± 22,47	-17,08 ± 1,48 ^{abc}
§§ EH (N =7)	242,40 ± 12,60	222,00 ± 15,25	-21,00 ± 1,41 ^{abc}
ÐÐ REAE (N =7)	262,20 ± 16,10	243,33 ± 16,63	-27,50 ± 2,49 ^{abc}
Ð EAE (N =7)	244,55 ± 30,92	227,50 ± 17,08	-33,71 ± 7,08 ^{abc}

*Sans huile +Eau distillée, ** Huile + eau distillée, *** Huile + Infusion, §Huile + Résidu de l'extrait hexanique, §§Huile + Extrait hexanique, Ð Huile + Extrait à l'acétate d'éthyle, ÐÐ Huile + Résidu de l'extrait à l'acétate d'Ethyle. . ^a Différence significative avec leur contrôle, ^b Différence significative avec le témoin positif, ^c Différence significative avec le groupe témoin négatif, $P < 0,05$.

Tous les extraits, ont montré un ralentissement significatif ($P < 0,05$) de poids par rapport au contrôle et aux différents témoins. Cette prise de poids est plus ralentie avec les EAE que les autres extraits (Tableau VI).

III -2 Effets des extraits de *B.vogeliana* sur le métabolisme des lipides

Le Tableau VII présente les taux de triglycérides et les activités de la lipase sérique. On a noté une baisse significative ($P < 0,001$) des taux de triglycérides sériques dans les groupes essais par rapport aux groupes témoins et leurs contrôles respectifs. Cette diminution qui varie entre 55,6% et 66,81% est inversement proportionnelle à l'activité de la lipase sérique dont la plus élevée est observée avec l'extrait hexanique.

Tableau VII : Taux de triglycérides et activités de la lipase sérique chez les rats après le traitement par les extraits des feuilles de *B. vogeliana*.

	TG (g/l)	Lipase (UI/l)
*Témoin négatif (N =7)	1,93 ± 0,11	123,33 ± 11,79
**Témoin positif (N =7)	2,23 ± 0,14	96,67 ± 4,71
***IN (N =7)	0,91 ± 0,13 ^{abc}	127,50 ± 2,50 ^{ab}
§ REH (N =7)	0,98 ± 0,19 ^{abc}	135,01 ± 9,35 ^{ab}
§§ EH (N =7)	0,74 ± 0,08 ^{abc}	198,00 ± 4,87 ^{abc}
Ⓟ REAE (N =7)	0,77 ± 0,06 ^{abc}	149,03 ± 26,53 ^{abc}
Ⓟ EAE (N =7)	0,99 ± 0,12 ^{abc}	143,75 ± 20,73 ^{abc}

*Sans huile +Eau distillée, **Huile + Eau distillée, ***Huile + Infusion, §Huile + Résidu de l'extrait hexanique, §§Huile + Extrait hexanique, ⓅHuile + Extrait à l'acétate d'éthyle, ⓅⓅHuile + Résidu de l'extrait à l'acétate d'Ethyle. ^a Différence significative avec leur contrôle, ^bDifférence significative avec le témoin positif, ^cDifférence significative avec le groupe témoin négatif, $P < 0,05$.

Le tableau VIII présente les taux de cholestérol et les activités de l'hydroxyl méthyl glutarylCoA réductase et de la LCAT. L'extrait hexanique (EH) et à un moindre degré, le REH semble donner les meilleurs résultats car on observe une diminution des taux de cholestérol total et le LDL cholestérol et une augmentation des taux de cholestérol HDL. Sur le plan métabolique, ces résultats s'expliqueraient par une inhibition de l'activité de HMGCoA réductase et une augmentation de l'activité de la LCAT.

Tableau VIII : Taux de cholestérol, activités de l'hydroxyl méthyl glutarylCoA réductase et de la lécithine cholestérol acyl transférase après le traitement par les extraits

	**Témoin positif (N =7)	§ REH (N =7)	§§ EH (N =7)	P EAE (N =7)
CT (g/l)	2,95 ± 0,29	2,21±0,27 ^{ab}	2,46±0,16 ^{ab}	2,77 ±0,18 ^a
HDL (g/l)	1,47±0,07	1,24±0,21	1,87±0,23 ^{ab}	1,35± 0,32 ^a
LDL (g/l)	1,49± 0,24	0,93±0,39 ^a	0,52± 0,14 ^{ab}	1,22± 0,28
HMGR (U/mgP)	9,913±1,450	4,695 ±1,610 ^{ab}	5,258 ±0,809 ^{ab}	5,230 ±1,135 ^{ab}
LCAT (390/470)	2,894±0,202	9,777 ±1,908 ^{ab}	17,687 ±1,265 ^{ab}	8,114 ±0,217 ^{ab}

**Huile + Eau distillée, §Huile + Résidu de l'extrait hexanique, §§Huile + Extrait hexanique, PHuile + Extrait à l'acétate d'éthyle. ^a Différence significative avec leur contrôle, ^bDifférence significative avec le témoin positif, P<0,05.

III-3 Effets des extraits de *B. vogeliana* sur le stress oxydatif

III-3-1 Effets de la consommation de l'huile de palme sur les paramètres du stress oxydatif

Tableau IX : Consommation de l'huile de palme et variation des paramètres du stress oxydatif

	Groupes thiols (µmol/g de protéines)	SOD (unité/ g d'Hb)	Catalase (mmol/min/g d'Hb)	MDA (µmol/l)
*Témoin négatif N =7	0,66 ± 0,60	1,68 ± 0,10	1,35 ± 0,84	0,97 ± 0,79
**Témoin positif N =7	0,89 ± 0,35	1,57 ± 0,11	1,51 ± 0,96	2,42 ± 0,78 ^a

*Sans huile +Eau distillée, ** Huile + Eau distillée. ^a Différence significative, (P <0,05)

Le tableau IX présente les taux des marqueurs du stress oxydatif chez les rats après 2 mois de consommation d'huile de palme. Il en ressort des différences non significatives ($P < 0,05$) entre les lots témoin et essai en ce qui concerne les marqueurs antioxydants tels que la SOD, la catalase et les groupes thiols. Cependant, on observe une augmentation significative ($P < 0,001$) des taux de MDA dans le lot essai.

III-3-2 Effets des extraits de *B. vogeliana* sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

Tableau X: Activité *in vivo* de la superoxyde dismutase après administration des différents extraits

	Hémolysât (unité/ g d'Hb)	Homogénat de foie (unité/ mg de tissu)	Homogénat de rein (unité/ mg de tissu)
*Témoin négatif (N=7)	1,55 ± 0,09	0,12 ± 0,05	0,61 ± 0,04
** Témoin positif (N=7)	1,73 ± 0,23	0,15 ± 0,06	0,55 ± 0,04
*** IN (N=7)	1,67 ± 0,28	0,18 ± 0,02 ^c	0,68 ± 0,07 ^{ac}
§ REH (N=7)	1,89 ± 0,29	0,16 ± 0,01	0,52 ± 0,03 ^c
§§ EH (N=7)	2,66 ± 0,74 ^{abc}	0,21 ± 0,03 ^c	0,67 ± 0,08 ^a
ÐÐ REAE (N=7)	2,44 ± 0,57 ^{abc}	0,15 ± 0,03	0,49 ± 0,06
Ð EAE (N=7)	2,25 ± 0,69 ^c	0,14 ± 0,01	0,52 ± 0,08

*Sans huile +Eau distillée, ** Huile + eau distillée, *** Huile + Infusion, §Huile + Résidu de l'extrait hexanique, §§Huile + Extrait hexanique, Ð Huile + Extrait à l'acétate d'éthyle, ÐÐ Huile + Résidu de l'extrait à l'acétate d'Ethyle. ^a Différence significative avec leur contrôle, ^bDifférence significative avec le témoin positif, ^cDifférence significative avec le groupe témoin négatif, $P < 0,05$.

Dans les hémolysats, l'extrait hexanique (EH) et le résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle (REAE) ont montré une augmentation significative ($P < 0,05$) des activités de SOD dans les groupes essais comparés aux groupes contrôle et les différents groupes

témoins (Tableau X). Il en est de même avec l'extrait à l'acétate d'éthyle comparativement au groupe témoin négatif. Il n'y a eu aucune différence significative entre les groupes essais.

Quant aux homogénats de foie, les différences significatives ($P < 0,05$) sont observées entre les groupes traités par l'infusion, l'extrait hexanique et le groupe témoin négatif (Tableau X). L'extrait hexanique a montré une meilleure activité de la SOD.

Quant aux homogénats de rein, on a observé des différences significatives ($P < 0,05$) entre le groupe traité par l'infusion, l'extrait hexanique et leur groupe contrôle respectif d'une part et entre le groupe traité par le REH, l'infusion et le groupe témoin négatif d'autre part (Tableau X). L'infusion et l'extrait hexanique ont montré des meilleures activités de la SOD.

III-3-3 Effets des extraits de *B. vogeliana* sur l'activité de la catalase

Tableau XI: Activité de la catalase *in vivo* après administration des différents extraits

	Hémolysât (mM/min/g d'Hb)	Homogénat de foie (unité/ mg de tissu)	Homogénat de rein (unité/ mg de tissu)
*Témoin négatif (N=7)	1,00 ± 0,11	0,67 ± 0,22	0,44 ± 0,08
** Témoin positif (N=7)	2,37 ± 0,13	0,58 ± 0,19	0,54 ± 0,05
*** IN (N=7)	9,05 ± 0,87 ^{abc}	1,26 ± 0,22 ^{abc}	4,15 ± 0,78 ^{abc}
§ REH (N=7)	8,82 ± 4,69 ^{abc}	0,62 ± 0,26	0,86 ± 0,14
§§ EH (N=7)	2,23 ± 0,72	0,81 ± 0,16 ^a	0,58 ± 0,23
Ⓟ REAE (N=7)	13,40 ± 4,33 ^{abc}	0,67 ± 0,11 ^a	1,18 ± 0,47 ^{abc}
Ⓟ EAE (N=7)	2,15 ± 0,78	0,61 ± 0,14 ^a	0,44 ± 0,09

*Sans huile +Eau distillée, ** Huile + eau distillée, *** Huile + Infusion, §Huile + Résidu de l'extrait hexanique, §§Huile + Extrait hexanique, Ⓟ Huile + Extrait à l'acétate d'éthyle, Ⓟ Huile + Résidu de l'extrait à l'acétate d'Ethyle. ^a Différence significative avec leur contrôle, ^bDifférence significative avec le témoin positif, ^cDifférence significative avec le groupe témoin négatif, $P < 0,05$.

Dans les hémolysâts, l'infusion (IN), les résidus de l'extrait hexanique (REH) et de l'acétate d'éthyle (REAE) ont montré une augmentation significative ($P < 0,001$) des activités de la catalase comparativement aux groupes contrôle et les différents groupes témoins (Tableau XI). Ces extraits ont montré des meilleures activités de la catalase.

Dans les homogénats hépatiques, les activités de catalase sont élevées de manière significative avec tous les extraits comparativement à leur contrôle respectif sauf le REH. Seule l'infusion a montré une différence significative ($P < 0,05$) avec les groupes témoins (Tableau XI).

Dans les homogénats de rein, les activités de catalase sont élevées de manière significative ($P < 0,05$) avec l'infusion et le résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle (REAE) comparativement aux groupes contrôles d'une part et les témoins d'autre part (Tableau XI).

En ce qui concerne les homogénats, les activités de la catalase sont importantes après le traitement par les infusions.

III-3-4 Effets des extraits de *B. vogeliana* sur les Groupes thiols non protéiques

Après traitement par les différents extraits de plante, les résidus de l'extrait hexanique et d'acétate d'éthyle ont montré une augmentation significative ($P < 0,05$) du taux des groupes thiols sériques par rapport aux groupes témoin négatif et leur contrôle respectif. Seul le résidu d'extrait d'acétate d'éthyle a montré une augmentation significative des taux de groupes thiols, par rapport au témoin positif (Tableau XII). Les résidus de l'extrait hexanique (REH) ont montré les meilleurs taux de groupes thiols.

Tableau XII: Taux des groupes thiols non protéiques après administration des extraits de *Brillantaisia vogeliana*

	Sérique ($\mu\text{mol/g}$ de protéines)	Homogénat de foie (unité/ mg de tissu)	Homogénat de rein (unité/ mg de tissu)
*Témoins négatif (N=7)	0,69 \pm 0,07	1,16 \pm 0,11	10,57 \pm 1,32
**Témoin positif (N=7)	1,15 \pm 0,21	0,45 \pm 0,11	12,75 \pm 4,42
***IN (N=7)	1,13 \pm 0,18	1,01 \pm 0,15 ^{ac}	10,52 \pm 0,8
§ REH (N=7)	1,88 \pm 0,65 ^{ac}	0,74 \pm 0,20 ^{ac}	9,74 \pm 0,67
§§ EH (N=7)	0,86 \pm 0,24	1,30 \pm 0,21 ^{ab}	9,56 \pm 1,85
ÐÐ REAE (N=7)	1,47 \pm 0,22 ^{abc}	0,40 \pm 0,11 ^c	10,24 \pm 3,85
Ð EAE (N=7)	0,73 \pm 0,14	0,75 \pm 0,13 ^{abc}	14,13 \pm 2,17 ^a

*Sans huile +Eau distillée, ** Huile + eau distillée, *** Huile + Infusion, §Huile + Résidu de l'extrait hexanique, §§Huile + Extrait hexanique, Ð Huile + Extrait à l'acétate d'éthyle, ÐÐ Huile + Résidu de l'extrait à l'acétate d'Ethyle. ^a Différence significative avec leur contrôle, ^bDifférence significative avec le témoin positif, ^cDifférence significative avec le groupe témoin négatif, P<0,05.

Quant aux homogénats hépatiques, les différences significatives (P<0,05) sont observées avec tous les extraits comparés à leur contrôle respectif sauf les REAE. Il en est de même avec le témoin négatif sauf le EH. L'infusion, les extraits hexanique et d'acétate d'éthyle ont montré des différences significatives avec le témoin positif (Tableau XII).

Les homogénats de foie ont montré une importante augmentation des taux de groupe SH dans le groupe traité par les extraits hexaniques (Tableau XII).

Quant aux homogénats de rein, la seule différence significative (P<0,05) est observée entre le groupe traité par l'extrait d'acétate d'éthyle et son contrôle (Tableau XII).

III-3-5 Effets des extraits de *B.vogeliana* sur la peroxydation lipidique

Tableau XIII : Taux de MDA après le traitement par les différents extraits

	Sérique ($\mu\text{mol/l}$)	Homogénat de foie (unité/ mg de tissu)	Homogénat de rein (unité/ mg de tissu)
*Témoin négatif (N=7)	$0,77 \pm 0,18$	$4,77 \pm 1,73$	$7,29 \pm 2,10$
** Témoin positif (N=7)	$1,95 \pm 0,03$	$7,02 \pm 3,19$	$12,95 \pm 2,54$
*** IN (N=7)	$0,58 \pm 0,09^{\text{ac}}$	$4,36 \pm 1,58^{\text{ac}}$	$11,85 \pm 1,89^{\text{c}}$
§ REH (N=7)	$0,51 \pm 0,25^{\text{ac}}$	$1,10 \pm 0,08^{\text{ac}}$	$6,62 \pm 1,09^{\text{a}}$
§§ EH (N=7)	$1,06 \pm 0,16^{\text{ab}}$	$6,94 \pm 2,04^{\text{ac}}$	$9,47 \pm 1,58$
ÐÐ REAE (N=7)	$0,71 \pm 0,23^{\text{ab}}$	$3,75 \pm 0,09^{\text{b}}$	$8,48 \pm 2,63$
Ð EAE (N=7)	$1,20 \pm 0,23^{\text{ab}}$	$5,81 \pm 1,51^{\text{b}}$	$7,86 \pm 0,90^{\text{b}}$

*Sans huile +Eau distillée, ** Huile + eau distillée, *** Huile + Infusion, §Huile + Résidu de l'extrait hexanique, §§Huile + Extrait hexanique, Ð Huile + Extrait à l'acétate d'éthyle, ÐÐ Huile + Résidu de l'extrait à l'acétate d'Ethyle. ^a Différence significative avec leur contrôle, ^b Différence significative avec le témoin positif, ^c Différence significative avec le groupe témoin négatif, $P < 0,05$.

On a noté une baisse significative ($P < 0,05$) de taux sérique de MDA après administration de tous les différents extraits comparativement à leur contrôle respectif. En plus, on a noté de différences significatives entre l'infusion, les résidus de l'extrait hexanique et le témoin négatif d'une part et entre les autres extraits et le témoin positif d'autre part. Le REH montre une meilleure réduction des taux de MDA (Tableau XIII).

Quant aux homogénats de foie, on a noté une baisse significative ($P < 0,05$) des taux de MDA chez les rats traités par les résidus de l'extrait hexanique, l'extrait hexanique et l'infusion de plante par rapport aux groupes contrôle et témoin négatif d'une part et les groupes traités par l'extrait d'acétate d'éthyle et ses résidus et le témoin positif d'autre part. Le REH montre une meilleure réduction des taux de MDA (Tableau XIII).

Les homogénats de rein ont montré une baisse significative ($P < 0,05$) entre les taux de MDA chez les rats traités par les résidus de l'extrait hexanique, l'infusion, les EAE et le groupe contrôle, témoin négatif et le témoin positif respectivement (Tableau XIII).

