

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

N° d'ordre : 28/DS/2021

N° de série : 01/BA/2021



Thèse de Doctorat
Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en Sciences
Domaine : Sciences Biologiques
Option : Biologie et Physiopathologie Cellulaire

Présentée et soutenu par : **MESSAOUDI Sabar**

Intitulé :

**Etude comparative de l'activité biologique de certaines
plantes sur les maladies cardiovasculaires, induite par une
hypercholestérolémie chez les souris.**

Membres du jury :

Président : ZERIZER Sakina

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Directrice de thèse: TEBIBEL Soraya

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Examinatrice: DAHAMNA Saliha

Pr. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Examineur : KHENNOUF Seddik

Pr. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Examineur : CHERIF Abdennour

Pr. Université Badji Mokhtar Annaba.

Examinatrice: ELOUAR IbtiSEM

MCA. Université des Frères Mentouri Constantine 1.

10/03/2021

Année universitaire
2021-2022

Dédicaces

Merci **Allah**, pour m'avoir donné la santé, la force nécessaire et le courage pour mener à réalisé ce travail.

A ma Chère Mère **Fattoum** et mon Père **Rachid**,

Pour m'avoir toujours soutenue, sans vous je ne serais pas ce que je suis aujourd'hui.

A ma femme **Imène**, pour la patience et le soutien dont elle a fait preuve pendant toute la durée de cette thèse.

A mes sœurs et mes frères : **Zahra, Soumeya, Samir, Fouaz et Mestafa**

A ma troisième sœur **Chahinez**; je me rappellerai toujours de tous les bons moments que nous avons partagés ensemble et qui resteront gravés dans ma mémoire.

A **Nabil, Sebti, Ramzi, Mohamed B, Mohamed G, Housseem, Boutheyna, Fares, Meriem, Djana, Khaled, Bilel, Rania, Lamia, Hala, Hiba, Lina, Raouf, Amani, Didine, Aymene, Dris, Adem, Ishak, Louai, Zoubir, Islam, Hanane, Khaoula, Kossai, Wissem, Firasse et Mayar.**

Sabar

Remerciements

Tout d'abord, Je tiens à présenter toute ma reconnaissance et toute ma gratitude à mon encadreur: **Professeur TEBIBEL Soraya**. Votre compétence, votre encadrement ont toujours suscité mon profond respect. Je vous remercie pour votre accueil et vos conseils. Veuillez trouver ici, l'expression de mes gratitudee et de ma grande estime.

Je tiens à adresser mes plus vifs remerciements à Madame le professeur **ZERIZER Sakina** qui m'a fait le grand honneur de présider le jury.

Je remercie très vivement Madame le professeur **DAHAMNA Saliha**, Monsieur le professeur **KHENNOUF Seddik**, Monsieur le professeur **CHERIF Abdennour**, Madame le docteur **Elouar Ibtissem**, de m'avoir fait le grand honneur et l'amabilité d'être les examinateurs de ce modeste travail.

Mes vifs remerciements vont également à Madame le professeur **KABOUCHE Zahia** pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire (Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques).

Je tiens à exprimer également ma profonde reconnaissance à Madame le professeur **KHELIFI TOUHAMI Fatima**, pour son accueil au sein de son laboratoire et pour ses orientations judicieuses.

Je tiens également à remercier tous mes enseignants qui m'ont transmis l'étendu de leurs savoirs durant ce parcours. (Professeurs : SATTI Dalila, TEBIBEL Soraya, ZERIZER Sakina, AMEDAH Souad, ZAMA Djamila, LALAOUI Korichi et MENAD Ahmed).

J'exprime mes remerciement aux :

- Professeur **Guy D'hallewin** (*Labo ISPA: Institute of Sciences of Food Production « National Research Council » Sassari, Italie*), je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, pour m'avoir fait confiance et m'avoir permis de réaliser ce travail dans de meilleures conditions tout en me laissant une grande liberté.
- Professeur **Margherita Maioli**, Docteur **Rossana Migheli**, Docteur **Silvia Fancello**, Docteur **Sara Santaniello** et Docteur **Sara Cruciani** (*Department of Medical, Surgical and Experimental Sciences, University of Sassari, Sassari, Italy*) pour leur aide et pour les discussions enrichissantes et fructueuses entretenues durant ma présence dans le laboratoire, qu'ils soient assurés de ma profonde gratitude.

Sommaire

Dédicaces

Remerciements

Sommaire

Liste des publications et communications

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 01

Partie bibliographique

Chapitre I : Les maladies cardiovasculaires

1. Les maladies cardiovasculaires..... 04

1.1 Epidémiologies..... 04

1.2 L'athérosclérose..... 05

1.2.1 Histoire de la maladie..... 05

1.2.2 Etymologie..... 05

1.2.3 Rappel sur la structure artérielle..... 05

1.2.4 Définition et composition..... 06

1.2.5 Formation..... 06

1.2.5.1 Activation endothéliale..... 06

1.2.5.2 Infiltration lipidique..... 07

1.2.5.3 Composante inflammatoire..... 07

1.2.5.4 Capsule fibreuse..... 08

1.2.5.5 Sclérose..... 08

1.3 Physiopathologie de l'athérosclérose humaine..... 08

1.3.1 Lésions de type I ou lésions initiales..... 09

1.3.2 Lésions de type II ou stries lipidiques..... 09

1.3.3 Lésions de type III ou préathéromateuses..... 09

Sommaire

1.3.4 Lésions de type IV ou athéromateuses.....	10
1.3.5 Lésions de type V ou fibroathéromateuses.....	10
1.3.6 Lésions de type VI dites compliquées.....	10
1.4 Les facteurs de risque.....	11
1.4.1 Les facteurs de risque non modifiables.....	11
1.4.1.1 L'âge.....	11
1.4.1.2 Le sexe.....	11
1.4.2 Les facteurs de risque modifiables.....	12
1.4.2.1 Les dyslipidémies.....	12
1.4.2.2 Le diabète.....	12
1.4.2.3 L'obésité.....	12
1.4.2.4 L'hypertension artérielle.....	12
1.4.2.5 Le tabagisme.....	13
1.4.2.6 L'alcoolisme.....	13
1.4.2.7 La sédentarité.....	13
Chapitre II : Présentation des plantes étudiées	
2. Présentation des plantes étudiées.....	14
2.1 <i>Citrullus lanatus</i> Thunb.....	14
2.1.1 Description botanique et classification.....	14
2.1.2 Origine et répartition.....	14
2.1.3 Données pharmacologiques.....	15
2.2 <i>Crataegus azarolus</i> L.....	15
2.2.1 Description botanique et classification.....	15
2.2.2 Origine et Répartition.....	16
2.2.3 Données pharmacologiques.....	17
2.3 <i>Crataegus monogyna</i> Jacq.....	18
2.3.1 Description botanique et classification.....	18

Sommaire

2.3.2 Origine et Aires de répartition.....	18
2.3.3 Données pharmacologiques.....	19

Partie pratique

Matériel et méthodes

1. Matériel.....	21
1.1 Matériel végétal.....	21
1.2 Choix des animaux.....	21
2. Méthodes.....	22
2.1 Test de toxicité aiguë.....	22
2.2 Traitement des souris.....	22
2.3 Prélèvement sanguin.....	23
2.4 Dissection et prélèvement des organes.....	23
2.5 Préparation des coupes histologiques.....	23
2.6 Méthode de dosage des différents paramètres biologiques.....	24
2.6.1 Dosage du cholestérol total.....	24
2.6.2 Dosage des triglycérides.....	25
2.6.3 Dosage des HDL-LDL.....	25
2.6.4 Dosage des transaminases (ASAT, ALAT).....	25
2.6.5 Dosage de la CRP.....	25
2.7 Dosage des paramètres du stress oxydant.....	26
2.7.1 Préparation de l'homogénat.....	26
2.7.2 Détermination des protéines.....	26
2.7.3 Dosage du glutathion de foie (GSH).....	26
2.7.4 Evaluation de l'activité de la catalase (CAT).....	27
2.7.4 .1 Principe.....	27
2.7.4 .2 Mode opératoire.....	27

Sommaire

3. Evaluation de l'activité antiproliférative de <i>Crataegus azarolus</i> et <i>Crataegus monogyna in vitro</i>	28
3.1. Dilution des extraits dans le <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i> (DMEM)	29
3.2. Préparation des concentrations des extraits	29
3.3. Préparation de milieu de culture cellulaire	29
3.4 Trypsinisation et comptage cellulaire	30
3.5 Protocole MTT	30
4. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> de <i>Crataegus azarolus</i> et <i>Crataegus monogyna</i>	31
4.1 Test de l'activité de piégeage du radical H_2O_2 <i>in vitro</i>	31
4.2 Évaluation de l'activité de la catalase <i>in vitro</i>	32
4.2.1 Protocole de la quantification de catalase <i>in vitro</i>	32
4.2.2 Réaction colorimétrique enzymatique de la catalase	33
4.2.3 Calculs	34
4.3 Évaluation de l'activité du Glutathion réduit GSH <i>in vitro</i>	35
4.3.1 Principe	37
4.3.2 Calculs	38
5. Analyses statistiques	38

Résultats et discussion

1. Test de toxicité aiguë	39
2. Effet des extraits sur le poids des souris et la consommation d'aliment	39
2.1 <i>Citrullus lanatus</i>	39
2.1.1 Variation du poids	39
2.1.2 Consommation d'aliment	40
2.2 <i>Crataegus azarolus</i>	41
2.2.1 Variation du poids	41
2.2.2 Consommation d'aliment	41

Sommaire

2.3 L'extrait de <i>Crataegus monogyna</i>	42
2.3.1 Variation du poids.....	42
2.3.2 Consommation d'aliment.....	43
2.4 Discussion générale sur le poids et l'aliment.....	44
3. Résultats des analyses biochimiques.....	45
3.1 Cholestérol total.....	45
3.2 Triglycérides.....	46
3.3 HDL-c.....	47
3.4 LDL-c.....	48
3.5 ASAT.....	49
3.6 ALAT.....	50
3.7 CRP.....	51
3.8 Discussion générale sur les résultats d'analyses biochimiques.....	52
3.8.1 Cholestérol, TG, HDL et LDL.....	52
3.8.2 ASAT et ALAT.....	57
3.8.3 CRP.....	60
4. Résultats du dosage des paramètres du stress oxydant <i>in vivo</i>.....	64
4.1 GSH <i>in vivo</i>	64
4.1.1 Discussion générale sur les résultats du dosage de GSH <i>in vivo</i>	64
4.2 CAT <i>in vivo</i>	70
4.2.1 Discussion générale sur les résultats du dosage de CAT <i>in vivo</i>	70
5. Résultats histologiques.....	74
5.1 Histologie du foie.....	74
5.2 Histologie du myocarde.....	79
5.3 Histologie de l'aorte abdominale.....	84
5.4 Histologie de l'aorte iliaque.....	89
5.5 Discussion générale sur les résultats histologiques.....	94

Sommaire

6. Résultats de l'évaluation de l'activité antiproliférative des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i>.....	99
6.1 Effet des huiles des grains de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur la prolifération des cellules de la lignée cellulaire humaine de cancer du sein (MCF7).....	99
6.2 Effet des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur la prolifération des cellules de la lignée cellulaire de carcinome hépatocellulaire humain (HepG2).....	101
6.3 Discussion générale sur les résultats de l'évaluation de l'activité antiproliférative des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i>	102
7. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i>.....	105
7.1 Résultats du test de l'activité de piégeage du radical H ₂ O ₂ <i>in vitro</i>	105
7.2 Discussion générale sur les résultats du test de l'activité de piégeage du radical H ₂ O ₂ <i>in vitro</i>	107
7.3 Résultats de l'évaluation de l'activité <i>in vitro</i> du GSH.....	110
7.4 Discussion générale sur les résultats de l'évaluation de l'activité <i>in vitro</i> du GSH...	111
7.5 Résultats de l'évaluation de l'activité <i>in vitro</i> de la CAT.....	113
7.6 Discussion générale sur les résultats de l'évaluation de l'activité <i>in vitro</i> de la CAT.....	114
Conclusion et perspectives.....	117
Références bibliographiques.....	120
Annexes.....	145
Publication	
Résumé	
Abstract	
ملخص	

Liste des publications et communications

Publications :

- **Article 1 :** Soraya TEBIBEL., Chahinez MECHATI., Sabar MESSAOUDI., Fayçal NEDJAR. The Exploration Of The HLA System In The Coupleinfertility. *World Journal of Pharmaceutical Research* 2(6), 3099-3110.31 Octobre 2013.
- **Article 2:** TEBIBEL Soraya, ZOUAGHI Youcef, ATALLAH Salah, MECHAI Chahinez, MESSAOUDI Sabar, Kabbouche Samy. Colorectal Cancer: Epidemiological Study, Clinical, Pathological an Immunohistochemical Examination in Patients of Eastern Algeria. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* , 26(2). 31 Mai 2014.
- **Article 3:** Sabar MESSAOUDI, Soraya TEBIBEL, Aya KHADIDJA BELADJILA, Fatima KHELIFI TOUHAMI, Zahia KABOUICHE. Anti-hyperlipidemic, Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of *Citrullus lanatus*. *World Journal Of Environmental Biosciences*, 2019, 8, 1:100-106. 04 Juin 2019.

Communications Nationales

- REDOUANE SALAH A. et MESSAOUDI S. Etude de quelques paramètres biologiques et physiologiques de la néphropathie diabétique dans l'est algérien.31^{eme} Journées Scientifiques du CHU BENBADIS *Constantine le 23 et 24 Mai 2012*.
- REDOUANE SALAH A. et MESSAOUDI S. L'hypertension artérielle associée au diabète compliqué dans la région de Constantine. 2^{eme} congres aurassien de néphrologie, *Batna les 12-13 et 14 avril 2013*.
- MESSAOUDI S. et TEBIBEL S. Etude des complications cardiovasculaires dans le diabète de type 2. 30^{eme} Journée médico-chirurgical, *Mila les 12-13 et 14 juin 2013*.
- BAGHRICHE I. et MESSAOUDI S. Etude clinique des cirrhoses. 30^{eme} Journée médico-chirurgical, *Mila les 12-13 et 14 juin 2013*.
- REDOUANE SALAH A. et MESSAOUDI S. Néphropathie diabétique, qualité de prise en charge des patients. 30^{eme} Journée médico-chirurgical, *Mila les 12-13 et 14 juin 2013*.