III-4 Potentiel antioxydant et activité antiradicalaire des extraits de *Brillantaisia vogeliana*

Le potentiel antioxydant de chaque extrait dépend non seulement de sa composition chimique mais aussi de la structure des composés qui s'y trouvent.

III-4-1 Screening phyto-chimique des différents extraits

Tableau XIV : Screening phyto-chimique des différents extraits de *Brillantaisia vogeliana*

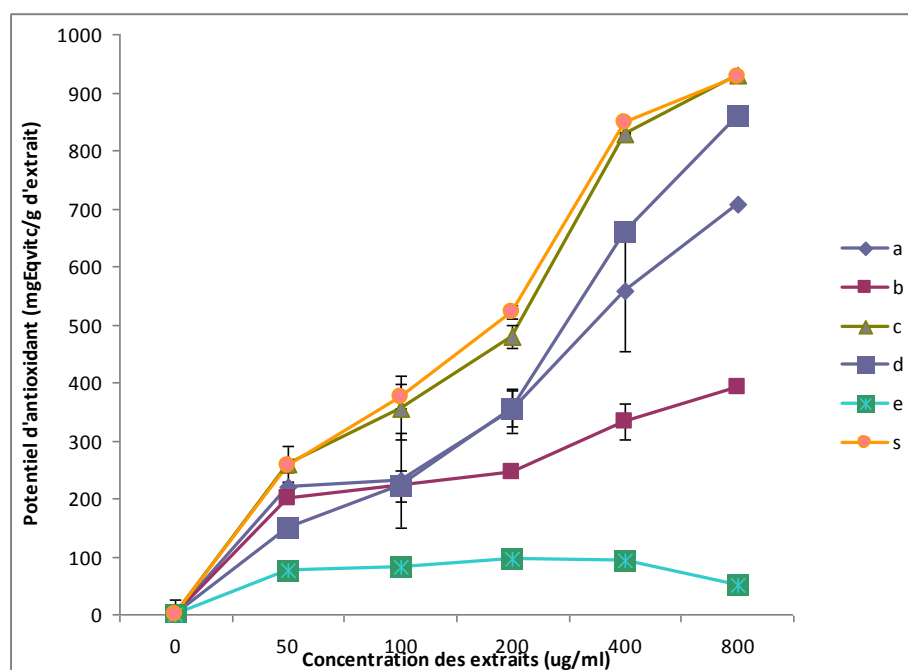
Composés chimiques	Infusion	REH	EH	REAE	EAE
Alcaloïdes	+++	+	+	-	-
Saponosides	-	-	++	-	+
Tanins	-	-	-	-	-
Glycosides	-	-	-	-	+
Phénols	++	++	+	++	+++
Huiles	-	-	-	-	-
Flavonoïdes	++	++	-	+	++++
Glycosides cardiaques	-	-	-	-	-
Stérols et terpènes	+	++	+	++	++

REH : Résidu de l'extrait hexanique ; EAE : Extrait à l'acétate d'éthyle ; EH : Extrait hexanique ; REAE : Résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle. (-) : absence ; (+) : présence.

La composition phytochimique des différents extraits révèle que les Phénols, les stérols et terpènes se retrouvent dans les différentes d'extraits. Les flavonoïdes sont absents seulement dans l'EH et sont très fortement présents dans l'EAE qui est le seul à présenter les glycosides. On note également la richesse des infusions en alcaloïdes.

III-4-2 Détermination du potentiel antioxydant par la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Les résultats illustrés par la Figure 6 montrent que le potentiel antioxydant des différents extraits varie en fonction de l'extrait et augmente avec sa concentration. En effet, tous les extraits montrent un potentiel antioxydant supérieur à 150 mg eq vit C/ g d'extrait à l'exception de l'extrait à l'acétate d'éthyle qui montre plutôt un potentiel antioxydant inférieur à 80 mg eq vit C/g d'extrait. Le REAE semble très proche de la vitC



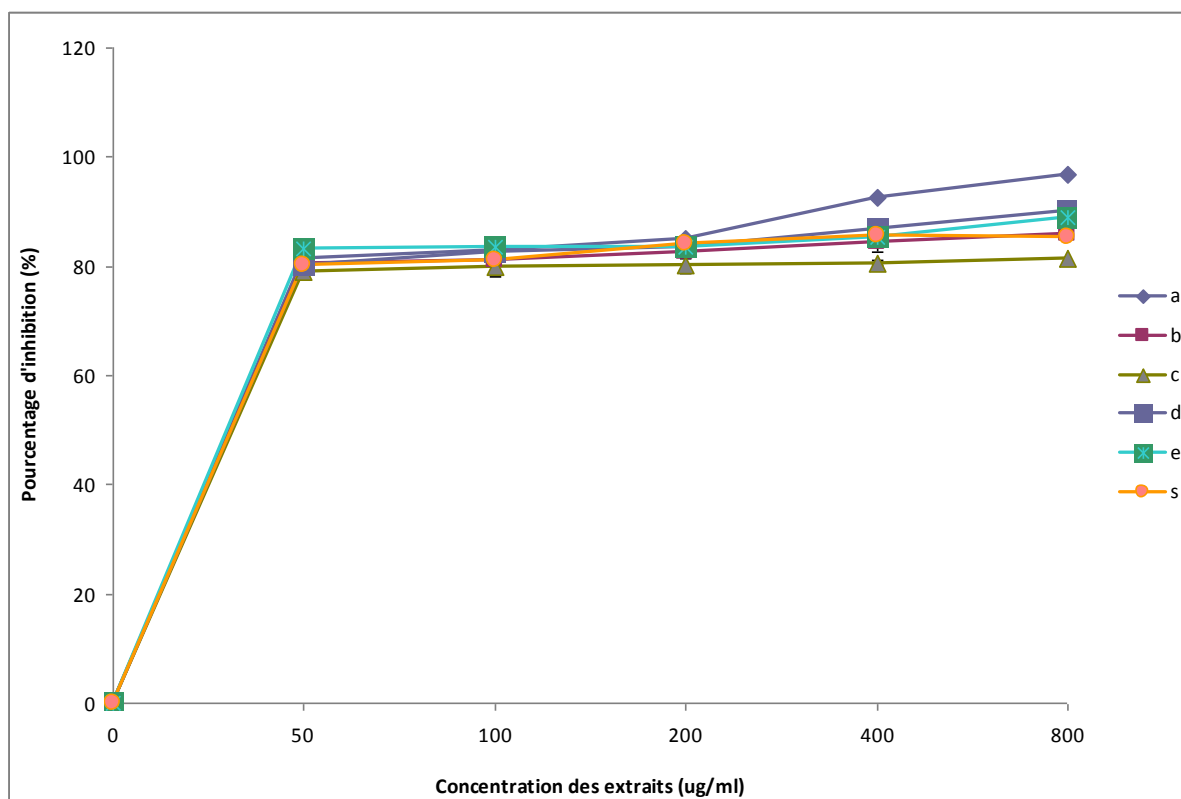
Les valeurs sont exprimées en termes de moyennes \pm déviation standard (n= 3).

a: Infusion; b: Résidu de l'extrait hexanique; c: Résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle; d: Extrait hexanique; e: Extrait à l'acétate d'éthyle; s: Vitamine C

Figure 6: Potentiel antioxydant des différents extraits.

III-4-3 Test d'activité antiradicalaire par la méthode de DPPH (2,2-Diphényl-2-Picrilhydrazyl)

Les résultats obtenus ont montré que le pourcentage d'inhibition est proportionnel à la concentration des différents extraits testés (Fig .7). Cette inhibition est supérieure à 75 % à partir de 50 μ g/ml pour tous les extraits.

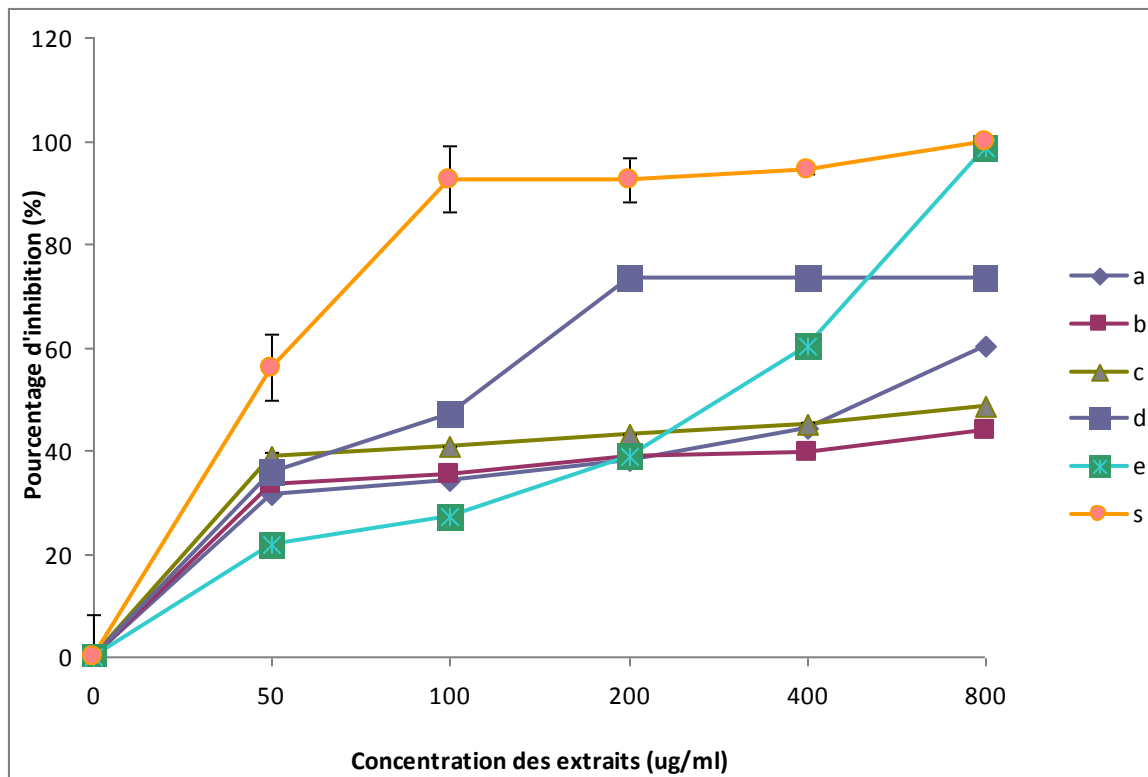


Les valeurs sont exprimées en termes de moyennes \pm déviation standard (n= 3).
a: infusion; b: résidu de l'extrait hexanique; c: résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle; d: extrait hexanique; e: extrait à l'acétate d'éthyle; s: vitamine C

Figure 7: Inhibition des radicaux de DPPH par les différents extraits

III -4-4 Test antiradicalaire sur le radical hydroxyl (HO°)

Le pourcentage d'inhibition augmente avec la concentration des différents extraits (Fig. 8). Les résidus de l'extrait hexanique et d'acétate d'éthyle ont présenté des pourcentages d'inhibition inférieure à 50% à la concentration de 800 µg/ml. Cependant, on a observé un pourcentage d'inhibition de 60 % avec l'infusion et l'extrait à l'acétate d'éthyle à des concentrations respectives de 400 et 800 µg/ml. L'extrait hexanique a la meilleure activité avec 70 % d'inhibition à 200 µg/ml.

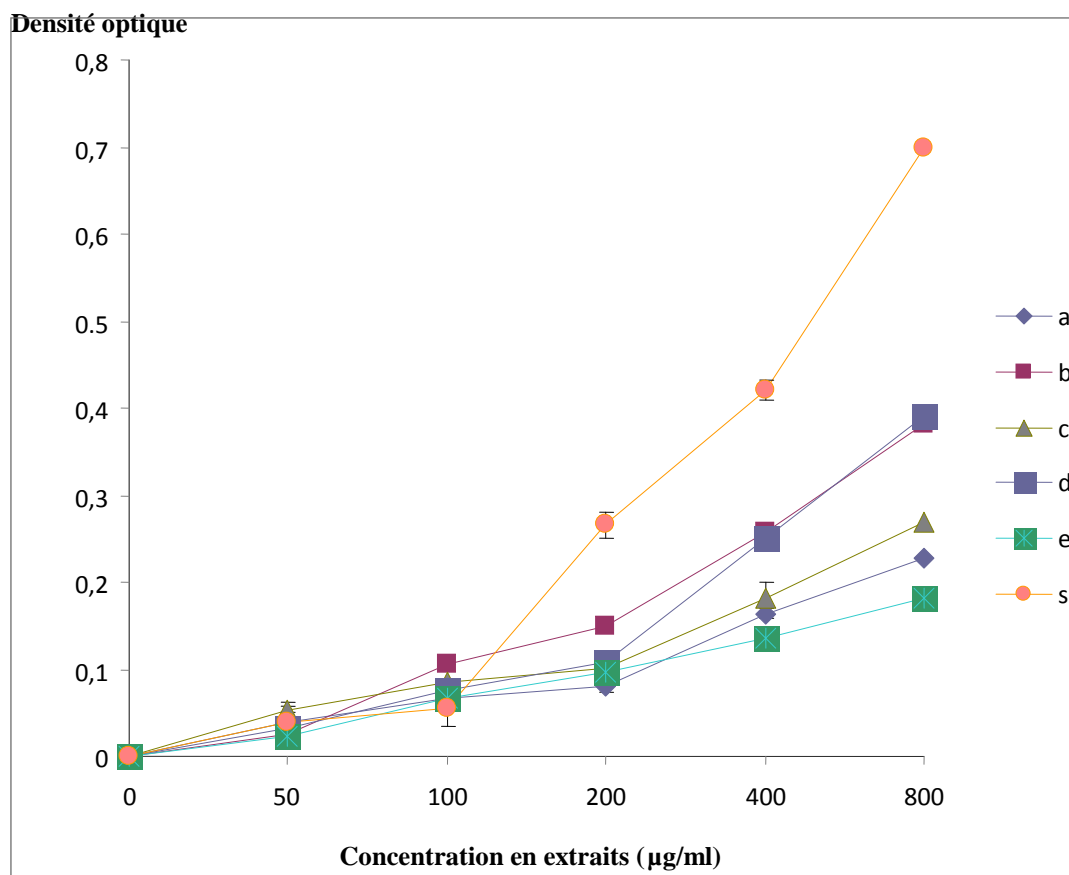


Les valeurs sont exprimées en termes de moyennes \pm déviation standard (n= 3).
a: Infusion; b: Résidu de l'extrait hexanique; c: Résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle; d: Extrait hexanique; e: Extrait à l'acétate d'éthyle; s: Vitamine C

Figure 8: Inhibition des radicaux de HO[°] par les différents extraits

III-4-5 Détermination du pouvoir réducteur total des différents extraits

Pour les différents extraits, on a observé une augmentation de la DO en fonction de la concentration en extrait (Fig. 9). Tous les extraits ont montré un faible pouvoir réducteur par rapport à la vitamine C. Le résidu de l'extrait hexanique a présenté un meilleur pouvoir réducteur (DO = 0,383 \pm 0,045) à 400 µg/ml.



Les valeurs sont exprimées en termes de moyennes \pm déviation standard (n= 3).
a: Infusion; b: Résidu de l'extrait hexanique; c: Résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle; d: Extrait hexanique; e: Extrait à l'acétate d'éthyle; s: Vitamine C.

Figure 9: Variation du pouvoir réducteur total de différents extraits

III-4-6 Corrélation entre la méthode de FRAP et les autres méthodes

Le tableau XV montre les différentes corrélations entre la méthode de FRAP et les autres méthodes pour les différents extraits utilisés. Il en ressort qu'il existe des corrélations positives et significatives entre ces méthodes d'évaluation de la capacité antioxydante pour tous les extraits sauf le REAE qui présente plutôt une corrélation non significative avec la méthode de DPPH. L'extrait à l'acétate d'éthyle présente des corrélations négatives non significatives.

Tableau XV : Corrélation entre la méthode de FRAP et les autres méthodes pour les différents extraits

	Méthodes		
	Pouvoir réducteur total	Radical HO°	DPPH
Extraits de plante			
Infusion	0,971 ^a	0,958 ^a	0,968 ^a
EH	0,982 ^a	0,792 ^a	0,967 ^a
REH	0,908 ^a	0,912 ^a	0,789 ^a
EAE	-0,087 ^b	-0,239 ^b	-0,275 ^b
REAE	0,963 ^a	0,972 ^a	0,369 ^b
Vitamine C	0,983 ^a	0,782 ^a	0,913 ^a

REH : Résidu de l'extrait hexanique ; EAE : Extrait à l'acétate d'éthyle ; EH : Extrait hexanique ; REAE : Résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle ; a : (P < 0,001) ; b : (P > 0,05).

III-4-7 Corrélation entre le pouvoir réducteur total et les autres méthodes

Le tableau XVI présente les différentes corrélations entre le pouvoir réducteur total et les autres méthodes pour les différents extraits. Il en ressort des corrélations positives et significatives entre ces différentes méthodes d'évaluation de la capacité antioxydante pour tous les extraits à l'exception de REAE qui montre une corrélation positive non significative avec la méthode de DPPH.

Tableau XVI: Corrélation entre le pouvoir réducteur total et les autres méthodes pour les différents extraits

Extraits de plante	Méthodes	
	Radical HO ^o	DPPH
Infusion	0,989 ^a	0,964 ^a
EH	0,811 ^a	0,987 ^a
REH	0,954 ^a	0,702 ^a
EAE	0,649 ^a	0,902 ^a
REAE	0,986	0,473 ^b
Vitamine C	0,775 ^a	0,921 ^a

REH : Résidu de l'extrait hexanique ; EAE : Extrait à l'acétate d'éthyle ; EH : Extrait hexanique ; REAE : Résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle ; a : (P < 0,01) ; b : (P > 0,05).

III -4-8 Concentration inhibitrice 50 (CI₅₀) des différents tests (DPPH, HO^o)

Les concentrations inhibitrices 50 (CI₅₀) des différents extraits de plante en fonction des tests utilisés sont consignées dans le tableau XVII. On remarque que les CI₅₀ du radical DPPH des différents extraits varient entre 1,083 µg/ml pour le REAE et 1,974 µg/ml pour son extrait. Tous les extraits ont une CI₅₀ supérieure à celle de la vitamine C. Le REH et l'EAE ont des meilleures CI₅₀ de DPPH.

Quant au radical HO^o, les CI₅₀ des différents extraits varient entre 5,758 µg/ml et 7,123 µg/ml en fonction de l'extrait. L'extrait à l'acétate d'éthyle et son résidu présentent des CI₅₀ supérieures à celle de la vitamine C (Tableau XVII).

Tableau XVII: Concentrations inhibitrices 50 (CI₅₀) des différents tests (DPPH, HO°)

Extraits de plante	Radicaux libres	
	Radical HO° (µg/ml)	DPPH (µg/ml)
Infusion	6,035	1,630
Extrait hexanique	6,795	1,664
Résidu de l'extrait hexanique	5,758	1,913
Extrait à l'acétate d'éthyle	7,014	1,974
Résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle	7,123	1,083
Vitamine C	6,931	0,899

L'étude des toxicités aigue et subaigue de l'infusion nous a donné les résultats ci-dessous :

III -5 Etude de la toxicité de l'infusion chez les rats

III-5-1 Toxicité aigüe

Après administration de la dose unique de 2 g/kg de poids corporel de l'infusion, on n'a enregistré aucun décès dans le groupe contrôle, ni dans le groupe essai. Les animaux n'ont montré aucun changement comportemental. Les organes des animaux des 2 groupes étaient identiques à l'observation.

Le tableau XVIII présente les variations moyennes du poids corporel et des consommations alimentaire et hydrique après 14 jours de traitement. Aucune différence significative ($P > 0,05$) n'est enregistrée entre les groupes contrôle et essai.

Tableau XVIII : Poids corporel et consommations alimentaire et hydrique après 14 jours de traitement.

	*Contrôle (n=6)	**Infusion (n=6)
Poids (g)	Initial	167,50 ± 10,61
	Final	195,00 ± 21,21
	Variation	+27,50 ± 10,61
Consommation alimentaire (g/jour)	161,50 ± 25,21	169,13 ± 23,55
Consommation hydrique (g/jour)	52,05 ± 5,59	55,45 ± 11,52

*Aliment + Eau distillée ; **Aliment + 2000 mg d'infusion par Kg de poids corporel.

Le tableau XIX présentant les poids des organes des rats traités par l'infusion ne montre aucune différence significative ($P>0,05$).

Tableau XIX : Poids des organes des rats (moyenne ± déviation standard).

Organes groupes	Foies	Reins	Cœurs	Poumons	Rates
*Contrôle (n=6)	5,33 ± 0,18	1,16 ± 0,04	0,500 ± 0,03	1,25 ± 0,21	0,41 ± 0,11
**Infusion (n=6)	5,12 ± 0,35	1,32 ± 0,16	0,61 ± 0,05	1,99 ± 0,39	0,58 ± 0,15

*Aliment + Eau distillée ; **Aliment + 2000 mg d'infusion par Kg de poids corporel.

Les paramètres hématologiques consignés dans le Tableau XX ne montrent pas de différences significatives ($P>0,05$).

Tableau XX: Paramètres hématologiques après 14 jours de traitement

Paramètres Groupes	Globules blancs ($\times 10^3$ /ml)	Lymphocytes	Globules rouges ($\times 10^6$ /ml)	Hémoglobine (g/dl)	Hématocrites (%)	Plaquettes ($\times 10^3$ /ml)
*Contrôle (n=6)	12,50±1,27	9,70±0,49	8,86±0,23	13,60±0,99	44,95±0,78	175 ±48,0
**Infusion (n=6)	11,56±4,06	9,46±3,19	7,35±0,98	12,98±1,28	39,50±4,77	198 ± 49

*Aliment + Eau distillée ; **Aliment + 2000 mg d'infusion par Kg de poids corporel.

Les résultats obtenus après le dosage des paramètres biochimiques sont résumés dans le tableau XXI. On observe une augmentation significative des concentrations en protéines totales (p= 0,031) et en α -amylase (p= 0,017) après le traitement.

Tableau XXI : Effets de l'administration orale de l'infusion sur les paramètres biochimiques

	*Contrôle (n=6)	**Infusion (n=6)
Urée (mg/dl)	0,375 \pm 0,007	0,330 \pm 0,036
Créatinine (mg/dl)	5,70 \pm 0,28	5,73 \pm 0,40
phosphatase alcaline (U/I)	22,50 \pm 6,65	18,10 \pm 3,21
GOT (U/I)	270,50 \pm 17,68	264, \pm 41,04
GPT (U/I)	179,50 \pm 10,61	163,33 \pm 30,14
Calcium (mg/dl)	9,20 \pm 0,71	10,27 \pm 0,31
α amylase (U/I)	11,75 \pm 2,05	24,03 \pm 3,11 ^a
Protéines totales (g/dl)	61,20 \pm 1,27	66,60 \pm 1,65 ^a
Phosphore (mg/dl)	86,50 \pm 10,61	100,33 \pm 1,53

*Aliment + Eau distillée ; **Aliment + 2000 mg d'infusion par Kg de poids corporel ; ^a Différence significative avec le contrôle.

L'analyse histopathologique du foie, du rein, du poumon, du cœur et de la rate n'a révélé aucune modification après traitement.

III-5-2 Toxicité subaigue

Après l'administration des doses de 250, 500 et 1000 mg/kg de poids corporel de l'infusion de *Brillantaisia vogeliana* pendant 28 jours, on n'a enregistré aucun décès dans le groupe contrôle, ni dans les groupes essais. De même, après sacrifice, les organes de tous les animaux étaient identiques à l'observation. Les animaux n'ont montré aucun changement comportemental.

Les variations du poids corporel et des organes respectivement résumées dans les tableaux XXII et XXIII ne présentent aucune différence significative ($P>0,05$) entre les différents groupes.

On a observé uniquement une augmentation significative ($P=0,026$) de la consommation alimentaire dans le groupe 2 après le traitement comparativement au groupe 1.

A propos de la consommation en eau, il n'y a pas eu de différence significative ($P>0,05$) entre les différents groupes (Tableau XXII).

Tableau XXII : Poids corporel, consommations alimentaire et hydrique après 28 jours de traitement.

	Contrôle (n=6)	Groupe 1 (n=6)	Groupe 2 (n=6)	Groupe 3 (n=6)
Poids (g)	Initial	176,66 ± 15,28	172,00 ± 17,87	177,6 ± 9,02
	Final	203,33 ± 25,17	197,60 ± 22,33	192,4 ± 13,79
	Gain	+26,66 ± 11,54	+14,80 ± 6,14	+23,60 ± 28,00
Consummation hydrique (g)	53,24 ± 4,46	61,04 ± 11,13	74,26 ± 14,79	67,06 ± 10,82
Consummation alimentaire (g)	166,38 ± 3,24	143,75 ± 25,46 ^c	182,25 ± 14,91	162,38 ± 22,41

Contrôle : eau distillée ; Groupe 1 : 250 mg/kg ; Groupe 2 : 500 mg/kg ; Groupe 3 : 1000 mg/kg.
c: différence significative avec le groupe 2; $P < 0,05$

Tableau XXIII : Poids des organes des rats traités

	Contrôle (n=6)	Groupe 1 (n=6)	Groupe 2 (n=6)	Groupe 3 (n=6)
Foie	6,13 ± 0,75	6,38 ± 0,90	6,04 ± 0,36	5,76 ± 0,51
Rein	1,17 ± 0,14	1,38 ± 0,17	1,29 ± 0,29	1,29 ± 0,07
Poumon	1,98 ± 0,09	1,90 ± 0,32	1,86 ± 0,33	1,75 ± 0,33
Cœur	0,63 ± 0,07	0,64 ± 0,05	0,60 ± 0,07	0,61 ± 0,06
Rate	0,65 ± 0,15	0,60 ± 0,06	0,63 ± 0,19	0,66 ± 0,10

Contrôle: eau distillée ; Groupe 1: 250 mg/kg ; Groupe 2: 500 mg/kg ; Groupe 3: 1000 mg/kg.
($P < 0,05$).

Dans le tableau XXIV qui montre les moyennes des paramètres biochimiques, on observe une élévation significative du GPT et une diminution significative du phosphore dans les groupes traités par rapport au groupe contrôle ($P < 0,05$).

Tableau XXIV: Effets de l'administration de l'infusion sur les paramètres biochimiques

	Contrôle (n=6)	Groupe 1 (n=6)	Groupe 2 (n=6)	Groupe 3 (n=6)
Urée (mg/dl)	0,373 ± 0,006	0,330 ± 0,039	0,330 ± 0,035	0,376 ± 0,045
Créatinine (mg/dl)	8,10 ± 0,87	8,14 ± 1,33	8,36 ± 0,75	7,58 ± 0,61
Phosphatase alcaline (U/l)	22,53 ± 6,12	22,10 ± 6,28	18,28 ± 3,76	18,38 ± 6,87
GOT (U/l)	107,00 ± 15,62	102,60 ± 14,81	103,40 ± 27,71	86,00 ± 13,29
GPT (U/l)	43,00 ± 1,00	48,40 ± 3,13 ^a	49,80 ± 1,64 ^a	48,6 ± 2,88 ^a
Calcium (mg/dl)	15,17 ± 1,80	13,10 ± 1,76	13,94 ± 2,19	14,86 ± 3,08
α -Amylase (U/l)	29,27 ± 2,36	33,82 ± 5,31	35,60 ± 5,91	29,46 ± 4,32
Protéines totales (g/dl)	48,8 ± 0,9	49,8 ± 3,24	49,72 ± 2,73	48,06 ± 1,72
Phosphore (mg/dl)	35,73 ± 8,60	22,64 ± 6,56 ^a	15,66 ± 2,99 ^a	15,50 ± 0,79 ^a

Contrôle : eau distillée ; Groupe 1 : 250 mg/kg ; Groupe 2 : 500 mg/kg ; Groupe 3 : 1000 mg/kg. ^aDifférence significative avec le groupe contrôle, ($P < 0,05$).

L'analyse des paramètres hématologiques consignés dans le tableau XXV ne montre aucune différence significative ($P > 0,05$) entre tous les groupes.

Tableau XXV : Paramètres hématologiques après 28 jours de traitement par l'infusion de *B. vogeliana*

	Contrôle (n=6)	Groupe 1 (n=6)	Groupe 2 (n=6)	Groupe 3 (n=6)
Globules blancs ($\times 10^3/\text{ml}$)	7,83 \pm 1,95	6,40 \pm 0,95	6,50 \pm 1,18	7,30 \pm 2,40
Lymphocytes	4,03 \pm 1,36	4,27 \pm 1,20	4,46 \pm 0,99	4,23 \pm 1,91
Globules rouges ($\times 10^6/\text{ml}$)	7,54 \pm 0,63	8,27 \pm 0,96	7,13 \pm 1,56	7,16 \pm 0,71
Hémoglobine (g/dl)	12,40 \pm 0,89	13,27 \pm 0,85	11,78 \pm 2,16	10,98 \pm 2,36
Hématocrite (%)	40,80 \pm 4,03	44,77 \pm 3,74	38,12 \pm 7,89	39,28 \pm 4,10
Plaquettes ($\times 10^3/\text{ml}$)	332,67 \pm 122,40	580,33 \pm 102,03	369,40 \pm 168,65	417,50 \pm 247,85

Contrôle : eau distillée ; Groupe 1 : 250 mg/kg ; Groupe 2 : 500 mg/kg ; Groupe 3 : 1000 mg/kg.

III-5-3 Analyse histopathologique

- **Analyse histologique du foie**

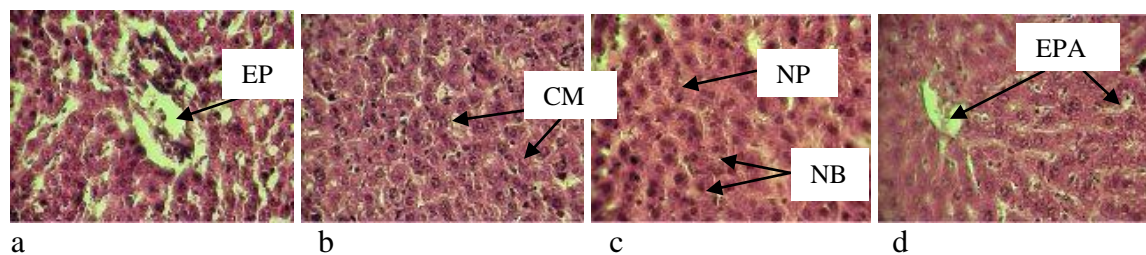


Figure 10: Microphotographies d'une section de foie des rats traités à différentes concentrations ($\times 400$). a: contrôle; b: 250mg/kg; c: 500mg/kg; d: 1000mg/kg. EP: espace porte ; CM: corps de mallory ; NP: noyaux ponctiformes; NB: noyaux basophiles ; EPA: espace porte altéré.

Le foie des rats du groupe contrôle est normal avec des espaces portes (Fig 10a).

Alors qu'à la dose de 250 mg/kg d'extrait, on observe un début de modification architecturale avec la transformation des cellules en une masse homogène acidophile appelée corps de mallory trouvés dans les hépatites chroniques (Fig 10b).

A la dose de 500 mg/kg, on observe des hépatocytes avec des noyaux plus basophiles de taille variable. La binucléarité est plus marquée. Quelques noyaux punctiformes sont rétractés (Fig 10c). Pendant qu'à 1000 mg/kg d'extrait, on observe des noyaux à contour peu net, sans démarcation de limites cytoplasmiques. Les espaces portes sont légèrement altérés. La forme polygonale des hépatocytes est semblable à celle rencontrées dans les hépatites chroniques (Fig 10d).

- **Analyse histologique du rein**

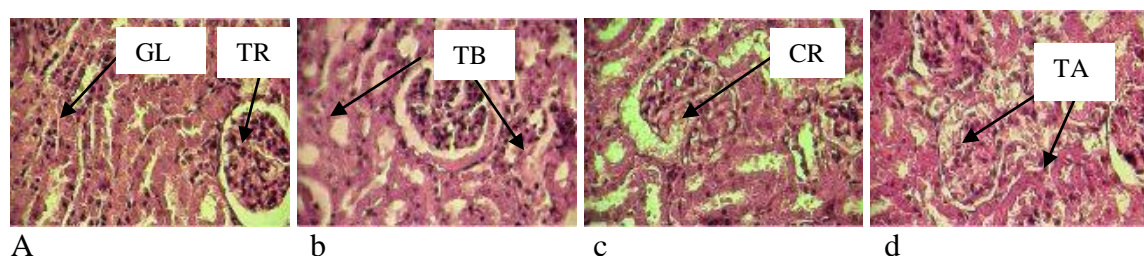


Figure 11: Microphotographies d'une section de rein des rats traités à différentes concentrations (×400). a: contrôle; b: 250mg/kg; c: 500mg/kg; d: 1000mg/kg
 GL : glomérules; TR : tubes rénaux; TB: tubes à noyaux basophiles; CR : cytoplasme rétracté; TA : tubes atrophiés.

La figure 11a présente le rein normal des rats contrôles. Après administration de 250 mg/kg d'infusion de *Brillantaisia vogeliana*, on observe un rein avec des glomérules et des tubes à noyaux plus basophiles (Fig 11b). Tandis qu'à la dose de 500 mg/kg, on observe une perturbation architecturale des tubes rénaux avec une diminution de leur taille. Le noyau central repousse le cytoplasme vers l'extrémité (Fig 11c) et à 1000 mg/kg, on observe plutôt des tubes atrophiés à revêtement grêle (Fig 11d).

- **Analyse histologique du cœur**

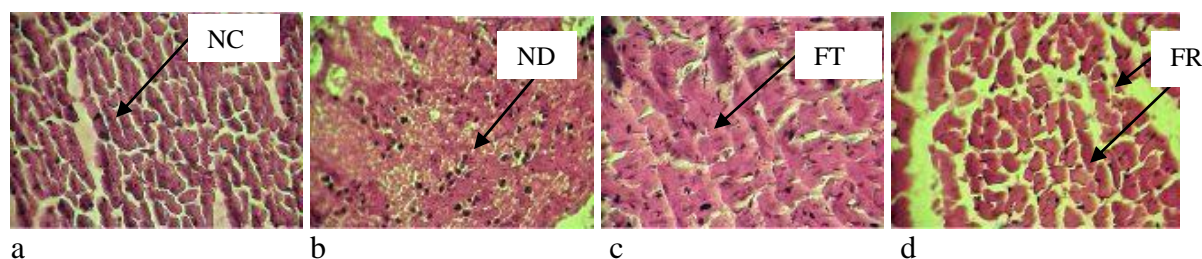


Figure 12: Microphotographies d'une section de coeur des rats traités à différentes concentrations (×400). a: contrôle; b: 250mg/kg; c: 500mg/kg; d: 1000mg/kg
 NC: Noyaux centraux ; ND: Noyaux dispersés; FT: Fibre tuméfié; FR: Fibre ramifié.