Liste des publications et communications

- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Etude des complications rénales dans le diabète de type 2. 31^{ème} Journée médico-chirurgicale, *Mila les 12-13 et 14 juin 2014.*
- **BAGHRICHE I.** et **MESSAOUDI S.** Etude clinique des cirrhoses dans la région de Constantine. 31^{ème} Journée médico-chirurgicale, *Mila les 12-13 et 14 juin 2014.*
- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Etude sur l'effet de l'extrait de *Citrullus colocynthis* sur les antioxydants dans les maladies cardiovasculaires chez les souris *Mus musculus*. Le 01er Séminaire national de Biologie Santé et Stress Oxydant, *Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Laarbi Tebessi Tebessa les 08-09 Novembre 2016.*
- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Etude De quelques paramètres biochimiques sur l'effet De l'extrait de *Crataegus monogyna* sur un régime hyperlipidique chez les souris *Mus musculus*. 3ème Journée Nationale sur le Sida Guelma (JNSG), *Maison de Jeunes Scientifique Salah Boundir Guelma le 05 Janvier 2017.*
- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Effect of extract of *Citrullus lanatus* (*Cucurbitaceae*) seed on lipid profile of *Mus musculus* mice. 3èmes Journées Scientifiques-LOST 2018, *500 Places Tidjani Haddam, Université des Frères Mentouri Constantine 1. 23-24 Janvier 2018.*
- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Study of antihyperlipidemic and anti-inflammatory activities of the extract of *Crataegus monogyna* (*Rosaceae*) in obese mice. 3èmes Journées Scientifiques-LOST 2018, *500 Places Tidjani Haddam, Université des Frères Mentouri Constantine 1. 23-24 Janvier 2018.*
- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Antihyperlipidemic and anti-inflammatory activities of the extract of *Crataegus azarolus* (*Rosaceae*). 3èmes Journées Scientifiques-LOST 2018, *500 Places Tidjani Haddam, Université des Frères Mentouri Constantine 1. 23-24 Janvier 2018.*
- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Etude de quelques paramètres biochimiques sur l'effet hypolipidique de l'extrait de *Citrillus lanatus*. 1 ère journée de l'immunologie cellulaire et moléculaire. *Département de biologie animale, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des Frères Mentouri Constantine1, 29 Avril 2018.*

Liste des publications et communications

- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Evaluation de l'activité hypocholestérolémique et anti-inflammatoire de l'extrait de *Crataegus monogyna*. 1^{ère} journée de l'immunologie cellulaire et moléculaire. *Département de biologie animale, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des Frères Mentouri Constantine1, 29 Avril 2018.*
- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Evaluation de l'activité hypolipidique et anti-inflammatoire de l'extrait de *Crataegus azarolus*. 1^{ère} journée de l'immunologie cellulaire et moléculaire. *Département de biologie animale, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des Frères Mentouri Constantine1, 29 Avril 2018.*
- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Evaluation de l'activité hypocholestérolémique et anti-inflammatoire de l'extrait de *Citrillus lanatus*. Journée portes ouvertes sur l'animalerie. *Département de biologie animale, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des Frères Mentouri Constantine1, 14 Novembre 2018.*
- **BOUZID N.** et **Messaoudi S.** Evaluation de l'activité hypolipidique et anti-inflammatoire de l'extrait de *Crataegus monogyna*. Journée portes ouvertes sur l'animalerie. *Département de biologie animale, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des Frères Mentouri Constantine1, 14 Novembre 2018.*
- **KOUTCHOUK ALI S.** et **Messaoudi S.** Etude de quelques paramètres biochimiques sur l'effet hypolipidique de l'extrait de *Crataegus azarolus*. Journée portes ouvertes sur l'animalerie. *Département de biologie animale, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des Frères Mentouri Constantine1, 14 Novembre 2018.*

Communications Internationales

- **MESSAOUDI S.** et **TEBIBEL S.** Etude des complications cardiovasculaires et rénales dans le diabète de type 2. 6^{ème} Journée internationale de FMC et l'association sciences & vie des médecins de la wilaya de *Constantine les 7 et 8 novembre 2012.*
- **REDOUANE SALAH A .;** **MESSAOUDI S.** Suivi de la néphropathie diabétique par diagnostique de l'HTA , le déséquilibre glycémique et la dyslipidémie. 6^{ème} Journée internationale de FMC et l'association sciences & vie des médecins de la wilaya de *Constantine les 7 et 8 novembre 2012.*

Liste des publications et communications

- BAGHRICHE I. **MESSAOUDI S.**; Etude anatomopathologique des hépatites et des cirrhoses. 6^{ème} Journée internationale de FMC et l'association sciences & vie des médecins de la wilaya de *Constantine les 7 et 8 novembre 2012.*
- BAGHRICHE I. **MESSAOUDI S.**; Etude anatomopathologique des cirrhoses. La journée scientifique internationale FOIE & DIABÉTÉ, *Batna le 1^{er} Décembre 2012.*
- **MESSAOUDI S.** et TEBIBEL S. Etude de l'effet de l'extrait de plante *Phoenix Dactylifera* sur les maladies cardiovasculaires induites chez les souris *mus musculus*. 1^{er} Séminaire International de Pharmacie, *Université FARHAT Abbas Sétif les 11-12 et 13 Mai 2016.*
- ARIBI.B, **MESSAOUDI .S.** Propriété immunostimulante de l'huile de la résine de *Boswellia serrata*. 4^{èmes} Journées Internationales de Nutrition, *El Eulma Sétif les 23-24 Février 2017.*
- **MESSAOUDI S.** et TEBIBEL S. Etude sur l'effet de l'extrait de *Crataegus azarolus* sur les maladies cardiovasculaires induites chez des souris *mus musculus*. 3^{ème} Congrès International de la Société Africaine de Physiologie & de Physiopathologie, *Université des Frères Mentouri Constantine 1 9 au 11 Avril 2018.*
- S. TEBIBEL, R. L. BOUCHOUKA, C. MECHATI, **S. MESSAOUDI.** Epidemiological-Anatomopathological-Immunohistochemical Profile of Gastric Cancer throughout Eastern Algeria. *International Research Conference ICCOCSS 2018 Istanbul, Turkey. 20, 21 Décembre 2018.*
- **MESSAOUDI S,** KEHILI H, TEBIBEL S, BECHKRI S, MECHATI C, KHELIFI TOUHAMI F et KABOUCHE Z. Study of antioxidant, antihyperlipidemic and anti-inflammatory activities of the extract of *Crataegus monogyna* in obese mice. Séminaire International Environnement et Toxicologie (SINENTOX 2019). **Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des Frères Mentouri Constantine1, 18 - 19 Février 2019.**

Liste des abréviations

(-NH₂)	Groupements Amines.
(O₂^{•-})	Radical Superoxyde.
(•OH)	Radical Hydroxyle.
(-SH)	Groupements Thiol.
5-FU	5-Fluorouracile.
5-SSA	Acide 5-sulfosalicylique.
AAPH	Dichlorhydrate de 2,2'-azobis (2-amidinopropane).
ABTS	Acide 2,2'-azino-bis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique .
ACAT	Acyl Cholestérol Acyltransférase.
ADN	Acide Désoxyribonucléique.
AGCL	Acides Gras à Chaîne Longue.
ALAT	Alanine Aminotransférase.
AP-1	Protéine Activatrice 1.
ARNm	L'acide Ribonucléique Messenger.
ASAT	Aspartame Aminotransférase.
AVC	Accidents Vasculaires Cérébraux.
BH₄	Tétrahydrobioptérine.
C₅FeN₆Na₂O	Nitroprussiate de Sodium.
Caco-2	Lignée Cellulaire de Cancer du Colon
CAT	Catalase.
CCl₄	Tétrachlorure de Carbone.
CCR	Cucurbitacine R.
CI₅₀	Concentration Inhibitrice Médiane.
CM	Chylomicrons.
CML	Cellules Musculaires Lisses.
CMLV	Cellules Musculaires Lisses Vasculaires.
COHB	Carboxyhémoglobine.
COX-2	Cyclooxygénase 2.
CRP	Protéine C Réactive.
CS	Cellule Spumeuse.
Cu⁺²	Cuivre.
DECODE	Diabètes Epidemiology: Collaborative Analysis of Diagnostic Criteria in Europe.

Liste des abréviations

DHCB	Dihydrocucurbitacines B.
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium.
DMSO	Diméthylsulfoxyde.
DPBS	Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline.
DPPH	Radical 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate.
S	Sinusoides.
DTNB	Acide 5,5 Dithio-Bis-2-Nitrobenzoïque.
ECV-304	Cellules Endothéliales de la Veine Ombilicale Humaine.
EDTA	Éthylènediaminetétraacétique.
ENDI	Endothélium Intact.
ERO	Espèces Réactives à l'Oxygène.
FBS	Fetal Bovine Serum.
FE	Fibres Elastiques.
FMCI	Fibre Musculaire Cardiaque Intacte.
FRAP	Pouvoir Réducteur/Antioxydant Ferrique.
GPx	Glutathion Peroxydase.
GSH	Glutathion Réduit (g-glutamylcystéinyglycine).
GSSG	Glutathion Oxydé.
H	Hépatocytes.
H₂O₂	Peroxyde d'Hydrogène.
HDL-c	Lipoprotéines de haute densité.
HeLa	Cellules de Cancer du Col de l'Utérus de Henrietta Lacks.
HepG2	Lignée Cellulaire d'Hépatocarcinome.
MICA-1	Molécules Intracellulaire d'Adhésion -1.
IFNγ	Interferon Gamma.
IL	Interleukine.
IMC	Indice de Masse Corporelle.
iNOS	Oxyde Nitrique Synthase Inductible.
Jurkat	Lignée de Cellules T Leucémiques Humaines.
K562	Lignée Cellulaire de Leucémie Myéloïde Immortalisée Humaine.
KOH	Phosphate de Potassium.
L	Lumière.
LCAT	Lecithin-Cholesterol Acyl Transférase.

Liste des abréviations

LDL-c	Lipoprotéines de faible Densité.
LFMC	Lyse de la Fibre Musculaire Cardiaque.
LM	Lyse Musculaire.
LOST	Laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques, département de Chimie, Université des Frères Mentouri Constantine 1.
LPS	Lipopolysaccharide.
LY	Lymphocytes.
MCF7	Lignée Cellulaire Humaine de Cancer du Sein.
MCP-1	Protéine Chimiotactique Monocyte-1.
MCV	Maladies Cardiovasculaires.
MDA	Malondialdéhyde.
MEM	Acide Aminé Non Essentiel.
mmHg	Millimètre de Mercure.
MTT	Tétrazolium Jaune.
N	Nécrose.
NADH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide.
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
NaN₃	Azide de Sodium.
NCPs	Non Collagen Bone– Associated Proteins.
NF	Noyau Fusiforme.
NF-AT	Facteur Nucléaire des Lymphocytes T.
NF-IB	Facteur Nucléaire IB.
NFMC	Noyau de la Fibre Musculaire Cardiaque.
NK	Cellules Natural Killer.
NO	Monoxyde d'Azote.
NOv	Noyau Ovale.
NOS	Oxyde Nitrique Synthase.
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economique.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
ONAB	Office National du Bétail.
oxLDL	LDL oxydée.
PCD	Mort Cellulaire Programmée.
PGE2	Prostaglandine Médiatrice Pro-inflammatoire E2.

Liste des abréviations

Pv	Poids vif
RAW 264.7	Lignée Cellulaire de Macrophages Murins.
RNS	Espèces Réactives de l'azote.
SOD	Superoxyde Dismutase.
SR	Scavenger Receptors.
SR-B1	Scavenger Receptor Class B Type1.
TBARS	Thiols Barbituric Acide Reactive Species.
TBS	Tris-Buffered Saline.
TC	Tissu Conjonctif.
TG	Triglycérides.
TLR	Toll Like Receptor.
TNB	Acide 5-Thio-2- Nitrobenzoïque.
TNF	Tumor Necrosis Factor.
Tris-EDTA	Tampon Tris- Éthylènediaminetétraacétique.
V79-4	Cellules de Fibroblastes Pulmonaires de Hamster Chinois.
Vc	Veine Centrolobulaire.
VCAM-1	Molécules d'adhésion Cellulaire Vasculaire -1.
VL	Vacuoles Lipidiques.
VLDL	Lipoprotéine de Très Basse Densité.
VSMC	Cellules Musculaires Lisses Vasculaires.

Liste des figures

Figure 01. Principales causes de décès dans le monde en 2016.....	04
Figure 02. Structure d'une artère saine.....	06
Figure 03. Initiation de la formation des plaques d'athérome.....	07
Figure 04. Initiation et progression de la plaque d'athérome.....	08
Figure 05. Diverses parties de la plante de pastèque.....	15
Figure 06. Différentes parties de l'Azerolier.....	17
Figure 07. Différentes parties de <i>Crataegus monogyna</i> Jacq.....	19
Figure 08. Extraction des huiles par pression a froid.....	21
Figure 09. Effet de l'huile de graines de <i>C. lanatus</i> sur le poids des souris.....	40
Figure 10. Effet de l'huile de graines <i>C. lanatus</i> sur la consommation d'aliment.....	40
Figure 11. Effet de l'huile de graines de <i>C. azarolus</i> sur le poids des souris.....	41
Figure 12. Effet de l'huile de graines de <i>C. azarolus</i> sur la consommation d'aliment....	42
Figure 13. Effet de l'huile de graines de <i>C. monogyna</i> sur le poids des souris.....	43
Figure 14. Effet de l'huile de graines de <i>C. monogyna</i> sur la consommation d'aliment..	44
Figure 15. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux du cholestérol chez les souris..	46
Figure 16. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux des triglycérides chez les souris.....	47
Figure 17. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux du HDL-c chez les souris.....	48
Figure 18. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux du LDL-c chez les souris.....	49
Figure 19. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux de l'ASAT chez les souris....	50
Figure 20. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux de l'ALAT chez les souris....	51
Figure 21. Effet du cholestérol et des extraits sur les taux de la CRP chez les souris....	52
Figure 22. Effet du cholestérol et des huiles sur les taux de GSH chez les souris.....	64
Figure 23. Effet du cholestérol et des huiles sur les taux de la Catalase chez les souris.....	70
Figure 24. Coupe longitudinale du foie du groupe (Témoin).....	75
Figure 25. Coupe longitudinale du foie du groupe (Cholestérol).....	75
Figure 26. Coupe longitudinale du foie. A: groupe (Cholestérol + <i>C. azarolus</i>) (Gx100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. azarolus</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. azarolus</i>) (Gx100), D: groupe (<i>C. azarolus</i>) (Gx400).....	76