La coupe histologique du cœur des rats non traités par l'extrait de plante montre un cœur normal avec des noyaux centraux (Fig 12a).

Après administration de 250 mg/kg d'infusion de plante, on observe la dispersion des noyaux, l'hémolyse des fibres cardiaques (Fig 12b) et à 500 mg/kg, il y a modification architecturale : les fibres cardiaques semblent tuméfiées avec des noyaux normaux (Fig 12c).

Tandis qu'à une dose de 1000 mg/kg, on observe une dissociation des fibres plus ou moins remaniées. Ces fibres sont plus allongées avec des noyaux hétérogènes (centraux et périphériques) (Fig 12d).

- **Analyse histologique des poumons**

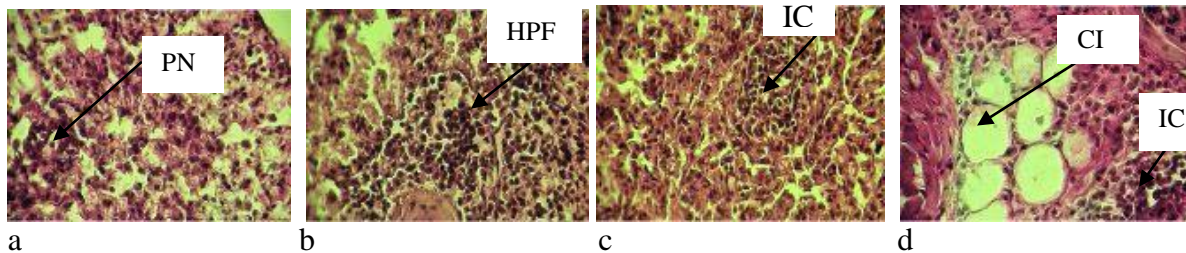


Figure 13: Microphotographies d'une section de poumon des rats traités à différentes concentrations (×400). a: contrôle; b: 250mg/kg; c: 500mg/kg; d: 1000mg/kg. *PN : Poumon normal; HPF : Hyperplasie pneumocytaire floride; IC : Ilot confluent ; CI : Corps d'inclusion.*

Les rats non traités montrent un poumon normal (Fig 13a). Alors qu'on observe une hyperplasie pneumocytaire floride pouvant être d'origine réactionnel (Fig 13b) après administration d'une dose de 250 mg/kg d'extrait.

Cependant à 500 mg/kg d'extrait, on observe un regroupement en petits ilots progressivement confluent (Fig 13c). Tandis qu'à 1000 mg/kg, les pneumocytes prennent une architecture complexe regroupant les cellules en ilots de taille variable plus ou moins confluent. En plus, on note la présence des corps d'inclusion qui apparaissent sous forme de vacuoles optiquement vides (Fig 13d).

- **Analyse histologique de la rate**

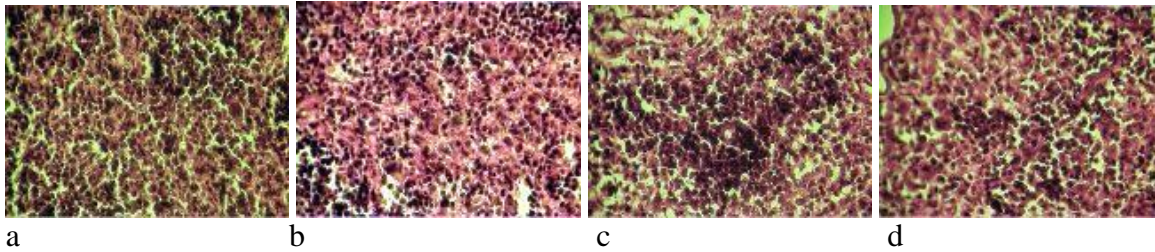


Figure 14: Microphotographies d'une section de rate des rats traités à différentes concentrations (×400). a: contrôle; b: 250mg/kg; c: 500mg/kg; d: 1000mg/kg

La coupe histologique de la rate des rats contrôles présente un organe normal (Fig 14a). Quant aux rats traités, aucune modification majeure n'est observée sauf chez ceux traités à la dose de 1000 mg/kg où il y a destruction de la rate blanche (Fig 14d).

Tous ces résultats trouveront des explications dans la partie suivante.

IV-1 Etude de la consommation alimentaire et hydrique

Toutes les consommations alimentaires et hydriques journalières (Tableau V) sont réduites après administrations de tous les différents extraits. Ces derniers contiendraient des substances qui agissent dans la régulation de la satiété et de la soif. En effet, tous ces résultats seraient aussi liés à la production de certaines adipokines qui entraînent la régulation des consommations en aliments et en eau, exerçant ainsi un effet direct sur le contrôle du poids corporel. C'est par exemple le cas de la leptine qui stimulerait la consommation de la dopamine, créant ainsi une sensation de rassasiement d'où les diminutions des consommations en aliments (Bruneau et *al.*, 1999). Ce qui justifierait aussi les diminutions significatives des poids corporels (Tableau VI).

IV-2 Effets des différents extraits sur le profil lipidique

La cause métabolique primaire de l'accumulation hépatique des lipides n'est pas bien connue mais elle serait le résultat des potentielles altérations observées au cours du métabolisme des lipides. Selon Buang et *al.* (2005), la réduction des taux de cholestérol total et de triglycérides est liée à une inhibition des activités de quelques enzymes impliqués dans la biosynthèse hépatique des lipides entraînant une réduction de la lipogénèse hépatique. Par ailleurs, l'accumulation des lipides pourrait être aussi liée à la réduction de la β -oxydation des acides gras (Myazawa et *al.*, 1982 ; Reddy et Hashimoto, 2001 ; Rao et Reddy, 2001), qui est régulée par plusieurs facteurs de transcription (Braissant et *al.*, 1996).

Le traitement des rats par les différents extraits a montré une baisse des taux de triglycérides (Tableau VII). On a noté une baisse significative ($P < 0,001$) des taux de triglycérides sériques dans les groupes essais par rapport aux groupes témoins et leurs contrôles respectifs. Cette diminution qui varie entre 55,6% et 66,81% est inversement proportionnelle à l'activité de la lipase sérique. L'activité de la lipase est plus élevée en présence de l'extrait hexanique.

Les résultats obtenus avec les extraits hexaniques et d'acétate d'éthyle seraient dus à la présence des saponines (Vijaya et *al.*, 2009). En effet, les saponines agiraient soit en

inhibant la synthèse endogène des acides gras; soit en activant les enzymes lipolytiques. Ce qui expliquerait la forte activité de la lipase sérique et de la Lécithine cholestérol acyl transférase chez les rats traités avec ces extraits. En plus, ces saponines réguleraient les différents facteurs de transcription et les enzymes liés au métabolisme lipidique (Hu et *al.*, 2010). Par exemple, elles augmentent les concentrations des SREBP 1C du mRNA et les gènes lipogéniques cibles au niveau du foie (Osborne, 2000 ; Horton et *al.*, 2002).

Vijaya et *al.* (2009) avaient pensé que les phytoconstituants tels que les saponines et les composés phénoliques étaient à l'origine de cette diminution des taux de lipides sériques. Ce qui justifierait les résultats obtenus avec l'extrait à l'acétate d'éthyle

Les résultats ont montré une diminution des taux de cholestérol total de l'ordre de 16,61% et de 25,08 % (Tableau VIII) respectivement chez les rats après traitement à l'extrait hexanique (EH) et son résidu (REH) par rapport au témoin positif. L'extrait hexanique (EH) et à un moindre degré le REH semble donner les meilleurs résultats car on observe une diminution des taux de cholestérol total et le LDL cholestérol et une augmentation des taux de cholestérol HDL. Sur le plan métabolique, ces résultats s'expliqueraient par une inhibition de l'activité de HMGCoA réductase et une activation de la LCAT. En effet, après le traitement des animaux par les différents extraits de plantes, toutes les activités de l'hydroxyl méthyl glutarylCoA réductase ont été réduites et celles de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) ont augmentées de manière significative comparativement aux différents contrôles respectifs (Tableau VIII). Tous ces résultats trouvent une meilleure explication sur le plan métabolique.

Il a été démontré que certains ions métalliques tels que le calcium, le magnésium et le zinc et agents réducteurs exercent des effets inhibiteurs sur les activités de la LCAT (Kodali et *al.*, 2005). Toutes ces activités de la LCAT pourraient aussi être liées à la mutation au niveau des propriétés de l'apo A-I. En effet, selon Zannis et *al.*, (2006), la mutation au niveau C-terminal entre les hélices 4 et 10 de l'apo A-I même d'un seul acide aminé active la LCAT. Selon Navab et *al.*,(2004) il existe d'autres facteurs parmi lesquels on peut citer le facteur D4F qui influence l'activité de la LCAT par une augmentation de la concentration de l'apo A-I et de HDL.

La réduction des taux de lipides après la consommation des extraits serait aussi liée, en plus des effets sus-cités, à une hyper activité de la lipase sérique et de lécithine acyl cholestérol acyl transférase ou alors à une sous-expression des SREBP 1C qui entraîne une diminution de la concentration des acides gras sériques, donc des triglycérides au niveau du foie (Ahmed et Byrme, 2007; Rutledge et Adeli, 2007).

IV-3 Effets des extraits sur le stress oxydatif

IV-3-1 Effets de la consommation de l'huile de palme sur le stress oxydatif

La charge physiologique des radicaux libres cause un déséquilibre dans les phénomènes homéostatiques entre les oxydants et les antioxydants de l'organisme. Ce déséquilibre en faveur des prooxydants conduit au stress oxydant qui a été suggéré comme étant la principale cause du vieillissement et de certaines pathologies humaines variées telles que l'athérosclérose, le diabète, le cancer et les maladies neurodégénératives (Tawari, 2004). Les enzymes telles que la catalase et la SOD sont des marqueurs enzymatiques les plus sensibles des dommages causés par les radicaux libres et le stress oxydatif (Sambrekar et *al.*, 2010). L'augmentation significative des taux sériques de MDA chez les rats après la consommation d'huile de palme (Tableau IX) traduit une élévation de la peroxydation lipidique pouvant conduire aux dommages tissulaires et à la réduction de la défense antioxydante capable de lutter contre la formation excessive des radicaux libres (Ashok et *al.* 2001). En fait, la peroxydation lipidique est un processus par lequel l'oxygène interagit avec les acides gras polyinsaturés, pouvant entraîner des altérations structurales et organisationnelles des tissus et des enzymes (Santhakumari et *al.*,2003).

IV-3-2 Effets des extraits sur l'activité de la SOD

Les antioxydants protègent l'organisme contre la toxicité à travers l'éradication de la peroxydation lipidique et l'induction de l'expression enzymatique de la défense (Maurizio et *al.*, 1992). Les résultats obtenus dans les homogénats de rein avec l'infusion seraient liés à la présence des composés potentiellement antioxydants capables d'augmenter l'activité de la SOD rénale. Des résultats similaires ont été obtenus par Sujay

et *al.* (2006) après administration d'extrait hydroalcoolique des fruits de *Nelumbo nucifera* aux rats. Ces auteurs avaient justifié ces résultats par la présence des alcaloïdes et des composés phénoliques qui possèdent plus d'activité antioxydante et piègeuse de radicaux libres (Tableau X).

Les résultats obtenus avec les EH et le REAE corroborent ceux de Srinivasan et *al.* (2007) après administration des extraits de *Caesalpinia digyna* chez les rats. Selon Badami et *al.* (2005), ces extraits restaurent l'activité de la SOD ou empêchent la formation des radicaux superoxydes. Cependant, ils s'opposent à ceux de Srinivasan et *al.* (2007) car ils ont observé une augmentation significative simultanément dans les homogénats de foie et de rein. Tous ces résultats trouveraient une explication dans la composition chimique des différents extraits. Surtout par la présence des phénols, des flavonoïdes et des saponines (Miliauskas et *al.*, 2004 ; Garcia-Alonso et *al.*, 2004).

IV-3-3 Effets des extraits sur l'activité de la catalase

Les résultats avec l'infusion dans l'homogénat et l'hémolysât corroborent ceux de Sujay et *al.* (2006) avec des extraits hydroalcooliques des fruits de *Nelumbo nucifera* aux rats. Donc l'administration de ces extraits entraîne la restauration des activités de la catalase, enzyme qui élimine le H₂O₂ formé pendant l'oxydation incomplète. Selon Halliwell et Gutteridge (1989), cet enzyme antioxydant élimine les espèces réactives d'oxygène et les radicaux libres des systèmes biologiques.

Les résultats avec les extraits hexaniques (EH) ou les résidus de l'extrait à l'acétate d'éthyle (REAE) corroborent ceux de Srinivasan et *al.* (2007). Ces auteurs avaient justifié ces derniers par la présence de la bergerine, composé majeur de l'extrait de *Caesalpinia digyna*, responsable de l'activité antioxydante de l'extrait (Chandrasekar et *al.*, 2006). L'augmentation de l'activité de la catalase traduit la réduction des peroxydes d'hydrogène (Sampathkumar et *al.*, 2005).

Les résultats obtenus après administration de l'EAE opposent à ceux de Jashree et *al.* (2010) qui avaient plutôt observé une diminution de l'activité de cette enzyme sérique et rénale après administration des extraits à l'acétate d'éthyle d'*Enicostemma axillare*.

Cependant, dans les homogénats hépatiques, les résultats sont similaires à ceux obtenus par Takate et *al.* (2010) avec des rats albinos. Tous nos résultats trouveraient une explication dans la composition chimique de ces différents extraits par la présence des alcaloïdes, surtout des flavonoïdes et des composés phénoliques (Tripathi et *al.*, 1996) qui sont responsables des activités antioxydantes.

IV-3-4 Effets des extraits sur les groupes thiols

Chez les rats traités par les résidus de l'extrait hexanique et l'infusion, les résultats des taux de groupes thiols seraient liées à la présence des vitamines et les tocophérols dans les extraits (Kavithalakshnu et *al.*, 2006).

En effet, les groupes thiols jouent plusieurs fonctions cellulaires dont le métabolisme des xénobiotiques et la détoxification des radicaux libres. Dypbukt et *al.* (1993) ont montré que les dommages peroxydatifs étaient annulés par les groupes thiols et tandis que selon Krestchmar et Klinger (1990), la diminution ou l'annulation de ces groupes thiols étaient à l'origine de l'inhibition des glutathions réductase et peroxydase qui sont dépendants des groupes thiols libres.

Après traitement par les extraits hexaniques et les résidus de l'extrait à l'acétate d'éthyle, les résultats obtenus s'expliqueraient par le réapprovisionnement du pouvoir réducteur du NADPH (Warren et Reed, 1991). Ce réapprovisionnement du NADPH serait le résultat du recyclage du glutathion oxydé GSSG en glutathion réduit GSH. Ce qui pourrait influencer plusieurs réactions redox dans la cellule (Sen, 1995).

Dans le groupe de rats traités par l'extrait à l'acétate d'éthyle, les résultats corroborent ceux de Raghvan et Kumari (2006) obtenus chez les rats diabétiques après administration des extraits des écorces de *T. arjuna*. Notre extrait a une composition phytochimique proche de celle de l'extrait éthanolique de *T. arjuna*. Son administration a restauré le taux sérique de groupe thiol non protéique préalablement réduit après la consommation d'huile de palme. En effet, l'administration de l'extrait à l'acétate d'éthyle restaure les taux des groupes thiols hépatiques. En outre, le foie joue un rôle majeur dans

l'homéostasie du glutathion, principal organe de transport de ce dernier (Anuradha et Balakrishma, 1998).

Dans les homogénats hépatique, on note une différence significative entre le taux de groupe SH avec tous les extraits et leur contrôle respectif sauf et le REAE (Tableau XII). Toutes ces variations des taux de groupes thiols trouveraient une justification selon Raghavan et Kumari (2006) dans l'augmentation des exportations du glutathion des muscles vers la circulation expliquant ainsi l'augmentation des taux de groupes thiols sériques. Selon Jashree et *al.* (2010), cette augmentation des taux de groupes thiols dans les homogénats serait due à une augmentation de la concentration en antioxydant non enzymatique tels que le glutathion. Cette concentration serait elle-même liée soit à une synthèse de *novo*, soit à une régénération de ce dernier. Ce qui confirme l'effet hépatoprotecteur de ces extraits. Des résultats similaires ont été obtenus avec les homogénats de foie par Takaté et *al.* (2010) avec les extraits à l'acétate d'éthyle des parties aériennes de *Launaea intybacea* chez les rats intoxiqués par le paracétamol.

IV-3-5 Effets des extraits sur la peroxydation lipidique

Une élévation du taux de MDA dans le foie et le rein est une manifestation claire d'une formation excessive des radicaux libres et l'activation du système de peroxydation lipidique (Mannangatti et *al.*, 2010). L'action protectrice et l'amélioration de la défense de ces de l'infusion et du REH seraient attribuées aux composés chimiques tels que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes et les stérols et terpènes. Nos résultats corroborent ceux de Bhandari et *al.* (2008) qui avaient montré une réduction de la peroxydation des lipides dans le cerveau des rats atteints d'une hyper homocystéinémie après administration des extraits aqueux d'*Embelia ribes*. Ils ont pensé que ceci était lié la présence des constituants suscités. Des résultats identiques avaient été aussi obtenus avec les extraits aqueux de *Cassia auriculata* chez les rats diabétiques par Gupta et *al.* (2009). En outre, Sambrekar et *al.* (2010) avaient aussi obtenu des résultats similaires après une administration des extraits aqueux d'*E. tsjeriam-cottam* chez les rats.

Le traitement des rats par l'extrait hexanique ou les résidus de l'extrait à l'acétate d'éthyle, a révélé des diminutions significatives entre les taux sériques de MDA et le groupe contrôle. Ces résultats sont dus à une augmentation du mécanisme de la défense antioxydante inhibant la peroxydation lipidique et la formation excessive des radicaux libres (Kurrata et *al.*, 1993).

Les homogénats hépatiques ont montré des taux de MDA avec des différences significatives entre les groupes traités par l'extrait hexanique et les groupes contrôle et témoin négatif (Tableau XIII). Ces résultats obtenus avec cet extrait seraient non seulement liés aux effets synergiques des alcaloïdes, des phénols et des stérols et terpènes mais aussi cet extrait contiendrait les substances antioxydantes telles que les tocophérols, la vitamine C (Sharique et Seerat, 2009).

Le traitement des rats avec l'extrait à l'acétate d'éthyle a entraîné une diminution du taux sérique de MDA (Tableau XIII). Raghavan et Kumari (2006) ont obtenu des résultats similaires chez les rats diabétiques avec des extraits éthanoliques des écorces de *T. arjuna*. Ces extraits élimineraient ou inhiberaient la formation des radicaux libres et par conséquent préviendrait de manière efficace des dommages hépatiques et rénaux. Selon ces auteurs, ces activités sont dues à la présence des flavonoïdes et des saponosides trouvés dans leurs extraits qui assurent une activité antioxydante. Nos résultats corroborent ceux de Jashree et *al.* (2010) avec l'extrait à l'acétate d'éthyle d'*E. axillare*.

Dans les homogénats de foie, nos résultats s'opposent à ceux obtenus par Takate et *al.* (2010) qui avaient montré l'activité hépato-protectrice des extraits à l'acétate d'éthyle de *Launea intybacea* après une hépato-toxicité induite par le paracétamol chez les rats. Alors que les deux extraits contiennent tous les saponosides et les flavonoïdes, plus les tannins pour *L. intybacea* et les phénols, les glycosides et les stérols et terpènes pour *B. vogeliana*, l'activité des extraits de *L. intybacea* était attribuée à ces composés chimiques. Ce qui nous fait penser à une potentialisation de ces groupes de composés de notre extrait.

IV-4 Etude du potentiel antioxydant des extraits

Il a été démontré que plusieurs plantes naturelles contiennent une grande quantité d'antioxydants autres que les vitamines C et E et les caroténoïdes (Javanmardi et *al.*, 2003; Agbor et *al.*, 2006). Ces antioxydants jouent un rôle dans la suppression, l'interception et la prévention des réactions oxydatives initiées par les radicaux libres (Vilioglu et *al.*, 1998).

L'activité de piégeage des radicaux synthétiques de DPPH est une réaction très utilisée pour évaluer l'activité antiradicalaire des extraits de plantes *in vitro* (Katalinié et *al.*, 2003). En général, les résultats ont montré que tous les extraits testés inhibent le radical de DPPH à des pourcentages supérieurs à 75% à 50 µg/ml (Fig. 10). Ce qui est contraire aux résultats obtenus par Agbor et *al.* (2007) qui avaient trouvé un pourcentage d'inhibition inférieur à 30% à une concentration de 250 µg/ml avec les extraits aqueux de *Chomolaena odorata* contre 53,02 % avec les graines de *Pimpinella anisium*. En effet, l'activité piégeuse du radical de DPPH des extraits des feuilles de BV et la vitamine C croît dans l'ordre suivant : résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle < vitamine C < résidu de l'extrait hexanique < extrait à l'acétate d'éthyle < extrait hexanique < infusion. Cette activité pourrait être attribuée à l'habileté qu'ont certains composés tels que les polyphénols (Shahidi et *al.*, 1992), les flavonoïdes (Pietta, 1998), les alcaloïdes, les terpénoïdes et les tanins retrouvés dans ces différents extraits de plantes, à donner les protons et les atomes d'hydrogènes à la molécule de DPPH (Okwu, 2004; Liu, 2004). Cao et *al.* (1998) ont montré par exemple que les composés phénoliques présentent de bonnes activités antioxydantes car ils sont capables de contrôler efficacement la récupération des espèces réactives de l'oxygène. En effet, plusieurs résultats ont montré une forte corrélation entre le pourcentage de composés phénoliques et l'activité inhibitrice des extraits sur les radicaux de DPPH. Les différentes activités de piégeage des radicaux de DPPH pourraient trouver une autre explication dans la différence structurale des composés bioactifs. De même, les travaux de Brand-William (1995) avaient expliqué que l'activité piégeuse du radical DPPH dépendait non seulement de la quantité de composés phénoliques présente dans l'extrait mais aussi de la conformation et de la structure

chimique de ces composés phénoliques intervenant au cours de cette activité. Ce qui expliquerait aussi les différentes activités piègeuses des radicaux de DPPH entre les extraits REAE et EAE.

Dans l'ensemble, on a observé une meilleure activité dans tous les extraits.

L'évaluation des activités antiradicalaires en utilisant la méthode de DPPH est limitée, car en dehors des entités antioxydantes d'intérêt, les radicaux de DPPH peuvent interférer avec des groupes alkyls des composés ne possédant pas forcément des propriétés antioxydantes (Sanchez et *al.*, 1999). C'est pourquoi il a été important d'évaluer l'activité de piégeage contre les radicaux HO°.

Le radical HO° formé dans les systèmes biologiques est l'une des espèces les plus réactives et extrêmement dangereuses. Les résultats ont montré que tous les extraits de plante ont une activité de piégeage de ce radical mais celle-ci diffère en fonction de l'extrait (Fig. 11). En effet, l'activité de piégeage du radical de HO° des extraits et de la vitamine C croît dans l'ordre suivant : résidu de l'extrait hexanique < résidu de l'extrait d'acétate d'éthyle < infusion < extrait hexanique < extrait à l'acétate d'éthyle < vitamine C avec des pourcentages allant de 43,95 à 99,75 % à la concentration de 800 µg/ml. La différence observée entre les activités des différents extraits pourrait trouver une explication dans la composition en principe actif, et de ce fait des différentes réactivités face aux radicaux libres. Selon Conforti et *al.* (2005), la différence observée dans l'activité antioxydante des différents extraits s'expliquerait par le type de radicaux libres ou par la présence dans ces extraits de plusieurs composés bioactifs capables de produire les protons ou les atomes d'hydrogène pour stabiliser les radicaux libres.

Bien que ces extraits aient montré une bonne capacité de piégeage des radicaux libres, il était nécessaire de déterminer leur pouvoir réducteur total et leur potentiel antioxydant total par la méthode de FRAP car il est recommandé d'utiliser plusieurs méthodes dans l'étude des propriétés antioxydantes des plantes ou leurs extraits (Shahidi et *al.*, 2007). D'une manière générale, tous les extraits ont montré une faible habilité à réduire le fer comparativement à celle de la vitamine C utilisée comme standard (Fig. 9). Le résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle présente la forte capacité antioxydante (258,75

$\pm 24,01$ mg Eq vit C/g d'extrait) à 50 $\mu\text{g/ml}$. Cette variation de la capacité antioxydante des extraits serait liée à leur propriété redox qui leur permettrait d'agir comme des agents réducteurs, des donneurs de protons, des piègeurs des radicaux libres et des chélateurs des métaux (Amic et *al.*, 2003). En effet, ces extraits pourraient contenir des composés réducteurs capables de produire un atome d'hydrogène. L'habilité à réduire les ions ferriques de ces extraits pourrait être attribuée à la capacité des composés chimiques présents dans ces derniers à produire les hydrogènes.

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer le potentiel antioxydant et celle de FRAP qui a été initialement développée pour le plasma humain peut être utilisée pour mesurer le potentiel antioxydant des extraits de plantes (Katalinić et *al.*, 2003). Cette propriété mesure l'habilité de chaque extrait à donner les électrons et transformer les ions Fe^{3+} en Fe^{2+} . Selon Faujan et *al.* (2009), cette aptitude des extraits à réduire les ions ferriques pourrait être attribuée soit à leurs agents réducteurs tels que les groupes phénols soit aux nombres et les positions des groupes hydroxyles de ces groupes. Les travaux de plusieurs auteurs ont montré que les extraits aqueux présentaient le meilleur potentiel antioxydant. Ce qui ne corrobore pas les résultats obtenus dans notre étude car le meilleur potentiel antioxydant a été trouvé avec le résidu de l'extrait à l'acétate d'éthyle et le plus faible, avec son extrait alors que l'analyse phytochimique a révélé la présence des polyphénols dans tous ces deux extraits. Ces résultats pourraient trouver une explication dans la composition chimique, la position et le nombre de groupements hydroxyles contenus dans ces derniers. Xiuzhen et *al.* (2005) ont montré que la capacité de piégeage des radicaux libres était principalement due au groupement hydroxyle des composés polyphénoliques.

La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante. A la concentration de 800 $\mu\text{g/ml}$, l'extrait hexanique a montré un fort pouvoir réducteur ($\text{DO} = 0,39 \pm 0,01$) (Fig. 12). Cependant, cette valeur reste plus faible comparée à celle de la vitamine C ($\text{DO} = 0,70 \pm 0,11$). Les travaux d'Agbor et *al.* (2007) avaient plutôt montré un fort pouvoir réducteur avec les extraits aqueux de *chromolaena odorata*. Les résultats du pouvoir réducteur ont montré que les

extraits sont capables de produire les électrons pouvant réagir avec les radicaux libres pour les convertir en produits stables alors qu'Afolabi et *al.* (2007) ont pensé que ces résultats dépendaient de la nature et la combinaison des principes bioactifs contenus dans l'extrait. Ce résultat serait un effet synergique de tous les composés présents dans ces extraits. En outre, d'autres composés tels que les vitamines A et C et les minéraux comme le zinc potentialiseraient cet effet.

Les résultats des corrélations linéaires entre la détermination du potentiel antioxydant par la méthode de FRAP et les autres méthodes pour les différents extraits utilisés (Tableau XIV), pourraient souligner l'importance des composés chimiques des différents extraits comme antioxydants responsables de ces activités. Selon Agbor et *al.* (2007), ces coefficients de corrélations n'étant pas identiques, nous ne pouvons pas connaître la meilleure méthode pour les analyses des antioxydants. Cependant, le DPPH mesure l'activité piégeuse des radicaux et le FRAP, le pouvoir antioxydant réduisant les ions ferriques.

IV-5 Etude de la toxicité de l'infusion chez les rats

Les poids corporels, sont similaires à ceux obtenus chez les rats par Prometta et *al.* (2006) avec extraits aqueux de calices d'*Hibiscus subdoriffa*. Cette augmentation des poids corporels ne serait pas liée à l'effet diurétique de la plante comme Da Costa et *al.* (2000) avaient montré avec *E. Macrophyllus*. Puisque la consommation alimentaire a été mesurée dans cette étude, on peut dire que cette augmentation de poids serait une conséquence d'une stimulation d'appétit à une forte dose car dans nos études, nous avons trouvé que l'administration des infusions de *Brillantaisia vogeliana* à 42 mg/kg pendant 8 semaines entraînait plutôt une diminution du poids corporel. En fait, cet effet ne pourrait pas être la conséquence des effets toxiques de l'extrait, mais pourrait plutôt être dus à la présence des substances pharmacologiques qui seraient actives soit à des faibles doses et/ou dont les activités sont inhibées par d'autres substances à des concentrations élevées (Ribnicky et *al.*, 2004). Dans des études précédentes, Bogoniya et Rana (2006) ont montré que certaines plantes contiennent les alcaloïdes et les tannins hétérogènes qui

génèrent quelques effets toxiques tout au long de leur utilisation alors que les composés comme les sucres réducteurs, les flavonoïdes, les composés phénoliques présents dans la plante pourraient réduire la toxicité (Mutalik et *al.*, 2003)

Quant à la consommation en eau, les résultats sont similaires à ceux obtenus par Orisakwe et *al.* (2003) et Wabo et *al.* (2011). Toutes ces variations seraient une fois de plus liées à la composition chimique des différents extraits et le modèle animal utilisés dans ces différentes études.

L'évaluation des activités des enzymes des tissus et les liquides corporels joue un rôle significatif et bien défini dans l'investigation et le diagnostic des maladies (Malomo, 2000). La mesure des enzymes tissulaires peut indiquer un dommage cellulaire longtemps avant que les anomalies structurales ne soient découvertes par des techniques histologiques conventionnelles. De telles mesures pourraient donner un aperçu sur le site de dommage du tissu cellulaire, comme un résultat d'assaut par l'utilisation chronique ou subaiguë des extraits de plantes. Par exemple, la phosphatase alcaline est un marqueur de la fonction des membranes plasmiques et du réticulum plasmique (Wright et Plummer, 1974 ; Akanji et *al.*, 1993). Une augmentation des activités enzymatiques dont la PAL dans les fluides intracellulaires, après le traitement avec les extraits de plantes, pourrait être attribuée à la stimulation des molécules enzymatiques par les groupes phosphates à travers la phosphorylation de la choline et l'éthanolamine nécessaires pour la synthèse respective de la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine. On observe alors une altération de la fluidité de la membrane et une augmentation de la perméabilité de la cellule épithéliale (Malbica et Hart, 1971). En outre, l'estimation des activités des enzymes sériques telles que les GOT, GPT et la PAL peut être utilisée comme marqueur de la fonction hépatique. Lorsque la membrane plasmique des cellules hépatiques est endommagée par les substances hépatotoxiques, une variété d'enzymes et de composés localisés dans le cytosol sont libérés dans la circulation à travers la paroi cellulaire hépatique endommagée (Lim et *al.*, 2000). Leur estimation dans le sérum est un marqueur quantitatif précieux dans l'extension et la détermination du type de dommages hépatocellulaires (Miltra et *al.*, 1998). On a observé une augmentation significative de

l'activité des GPT dans les groupes traités comparé au contrôle contrairement à la GOT. Selon Fiacre et *al.* (2002), l'augmentation de la concentration de la GPT est généralement observée au cours des cytolyses hépatiques et musculaires, des insuffisances cardiaques, des tumeurs hépatiques, des cancers biliaires primitifs, etc. La réduction des activités de la GOT et de la PAL observée chez les animaux ayant reçu les extraits de plante pourrait montrer l'effet hépatoprotecteur de cet extrait. Ce qui nous fait penser que la tendance des activités de ces enzymes chez les rats ayant pris la dose de 500 mg /kg de produit à retourner vers celle des rats témoins, serait une manifestation claire de l'effet anti-hépatotoxique de l'extrait.

Le sérum contient environ 1% du phosphate total sous forme inorganique, fraction mesurée lors des analyses biochimiques. Une diminution des taux de phosphore peut être rencontrée en cas d'hyperparathyroïdisme, d'ostéomalacies ou de carence en vitamine D (Tietz, 1999), d'une augmentation de l'excrétion rénale, d'une diminution de l'absorption intestinale ou d'une restriction intracellulaire (Fiacre et *al.*, 2002).

Le site spécifique des dommages des protéines est perçu comme étant la cause majeure du dysfonctionnement métabolique durant la pathogénèse (Uday et *al.*, 1999). Ainsi la diminution des taux des protéines totales peut être considérée comme un index d'un sévère dysfonctionnement dans les pathologies hépatiques chroniques. L'augmentation des taux de protéines totales sériques (Tableau XXIV) chez les rats traités avec 2g de *Brillantaisia vogeliana* pourrait révéler une pathologie hépatique. Cette augmentation pourrait être soit l'effet d'une hémococoncentration, soit une élévation des taux des protéines spécifiques ou alors une hypergammaglobulinémies (Fiacre et *al.*, 2002). Selon Takate et *al.* (2010), cette augmentation des taux de protéines sériques est le résultat de la stabilisation du réticulum endoplasmique et d'une conservation du cytochrome P450.

L'activité de l' α -amylase sérique est fréquemment mesurée dans le diagnostic de pancréatite aiguë et chronique, sa concentration est habituellement associée aux pathologies pancréatiques chez plusieurs espèces. Cependant, selon Loeb (1999), l'amylase peut être aussi utilisée comme un indicateur des effets hépatiques car toutes les

formes isoenzymatiques de l'amylase sont aussi présentes dans les hépatocytes. Puisque aucun isoenzyme de l'amylase d'un organe spécifique n'a été étudié dans notre travail, il est incertain en ce moment de savoir si la variation des activités amyliques reflète les effets hépatiques et/ou pancréatiques (Rogers et *al.*, 2002). Ici, l'augmentation de l'activité de l'amylase serait liée à la présence des alcaloïdes dans l'extrait car selon Fiacre et *al.* (2002) l'activité de cette enzyme augmente avec la prise des opiacées.