Liste des figures

Figure 27. Coupe longitudinale du foie. A: groupe (Cholestérol + <i>C. monogyna</i>) (Gx100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. monogyna</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. monogyna</i>) (G x100), D: groupe (<i>C. monogyna</i>) (Gx400).....	77
Figure 28. Coupe longitudinale du foie. A: groupe (Cholestérol + <i>C. lanatus</i>) (Gx100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. lanatus</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. lanatus</i>) (Gx100), D: groupe (<i>C. lanatus</i>) (Gx400).....	78
Figure 29. Coupe longitudinale du myocarde du groupe (Témoin).....	79
Figure 30. Coupe longitudinale du myocarde du groupe (Cholestérol).....	80
Figure 31. Coupe longitudinale du myocarde. A: groupe (Cholestérol + <i>C. azarolus</i>) (Gx100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. azarolus</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. azarolus</i>) (Gx100), D: groupe (<i>C. azarolus</i>) (Gx400).....	81
Figure 32. Coupe longitudinale du myocarde. A: groupe (Cholestérol + <i>C. monogyna</i>) (G x100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. monogyna</i>) (Gx400), C : groupe (<i>C. monogyna</i>) (G x100), D: groupe (<i>C. monogyna</i>) (Gx400).....	82
Figure 33. Coupe longitudinale du myocarde. A: groupe (Cholestérol + <i>C. lanatus</i>) (G x100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. lanatus</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. lanatus</i>) (Gx100), D: groupe (<i>C. lanatus</i>) (Gx400).....	83
Figure 34. Coupe longitudinale de l'aorte abdominale du groupe (Témoin).....	84
Figure 35. Coupe longitudinale de l'aorte abdominale du groupe (Cholestérol).....	85
Figure 36. Coupe longitudinale de l'aorte abdominale. A: groupe (Cholestérol + <i>C. azarolus</i>) (Gx100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. azarolus</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. azarolus</i>) (G x100), D: groupe (<i>C.azarolus</i>) (Gx400)	86
Figure 37. Coupe longitudinale de l'aorte abdominale. A: groupe (Cholestérol+ <i>C. monogyna</i>) (G x100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. monogyna</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. monogyna</i>) (G x100), D: groupe (<i>C. monogyna</i>) (Gx400).....	87
Figure 38. Coupe longitudinale de l'aorte abdominale. A: groupe (Cholestérol + <i>C. lanatus</i>) (G x100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. lanatus</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. lanatus</i>) (G x100), D: groupe (<i>C. lanatus</i>) (Gx400).....	88
Figure 39. Coupe longitudinale de l'aorte iliaque du groupe (Témoin).....	89
Figure 40. Coupe longitudinale de l'aorte iliaque du groupe (Cholestérol).....	90

Liste des figures

Figure 41. Coupe longitudinale de l'aorte iliaque. A: groupe (Cholestérol + <i>C. azarolus</i>) (G x100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. azarolus</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. azarolus</i>) (G x100), D: groupe (<i>C. azarolus</i>) (Gx400).....	91
Figure 42. Coupe longitudinale de l'aorte iliaque. A: groupe (Cholestérol + <i>C. monogyna</i>) (G x100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. monogyna</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. monogyna</i>) (G x100), D: groupe (<i>C. monogyna</i>) (Gx400).....	92
Figure 43. Coupe longitudinale de l'aorte iliaque. A: groupe (Cholestérol + <i>C. lanatus</i>) (G x100), B: groupe (Cholestérol + <i>C. lanatus</i>) (Gx400), C: groupe (<i>C. lanatus</i>) (G x100), D: groupe (<i>C. lanatus</i>) (Gx400).....	93
Figure 44. Effet des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur la viabilité des cellules MCF7.....	100
Figure 45. Effet des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur la viabilité des cellules de carcinome hépatocellulaire humain HepG2.....	101
Figure 46. Effet des huiles de graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur la viabilité des cellules HepG2 après provocation avec (75 µl H ₂ O ₂ 85 µ M).....	106
Figure 47. Effet des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur l'activité <i>in vitro</i> du GSH dans les cellules HepG2.....	110
Figure 48. Effet des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur l'activité <i>in vitro</i> de la catalase dans les cellules HepG2.....	113

Liste des tableaux

Tableau 01. Classification botanique de l'espèce : <i>Citrullus lanatus</i> Thunb.....	14
Tableau 02. Classification botanique de l'espèce : <i>Crataegus azarolus</i> . L.....	16
Tableau 03. Classification botanique de l'espèce : <i>Crataegus monogyna</i> . Jacq.....	18
Tableau 04. Traitement des souris.....	23
Tableau 05. Protocole utilisé pour le dosage de l'activité de la catalase.....	28
Tableau 06. Préparation des concentrations.....	29
Tableau 07. Test de viabilité de l'extrait de <i>Crataegus azarolus</i> et <i>Crataegus monogyna</i>	31
Tableau 08. Test de l'activité de piégeage du radical H ₂ O ₂ de l'extrait de <i>Crataegus azarolus</i> et <i>Crataegus monogyna</i>	32
Tableau 09. Préparation des concentrations pour l'évaluation de l'activité antioxydante <i>Crataegus azarolus</i> et <i>Crataegus monogyna</i>	33
Tableau 10. Concentration des protéines intracellulaires.....	33
Tableau 11. Réaction colorimétrique enzymatique de la Catalase <i>in vitro</i>	34
Tableau 12. Évaluation de l'activité du Glutathion réduit GSH <i>in vitro</i>	36
Tableau 13. Préparation des solutions standards du glutathion.....	36
Tableau 14. Schéma de réaction de l'évaluation de l'activité du Glutathion réduit GSH <i>in vivo</i>	37
Tableau 15. Comparaison entre les effets des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur la viabilité des cellules MCF.....	100
Tableau 16. Comparaison entre les effets des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur la viabilité des cellules HepG2	101
Tableau 17. Comparaison entre les effets des huiles de graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur la viabilité des cellules HepG2 après provocation avec (75 µl H ₂ O ₂ 85 µ M).....	106
Tableau 18. Comparaison entre les effets des huiles des graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur l'activité <i>in vitro</i> de la CAT dans les cellules HepG2.....	110
Tableau 19. Comparaison entre les effets des huiles de graines de <i>C. azarolus</i> et <i>C. monogyna</i> sur l'activité <i>in vitro</i> de la CAT dans les cellules HepG2.....	113

Introduction

Introduction

Les maladies cardiovasculaires (MCV) constituent un problème majeur de santé publique. Elles sont responsables chaque année du décès de plus de 17 millions, soit 30% de la mortalité mondiale. Le terme de maladies cardiovasculaires recouvre différentes maladies, dont les plus fréquentes sont l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque, les accidents vasculaires cérébraux (AVC), les thromboses veineuses...

Les MCV sont associées à plusieurs facteurs de risque cardiométabolique (dyslipidémie, diabète, hypertension artérielle, surpoids et obésité, inactivité physique et tabagisme) (Alayoud *et al.*, 2020).

En Algérie, comme dans tous les pays, les affections cardiovasculaires occupent une place prépondérante dans la morbi-mortalité (Latifa et Kaouel, 2007).

La dyslipidémie, pathologie métabolique très fréquente qui est caractérisée par une augmentation des teneurs en triglycérides (TG), en cholestérol total, du cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL-c) et une diminution du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-c). Il est bien établie que l'hypercholestérolémie contribue au développement de l'athérosclérose. Plus la cholestérolémie est élevée, plus les risques de complications cardiovasculaires augmentent (Retornaz *et al.*, 2016).

Des études cliniques et expérimentales ont révélé que des taux élevés de LDL-c sont associés à l'athérosclérose et à un plus grand risque d'évènements cardiovasculaires. Par ailleurs, plusieurs hypothèses suggèrent que les concentrations du HDL-c exercent un effet antiathérogène, en atténuant l'oxydation des LDL-c (Ferretti *et al.*, 2009).

De nombreux travaux ont montré que l'athérosclérose peut être induite expérimentalement, en administrant à des animaux des régimes hypercholestérolémiant. En effet, chez les modèles animaux comme chez l'homme, un régime riche en cholestérol provoque de nombreuses altérations métaboliques; une hypercholestérolémie sévère, une réponse inflammatoire et un stress oxydatif. Ce dernier est caractérisé par un déséquilibre provoqué essentiellement par une production exagérée des espèces réactives à l'oxygène (ERO) qui sont responsables des altérations biologiques, telles que la peroxydation lipidique, l'oxydation protéique et un déficit des défenses antioxydantes (Meziani *et al.*, 2007).

De tout temps, les plantes médicinales ont été utilisées pour prévenir ou traiter diverses maladies. Elles sont utilisées à travers le monde, en médecine traditionnelle, pour leurs activités hypoglycémiant, hypolipidémiant et antioxydant (Nasar *et al.*, 2009).

Introduction

Le continent africain est l'un des continents dotés d'une biodiversité la plus riche dans le monde. L'Algérie possède une richesse floristique considérable, ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (Aberkane, 2006).

L'espèce *Crataegus azarolus* L. est considérée comme plante médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle comme un bon remède pour les douleurs des appareils digestif et urinaire. Elle régularise les rythmes cardiaques, la circulation sanguine, l'hypertension artérielle et calme le système nerveux (Belouad, 2005; Fernandez, 2003).

L'aubépine monogyne (*Crataegus monogyna* Jacq.), un fruit très apprécié par la population algérienne et notamment les enfants, est une plante médicinale couramment utilisée en phytothérapie pour ses propriétés sédatives, vasculoprotectrices et antioxydantes (Bouزيد *et al.*, 2011).

La pastèque, appelée *Citrullus lanatus* Thunb. représente l'une des plus importantes cultures maraichères de la famille des cucurbitacées, elle est très largement réponde par le monde. Elle a d'abord été cultivée dans les pays chauds et secs, tropicaux et méditerranéens, pour ensuite être introduite dans les régions chaudes et humides (Allam *et al.*, 2013).

Notre étude vise à comprendre l'effet des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* comme suppléments alimentaires riches en acides gras polyinsaturés (favorisant la diminution du développement de l'obésité) sur l'hypercholestérolémie expérimentale induite par le régime hyperlipidique et hypercalorique sur les souris *Mus musculus* pour prévenir l'hypercholestérolémie et ses désordres associés.

Les différents objectifs envisagés de cette étude sont :

- extraction des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus*.
- tester l'utilisation en toute sécurité des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* à l'aide de test de toxicité *in vivo* ;
- dosage de différents paramètres biochimiques: cholestérol total, TG, transaminases hépatiques (Aspartame aminotransférase ASAT / Alanine aminotransférase ALAT), HDL-c, LDL-c et la protéine C réactive hs-CRP dans le plasma des souris administrés par un régime riche en cholestérol et traités par des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus*.

Introduction

- étudier l'effet cytotoxique d'une dose élevée de cholestérol et l'effet de traitement par les huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* sur la structure histologique de certains organes (l'aorte abdominale, l'aorte iliaque, le cœur et le foie) chez la souris.
- détermination des paramètres du stress oxydant tels que le glutathion réduit (GSH) et la catalase (CAT) ;
- évaluer l'activité antiproliférative de l'huile de grains de *Crataegus azarolus* et de *Crataegus monogyna* sur la lignée cellulaire d'hépatocarcinome HepG2 et la lignée cellulaire de cancer du sein MCF7 en utilisant des techniques de culture cellulaire ;
- évaluer l'activité antioxydante *in vitro* des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* en utilisant le test de piégeage du radical peroxyde d'hydrogène H₂O₂ dans les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome HepG2 ;
- évaluer l'effet des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* sur l'activité de la CAT *in vitro* dans les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome HepG2;
- mettre en évidence l'effet des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* sur l'activité du GSH réduit *in vitro* dans les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome HepG2.

Chapitre I :
Les maladies cardiovasculaires

1. Les maladies cardiovasculaires

1.1 Epidémiologies

Les maladies cardiovasculaires représentent la principale cause de décès dans les pays développés, ainsi que dans la plupart des pays en voie de développement, constituent un enjeu important en santé publique selon le milieu de résidence (Tunstall-Pedoe, 2012). Elles sont la première cause de mortalité en Algérie (Belamri *et al.*, 2010).

Les facteurs génétiques et les facteurs environnementaux liés aux styles de vie jouent un rôle important dans la genèse de la maladie cardiovasculaire en Algérie et dans les pays industrialisés. De nombreuses études épidémiologiques effectuées ont montré des différences de prévalence entre l'homme et la femme, entre les milieux de résidence et les régions et à leur position géographique en Algérie, au Maroc et en Tunisie, en France, au Canada et au niveau mondial (Yusuf *et al.*, 2001; Beltaifa *et al.*, 2009).

L'athérosclérose est la cause commune de ces pathologies. Elle apparaît ainsi comme la première cause des décès dans les pays occidentalisés et est en nette progression dans les pays en voie de développement, comme si cette pathologie était le reflet inéluctable du progrès social (Bonnet, 2005). Les cardiopathies ischémiques et les AVC sont les principales causes de mortalité dans le monde, responsables de 15,2 millions de décès au total en 2016 (Hacène *et al.*, 2017) (**Figure 01**).

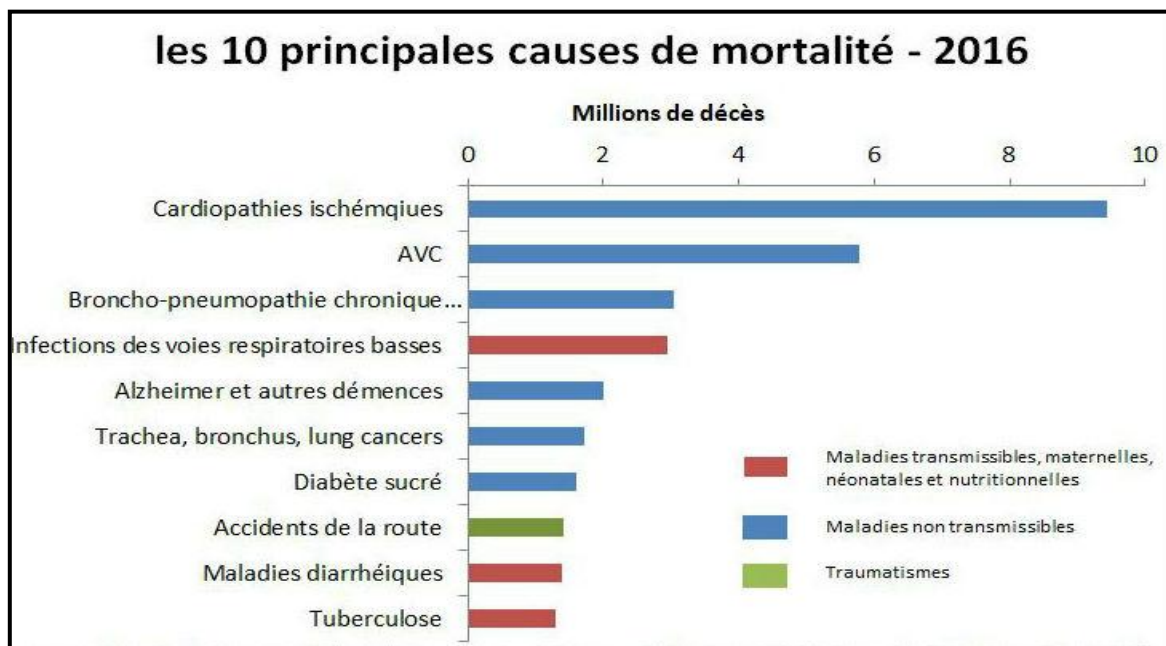


Figure 01. Principales causes de décès dans le monde en 2016 (OMS, 2018).

1.2 L'athérosclérose

1.2.1 Histoire de la maladie

Vers 1910, M.A. Ruffer découvrit sur des momies que les habitants de l'Égypte antique (de -3000 à J.-C.) souffraient de lésions artérielles histologiquement identiques et probablement de même incidence que celles observées aujourd'hui. La population suivait un régime alimentaire plutôt frugal et végétal –la viande étant un luxe- mais peut être le stress de la vie quotidienne était-il accablant. Quoiqu'il en soit, ces observations en disent long sur la complexité de l'étiopathogénie de la maladie (Ziskind, 2009).

1.2.2 Etymologie

Le mot «athérome» est emprunté du latin *ateroma*, lui-même emprunté au grec ἀθήρωμα «tumeur grasseuse», dérivé de ἀθήρα : «bouillie de farine» et de ὄμα : «tumeur». Le médecin romain Celse (début de l'1er siècle après J.-C.) est le premier à utiliser «athérome» pour désigner la maladie artérielle.

Puis le mot « athéromatose » apparaît en 1815 lorsque Hodgson définit ainsi la dégénérescence grasseuse artérielle. Enfin F. Marchand de Leipzig propose en 1904 le mot «athérosclérose» que nous connaissons aujourd'hui, pour décrire une lésion qui associe sclérose intimale et dégénérescence grasseuse (Emmerich et Bruneval 2000).

1.2.3 Rappel de la structure artérielle

Les artères répondent toutes à un modèle commun d'organisation. Leur paroi est constituée de trois tuniques qui, de l'intérieur vers l'extérieur, sont : *l'intima*, la *média* et *l'adventice* (**Figure 02**) :

- *l'intima* est la tunique la plus interne et la plus fine, constituée d'une couche unique de cellules endothéliales et d'une couche sous-endothéliale de tissu conjonctif : la limitante élastique interne, où se développe l'athérosclérose ;
- la *média* est la tunique moyenne, plus épaisse, constituée essentiellement de cellules musculaires lisses (CML). La limitante élastique externe sépare la *média* de *l'adventice* ;
- *l'adventice* est la tunique externe, constituée d'un tissu conjonctif peu organisé. Elle est irriguée par des *vasa vasorum* qui ont un rôle nourricier pour *l'adventice* elle-même et pour la partie externe de la *média* (Benso et Prinetto, 2003).

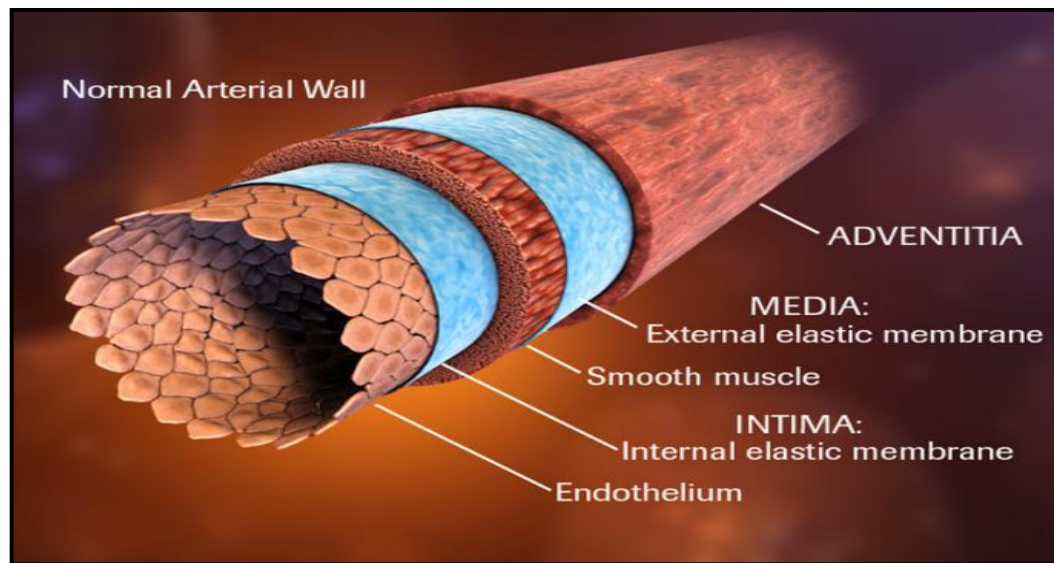


Figure 02. Structure d'une artère saine (Fortier *et al.*, 2014)

1.2.4 Définition et composition

L'athérosclérose est une association variable de remaniements de l'*intima* des artères de gros et de moyens calibres, consistant en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôts calcaires, le tout s'accompagnant de modifications de la *média*. Cette définition a l'avantage de faire ressortir les caractéristiques fondamentales de l'athérosclérose avec son développement intimal, focalisé, par poussées, l'atteinte des territoires de prédilection et enfin son retentissement sur la *média* (Bonnet, 2005).

1.2.5 Formation

L'étiologie de cette maladie n'est pas claire, en plus, les étapes de son développement sont complexes et intimement intriquées.

1.2.5.1 Activation endothéliale

Au niveau des bifurcations artérielles, les turbulences du flux sanguin exercent des forces de cisaillement qui activent l'endothélium.

Les cellules endothéliales activées expriment alors des molécules d'adhésion cellulaire de la famille des sélectines (E- et P-sélectines) lesquelles favorisent le chimiotactisme des monocytes et de lymphocytes sanguins.

La paroi stressée perd également ses propriétés athéroprotectrices naturelles, principalement par diminution de la synthèse du monoxyde d'azote (NO) (Fuster *et al.*, 2005).

1.2.5.2 Infiltration lipidique

L'activation de l'endothélium entraîne une augmentation de la perméabilité vasculaire favorisant ainsi l'infiltration de lipides dans l'espace sous endothélial. Les lipides et les LDL-c retenus sous l'effet d'interactions ioniques lipoprotéines /protéines matricielles, subissent alors des modifications oxydatives (oxLDL) et/ou enzymatiques (Hansson, 2005).

1.2.5.3 Composante inflammatoire

Les oxLDL sont reconnus par des récepteurs de l'immunité naturelle à la surface des macrophages, Scavenger Receptors (SR) et Toll Like Receptor (TLR) (**Figure 03**). Les macrophages ainsi activés sécrètent des cytokines chémo-attractives pour les monocytes sanguins et se transforment en cellules spumeuses.

Les lymphocytes T, eux aussi recrutés au sein de la plaque, sont stimulés par les macrophages. Ils sécrètent des cytokines de type 1 (Interferon gamma (IFN γ), Interleukine-1 (IL1) et Tumor necrosis factor β (TNF β)) qui, de même que l'excès lipidique des cellules spumeuses, déclenchent l'apoptose des macrophages. Un centre nécrotique se constitue ainsi. Les médiateurs et les radicaux libres libérés par les macrophages apoptotiques contribuent à l'entretien et à l'amplification de l'inflammation (Libby *et al.*, 2002).

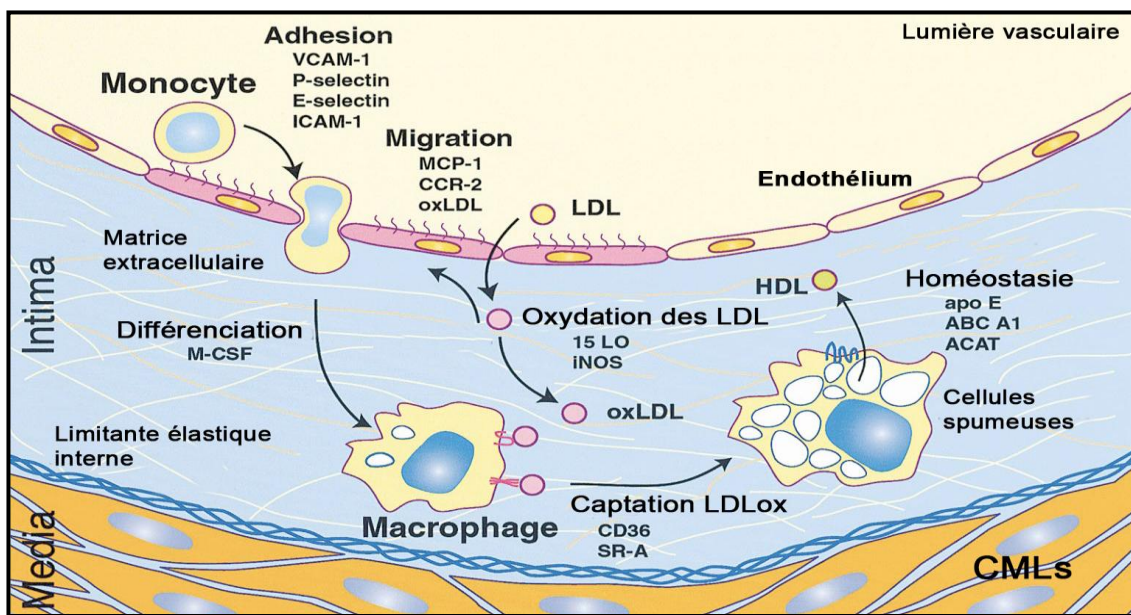


Figure 03. Initiation de la formation des plaques d'athérome (Glass et Witztum, 2001).

1.2.5.4 Capsule fibreuse

L'endothélium activé et les cellules inflammatoires commandent la dédifférenciation des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) de la *média* en cellules sécrétrices. Elles migrent vers l'*intima* où elles prolifèrent et sécrètent des protéines matricielles, constitutives d'une chape de CMLV et de collagène qui « enkyste » et stabilise la lésion (Cullen *et al.*, 2003).

1.2.5.5 Sclérose

Les plaques avancées présentent une calcification dystrophique à base d'hydroxyapatite et d'une matrice organique de collagène de type I et de NCPs (Non Collagen Bone-associated Proteins). La calcification rend la plaque rigide, peu déformable et susceptible de se rompre (**Figure 04**) (Hansson, 2005).

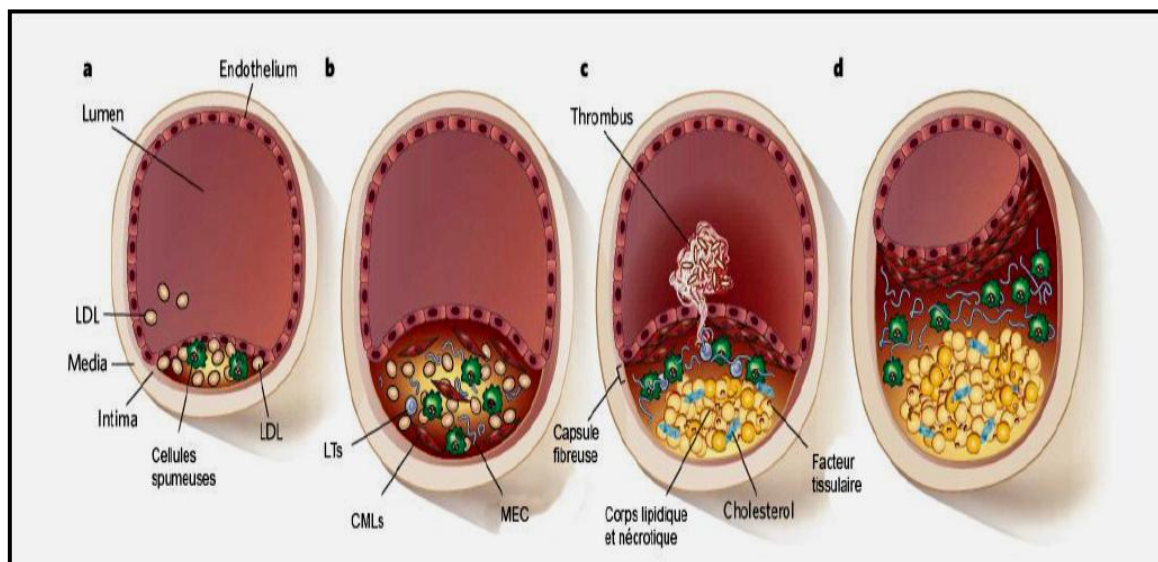


Figure 04. Initiation et progression de la plaque d'athérome (Rader et Daugherty, 2008).

1.3 Physiopathologie de l'athérosclérose humaine

Sous l'égide de la société américaine de cardiologie, les lésions artérielles d'athérosclérose ont été classées en six stades. Cette classification tient compte du caractère évolutif des lésions athéroscléreuses mis en évidence par les études anatomopathologiques et épidémiologiques. Les lésions précoces, constituées par les lésions de type I, II et III, sont des lésions cliniquement silencieuses (Cullen *et al.*, 2003).

1.3.1 Lésions de type I ou lésions initiales

Les lésions de type I ou lésions initiales sont des lésions microscopiques, présentes généralement chez les enfants et les adolescents, mais que l'on peut aussi retrouver chez les adultes résistants à l'athérosclérose.

Elles sont caractérisées par une infiltration, dans l'*intima*, de cellules spumeuses d'origine macrophagique. Ces cellules spumeuses, isolées sont en petit nombre et ne peuvent être détectés qu'à l'examen microscopique de l'artère. L'accumulation de ces cellules macrophagiques dans l'*intima* va induire une augmentation nette de l'adhésion de monocytes à l'endothélium et favoriser l'évolution vers le stade II de ces lésions (Bonnet, 2005).

1.3.2 Lésions de type II ou stries lipidiques

Contrairement aux lésions de type I, dans lesquelles les macrophages spumeux représentent des cellules isolées, les lésions de type II se caractérisent par une accumulation, dans la couche sous-endothéliale de l'*intima*, des macrophages spumeux, en petit amas, formant des lésions visibles macroscopiquement : les stries lipidiques. En plus des macrophages, certaines CML contiennent aussi des dépôts lipidiques, mais les cellules spumeuses d'origine macrophagique prédominent par rapport aux CML.