Les variations de paramètres hématologiques observées après administration de 250 mg/kg de poids corporel d'extrait de plante seraient liées selon Akah et *al.*, (2009), non seulement à l'effet synergique des constituants chimiques mais aussi à la présence de certaines vitamines et des sels minéraux dans les feuilles qui semblent être les ingrédients actifs responsables des effets hématologiques des acanthaceae.

CONCLUSIONS

Au terme de ce travail, dont l'objectif général était d'étudier la toxicité et d'investiguer le mécanisme d'action des extraits de *Brillantaisia vogeliana* sur le métabolisme lipidique et les stress oxydatif chez les rats. Il convient de rappeler que les hypothèses testées étaient les suivantes :

Hypothèse 1

Les extraits de *B.v.* ont des effets sur les activités des enzymes clé du métabolisme lipidique.

Hypothèse 2

Les extraits de *B.v.* contiennent des composés antioxydants capables de protéger l'organisme contre le stress oxydatif.

Hypothèse 3

L'extrait aqueux de *B.v.* n'est pas toxique.

Il en ressort que :

➤ L'extrait hexanique a été le plus actif car il a montré une meilleure activité de la lipase sérique et de la LCAT tandis que le résidu de l'extrait hexanique a montré une meilleure inhibition de l'activité de l'hydroxy méthyl glutarylcoA réductase.

➤ L'infusion et l'extrait hexanique ont montré une bonne activité antioxydante aux niveaux hépatique et rénal lorsqu'on compare les taux de groupes thiols non protéiques, les activités de la catalase et la SOD à ceux du témoin et aux autres extraits. Le résidu de l'extrait hexanique provoque de manière significative un ralentissement de la peroxydation lipidique.

➤ Quant au potentiel antioxydant des différents extraits, la plus grande activité antiradicalaire par la méthode de DPPH a été obtenue avec l'extrait à l'acétate d'éthyle ($CI_{50} = 1,974 \mu\text{g/ml}$) et sur les radicaux HO° , avec ses résidus ($CI_{50} = 7,123 \mu\text{g/ml}$). Tous les extraits testés ont également montré un pouvoir réducteur et un potentiel antioxydant dont les plus intéressants ont été obtenus respectivement avec les résidus de l'extrait

hexanique ($DO=0,383 \pm 0,045$) et de l'extrait à l'acétate d'éthyle ($930,58 \pm 0,89$ mg vitC Eq/g d'extrait). Il a été trouvé des corrélations positives très significatives ($p < 0,001$) entre le potentiel antioxydant total et le piégeage des radicaux de DPPH, HO° et le pouvoir réducteur total sauf avec l'extrait à l'acétate d'éthyle qui a plutôt présenté des corrélations négatives non significatives.

➤ L'étude toxicologique de avec sa DL 50 supérieure à 2g/kg n'est pas toxique et classée dans le groupe 5 selon GHSS malgré l'augmentation de l'activité de l' α -amylase et des protéines sériques. Cependant une dose supérieure à 250 mg/kg augmente l'activité de la GPT et diminuent le taux sérique du phosphore et provoque des légères modifications architecturales des reins, du foie, du cœur, de la rate et des poumons.

PERSPECTIVES

Pour évoluer vers des étapes de valorisation concrètes de cette plante, nos investigations futures porteront sur :

- Une analyse plus poussée de la composition chimique des différents extraits et l'isolement si possible les différents principes actifs.
- Des études toxicologiques des extraits hexaniques et d'acétate d'éthyle.
- Approfondissement du mécanisme d'action des différents extraits via les activités des autres enzymes impliqués dans le métabolisme des lipides tels que la Cholestérol ester transfer protein (CETP) et l'Acyl cholestérol AcylCoA transférase (ACAT).
- Des toxicités sub-chroniques et chroniques de l'infusion des feuilles de cette plante.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Afolabi CA, Ibukun EA and Dan-Ologe IA. *Phytochemical constituents and antioxidant properties of extracts from the leaves of Chromolaena odorata*. *Sci. Res. Essay*, **2** (6): 191-194 (2007).

Agbor G., Vinson J., Oben E. and Ngogang Y. *Comparative analysis of the in vitro antioxidant activity of the white and black pepper*. *Nutr. Res.*, **26**:659-663 (2006).

Agbor G., Kuate D. and Oben J. *Medicinal plants can be good source of antioxidant: case study in Cameroon*. *Pakistan J. Biol. Sci.*, **10** (4): 537 – 544 (2007).

Ahmed MH. and Byrne CD. *Modulation of sterol regulatory element binding proteins (SREBP) as potential treatment for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)*. *Drug Discover today*, **12**: 740-747(2007).

Akanji MA., Olangoke OA and Oloyede OB. *Effect of chronical consumption of metabisulfite on the integrity of the kidney cellular system*. *Toxicol.*, **81**:173-179 (1993).

Akah PA., Okolo CE and Ezike AC. *The haematinic activity of the methanol leaf extract of Brillantaisia nitens Lindau (Acanthaceae) in rat*. *Afr. J. Biotech.*, **8** (10): 2389-2393 (2009).

Akiyemi KO, Oladapo O, Okwara CE, Ib CC, Fasure KA. *Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South-West Nigeria unorthodox medicine antimethicillin resistant Staphylococcus aureus activity*. *BMC complmentary and alternative medicine*, **5** (6): 1-7 (2005).

Ames BN, Shigenaga MK and Hagen TM. *Oxidants, antioxidants and the egenerative diseases of aging*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **90**: 7915-7922 (1993).

Amic D, Davidivic AD, Beslo D, Trinasjstic N. *Structure-radical scavenging activity relationship of flavonoids*. *Croatia Chem. Acta*, **76**:55-61 (2003).

Andrea MV, James W, Russell PL and Eva LF. *Oxidative stress in the pathogenesis of diabetes neuropathy. Endocrine Reviews*, **25**: 612 – 628 (2005).

Anuradha CV and Balakrishma SD. *Effect of training on lipid peroxidation, thil status and antioxidant enzymes in tissues of rats. Indian J. Physiol. Pharm.*,**42**: 64-70 (1998).

Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S and Robards K. *Methods for testing antioxidant activity. The analyst*, **127**: 183-198 (2002).

Ashok K., Somayazi SN and Bairy KL. *Hepatoprotective effects of Ginkgo biloba against carbone tetrachloride induced hepatic injury in rats. Indian J. Pharm.*,**33**: 260-271 (2001).

Badami S., Rai SR and Suresh B. *Antioxidant activity of Aporosa lindleyana root. J. Ethnopharmacol.*,**101**: 180–184 (2005).

Beckman KB and Ames BN. *The free radical theory of aging matures. Physiol. Rev.* **78**: 547-581 (1998).

Benzie IFF et Strain JJ. *The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Anal.Biochem.***239**: 70-76 (1996).

Bhandari U., Ansari NM., Islam F. and Tripathi CD. *The effect of aqueous extract of Embelia ribes burm on serum homocysteine, lipids and oxidative enzymes in methionine induced hyperhomocysteinemia. Indian J. pharm.*, **40** (4): 152-157 (2008).

Bogoniya P. and Rana AC. *Hemolytic and in vitro antioxidant activity of saponins isolated from Euphorbia nerifolia leaf. Recent progr. In med. Plant*, **2**:359-376 (2006).

Bopda MO. *Effets des extraits de Brillantaisia nitens landau (acanthacées) sur le système cardiovasculaire des rats. Thèse de Doctorat/Ph D en physiologie animale. Université de Yaoundé I*, 210 P (2008).

Bougnères P. *Genetics of obesity and type 2 diabete: tracting pathogenic during the predisease period. Diabetes*,**51**(3): 295-303 (2002).

- Braissant O, Foufelle F, Scotto C, Dauca M, and Wahli W. *Differential expression of peroxisome proliferator activated receptor: tissue distribution of PPAR α , β and δ in the adult rats. Endocrinology, 137: 354-366 (1996).*
- Brand-Willians EW, Cuvelier, M and Berset, C. "Use of free radical method to evaluate antioxydant activity." *Lebensm Wiss Technol*, 28: 25 – 30 (1995).
- Bruneau G, Vaisse C, Caraty A, Monget P. *La leptine: une clé pour la reproduction médecine/sciences, 15 : 191-6 (1999).*
- Buang Y, Wang YM, Cha JY, Nagao K, Yanagita T. *Dietary phosphatidylcholine alleviates fatty liver induced by orotic acid. Nutrition, 21: 867-873 (2005).*
- Burstein M. and Scholnick HR. *Lipoprotein polyanion interaction. Andrac.Lipid.Res. 11-67 (1973).*
- Cao G. and Prior R. *Comparison of different analytical methods for assessing TCA of human serum. Clin. Chem., 44:1309-1315 (1998).*
- Carl JL., Richard VM. and Hector OV. *Obesity and cardiovascular disease risk factor, paradox, and impact of weight loss. J. Am. Col. Cardiology. 53 (21): 1925-1932 (2009).*
- Chandrasekar MJN., Praveen B., Nanjan MJ. and Suresh B. *Chemoprotective effect of Phyllanthus maderaspatensis in modulating cisplatin-induced nephrotoxicity and genotoxicity. Pharm. Biol., 2: 100-106 (2006).*
- Chapman MJ. *Animal lipoproteins; Chemistry, structure and comparative aspects. J. Lipid Res., 21:789-853 (1980).*
- Chen QC. and Qu Q. *Formation of intracellular free radicals in guinea pig airway epithelium during in vitro exposure to ozone. Toxicol. Appl. Pharmacol., 143: 96- 101 (1997).*

Conforti F., Loizzo MR., Satatti GA.² and Menichini F. *Comparative radical scavenging and antidiabetic activity of methanolic extract and fraction from Achilla linguistica. All.Bio. Pharm. Bull.*, **28** (9):1791-1794 (2005).

Conway D. *The magic of herbs. Jonathan cape*, London P. 158 (1973).

Cortopassi GA., Shibata D., Soong NW. and Arnheim NA. *Pattern of accumulation of a somatic deletion of mitochondrial DNA in aging human tissues. Proc. Natl. Acad. Sci.*, **89**: 7370-7374 (1992).

Cowan MM. *Plants products as antimicrobial agents. Clini. Microbiol. Rev.*, **12** (4): 564-582 (1999).

Da Costa LL., Albano F., Laranja GAT., Alves LM., Silva LFM., De Souza GP., Arujo IM., Neto JFN., Felzenszwalb I., Kovary K. *Toxicological evaluation by in vitro and in vivo assay of an aqueous extract prepared from Echnidorus macrphyllus leaves. Toxicol. letters*, **116**:189-198 (2000).

Dröge W. *Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol. Rev.*, **82**: 47-95 (2002).

Dyrbukt JM., Atzori L., Edman CC., Rafsstrom RC. *Thiol status and cytopathological effects of acrolein in normal and xeroderma pigmentosum skin fibroblasts. Carcinogenesis*,**1**: 975-980 (1993).

Edem DO. and Akpanabiatu MI. *Effects of palm oil-containing diets on enzyme activities of rats. Pakistan J. Nutr.*,**5** (4): 301-305 (2006).

Ellman GL. "Tissue sulfhydryl groups." *Arch. Biochemistry and Biophysic*, **82**: 70 (1959).

Enzo AP. *Phytochemicals from traditional medicinal plants used in the treatment of diarrhea: modes of action and effects on intestinal function. Phytother. Res.*, **20**: 717-724 (2006).

Etoundi Ngoa LS., Longo F., Melaman SF., Temgoua TS. et Bopelet M. *Obésité, hypertension artérielle et diabète dans une population de femmes rurales de l'Ouest du Cameroun. Méd. Afr. Noire*, **48** (10):391-393 (2001).

Evans WJ. *Vitamin E, vitamin C, and exercise. Am. J. Clin. Nutr.*, **72**: 647-652 (2000).

Faujan HN., Noriham A, Norrakiah AS., Babji AS. *Antioxidant activity of plants metabolic extracts containing phenolic compounds. Afr. J. Biotech.*, **8** (3):484-489 (2009).

Fiacre A, Plouvier E et Vincelot A. les examens de laboratoire. Ed Maloine. 324 P. 2002.

Friedewald WT, Levi R and Frederickson DS. *Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. Clin. Chem.*, **18**: 499-502 (1972).

Garcia-Alonso M., Pascual-theresa S., Santos-Buelga C. and Rivas-Gonzalo JC. *Evaluation of antioxidant properties of fruits. Food Chem.*, **84**:13-18 (2004).

Gupta S., Sharma SB., Prabhu KM. and Bansal SK. *Protective effect of Cassia auriculata leaf extract on hyperglycemia induced oxidative stress and its safety evaluation. Indian J. Biochem. Biophys.*, **46**: 371-377 (2009).

Gutteridge JM. and Halliwell B. *Comments on review of Free Radicals in Biology and Medicine, 2nd Ed. by Halliwell B and Gutteridge JMC. Free Radic. Biol. Med.*, **12**: 93-95 (1992).

Halliwell B. *Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. Am. J. Med.*, **91**: 14 – 20 (1991).

Halliwell B. and Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine. 2^e Ed. Clarendon Press Oxford pp: 23-30 (1989).*

Hassel CA., Mensing EA. and Gallacher DD. *Dietary stearic acid reduces plasma and hepatic cholesterol concentration without increasing bile acid excretion in cholesterol-fed hamsters. J. Nutr.*, **127**: 1148-1155 (1997).

Heine H. *Flore du Gabon. Publié sous les auspices du gouvernement de la république du Gabon et sous la direction de A. Aubreville*, 83-95 (1938).

Hennessy L., Osada J., Ordovas J., Nicolosi R., Stucchi A., Rousseau M. and Schaefer E. *Effect of dietary fats and cholesterol on liver lipid content and hepatic apolipoprotein A-I, B and E and LDL receptor mRNA levels in cebus monkeys. J. Lipid. Res.*, **33** (3): 357 – 360 (1992).

Herman, GE. Disorders of cholesterol biosynthesis: prototypic metabolic malformation syndromes. *Human Molecular Genetics*. 12 Spec No 1:R75-88 (2003)

Hisham W and Mohammed A. *The effect of oxidative stress on human red cells glutathione peroxidase, glutathione reductase level, and prevalence of anemia among diabetics. North Am. J. Med. Sc.* **3**. (7): 344-347 (2011)

Hoffman D. *Obesity and cardiovascular disease. Pathogenic rule of the metabolic syndrome and therapeutic implication. J. Diabetes compl.*, **14** (3): 154 – 174 (2001).

Hong JH., Kim MJ., Park MR., Kwag OG., Lee IS., Byun BH., Lee SC., Lee KB. and Rhee SJ. *Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. Clin. Chim. Acta*, **340**: 107-115 (2004).

Horton JD., Goldstein JL. and Brown MS. *SREBPs activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. J. Clin. Invest.*, **109**: 1125-1131 (2002).

Hossain P., Kavar B., Nahas ME. Obesity and diabetes in the developing world. A growing challenge. *Engl Jour. Med*, **356**: 213-215 (2007).

Hu XQ., Wang YM., Wang JF., Xue Y., Li ZJ., Nagao K., Yanagita T. and Xue CH. *Dietary saponins of sea cucumber alleviate orotic acid-induced fatty liver in rats via PPAR α and SREBP 1-C signaling.* *Lipid in health and disease*, **9**: 1-9 (2010).

Huang TT, Carlson EJ, Kozy HM, Mantha S, Goodman SI, Ursell PC and Epstein CJ. *Genetic modification of prenatal lethality and dilated cardiomyopathy in Mn superoxide dismutase mutant mice.* *Free Radic. Biol. Med.*, **31**: 1101-1110 (2001).

Hulbert AJ. *On the importance of fatty acid composition of membranes for aging.* *J. Theor. Biol.*, **234**: 277- 288 (2005).

Izzo AA. *Herb-drug interactions: an overview of the clinical evidence.* *Fundam clin. Pharm.*, **19** : 1-16 (2004).

Jacotot et Le Parco. *Nutrition et alimentation.* Edition Masson. 2^e Ed. 112-115 (1999).

Jashree V., Badami S. and Praven TK. *Antioxidant and hepatoprotective effect of the ethyl acetate extract of *Enicostemma axillare* (Lam) Raynal against CCl₄-induced liver injury in rats.* *Indian J. Exp. Biol.*, **48**: 896-904 (2010).

Javanmardi J., Stushnoff C., Locke E. and Vivanco JM. *Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions.* *Food Chem.*, **83**: 547-550 (2003).

Ji LL., Fu R. and Mitchell EW. *Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity.* *J. Appl. Physiol.*, **73**: 1854-1859 (1992).

Jonas A. *Lecithine cholesterol acyltransferase.* *Biochem. Bioph. Acta*, **1529**: 245-256 (2000).

Kamgang R., Njomen PSN., Soua PRN., Oyono LET and Njifutie N. *Protective effect of methanol/methylene chlorure extract of *Terminalia glaucescens* leaves on streptozotocin-induced diabetes in mice.* *Trop. Jour. Pharm. Res.*, **8** (1):19-26 (2009).

Katalinić V., Milos M., Kulisic T. and Jukic M. *Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenol.* *Food Chem.*, **94**: 550-557 (2003).

Kavithalakshmi SN., Madhusudhanan N., Shanmugasundaram KR., Shanmugasundaram ERB. *Antioxidant activity of a salt-spice-herbal mixture against free radical induction. J. Ethnopharm.*, **105**: 76-83 (2006).