Quelques lymphocytes T sont également détectés dans ces lésions. Les lipides présents sont surtout à l'intérieur des cellules et sont essentiellement de trois types, esters de cholestérol (77 %), cholestérol et phospholipides (Cullen *et al.*, 2003; Bonnet, 2005).

1.3.3 Lésions de type III ou préathéromateuses

Les lésions de type III sont des lésions intermédiaires entre les lésions de type II et les lésions évoluées de type IV. Irréversibles, elles apparaissent entre 10 et 20 ans chez l'homme.

Histologiquement, elles sont caractérisées par des gouttelettes lipidiques extracellulaires, visibles au microscope. Ces dépôts lipidiques extracellulaires, plus nombreux et plus localisés, sont identiques aux rares dépôts observés dans les lésions de type II. Ils sont présents à proximité des multicouches de macrophages et de macrophages spumeux, ils remplacent la matrice extracellulaire de protéoglycanes et les fibres et repoussent les CML en position intinale (Ben-Horin *et al.*, 2003). Comme dans les lésions de type II, de nombreuses CML intinales contiennent des gouttelettes lipidiques.

À ce stade, le core lipidique, caractéristique des lésions évoluées et formé par une accumulation massive et bien délimitée de lipides extracellulaires, n'est pas encore développé. Ces lésions restent toujours infra-cliniques (Eggebrecht *et al.*, 2000).

1.3.4 Lésions de type IV ou athéromateuses

Ces lésions, présentes chez l'homme de 20 à 30 ans, sont caractérisées par une augmentation des pools de vésicules lipidiques extracellulaires. Ceux-ci atteignent la confluence et fusionnent pour former le core lipidique.

Ce centre lipidique, ou centre athéromateux, apparaît comme une zone de moindre cellularité. Celui-ci précède la formation du tissu fibreux et désorganise profondément la structure de l'*intima*. Des dépôts de calcium apparaissent, ainsi que des capillaires qui bordent le core lipidique. Les macrophages, les cellules spumeuses macrophagiques et les lymphocytes sont plus concentrés à la surface de la lésion, mais la zone entre le core lipidique et la surface endothéliale reste la couche de protéoglycanes du sous-endothélium normal, même si elle est infiltrée par des cellules inflammatoires et des cellules gorgées de lipides. (Virmani *et al.*, 2001).

1.3.5 Lésions de type V ou fibroathéromateuses

Les lésions de type V, lésion typique d'athérosclérose, sont caractérisées par la production de tissu fibreux dans l'*intima*, riche en fibres de collagène et en CML riches à leur tour en réticulum endoplasmique granuleux. Ce tissu fibreux, entourant le centre nécrotique, forme la chape fibreuse.

Cette lésion peut être caractérisée par plusieurs centres lipidiques, recouverts par une épaisse chape fibreuse. Elle correspond à une lésion de type Va et peut présenter des calcifications qui s'accumulent de façon préférentielle dans les centres nécrotiques. La chape fibreuse est toujours très présente. Ce sont les lésions de type Vb (Bonser *et al.*, 2000).

Enfin, la lésion peut être essentiellement fibreuse ; la réaction fibrotique constituée de CML et de matrice extracellulaire domine la lésion, le centre nécrotique et les cellules inflammatoires et les lipides disparaissant de ce type de lésion. Ce sont des lésions de type Vc. (Eggebrecht *et al.*, 2000).

1.3.6 Lésions de type VI dites compliquées

La survenue de la plaque compliquée est une étape importante dans l'évolution de l'athérosclérose, car elle va être responsable de la grande majorité des événements aigus. Elle survient généralement après 40 ans.

Les lésions de type VIa se caractérisent par l'apparition de fissures à la surface de la lésion, celles de complications peuvent se limiter à une simple perte de la couche endothéliale (Ben-Horin *et al.*, 2003).

Les fissures peuvent également être superficielles, correspondant aux lésions récemment décrites d'érosion des plaques avec une simple perte de substance superficielle. Mais la fissuration peut être plus profonde, atteignant le centre nécrotique, permettant le relargage de gouttelettes lipidiques dans le sang circulant, emportant parfois la totalité de la plaque, et perforant de façon exceptionnelle la *média* (Hayashi *et al.*, 2000; Virmani *et al.*, 2001).

Les lésions de type VIb se caractérisent par l'apparition d'une hémorragie ou d'un hématome intra-plaque. La survenue de ces hémorragies se produit essentiellement à partir de la rupture de néo-vaisseaux sous l'effet des contraintes hémodynamiques.

Les lésions de type VIc se caractérisent par l'apparition d'une thrombose. Le contact du sang circulant avec le sous-endothélium et le contenu du centre nécrotique permet l'initiation du processus thrombotique avec l'adhésion et l'agrégation des plaquettes sanguines et la formation d'un thrombus pariétal (Eggebrecht *et al.*, 2000; Ben-Horin *et al.*, 2003).

1.4 Les facteurs de risque

1.4.1 Les facteurs de risque non modifiables

1.4.1.1 L'âge

L'athérosclérose et ses complications sont fréquemment observées après la cinquième et la sixième décade. Cependant, avec le changement d'habitudes alimentaires, la consommation de tabac et le stress, les maladies cardiovasculaires touchent des sujets de plus en plus jeunes (Barral et Croibier, 2009).

1.4.1.2 Le sexe

Les hommes sont prédisposés aux syndromes coronariens plus que les femmes, qui sont protégées jusqu'à la ménopause grâce aux œstrogènes, qui sont des agents protecteurs par un effet direct sur *l'intima* des artères, atténuant la progression de l'athérosclérose. À la ménopause, la sécrétion des œstrogènes et de plusieurs hormones est diminuée (Florence, 2010).

Les classes plasmatiques des HDL-c sont de meilleurs prédicateurs d'événements coronariens que les concentrations de HDL-c plasmatique, en particulier chez les femmes ménopausées (John et Hongyan, 2014).

1.4.2 Les facteurs de risque modifiables

1.4.2.1 Les dyslipidémies

Les dyslipidémies sont définies comme la variation d'un ou de plusieurs paramètres lipidiques [(cholestérol, TG] en dehors des limites des valeurs usuelles identifiées au sein d'une population donnée. Elles sont classées en six phénotypes, en fonction des lipoprotéines affectées : type I [(élévation des Chylomicrons (CM)], type IIa (élévation des LDL-c), type III [(élévation des Lipoprotéines de Densité Intermédiaire (IDL)], type IV [(élévation des Lipoprotéine de Très Basse Densité (VLDL)], deux étant dues à l'augmentation combinée de deux lipoprotéines, type IIb (LDL-c et VLDL) et type V (CM et VLDL) (Philippe *et al.*, 2010; Barral et Croibier, 2009).

1.4.2.2 Le diabète

L'étude The DECODE (Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis of Diagnostic criteria in Europe) a suggéré que les diabétiques de type 2 avait un risque de maladies coronariennes élevé d'environ deux fois par rapport aux non diabétiques après ajustement des autres facteurs de risque coronariens (Gomina *et al.*, 2013).

1.4.2.3 L'obésité

Selon l'Organisation mondiale de santé (OMS) En 2014, plus de 1,9 milliard d'adultes étaient en surpoids et plus de 600 millions étaient obèses.

La surcharge pondérale est appréciée de façon globale par l'indice de masse corporelle (IMC) ; $IMC = \text{poids (kg)} / (\text{taille (m)}^2)$.

- IMC 20–25 kg/m²: poids normal.
- IMC 25–30 kg/m²: surcharge pondérale.
- IMC ≥ 30 kg/m² : obésité.
- IMC ≥ 40 kg/m² : obésité morbide (Basdevant et Clément, 2011).

1.4.2.4 L'hypertension artérielle

Des chiffres de pression artérielle supérieure à 140 millimètre de mercure (mmHg) pour la systolique et 90mmHg pour le diastolique sont associés à l'athérosclérose. La pression pulsée (différence entre la pression systolique et diastolique) est actuellement associée aux complications cardiovasculaires (Barral et Croibier, 2009).

1.4.2.5 Le tabagisme

Le tabagisme modifie le métabolisme des lipides en augmentant le taux du LDL-c, des TG et diminue celui du HDL-c, ce qui participe à l'augmentation du risque cardiovasculaire chez les fumeurs (Gomina *et al.*, 2013).

Le monoxyde de carbone présent dans la fumée et inhalé, se fixe sur l'hémoglobine avec une liaison très stable. Le taux de carboxyhémoglobine (COHB) pouvant atteindre 15-20%. Ceci entraîne une diminution du transport de l'oxygène, ce qui diminue la tolérance à l'effort et favorise les arythmies ventriculaires. Cette hypoxie est un facteur de lésion endothéliale, stade initiale de l'athérosclérose ainsi qu'une cause d'ischémie, en particulier coronarienne avec un risque d'infarctus (Wirth *et al.*, 2015).

1.4.2.6 L'alcoolisme

Une consommation importante d'alcool augmente le risque du diabète et majore le risque cardiovasculaire (Barral et Croibier, 2009).

1.4.2.7 La sédentarité

L'activité physique diminue de façon significative la survenue des accidents coronariens (Florence, 2010).

Chapitre II
Présentation des plantes
étudiées

2. Présentation des plantes étudiées

2.1 *Citrullus lanatus* Thunb.

2.1.1 Description botanique et classification

La pastèque, watermelon en anglais et البطيخ الأحمر en Arabe, *Citrullus lanatus* Thunb. est une plante herbacée annuelle de la famille des Cucurbitacées (**Tableau 01**). Le genre *Citrullus* est divisé en quatre espèces, *Citrullus lanatus* qui est la pastèque cultivée et ses trois espèces apparentées : *C. ecirrhosus*, *C. colocynthis* et *C. rehmii*.

Le fruit de la pastèque est une baie particulière, de forme sphérique, plus ou moins oblongue, son diamètre varie de 30 à 60 cm et l'écorce de 10 à 40 mm d'épaisseur. Ce fruit, de couleur verte foncé souvent marbré de blanc, dont la chair est rouge, jaune, verdâtre ou blanche et à graines noires, pèse le plus souvent entre 4 à 16 kg. Ses tiges sont rampantes minces, poilus angulaires et peuvent atteindre trois mètres de long. Les feuilles de forme généralement triangulaire, sont très découpées, avec des lobes arrondis. Cette plante monoïque possède de petites fleurs à corole jaune pâle (Erhirhie et Ekene, 2014) (**Figure 06**).

Tableau 01. Classification botanique de l'espèce. *Citrullus lanatus* Thunb. (Adnan *et al.*, 2014).

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (Angiospermes)
Classe	<i>Magnoliopsida</i> (Dicotylédones)
Ordre	Cucurbitales
Famille	<i>Cucurbitaceae</i>
Genre	<i>Citrullus</i>
Espèce	<i>Citrullus lanatus</i> Thunb.

2.1.2 Origine et Répartition

Mallic et Masui (1986) ont proposé l'Afrique centrale et le désert du Kalahari comme le centre d'origine de la pastèque cultivée. Elle peut avoir été domestiquée en Egypte et l'Asie occidentale autour de 2000 avant J.C et a été connue très tôt dans l'Asie centrale.

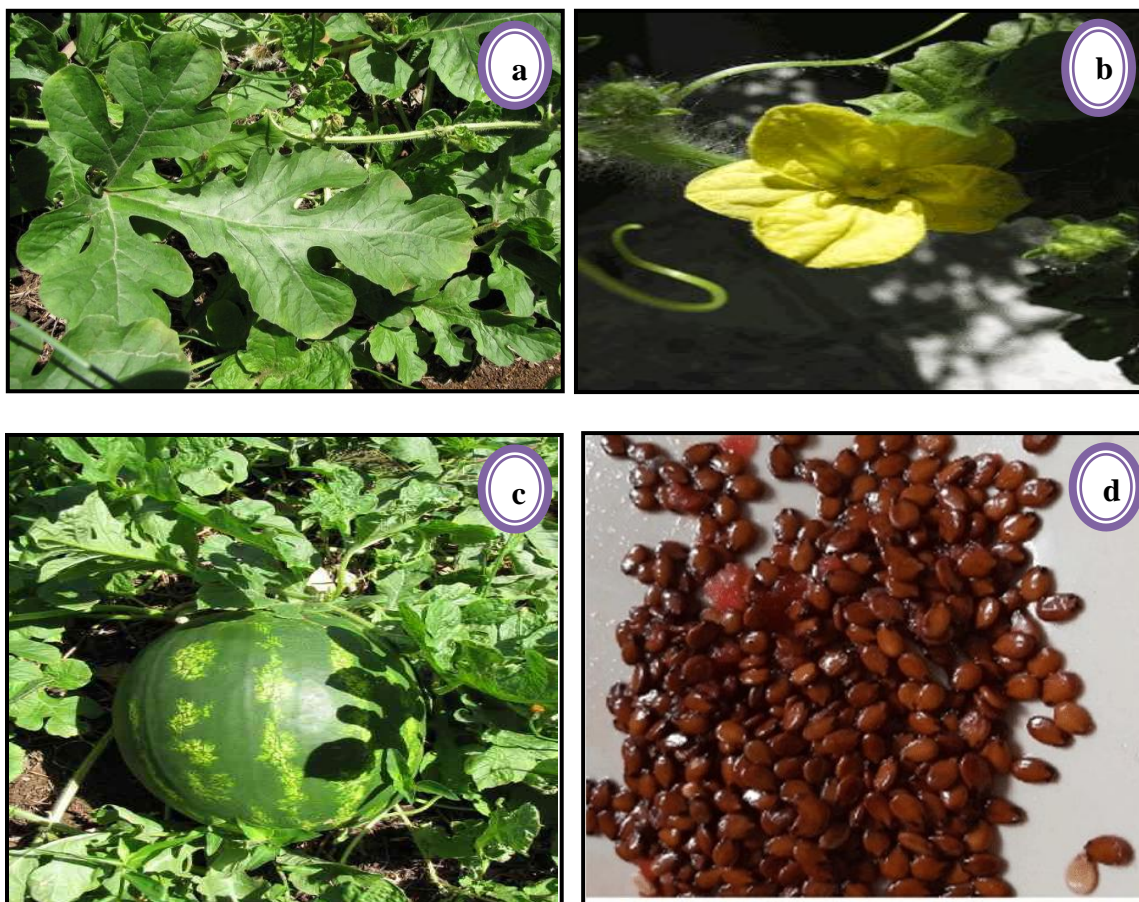


Figure 05. Diverses parties de la plante de pastèque (Oluba *et al.*, 2008).

(a) tige et feuille, (b) fleur, (c) fruit et (d) graines.