Keller U. *Complications de l'obésité et modalités thérapeutiques. Forum med. Suisse curriculum.* **39** : 908-913 (2002)

Khosla P. and Hayes K. *Dietary fat saturation in rhesus monkeys affects LDL concentrations by modulating the independent production of LDL apolipoprotein B. Biochem. Biophys. Acta*,**1083** (1): 46 – 56 (1991).

Kodali S., Galgoci A., Young K., Painter R., Silver LL., Herath KB. *Determination of selectivity and efficacy of fatty acid synthesis inhibitors. J. Biol. Chem.*, **280**:1669-77 (2005).

Kousta E. et Franks S. *Le syndrome des ovaires polykystiques et les femmes atteintes de diabète. Diabetes voice*, **51** (4) : 23-25 (2006).

Krestchmar M. and Klinger W. *The hepatic glutathione system-influences of xenobiotics. Exp. Pathol.*, **38**: 145-164 (1990).

Krishna BM., Nammi S., Kota KM., Krishna RRV., Koteswara RN. and Annapurma A. *Evaluation of hyperglycemic and antihyperglycemic effects of Datura metel (Linn) seeds in normal and alloxan-induced diabetic rats. J. Ethnopharmacol.*, **91**:95-98 (2004).

Kuivenhoven JA., Pritchard H., Hill J., Assmann G., Kastelein J. *The molecular pathology of lecithin: acyltransferase (LCAT) deficiencies syndromes. J. Lipid Res.*, **38**: 191-205 (1997).

Kurata M., Suzuki M., Agar NS. *Antioxidant systems and erythrocyte life span in mammals. Comp. Biochem. Physiol.*, **106** (Part B): 477–487 (1993).

Lagrost L. *Relationship of cholesteryl ester transfer protein (CETP) to arteriosclerosis. In Plasma lipids and their role in disease, Barter PJ, Rye KA advance vascular Biology, 5: 217-231 (1999).*

Lawrence B. and Rae-chi H. *Chilwood obesity, hypertension, the metabolic syndrome and adult cardiovascular disease. Clin. Exp. Pharm. Physiol., 35 (4): 409-411 (2008).*

Lavigne E. *L'obésité : un poids pour la fertilité. Planète Santé, 28-29 (2011).*

Levenson JW., Skerrett PJ., Gaziano JM. *Reducing the global burden of cardiovascular disease: the role of risk factors. Prev. Cardiol., 5(4):188-199 (2002).*

Levine RL. *Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. Free Radic. Biol. Med., 32: 790-796 (2002).*

Lim HK., Kim HS., Chung MW. and Kim YC. *Protective effects of bergenin, the major constituent of Mallotus japonicum, on D-galactamine-intoxicated rat hepatocytes. J. Ethnopharmacol., 70: 69-72 (2000).*

Liu RH. *Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. J. Nutr., 134: 3479-3485 (2004).*

Loeb WF. *The rat. Clin. Chem. of lab., 34: 33-48 (1999).*

Luycky F. and Scheen. *Recommendation for treatment of obesity. Rev. Med. Liege, 55 (5): 367-371 (2000).*

Maire B., Delpeuch F. *La transition nutritionnelle, l'alimentation et les villes dans les pays en développement. Agricultures, 13: 23-30 (2004).*

Malbika JO. and Hart LG. *Effect of Adenosine triphosphate (ATP) and anti-inflammatory agents on purified lysosomal having high acid phosphatase and labile glucuronidase activity. Biochem. Pharm., 20: 2017-2022 (1971).*

Malomo SO. *Toxicological implication of Ceftriaxone administration in rats. Nigeria J. Biochem. Mol. Biol., 15: 33-38(2000).*

Mannangatti V., Balasubramaniam A., Manivannan R. and Kumar NS. *Antioxidant potential of ethanol extract of Bauhinia tomentosa (Linn) flower. Res. J. Pharm., 1(2): 143-147 (2010).*

Marnett LJ. *Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. Mutat. Res., 424: 83-95 (1999).*

Mates JM., Perez-Gomez C. and Nunez de Castro I. *Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem., 32: 595-603 (1999).*

Maurizio P., Leonard G., Biasi F., Albano E., Biocca ME., Poli G. and Diazani MU. *Vitamine E dietary supplementation protects against carbon tetralchloride-induced chronic liver damage and cirrhosis. Hepatology, 16: 1014-1021 (1992).*

Mbanya JC., Ngongang J., Salah JN., Minkoulou E., Balkan B. *Prevalence of NIDDM and impaired glucose tolerance in rural and urban population in Cameroon. Diabetologica, 40:824–826 (1997).*

Merker N., Wagner N., Kirch W., Muller MJ. *Early prevention of obesity and cardiovascular diseases. Dtch. Med. Woschenscher, 127 (50): 2661-2663 (2002).*

Miliauskas G., Venskutonis PR. and Vanbeek TA. *Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. Food Chem., 85: 231-237 (2004).*

Misra HP. and Fridovich I. *The role of superoxide ion in the anti oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. J. Biol. Chem., 247:3170-3175 (1972).*

Miltra SK. , Venkataranganna MV., Sundaram R., Gopumadhavan S. *Protective effect of HD 03, a herbal formulation, against various hepatotoxic agents in rats. J. Ethnopharm., 63: 181-186 (1998)*

Miyazawa S., Furuta S., Hashimoto T. *Reduction of beta-oxidation capacity of rats liver mitochondria by feeding orotic acid. Biochem. Biophys. Acta., 711: 494-502 (1982).*

Mutalik S., Sulochana B., Chetana M., Udupa N. and Uma Devi P. *Preliminary studies on acute and subacute toxicity of an antidiabetic herbal preparation. Dianex. Indian J. Exp. Biol.*, **41**: 316-320 (2003).

Navab M., Anantharamaiah GM., Reddy ST., Hama S., Hough G., Grijalva VR. *Oral D-4F causes formation of pre-beta high-density lipoprotein and improves high-density lipoprotein-mediated cholesterol efflux and reverse cholesterol transport from acrophages in apolipoprotein E-null mice. Circulation*, **109**:3215-20 (2004).

Njamnshi A., Hiag AB., Mbanya JC. *De la recherche à la politique développement d'un programme national du diabète au Cameroun. Diabetes voice*, **51**(3):18-21 (2006).

Nomura K., Imai H., Koumura T., Kobayashi T and Nakagawa Y. *Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase inhibits the release of cytochrome c from mitochondria by suppressing the peroxidation of cardiolipin in hypoglycaemia-induced apoptosis. Biochem. J.*, **351**: 183-193 (2000).

Noubissi KF. *Etude des effets de Brillantaisia vogeliana (Nées) Benth. (Acanthacées) sur le taux des lipides sériques chez les rats. Thèse de Doctorat 3^{ème} cycle Université de Yaoundé I*, 144 (1998).

Okado-Matsumoto A. and Fridovich I. *Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu,Zn-SOD in mitochondria. J. Biol. Chem.*, **276**: 38388-38393 (2001).

Okwu DE. *Phytochemical and vitamin content in indigenous spices of South Eastern Nigeria. J. Sustain Agric. Envir.*, **6**: 30-34 (2004).

OMS. *Obesity. Preventing and Managing the Global Epidemic, Report of WHO Consultation, Geneva. 1998*

ONU. *Joint United Nations Programme on HIV/AIDS, Together We Will EndAIDS, 2012*

ONUSIDA/UNICEF/OMS. *Vers un accès universel. Etendre les interventions prioritaires liées au VIH/Sida dans le secteur de la santé. Rapport de situation 2009.* Genève. ONUSIDA/UNICEF/OMS. *Google Scholar*

Orisakwe OE., Afonné OJ., Chude MA., Obi E. and Dioka CE. *Subchronic toxicity studies of the aqueous extract of Boerhovia diffusa leaves. J. Health Sci., 49* (6): 444-447 (2003).

Osborne TF. *Sterol regulatory element binding proteins (SREBP): key regulators of nutritional homeostasis and insulin action. J. Biol. Chem., 275*: 2379-2382 (2000).

Oweyele VB., Oloriegbe YY., Balogu and Soladoye AO. *Analgesic and anti-inflammatory properties of Nelsonia canescens leaf extract. J. Ethnopharmacol., 99*: 153-156 (2005).

Oyaizu M. *Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of product of browning reaction prepared from glucosamine. Japan J. Nutr., 44*: 307-315 (1986).

Packer L., Tritschler HJ. and Wessel K. *Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. Free Radic. Biol. Med., 22*: 359-378 (1997).

Pamplona R. *Croquez la vie. Ed editorial safeliz* PP 17-62 (2000).

Padma P. and Setty OH. *Protective effect of Phyllanthus fraternus against carbon tetrachloride induced mitochondrial dysfunction. Life Sciences, 64*: 2411 – 2417 (1999).

Pamplona R., Portero-Otin M., Ruiz C., Gredilla R., Herrero A. and Barja G. *Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. Mech. Ageing Dev., 112*: 169-183 (2000).

Peng J., Jones GL. and Watson K. *Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: effects of antioxidant supplements. Free Radic. Biol. Med., 28*: 1598-1606 (2000).

Pietta PG. *Flavonoids in medicinal plants. In: Flavonoid in Health and Disease.* Rice-Evans, CA and L Packer (Eds), New York: Dekker, 61-110 (1998).

Pousset JL. *Plantes médicinales africaines : utilisation pratique*. Edition ellipse Paris. 1-60 (1989).

Powers SK. and Lennon SL. *Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle*. *Proc. Nutr. Soc.*, **58**: 1025-1033 (1999).

Pradhan AD., Skerrey PJ., Manson JE. *Obesity, diabetes and coronary risk in women*. *J. Cardiovasc. Risk*, **9** (6): 323-330 (2002).

Prommetta P., Laddawal PN., Chaichantipyuth C., Nuansri N. and Sounsong L. *Aqueous extract of calyces of Hibiscus subdariffa Linn: effect on hepatic Cytochrome P450 and sub-acute toxicity in rats*. *Thai. J. Pharm. Sci.*, **30**: 8-18 (2006).

Rachid B. *Respiratory pathologies due to obesity*. *Journal of French-Vietnamese Association of Pulmonology*, **03** (06): 1-50 (2012).

Rao MS. and Reddy JK. *Peroxisomal beta-oxidation and steatohepatitis*. *Semin Liver Dis.*, **21**:43-55 (2001).

Raghavan R. and Kumari K. *Effect of Terminalia arjuna stem bark on antioxidant status in liver and kidney of alloxan diabetic rats*. *Indian J. Physiol. Pharm.*, **50** (2):133-142 (2006).

Rankin I., Ribnicky DN., Koumarnytsky S., Llic N., Poulev A., Borisjuk N., Brinker A., Morenco DA., Ripoll C., Yakoby N., Oneal JN., Corawell T., Pastor I., Fridlender B. *Plants and human health in the twenty first century*. *Trends Biotech.*, **20** (12): 522-531 (2002).

Raisonnier A. *Métabolisme des lipoprotéines plasmatiques*. *Lipides et lipoprotéines*. 86 – 106 (2004).

Reddy JK. and Hashimoto T. *Peroxisomal beta-oxidation and peroxisome proliferator activated receptor alpha: an adaptative metabolic system*. *Ann. Rev. Nutr.*, **21**: 193-230 (2001).

Richter C., Park JW. and Ames BN. *Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. Proc. Natl. Acad. Sci.*, **85**: 6465-6467 (1988).

Rinicky DM., Poulev A., O'Neal J., Wnorowski G., Malek DE., Jäger R. and Raskin I. *Toxicological evaluation of the ethanolic extract of Artemisia dracuncululus L. for use as a dietary supplement and in functional foods. Food Chem. Toxicol.*, **42**: 585-598 (2004).

Rogers VV., Wickstrom M., Liber K. and Mackinnont DM. *Acute and subchronic Mammalian toxicity of naphthenic acids from oil sands tailings. Toxicol. Sci.*, **66**: 347-355 (2002).

Rutledge AC. and Adeli K. *Fructose and the metabolic syndrome: physiology and molecular mechanisms. Nutr. Rev.*, **65**:13-23 (2007).

Sambrekar SN., Patil PA. and Kangralkar VA. *Protective activity of Embelia tsjeriam-cottam fruit extract against paracetamol induced hepatic damage in wistar rat. J. Cell Tissues Res.*, **10** (3): 2371-2374 (2010).

Sampathkumar R., Siva KT., Siva KP., Netaji R., Vijayabaskar M., Perumal P., Gupta M. and Mazumdar UK. *Hepatoprotective and in vivo antioxidant effects of Careya arborea against carbon tetrachloride induced liver damage in rats. Int. J. Mol. Med. Adv. Sci.*, **1**: 418–424 (2005).

Sanchez MC., Larrauri JA., Santa-Calixto F. *Free radical scavenging capacity of selected red, rose and white wines. Jour. Biol. Food Agricul.*, **79**: 1301-1304 (1999).

Santhakumari A., Prakassam A. and Pugalendi KV. *Modulation of oxidative stress parameters by treatment with piper betle leaf in streptozotocin induced diabetic rats. India J. Pharm.*, **55**: 373-378 (2003).

Sawarkar HA., Khadabadi SS., Wandhare MD., Farooqui IA. and Deokate. *The antioxidant activity of the leaves of Barleria grandiflora Dalz.(Acanthacées). Ethnobotanical leaflets*, **13**: 443-449 (2009).

Sawadogo WR., Meda A., Lamien CE., Kiendrebeogo M., Guissou IP. and Nacoulma OG. *Phenol content and antioxidant activity of six Acanthacées from Burkina Faso.* *J. Botanic. Sci.* **6** (2): 249-252 (2006).

Scheen A. Clinical study of the month. *Prevention of type 2 diabetes in over weight patient with impaired glucose tolerance: efficiency of lifestyles changes.* *Rev. Med. Liege,* **56** (6): 463 – 465 (2001).

Sebastian T. and Setty OH. *Protective effect of P. fraternus against ethanol induced mitochondrial dysfunction.* *Alcohol,* **17**: 29 – 34 (1999).

Sen CK. *Oxygen toxicity and antioxydants: state or the art.* *Indian J. Physiol. Pharm.,* **39**: 177-196 (1995).

Sentman ML., Granstrom M., Jakobson H., Reaume A., Basu S. and Marklund SL. *Phenotypes of mice lacking extracellular superoxide dismutase and copper- and zinc-containing superoxide dismutase.* *J. Biol. Chem.,* **281**: 6904-6909 (2006).

Shahidi F., Janitha PK. and Wanasundara PKJPD. *Phenolic antioxidants.* *Crit. Rev. food Sci. Nutr.,* **32**: 67-103 (1992).

Shahidi F. and HO CT. Eds. *Antioxidant measurement and application.* *Amer. Chem. Soc., Washington, DC.* ACS Symposium Series 956 (2007).

Sharique A. and Seerat BH. *"Ascorbic acid, Carotenoids, Total Phenolic content and Antioxidant activity of various genotypes of Brassica Oleracea encephala."* *journal of medical and biological sciences* **3**(1): (2009).

Sharmugasundaram P. and Venkataraman S. *Hepatoprotective and antioxidant effect of Hygrophila auriculata (K. Schum) Heine acanthaceae root extract.* *J. Ethnopharmacol.,* **3**:135-142 (2005).

Shigetada F., Takuya F., Michio S., Masanori I., Yukio Y., Yoshimitso N., Osamu N., Makoto M., Morihiro M. and Lichiro S. *Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. J. Clin. Invest.*, **114** (12): 1752-1761 (2004).

Shreshta S., Ehlers SJ., Lee JY., Fernandez ML. and Koo SI. *Dietary green tea extract lowers plasma and hepatic triglycerides and decreases the expression of sterol regulatory element binding proteins 1-C mRNA and its response genes in fructose fed, ovariectomized rats. J. Nutr.*, **139** (4): 640-645 (2009).

Sicree R., Shaw J., Zimmet. *The Global Burden: diabetes and impaired glucose tolerance. In Diabetes Atlas, IDF. 4th edition. Brussels: International Diabetes Federation; 2009.*

Singh DK., Mokashi V., Elmore CL. and Porter TD. *Phosphorylation of supernatant protein factor enhances its ability to stimulate microsomal squalene monooxygenase. Jour. Biol. Chem.*, **278**:5646-5651(2003).

Sinha BK., Mimnaugh EG. and Myers CE. *Andryamycin activation and oxygen free radical formation in human breast tumor cells. Cancer Ressources*, **49**: 3844 – 3848 (1972).

Skulachev VP. *Cytochrome c in the apoptotic and antioxidant cascades. FEBS Lett.*, **423**: 275-280 (1998).

SNDLF. *Cahier de nutrition et de diététique. Edition Masson*, **36** :1-163 (2001).

Sofowora A. *Medicinal plants and traditional medicine in Africa. Karthala*, 1-80 (1982).

Sofowora A. *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala*, 1-8 (1996).

Srinivasan K. *Plant food in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts. Int. J. Food Sci.*, **56** (6): 399-414 (2005).

Srinivasan R., Chandrasekar MJN., Nanjan MJ., Suresh B. *Antioxidant activity of Caesalpinia digyna root. J. Ethnopharmacol.*, **113**: 284–291 (2007).

Srinivasan A. et Menon VP. *Protection of β -cell by the potential antioxidant bis-O-hydroxycinnamoyl methane, analogue of natural curcuminoid in experimental diabetes. J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **6** (3): 327-333 (2003).