2.1.3 Données pharmacologiques

Les principales composantes nutritionnelles de la pastèque sont les glucides, la vitamine A et C en plus des éléments minéraux tels que le potassium, le fer et le calcium. La pastèque contient aussi une haute concentration en lycopène, un caroténoïde qui, au cours des dernières années, a acquis un intérêt considérable pour ses propriétés antioxydantes. Elle contient de 23,0 à 72,0 mg g⁻¹ du poids frais. La pastèque contient de la citrulline, élément nécessaire à la synthèse de l'arginine (Fraser et Bramley., 2004).

2.2 *Crataegus azarolus* L.

2.2.1 Description botanique et classification

L'Azerolier fait partie du genre Aubépine (*Crataegus azarolus* L., épine d'Espagne), de l'espagnol acerola, lui-même emprunté à l'arabe الزعرور et hawthorn en anglais, est un genre d'arbres ou arbustes généralement épineux appartenant à la famille des *Rosaceae* et rassemblant toutes les espèces de ce genre. Le mot *Crataegus* dérive du grec *Cratos* qui signifie force faisant allusion à la dureté du bois (**Tableau 02**) (Brosse, 2000).

Certains botanistes estiment le nombre des espèces à 1000, d'autres n'en comptent que quelques centaines, quant au nombre de races et de formes cultivées, il semble être illimité (Svedström *et al.*, 2006).

L'Azerolier, arbuste de 4-6 m, très épineux, pousse spontanément dans les forêts et les broussailles des plaines et des montagnes jusqu'à une altitude de 2000 m (Belouad, 2005). Il se distingue par un gros tronc, une écorce lisse, gris clair, devenant brunâtre et gerçurée, étroitement craquelée en rectangles; des rameaux pourpres foncés de 2,5m de long, peu épineux, les jeunes blanchâtres cotonneux, à bourgeons globuleux. Des feuilles caduques, alternes, à pétiole poilu-cotonneux, en forme d'éventail profondément divisées en 3-5 lobes entiers ou peu dentés. Les fleurs sont de couleur blanche rose en inflorescences denses. Les fruits sont assez gros, 1,5-2 cm de diamètre, jaunâtres, à goût acidulé, agréable et à deux noyaux (**Figure 07**) (More et White, 2005).

Tableau 02. Classification botanique de l'espèce : *Crataegus azarolus* L. (Koyuncu *et al.*, 2007).

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (Angiospermes)
Classe	<i>Magnoliopsida</i> (Dicotylédones)
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Genre	<i>Crataegus</i>
Espèce	<i>Crataegus azarolus</i> L.

2.2.2 Origine et Répartition

D'après Brosse (2000), l'azerolier est originaire de la méditerranée orientale, Sud de l'Europe, de l'Afrique du nord et de l'Asie. L'azerolier est présent à l'état sauvage dans tous les pays méditerranéens, naturalisé en Amérique du nord et cultivé en région méditerranéenne (Özcan *et al.*, 2005). En Algérie, l'azerolier est localisé surtout dans le Tell algéro-constantinois, d'une façon spontanée (Boudraa *et al.*, 2010).

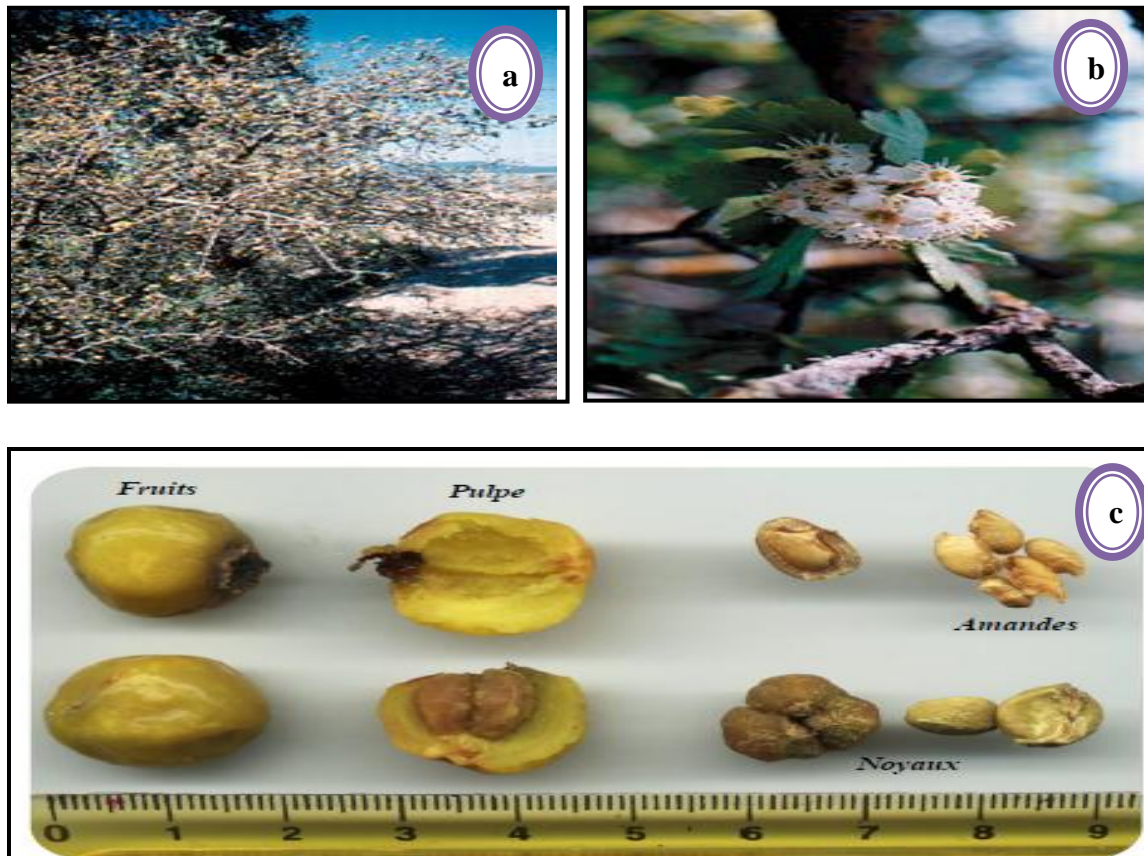


Figure 06. Différentes parties de l'Azerolier (Ferhat *et al.*, 2014).

(a): branches, (b): feuilles et fleurs, (c): fruits, pulpe, noyaux et amandes.

2.2.3 Données pharmacologiques

L'Azerolier est considérée comme une plante médicinale, largement utilisée dans la médecine traditionnelle comme bon remède pour les douleurs des appareils digestif et urinaire. Elle régularise les rythmes cardiaques, la circulation sanguine, l'hypertension artérielle et calme le système nerveux (Fernandez, 2003).

Le fruit "azéroles" saisonné ressemble à des pommes miniatures, très appréciés par la population algérienne, notamment les écoliers. Selon Özcan (2005), la pulpe des *Crataegus* est riche en sels minéraux (calcium, potassium, phosphore et magnésium).

D'après Espiard, (2002), la pulpe de l'azérolier est riche en vitamine C (quarante fois plus que l'orange), β -carotène et en tocophérol (Vitamine E), ce qui fait de l'azérolier une bonne source d'antioxydants.

Les azéroles sont caractérisées par leur richesse en acides organiques (3-6%), tels que l'acide caféique, malique, tartrique, citrique et chlorogénique (Chang *et al.*, 2006). Les majeurs métabolites secondaires de cette espèce sont des flavonoïdes (1-2%) et des proanthocyanidols (2-3%).

Les flavonoïdes et les oligomères procyanidiniques sont présents surtout dans les feuilles et les fleurs. Les constituants non phénoliques sont les acides triterpéniques pentacycliques de (0.5-1.4%), comme l'acide ursolique, l'acide oléanolique et son dérivé le 2- α hydroxy connu sous le nom de l'acide crataegolique (Valls *et al.*, 2007).

2.3 Crataegus monogyna Jacq.

2.3.1 Description botanique et classification

Le *Crataegus monogyna*, dérivée du mot grec « *monogunus* » signifiant fleur à un seul pistil. Les noms communs : hawthorn, haw, English hawthorn, harthorne , aubépine. Le nom scientifique : *Crataegus monogyna* Jacq. Le nom arabe : الزعرور الشائك, الزعرور احادي المدقة (Kashyap *et al.*, 2012) (**Tableau 03**).

Crataegus monogyna, est un arbuste de 4 à 10 m de hauteur, à écorce lisse gris pâle, puis brune et écailleuse. Les feuilles d'un vert brillant ont 5 à 7 lobes aigus et écartés. Les fruits (cenelles) ovoïdes (de 8 à 10 mm), ont une chaire farineuse et douceâtre ; ils renferment une seule graine. Ils prennent une couleur rouge sombre à maturité (en Septembre). Les fleurs, très abondantes en Mai, sont blanches et ont une odeur vive (Girre, 2000) (**Figure 08**).

Tableau 03 .Classification botanique de l'espèce. *Crataegus monogyna* Jacq. (Messaili B., 1995)

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (Angiospermes)
Classe	<i>Magnoliopsida</i> (Dicotylédones)
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Genre	<i>Crataegus</i>
Espèce	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.

2.3.2 Origine et aires de répartition

Originnaire de toute l'Europe jusqu'en Afghanistan, l'aubépine monogyne est actuellement répandue dans toutes les régions tempérées de l'hémisphère Nord où elle s'installe volontiers à la lisière de boisés.

Dans le monde, *Crataegus monogyna* occupe une aire très vaste comprenant toute l'Europe, l'Afrique du Nord et l'Asie occidentale jusqu'à l'Inde (Koyuncu *et al.*, 2007). En Algérie, elle est commune dans les forêts et les maquis de l'Atlas Tellien (Farhat, 2007).

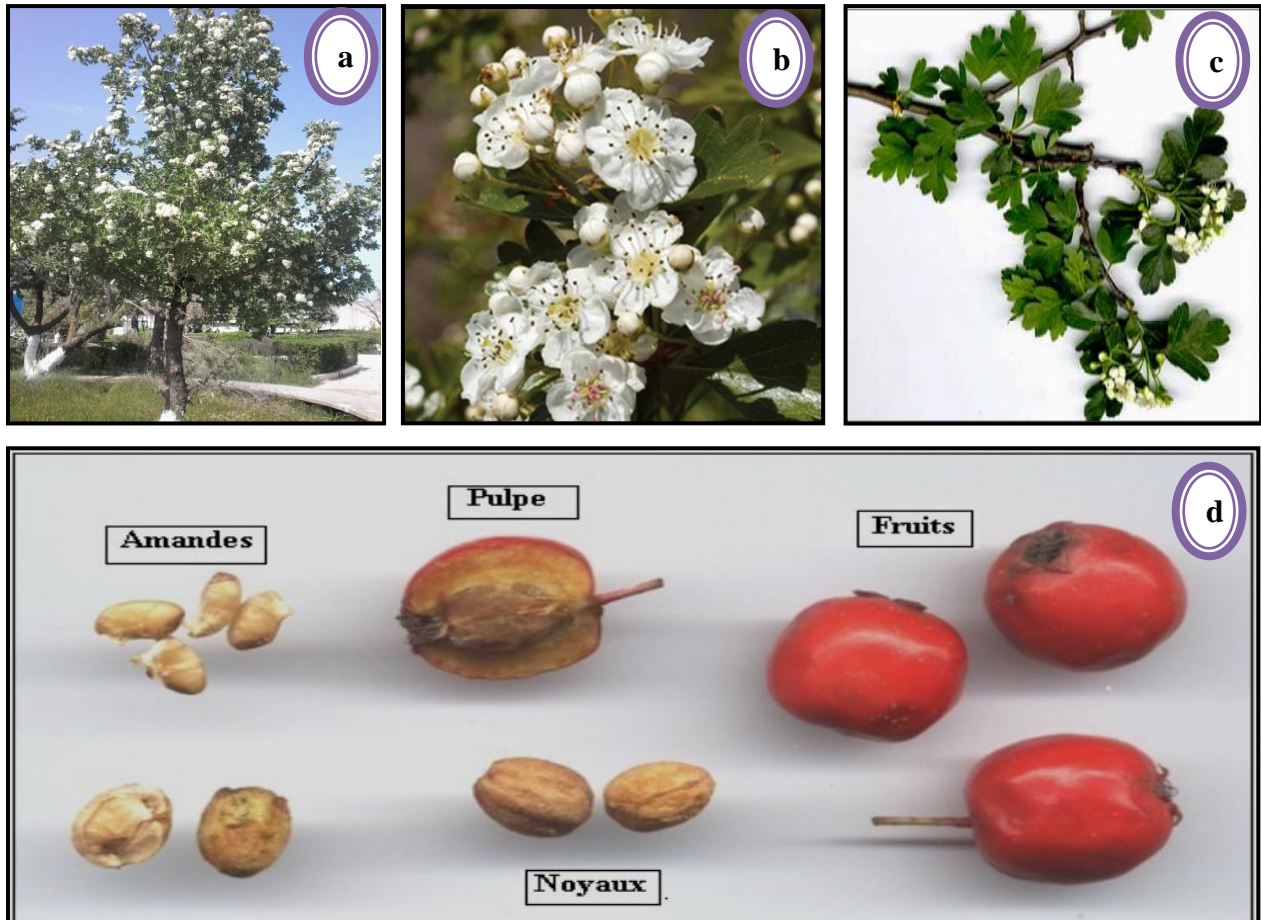


Figure 07. Différentes parties de *Crataegus monogyna* Jacq. (Barros *et al.*, 2011).

(a): branches, (b): fleurs, (c): feuilles, (d): fruits, pulpe, noyaux et amandes.

2.3.3 Données pharmacologiques

Crataegus monogyna a de nombreux composés de métabolites secondaires:

- ❖ **Acides phénoliques** : acide chlorogénique et caféique
- ❖ **Flavonoïdes** : vitexine, quercétine, vitexine-2-rhamnoside, proanthocyanidine, epicatéchine, apigénine-6,8, di-C-glycoside.
- ❖ **Tanins.**
- ❖ **Coumarines.**
- ❖ **Ritépènes et acides triterpéniques**
- ❖ **Huiles essentielles** (Kumar *et al.*, 2012).

Bien que traditionnellement, les fruits et les fleurs de l'aubépine monogyne sont employés pour le traitement des troubles cardiaques d'origine nerveuse, les extraits actuels sont presque exclusivement préparés avec les feuilles et les fleurs de l'arbuste.

Les sommités des fleurs ont une action sédatrice sur le système nerveux et une action régulatrice sur le système cardio-vasculaire; elles corrigent les troubles du rythme cardiaque; elles sont hypotensives et antispasmodiques au niveau des muscles lisses vasculaires (Degenring *et al.*, 2003) .