Stief TW. *The blood fibrinolysis/deep-sea analogy: a hypothesis on the cell signals singlet oxygen/photons as natural antithrombotics. Thromb. Res.*, **163**: 480 – 529 (2000).

Stryer L. *Biochemistry*. 2nd Ed. WH Freeman and company. New York.383-476 (1985).

Stuehr DJ., Kwon NS. and Nathan CF. *FAD and GSH participate in macrophage synthesis of nitric oxide. Biochem. Biophys. Res. Comm.* **168**: 558 – 565 (1990).

Sturtz LA., Diekert K., Jensen LT., Lill R. and Culotta VC. *A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. J. Biol. Chem.*, **276**: 38084-38089 (2001).

Sujay R., Atul W., Kakali M., Bishnu PS., Pulok KM. *Antioxidant activity of Nelumbo nucifera (sacred lotus) seeds. J. Ethnopharmacol.*, **104**: 322-327 (2006).

Sundram K. and Top AGM. *Vitamin E from palm oil. Its extraction and nutritional properties. Palmas*, **15**: 77- 82 (1994).

Sylva SM. *Human biology*.5th Ed. WCB/McGraw-hill.27-28 (1998).

Takate SB., Pokharkar RD., Chopade VV. and Gite VN. *Hepatoprotective activity of the ethyl acetate extract of Launaea intybacea (JACQ) BEAUV in paracetamol induced hepato-toxicity in albino rats. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, **1** (2): 72-74 (2010).

Tawari AK. *Antioxidants, new generation therapeutic base for treatment of polygenic disorders. Curr. Sci.*, **86**: 1092-1100 (2004).

Telefo PB, Moundipa PF and Tchouanguiep FM. *Inductive effect of the leaf mixture extract of Aloe buttneri, Justicia insularis, Dicliptera verticillata and Hibiscus macranthus on in vitro production of estradiol. J. Ethonopharmacol.*, **91**: 225-230 (2004).

Thomas J., Shentu TP. and Singh DK. *Cholesterol: Biosynthesis, Functional Diversity, Homeostasis and Regulation by Natural Products, Biochemistry, Prof. Deniz Ekinici (Ed.), ISBN:978-953-51-0076-8, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/biochemistry/cholesterol-biosynthesis-functional-diversity-homeostasis-and-regulation-by-natural-products> (2012)*

Tietz NW. *Text book of clinical chemistry*, 3rd Ed. CA Burtis, ER Ashwood, WB Saunders P. 1406-1457 (1999).

Toussaint JF., Jacob MP., Lagrost L., Chapman J. *Athérosclérose : physiologie, diagnostics, thérapeutiques*. Edition Masson Paris.Pp: 1-5 (2003).

Trease GE et Evans WC. *Pharmacognosy*, 12th Ed Bailliere Tindal, London (1983).

Tripathi YB., Chaurasia S., Tripathi E., Upadhyay A. and Dubey GP. *Bacopa monierrra Linn. As an antioxydant: mechanism of action. Indian J. Exp. Biol.*, **34**: 523-526 (1996).

Uday B., Das D., Banerjee KR. *Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. Curr. Sci.*, **77**: 658-668 (1999).

UN Das. *Nutritional factors in the pathology of human essential hypertension. Nutr.*, **17** (4) 337-346 (2001).

Vijaya C., Ramanathan M. and Suresh B. *Lipid lowering activity of ethanolic extract of leaves of Aegle marmelos (Linn) in hyperlipidaemic models of wistar albinos rats. Indan J. Exp. Biol.*, **47**: 182-185 (2009).

Vilioglu YS., Mazza G., Gao L. and Oomah BD. *Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain product. J. Agric. Food Chem.*, **46**: 4113-4117(1998).

Wabo PJ., Mpoame M. and Bilong BCF. *Acute and sub-acute toxicity of ethanolic extract of canthium mannii Hiern stem bark on Mus musculus. Indian J. Exp. Biol.*, **49**:146-150 (2011).

Warren DL. and Reed DJ. *Modification of hepatic vitamin E stores in vivo, III. Vitamin E depletion by 1,2-dibromoethane may be related to initial conjugation with glutathione. Arch. Biochem. Bioph.*, **288**: 449-455 (1991).

Weil J. *Biochimie générale*, 8^e édition. Ed. Massom, 281-282 (1997).

Weil J. *Biochimie générale*, 9^e édition. Ed. Massom, 324-325 (2001).

WHO. *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Working group on obesity. Geneva, world health organization* (1998).

Woolf AD. *Herbal remedies and children: do they work? Are they harmful? Pediatrics*, **112**: 240-246 (2003).

World Health Organization: *The Global Burden of Disease: 2004 Update*. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2008.

Wright PJ. and Plummer DT. *The use of urinary enzyme measurement of direct renal damaged caused by nephrotoxic compound. Biochem. Pharm.*, **23**: 65-73 (1974).

Wong A. and Cortopassi G. *mtDNA mutations confer cellular sensitivity to oxidant stress that is partially rescued by calcium depletion and cyclosporin A. Biochem Biophys. Res. Commun*, **239**: 139-145 (1997).

Xiuzhen H., Tao S. and Hongxiang L. *Dietary polyphenol and their biological significance. Int. J. Mol. Sci.*, **8**: 950-988 (2005).

Yagi K, *Simple Fluorometric Assay for lipoperoxide in blood plasma. Medical Biochemistry*, 15: 212-216 (1976).

Yen GC. and Duh PD. *Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active oxygen species. J. Agri. Food Chem.*, **42**: 629-632 (1994).

Yu W., Zhao Y. and Shu B. *The radical scavenging activity of radix puerariae isoflavonoids: Achemoluminescence study. Food Chem., 86: 525-529 (2004).*

Zannis VI., Chroni A., Krieger M. *Role of apoA-I, ABCA1, LCAT and SR-BI in the biogenesis of HDL. J. Mol. Med., 84:276-94 (2006).*

Zhou S., Gao Y., Jiang W., Huang M., Xu A. and Paxton JW. *Interactions of herbs with cytochrome P450. Drug Metab. Rev., 35: 35-98 (2000).*

ANNEXES

- **Réactifs**

Tween 20 à 0,1 %, Diméthylsulfoxyde (DMSO) à 0,2%, Réactifs de dosage de la lipase sérique (Biosystème), de la lécithine cholestérol acyl transférase (Calbiochem) et de l'hydroxyl méthyl glutarylCoA réductase (Sigma aldrich), Produits chimiques de haute pureté des Laboratoires Sigma, Biomérieux et Prolabo : MeOH, CH₂Cl₂, acétate d'éthyle, hexane, NaCl, KCl, adrénaline, dichromate, acide acétique, H₂O₂, DTNB [acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque), acide thiobarbiturique (TBA), acide sulfurique, réactif de Mayer, chlorure ferrique, liqueur de Fehling, NaOH, ferricyanide de potassium, HCl, chloroforme, anhydride acétique, tween 20, DMSO, NaHCO₃, Na₂CO₃(10H₂O), Adrénaline, KH₂PO₄, Na₂PO₄(12H₂O), Acide Dinitro-2,2'-Dithio-5,5'-Dibenzoïque (DNTB), Butyl hydroxytoluène (BHT), Acide trichloroacétique (TCA), Acide thiobarbiturique (TBA), chloroforme, vitamine C, 2,2-Diphenyl-2-Picrilhydrazyl), 1,10-phénathroline, FeCl₃, Kits-Biomérieux pour le dosage des triglycérides, du cholestérol total et du cholestérol HDL.

- **Réactifs de dosage des triglycérides**

Une solution Tampon phosphate (pH 8,6) contenant 10 mM de Tris 5,4 mM de parachlorophénol et de 4 mM de magnésium.

Un mélange enzymatique contenant de la glycérokinase (≥ 200 U/l), la glycéro 3-phosphate oxydase (≥ 2000 U/l), la lipase ($\geq 100\ 000$ U/l), la peroxydase (≥ 200 U/l), l' amino-4 antipyrine (0,4 mM) et de l'ATP (0,8 mM).

Une solution étalon titrée à 2 g/l.

Préparation de la solution de travail : Reconstituer le contenu du flacon 2 (réactif enzymatique) avec le volume correspondant du tampon.

- **Réactifs de dosage du cholestérol total**

R1 : Tampon phosphate, pH 6.9, 90mM ; Phénol 26mmol/l

R2 (Réactif enzyme/substrat) : Cholestérol estérase 300U/L, Cholestérol oxydase 200U/L, Peroxydase 1250U/L, 4-aminoantipyrine 0.4mmol/l

R3: Solution étalon titrée à 2g/l

Préparation de la solution de travail: Dissoudre les contenus du réactif enzyme/substrat avec le volume du tampon correspondant.

- **Réactifs du dosage du cholestérol HDL**

Un réactif précipitant les chylomicrons, les VLDL, les LDL composé d'acide phosphotungstique (40 g/l) et de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (100 g/l), pH 8,2.

Un mélange enzymatique composé de la cholestérol oxydase (200 U/l), de la cholestérol estérase (125 U/l), de la peroxydase (1000 U/l) et de l' amino-4-antipyrine. Une solution étalon titrée à 0,6 g/l

- **Réactif de dosage de la lipase sérique (Kit Biosystème)**

Réactif A : Tampon, désoxycholate 36 mmol/l, détergent, acétate de calcium 0,05 mmol/l, pH 8,3.

Réactif B : Tampon, colipase 23,2U/ml 1,2-diauryl-rac-glycéro-3-acide glutarique-(6-méthylrésorufine)-ester 0,03 %, détergent, stabilisant, pH 5,5.

- **Réactifs de dosage de l'activité de l'hydroxyl méthyl glutaryl CoA réductase (Sigma aldrich)**

Solution de substrat (HMG-CoA) : 2 ml.

HMG-CoA Reductase : 200 ml (0.50–0.70 mg/ml)

Solution d'inhibition (Pravastatin) : 200 ml

Solution tampon : 10 ml

Solution de NADPH : Reconstituer le NADPH avec 1.5 ml de tampon de travail.

Tampon de travail: Diluer un volume de ce tampon avec 4 volumes d'eau distillée.

- **Réactifs de dosage des activités de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) (kit Calbiochem)**

Substrat de LCAT

Réactif de lecture reconstituée avec 29.7 ml de la solution de NaCl (150 mM), TRIS (10 mM), et d'EDTA 1 mM (pH 7.4).

Tampon de la LCAT: NaCL (150 mM), TRIS (10 mM), EDTA (1 mM) et 2-mercaptoethanol (4 mM). Ajuster le pH à 7.4.

- **Réactif de dosage de l'activité de la SOD**

Tampon de carbonate pH 10,2 ; 0,05 M. Ce tampon est préparé en dissolvant 4,3g de $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ et 4,2g de NaHCO_3 dans 900 ml d'eau distillée. Le pH est ajusté à 10,2 et le volume complété à 1000 ml avec de l'eau distillée.

Adrénaline fraîchement préparée (0,3 mM). On dissoud 6 mg d'adrénaline dans 80 ml d'eau distillée et on complète le volume à 100 ml avec de l'eau distillée.

- **Réactif de l'activité de la catalase**

Tampon phosphate 0,01M; pH 7,4

H_2O_2 , 50 mM

Dichromate de potassium, 5%

Dichromate d'acide acétique préparé en mélangeant 100 ml de dichromate de potassium à 300 ml d'acide acétique concentré.

- **Réactif de dosage des groupes thiols**

Tampon phosphate 0,1 M pH 6,5 : Solution A (6,8 g de KH_2PO_4 dissous dans 500 ml) ; Solution B (17,92 mg de $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ dissous dans 500 ml). Après dissolution complète des cristaux dans les deux solutions A et B, introduire A dans un bécher et ajuster le pH à 6,5 avec B.

Réactif d'Ellman : Dissoudre 9,91 mg exactement d'Acide Dinitro-2,2'-Dithio-5,5'-Dibenzoïque (DNTB) de haute pureté dans 500 ml de tampon phosphate 0,1 M; pH 6,5.

- **Réactif de dosage du malondialdéhyde**

Pour 100 ml de réactif : Acide trichloroacétique (TCA) 20 % P/V; Acide thiobarbiturique (TBA) 0,375 % P/V; Acide chlorhydrique 1N; Butyl hydroxytoluène (BHT) 0,01%P/V; 375 mg de TBA; 20 g de TCA et 0,01 g de BHT; 25 ml HCL 1N et 50 ml d'eau désionisée sont introduit dans un bécher. Le mélange obtenu est chauffé à température modérée (bain-marie à + 40°C) jusqu'à solubilisation complète du TBA. La solution obtenue est transférée dans une fiole de 100 ml et le volume complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

- **Réactif de dosage de FRAP**

Une solution de TPTZ (2, 4,6-tris (2 -pyridyl)-S-triazine) 10mM est préparée en dissolvant 0,156 g de TPTZ ferrique dans 50 ml de HCL (400mM).

Une solution de Chlorure ferrique 10mM.

Une solution de tampon acétate 300 mM à pH 3,6 est préparée en dissolvant 12,3g d'acétate de sodium dans 400 ml d'eau, puis le pH est ajusté à 3,6 à l'aide d'un pH-mètre par titration avec l'acide acétique, puis le volume est complété à 500 ml.

Le réactif de FRAP contient 10 part de solution tampon acétate 300 mM (pH 3,6), une part de solution de TPTZ 10 mM et une part de solution de chlorure ferrique 10 mM.

- **Réactif de dosage de DPPH**

Méthanol à 2 %

Solution de DPPH

Vitamine C

- **Réactifs de l'activité antiradicalaire sur les radicaux hydroxyles**

Vitamine C ; Méthanol à 2 % ; FeCl₃ 1 mM ; 1,10-phénathroline 1mM ; tampon phosphate 0,2 M pH 7,8 ; H₂O₂ 0,17 M.

- **Réactif de GPT**

Le kit a la composition suivante : 2-oxaloglutarate 15 mM L-alanine 500 mM, LDH ≥ 1600 UI/l, NADH ≤ 0,18 mM, tampon tris 100 mM pH 7,50

- **Réactif de GOT**

Le kit est de composition suivante : EDTA 5 mM 2-oxaloglutarate 12 mM, L-aspartate 200 mM, MDH 495 UI/l, LDH 820 UI/l, NADH ≤ 0,18 mmol/l, tampon tris 80 mM pH 7,80

- **Réactifs de la créatinine**

R1 : Réactif alcalin (phosphate disodique 6,4 mmol/l ; hydroxyde de sodium 150 mmol/l).

R2 : Réactif de coloration (dodécylsulfate de sodium 6,4 mmol/l ; acide picrique 4,0 mmol/l).

R3 : Etalon (créatinine 20 mg/l).

Préparation des réactifs de travail : Mélanger les réactifs R1 et R2 dans les proportions 1/1, V/V.

- **Réactif du dosage de l'activité de l'amylase**

Tampon MES pH 6,0 ; 50 mM ;

NaCl :51,5 mM ;
KCN: 0,4 M ;
NaN₃ :0,8 g/l ;
CNPG₃ :3 mM
(CH₃COO)₂ :5 mM

- **Réactif du calcium**

R1(Tampon) : amino-2-méthyl-2-propanol-1 1,70 M pH 11,0 et l'acide chlorhydrique 210 mM.

R2 (Chromogène) : O-crésolphtaléine complexon 78 µM, hydroxy-8-Quinoleine 3,36 mM et l'acide chlorhydrique 25 mM.

R3 : Etalon du calcium titré à 100 mg/dl

Préparation du réactif de travail : Mélanger 1 volume du réactif R1 avec 1 volume du réactif R2 dans un flacon soigneusement lavé avec HCl 0,1N et bien rincer à l'eau déminéralisée.

- **Réactif de dosage des protéines totales**

Le kit HUMAN utilisé pour la détermination des protéines totales était constitué de : Réactif de Biuret : L'Hydroxyde de sodium 200 mmol/l, Tartrate double de sodium et de potassium 32 mmol/l, Sulfate de cuivre 12 mmol/l, Iodure de potassium 30 mmol/l.

Etalon titré à 80g/l

- **Réactif de dosage de l'activité de la phosphatase alcaline**

Réactif 1 : tampon de diéthanolamine 1 M pH 10 ; MgCl₂ 0,5 mM

Réactif 2 : substrat de p-nitrophénylphosphate 10 mM

Préparation des réactifs de travail : Verser le contenu du réactif 2 (substrat) dans le flacon du réactif 1 (tampon). Mélanger doucement jusqu'à la dissolution complète avant l'utilisation.

- **Réactif du dosage du phosphore inorganique**

Réactif 1 : Réactif molybdate contenant le molybdate d'ammonium 0,63mM et d'acide sulfurique 0,21M.

Réactif 2 : Etalon de phosphore concentré à 50 mg/l.

- **Réactif du dosage de l'urée**

Réactif 1 contenant le salicylate 31 mM et le nitroprussiate 1,67 mM.

Réactif 2 : Uréase ≥ 15 KUI/l

Réactif 3 ou réactif alcalin composé d'hypochlorite de sodium 7mM et de NaOH 62 mM

Réactif 4 ou Etalon concentré à 0,40 g/l

Préparation du réactif de travail : Dans un flacon de réactif R1, ajouter le contenu d'un flacon de réactif R2 et bien mélanger par retournements lents. Le réactif alcalin est dilué au $\frac{1}{4}$ c'est-à-dire : 1 volume pour 3 avec de l'eau déminéralisée avant utilisation.