L'activité antioxydante, anti-inflammatoire et hypotensive des extraits alcooliques de l'aubépine (fruits, fleurs et feuilles) a été prouvée *in vitro* (Vivar-Vera *et al.*, 2007). D'autres études ont démontré que les extraits à base de procyanidines de l'aubépine aident à réduire le niveau du cholestérol et à diminuer le taux des TG (Svedström *et al.*, 2006).

Des expériences réalisées *in vivo* par Zhang et ses collaborateurs en 2004, ont démontré que l'administration de l'extrait obtenu à partir de la partie charnue des fruits du *Crataegus monogyna* augmente la concentration du α - Tocophérol et inhibe l'oxydation des LDL-c humains. Les acides phénoliques de l'aubépine ; acide cratègique, acide chlorogénique, acide tartrique et l'acide triterpéniques augmentent et favorisent la fluidité du sang. L'acide citrique équilibre les niveaux de l'acidité du corps et favorise la fonction digestive en augmentant la production de la bile.

Partie pratique

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1 Matériel végétal

L'extraction des huiles des graines de *Citrullus lanatus*, *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna* a été réalisée au niveau du laboratoire d'obtention des substances thérapeutiques, département de Chimie (LOST) – Université Frères Mentouri Constantine 1.

Les graines des plantes ont été collectées dans la région de Constantine et l'extraction des huiles, de *Citrullus lanatus*, *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna*, a été réalisée à partir des graines par pression à froid. Après triage, les graines sont soumises mécaniquement à froid à l'aide d'une presse à huile à température ambiante. L'huile obtenue, premier jus naturel, renferme tous les principes nutritifs essentiels et ne subit ni traitement chimique, ni raffinage (**Figure 08**).



Figure 08. Extraction des huiles par pression a froid. (a) : Presse a huile, (b) : Graines après macération mécanique, (c) : L'extrait.

1.2 Choix des animaux

L'expérience est réalisée sur des souris mâles (28 souris) pour chaque extrait, du genre (*Mus*), espèce (*Mus musculus*), âgés (de 2, 5 à 3 mois et ayant un poids entre 20 g et 33 g.

Les animaux sont maintenus dans les conditions favorables d'élevage au niveau de l'animalerie du département de Biologie Animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine 1, à une température de 25 à 30°C, un taux

d'humidité entre 45 et 60% et une photopériode de 12 heures jour et 12 heures nuit. Afin d'éviter les variabilités inter-sexe, l'étude est réalisée sur les souris mâles.

Durant la période d'expérimentation, les souris sont alimentées avec l'aliment ONAB sous forme de granulés (**Annexe 01**) et de l'eau de robinet ad libitum.

Les animaux sont séparés et répartis en 4 lots suivant le régime administré.

- Ils sont pesés tous les jours à la même heure (9h 30) pendant les 21 jours de traitement.
- La quantité de l'ingesta a été enregistrée quotidiennement.

2. Méthodes

2.1 Test de toxicité aigue

La présente étude a été menée conformément aux directives proposées par l'Organisation de Coopération et de Développement Economique (OCDE) pour les tests de toxicité. Cette ligne directrice est basée sur la procédure de Bruce, (1985).

Une dose de (2000 mg/kg du poids vif) d'extraits de chaque huile a été utilisée chez cinq souris adultes en bonne santé. L'extrait a été administré par voie orale. Une dose de 2000 mg /kg a été administrée à la première souris, et a été observée pour la mortalité et les signes cliniques (comportements: inhabituels agressivité, vocalisation inhabituelle, agitation, sédation et somnolence) pendant la première heure, puis toutes les heures pendant 3h et, enfin périodiquement jusqu'à 48 h. Si l'animal a survécu, alors les autres quatre animaux reçoivent la même dose de (2000 mg/kg du poids vif) séquentiellement à des intervalles de 48 heures. La totalité des animaux de laboratoire ont été maintenus sous observation étroite pendant le traitement.

2.2 Traitement des souris

Cette étude comporte un groupe de 28 souris mâles, pour chaque huile, réparties en 4 lots (**Tableau 05**).

- Les doses du cholestérol et l'huile de graines de plantes sont calculées par rapport au poids des souris de chaque lot soit : **(400mg/kg du poids vif/j)** pour le cholestérol et **(120 mg/kg du poids vif/j)** pour l'huile de graines.
- Le cholestérol incorporé à la farine, est administré sous forme de boules (le poids de chaque boule = **0,1 g** pour chaque dose) (**Annexe 02**).

Matériel et méthodes

Tableau 04. Traitement des souris.

Groupe expérimental Traitement	Nombre d'animaux	Durée de l'expérience	Dose quotidienne
01. Témoin (Farine)	7	21 jours	0,1 g / souris
02. Farine+Cholestérol	7	21 jours	400 mg/kg du poids vif/j
03. Farine+ Cholestérol + Huile de graines.	7	21 jours	120 mg/kg du poids vif/j (huile de graines) /souris et 400 mg/kg du poids vif/j (Cholestérol) /souris.
04. Farine + Huile de graines.	7	21 jours	120 mg/kg du poids vif/j /souris

2.3 Prélèvement sanguin

Chaque étape de traitement a été suivie d'un prélèvement sanguin pour l'évaluation de certains paramètres biologiques. Le sang est prélevé au niveau des sinus rétro-orbital des souris et a été mis directement dans des tubes héparinés.

Ensuite, le sang est centrifugé à 3000 tours/minute pendant 15 minutes, puis le sérum est récupéré dans des tubes eppendorfs pour faire les dosages biochimiques au niveau de laboratoire d'analyses médicales **Ibn Sina** à Constantine.

2.4 Dissection et prélèvement des organes

Après l'anesthésie au chloroforme, les animaux sont disséqués pour l'étude histologique. Les organes prélevés (le foie, le cœur, l'aorte abdominale et l'aorte iliaque) sont bien débarrassés de tout tissu adjacent, lavés, et ensuite placés dans des boîtes de Petri contenant de l'eau physiologique (NaCl 0,9%), coupés en fragments et directement ils sont conservés dans des tubes remplis par le formol dilué à 10% (PH 7,4).

2.5 Préparation des coupes histologiques

La réalisation des coupes histologiques comporte les étapes suivantes :

- Fixation des pièces dans le formol 10%.
- Inclusion des différentes parties de l'aorte dans la solution de Bouin alcoolique (**Annexe 03**) pendant 5 min pour la coloration (à cause de leur couleur transparente).

- Déshydratation dans trois concentrations différentes d'éthanol (50%, 75% et 96%), la durée pour chaque concentration est 1 h et 30 min (le bain est changé chaque 30 min), puis dans le butanol pendant trois jours.
- Eclaircissement par le xylène pendant 20 min (le bain est changé chaque 10 min).
- Inclusion dans la paraffine : trois bains de paraffine (la durée de chaque bain : 1 h et 30 min, la température de l'étuve est maintenue à 60°C).
- Réalisation des blocs de paraffine contenant l'échantillon à étudier.
- Réalisation des coupes de 3µm d'épaisseur par le microtome (Leica RM 2135).
- Les coupes obtenues sont mises dans un bain marré (50°C), étalées sur des lames, puis séchées sur une plaque chauffante (50°C) pendant une nuit.
- Déparaffinage des lames dans le xylène pendant deux heures, puis séchage à l'aire pendant deux autres heures.
- Coloration des coupes par l'hématoxyline- éosine (**Annexe 04**).
- Après un séchage sur la plaque chauffante (50°C), le montage se fait à l'aide de xylène, puis l'échantillon est placé entre lame et lamelle. La préparation est séchée.
- La lecture se fait par un microscope optique lié à un système de caméra (Leica DFC310 FX 1.4-Megapixel)

2.6 Méthode de dosage des différents paramètres biologiques

Tous les paramètres biologiques sont déterminés par les techniques habituelles utilisées dans le laboratoire en utilisant l'automate (**COBAS 6000**) et le spectrophotomètre.

2.6.1 Dosage du cholestérol total

Le cholestérol total est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique (kit Quimica Clinica Aplicada S.A) sur du sérum. Les esters de cholestérol sont hydrolysés par le cholestérol ester hydrolase en cholestérol libre et acides gras.

Le cholestérol libre produit et celui préexistant est oxydé par une enzyme cholestérol oxydase en Δ^4 cholestérone et H_2O_2 . Ce dernier, en présence de peroxydase, oxyde le chromogène en un composé coloré en rouge. La concentration en quinonéimine colorée mesurée à 510 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol contenu dans l'échantillon.

2.6.2 Dosage des triglycérides

Le dosage des TG sériques et tissulaires se réalise entièrement par voie enzymatique, sous l'action d'une lipase selon la méthode colorimétrique enzymatique (kit Quimica Clinica Aplicada S.A).

Les TG sont hydrolysés en glycérol et en acides gras grâce à des lipases. Une suite de réaction aboutit à la formation du H₂O₂ qui, en présence de la peroxydase et d'un chromogène donne un composé coloré, la quinonéimine.

La concentration en quinonéimine est proportionnelle à la concentration totale en TG présents dans l'échantillon. La concentration en TG est déterminée à une longueur d'onde $\lambda=500$ nm.

2.6.3 Dosage des HDL-c et LDL-c

Pour le HDL- cholestérol, la technique utilisée est celle du chlorure de magnésium qui va précipiter les LDL-c et les VLDL ; le HDL cholestérol est alors dosé dans le surnageant par la même technique enzymatique que le cholestérol total. La valeur normale est $>0,45$ g/l.

Pour le LDL- cholestérol, la formule est la suivante :

$$\text{LDL c} = \text{CT} - [(\text{TG} \div 5) + \text{HDL c}]$$

2.6.4 Dosage des transaminases

Les transaminases sont déterminées par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit, Chronolab, System).

L'ALAT catalyse le transfert du groupe aminé de la L-alanine vers l' α -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=340$ nm.

L'ASAT catalyse le transfert du groupe aminé du L-aspartate vers l' α -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=340$ nm.

2.6.5 Dosage de la CRP

Le dosage de la CRP s'est effectué selon le test immunoturbi dimétrique sur l'auto analyseur COBAS 6000. Ce test mesure de très faibles concentrations de CRP dans des échantillons de sérum.

2.7 Dosage des paramètres du stress oxydant

2.7.1 Préparation de l'homogénat

On prend 0,5g de foie des différents groupes étudiés. Après broyage et homogénéisation des tissus dans 2 ml de Tris-Buffered Saline (**TBS**) (Tris 50 mM, NaCl 150 mM. pH 7,4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours/min, 4 °C, 15 min), puis le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs puis conservés à -20 °C en attendant d'effectuer le dosage du GSH (**Annexe 05**).

2.7.2 Détermination des protéines

La concentration des protéines tissulaires est déterminée selon une méthode colorimétrique par un spectrophotomètre de type SHIMADZU en utilisant le bleu de coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines) (Bradford, 1976). Pour cela nous avons procédé aux étapes suivantes :

- prélever 0,1 ml de l'homogénat ;
- ajouter 5 ml du réactif de Bradford (**Annexe 06**);
- agiter et laisser reposer 5 minutes ;
- lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions (**Annexe 07**).

La concentration des protéines est obtenue par la formule suivante :

$$X \text{ mg de protéines} = \frac{y - 0.069}{1.293}$$

- Y : Densité optique.

2.7.3 Dosage du glutathion de foie (GSH)

Le dosage du GSH est réalisé selon la méthode de (Weckbeker et Cory, 1988). Son principe repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5- mercapturique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements

Matériel et méthodes

thiol (-SH) du GSH. Pour cela on réalise une déprotéinisation afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du GSH. (Annexe 08).

La concentration du GSH est obtenue par la formule suivante:

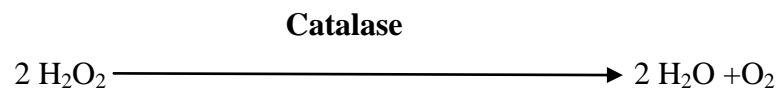
$$\text{GSH (n mol GSH/mg de proteines)} = \frac{\text{Do(Echantillon)} \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times y \text{ mg de protéines}}$$

- D_0 : Densité optique.
- 1: Volume total des solutions dans la déprotéinisation (0.8 ml homogénat + 0.2 ml de l'acide sulfo-salicylique).
- 1,525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5 ml surnageant + 1 ml Tris + 0,025 ml DTNB).
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement (-SH) à 412 nm.
- 0,8 : Volume de l'homogénat.
- 0,5 : Volume du surnageant.

2.7.4 Evaluation de l'activité de la catalase (CAT)

2.7.4 .1 Principe

Les unités de la CAT ont été exprimées comme la quantité d'enzyme qui décompose $1\mu\text{M}$ de H_2O_2 par minute à 25°C . Les CAT sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramétriques, chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH). Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces oxygénées, en accélérant la réaction spontanée de dismutation du H_2O_2 toxique pour la cellule, en eau et en oxygène (Regoli et Principato, 1995).



2.7.4 .2 Mode opératoire:

L'activité de la CAT est mesurée selon Aebi, (1983) à l'aide d'un spectrophotomètre par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du H_2O_2 en faisant réagir dans 100 mM de tampon phosphate pendant 1 mn à $\text{pH } 7.5$, $100 \mu\text{l}$ de H_2O_2 , 500 mM sur $20 \mu\text{l}$ du d'homogénat, à une température d'incubation de 25°C .

Matériel et méthodes

Les résultats ont été exprimés en μmole d' H_2O_2 par minute et par mg de protéine (**Tableau 05**). La diminution de la densité optique est due à la décomposition du H_2O_2 qui a été mesurée par rapport à un blanc à 240 nm. (**Annexe 09**).

Tableau 05. Protocole utilisé pour le dosage de l'activité de la catalase.

Réactifs	Essai	Blanc
Tampon phosphate 100 Mm; pH= 7.5	780 μl	800 μl
H_2O_2 500 mM	200 μl	200 μl
Homogénat	20 μl	0 μl

On note que la quantité d'homogénat doit être déterminée en fonction de la quantité des protéines qui est comprise entre 8 et 12 g/dl soit une quantité de 10 à 20 μl d'homogénat. L'activité décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps entre le pipetage et le moment où l'on place dans la cuve en quartz durant les 60 secondes de mesure; le coefficient d'extinction étant de 0.040Mm.cm. L'activité spécifique a été exprimée en termes d'unités par gramme de tissu selon cette formule:

$$CAT (\mu\text{mol} / \text{mn} / \text{mg Hb}) = \frac{(\Delta Do \times 10)}{\varepsilon \times L \times Y \text{ mg de protéines}}$$

ε : Coefficient d'extinction linéique molaire en Mm.cm

L = L: Largeur de la cuve de mesure en cm = 1cm

Y : Teneur en protéines en mg.

3. Evaluation de l'activité antiproliférative de *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna* *in vitro*

La mesure de la viabilité cellulaire et la prolifération constitue la base de nombreux tests *in vitro* d'une population cellulaire, en réponse à des facteurs externes. La réduction des sels de tétrazolium est maintenant largement acceptée comme un moyen d'examiner la prolifération cellulaire. Le tétrazolium jaune MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) est réduite par les cellules métaboliquement actives, en partie par l'action d'enzymes déshydrogénase, de générer des équivalents réducteurs tels que le

Matériel et méthodes

nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) et NADPH. Le formazan violet intracellulaire peut être solubilisé et quantifié par moyens spectrophotométrique.

3.1 Dilution des extraits dans le *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM)

- Prélever 0.5 g de l'extrait de *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna*.
- Ajouter 5 ml (DMEM).
- Agiter au vortex pendant 5 min.
- Centrifuger à 5000 tours/min pendant 5 min à 0°C.
- Récupérer le surnageant.
- Filtrer à l'aide de papier Whatman 0.2 µm.
- Récupérer les extraits et les maitres dans des tubes eppendorfs à (4°C).

3.2. Préparation des concentrations des extraits

La préparation des concentrations des extraits utilisés est résumée dans le (Tableau 06).

Tableau 06. Préparation des concentrations.

	Extrait	DMEM	Volume	Concentration
<i>Crataegus azarolus</i>	0.48g (stock)	5000 µl	1.5 ml	96 µg/100µl
	230µl	1270 µl	1.5 ml	48 µg/100µl
	110µl	1390 µl	1.5 ml	24 µg/100µl
	50µl	1450 µl	1.5 ml	12 µg/100µl
<i>Crataegus monogyna</i>	0.48g (stock)	5000 µl	1.5 ml	96 µg/100µl
	230µl	1270 µl	1.5 ml	48 µg/100µl
	110µl	1390 µl	1.5 ml	24 µg/100µl
	50µl	1450 µl	1.5 ml	12 µg/100µl

3.3. Préparation de milieu de culture cellulaire

Le milieu de culture cellulaire a été établi à l'aide de 200 ml de SIGMA (MEM), Milieu Essentiel Minimal, 20 ml de Fetal Bovine Serum (FBS) (10%), 4 ml d'antibiotique de pénicilline et de streptomycine, 2 ml de glutamine et de 2 ml de SIGMA MEM acide aminé non essentiel.

3.4 Trypsinisation et comptage cellulaire

Les cellules de la lignée cellulaire humaine de cancer du sein (MCF7) et les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome (HepG2), ont été utilisées dans cette partie de l'étude. Tout d'abord, le milieu de culture a été retiré et le flacon T-75 de la culture cellulaire a été lavée par 2ml de solution Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (DPBS) (gibco® par Life Technologies™). Après l'enlèvement de la DPBS, 1,5 ml de la trypsine (gibco® par Life Technologies, produits biologiques cascade™) a été ajouté au flacon de la trypsine (cellules + trypsine) et incubé pendant 5 min dans l'incubateur à CO₂ Thermo Scientific (Cycle "Forma Steri").

Après cela, 4,5 ml de milieu de culture a été ajouté dans le flacon (cellules + trypsine+ milieu de culture) et avec un pipetage doux pour mélanger la suspension qui a été transféré dans des tubes coniques avec 3 ml de DPBS qui a été également utilisé pour laver les cellules du flacon. Puis les tubes ont été transférés pour la centrifugation 5min/300g (Thermo Scientific SL40). Après la centrifugation, le surnageant a été éliminé et les cellules ont été solubilisés dans 2 ml du milieu de culture.

L'étape suivante a été de connaître le nombre de cellules dans les 2 ml de solution cellulaire. Pour cet objectif, 10 µl de Trypan bleu a été ajouté à 10 µl de la solution cellulaire. Puis, 10 µl du mélange a été transférée à chaque côté de la cellule de Malassez (Comtessé™ cell). La dernière étape a été le comptage des cellules à l'aide de compteur cellulaire automatique (Invitrogen™ Privacy).

3.5 Protocole MTT

Les cellules de la lignée cellulaire humaine de cancer du sein et les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome ont été ensemencés en plaques à 96 puits (5000 cellules/100 µl/puits) et incubé à 37°C pendant 24 heures. Ensuite, le milieu de culture a été retiré et 4 différentes concentrations de chaque extrait ont été ajoutés et incubé à 37°C pendant 24 heures (**Tableau 07**). Après cela, les extraits ont été enlevés et 100 µl de MTT (0,65 mg/ml) a été ajouté à chaque puits et incubé à 37°C pendant 2 heures. La dernière étape du protocole a été d'enlever soigneusement l'MTT et 100µl de (Diméthylsulfoxyde, Sigma D2650 5x5 ml) DMSO a été ajouté à chaque puits et l'absorbance a été lu à 570nm (**Annexe 10**).

Matériel et méthodes

Le taux de prolifération des cellules est calculé en utilisant la formule suivante (Patel *et al.*, 2009) :

$$\text{Taux de prolifération cellulaire \%} = \frac{At - Ab}{Ac - Ab} \times 100$$

At = valeur d'absorbance de substance d'essai (Extrait de plante).

Ab = valeur d'absorbance de l'échantillon à blanc (contrôle négatif) (Milieu de culture).

Ac = valeur d'absorbance du contrôle positif (DMSO).

Tableau 07. Test de viabilité de l'extrait de *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna*.

(Plaques à 96 puits)

Contrôle (-)	Contrôle (+)	C.a 12 µg/100µl	C.a 24 µg/100µl	C.a 48 µg/100µl	C.a 96 µg/100µl	C.m 12 µg/100µl	C.m 24 µg/100µl	C.m 48 µg/100µl	C.m 96 µg/100µl	Contrôle (-)	Contrôle (+)
Contrôle (-)	Contrôle (+)	C.a 12 µg/100µl	C.a 24 µg/100µl	C.a 48 µg/100µl	C.a 96 µg/100µl	C.m 12 µg/100µl	C.m 24 µg/100µl	C.m 48 µg/100µl	C.m 96 µg/100µl	Contrôle (-)	Contrôle (+)
Contrôle (-)	Contrôle (+)	C.a 12 µg/100µl	C.a 24 µg/100µl	C.a 48 µg/100µl	C.a 96 µg/100µl	C.m 12 µg/100µl	C.m 24 µg/100µl	C.m 48 µg/100µl	C.m 96 µg/100µl	Contrôle (-)	Contrôle (+)
Contrôle (-)	Contrôle (+)	C.a 12 µg/100µl	C.a 24 µg/100µl	C.a 48 µg/100µl	C.a 96 µg/100µl	C.m 12 µg/100µl	C.m 24 µg/100µl	C.m 48 µg/100µl	C.m 96 µg/100µl	Contrôle (-)	Contrôle (+)
Contrôle (-)	Contrôle (+)	C.a 12 µg/100µl	C.a 24 µg/100µl	C.a 48 µg/100µl	C.a 96 µg/100µl	C.m 12 µg/100µl	C.m 24 µg/100µl	C.m 48 µg/100µl	C.m 96 µg/100µl	Contrôle (-)	Contrôle (+)
Contrôle (-)	Contrôle (+)	C.a 12 µg/100µl	C.a 24 µg/100µl	C.a 48 µg/100µl	C.a 96 µg/100µl	C.m 12 µg/100µl	C.m 24 µg/100µl	C.m 48 µg/100µl	C.m 96 µg/100µl	Contrôle (-)	Contrôle (+)

* **Contrôle (-)** : Milieu de culture.

* **Contrôle (+)** : Milieu de culture + Cellules.

* **C.a** : *Crataegus azarolus*.

* **C.m** : *Crataegus monogyna*.

4. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna*

4.1 Test de l'activité de piégeage du radical H₂O₂ *in vitro*

Les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome (HepG2) ont étéensemencés en plaques à 96 puits (5000 cellules/100 µl) et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après, le milieu de culture a été retiré, 6 différentes concentrations de chaque extrait et 75 µl d'H₂O₂ ont été ajoutés et incubé à 37°C pendant 24 heures (**Tableau 08**). Après cela, les extraits ont été enlevé et 100 µl de MTT (0,65 mg/ml) ont été ajouté à chaque puits et incubés à 37°C

Matériel et méthodes

pendant 2 heures. La dernière étape du protocole a été d'enlever soigneusement l'MTT et 100µl de DMSO a été ajouté à chaque puits et l'absorbance a été lue à 578 nm après 5 minutes.

Tableau 08. Test de l'activité de piégeage du radical H₂O₂ de l'extrait de *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna*. (Plaques à 96 puits).

C.a 12 µg/100µl	C.a 24 µg/100µl	C.a 48 µg/100µl	C.a 66 µg/100µl	C.a 80 µg/100µl	C.a 96 µg/100µl	C.m 12 µg/100µl	C.m 24 µg/100µl	C.m 48 µg/100µl	C.m 66 µg/100µl	C.m 80 µg/100µl	C.m 96 µg/100µl
C.a 12 µg/100µl	C.a 24 µg/100µl	C.a 48 µg/100µl	C.a 66 µg/100µl	C.a 80 µg/100µl	C.a 96 µg/100µl	C.m 12 µg/100µl	C.m 24 µg/100µl	C.m 48 µg/100µl	C.m 66 µg/100µl	C.m 80 µg/100µl	C.m 96 µg/100µl
C.a 12 µg/100µl	C.a 24 µg/100µl	C.a 48 µg/100µl	C.a 66 µg/100µl	C.a 80 µg/100µl	C.a 96 µg/100µl	C.m 12 µg/100µl	C.m 24 µg/100µl	C.m 48 µg/100µl	C.m 66 µg/100µl	C.m 80 µg/100µl	C.m 96 µg/100µl
C.a 12 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 24 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 48 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 66 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 80 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 96 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 12 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 24 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 48 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 66 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 80 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 96 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂
C.a 12 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 24 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 48 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 66 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 80 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 96 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 12 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 24 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 48 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 66 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 80 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 96 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂
C.a 12 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 24 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 48 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 66 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 80 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.a 96 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 12 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 24 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 48 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 66 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 80 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂	C.m 96 µg/100µl + 75 µl H ₂ O ₂
Contrôle (-)	Contrôle (-)	Contrôle (-)	Contrôle (-)	Contrôle (-)	Contrôle (-)	75 µl H ₂ O ₂	75 µl H ₂ O ₂	75 µl H ₂ O ₂	75 µl H ₂ O ₂	75 µl H ₂ O ₂	75 µl H ₂ O ₂
Contrôle (+)	Contrôle (+)	Contrôle (+)	Contrôle (+)	Contrôle (+)	Contrôle (+)	75 µl H ₂ O ₂	75 µl H ₂ O ₂	75 µl H ₂ O ₂	75 µl H ₂ O ₂	75 µl H ₂ O ₂	75 µl H ₂ O ₂

4.2 Évaluation de l'activité de la catalase *in vitro*

L'activité de la CAT varie considérablement entre les tissus. L'activité est plus élevée dans le foie et le rein, mais plus basse dans les tissus conjonctifs. Chez les cellules eucaryotes, l'enzyme est concentrée dans des organites appelés peroxysomes.

La CAT est quantifié par un test colorimétrique (Catalase Assay Kit, Catalog Number CAT100, SIGMA-ALDRICH) pour l'étude de l'activité de la CAT dans divers tissus et organites intracellulaires.

4.2.1 Protocole de la quantification de catalase *in vitro*

Les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome (HepG2) ont étéensemencés en plaques à 24 puits (250 000 cellules/100 µl) et incubé à 37°C, Co₂ 5% pendant 24 heures. Ensuite, le milieu de culture a été retiré et 4 différentes concentrations de chaque extrait (500µl/ puits) ont été ajoutés et incubé à 37°C, Co₂ 5% pendant 24 heures (**Tableau 09**) (**Annexe 11**).

Matériel et méthodes

- Lire la densité optique (concentration) des protéines contre le contrôle (-) à 340 nm. (**Tableau 10**).

Tableau 09. Préparation des concentrations pour l'évaluation de l'activité antioxydante *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna* (**Plaques à 24 puits**).

<i>Crataegus azarolus</i>	Contrôle (-)		C.a 48 μg/100μl	C.a 66 μg/100μl	C.a 80 μg/100μl	C.a 96 μg/100μl
	Contrôle (-)		C.a 48 μg/100μl	C.a 66 μg/100μl	C.a 80 μg/100μl	C.a 96 μg/100μl
	Contrôle (-)		C.a 48 μg/100μl	C.a 66 μg/100μl	C.a 80 μg/100μl	C.a 96 μg/100μl

<i>Crataegus monogyna</i>	Contrôle (-)		C.m 48 μg/100μl	C.m 66 μg/100μl	C.m 80 μg/100μl	C.m 96 μg/100μl
	Contrôle (-)		C.m 48 μg/100μl	C.m 66 μg/100μl	C.m 80 μg/100μl	C.m 96 μg/100μl
	Contrôle (-)		C.m 48 μg/100μl	C.m 66 μg/100μl	C.m 80 μg/100μl	C.m 96 μg/100μl

Tableau 10. Concentration des protéines intracellulaires.

	Contrôle (-)	48 μg/100μl	66 μg/100μl	80 μg/100μl	96 μg/100μl
<i>C. azarolus</i>	1.766 mg/ml	1.787 mg/ml	1.264 mg/ml	1.478 mg/ml	1.445 mg/ml
<i>C. monogyna</i>	1.844 mg/ml	1.357 mg/ml	4.931 mg/ml	0.179 mg/ml	1.101 mg/ml

4.2.2 Réaction colorimétrique enzymatique de la catalase

- Ajouter 900 μl de solution Stop (Numéro de catalogue S5691, Azide de sodium NaN₃ 15 mM diluée dans l'eau) et laisser pendant 4 minutes.
- Prélever 10 μl de la suspension.
- Ajouter 1 ml de Réactif de coloration.
- Etablir la courbe standard de l'H₂O₂ (**Annexe 12**).

Matériel et méthodes

- Lire la densité optique contre le contrôle (-) à 520 nm après 15 minutes. (Tableau 11).

Tableau 11. Réaction colorimétrique enzymatique de la Catalase *in vitro*.

Echantillon	Volume	Tampon de dilution	Solution H ₂ O ₂ 200 mM
Contrôle (-)	0 µl	75 µl	25 µl
Echantillon	X µl	(75-x µl)	25 µl
Contrôle (-)	2 µl	73 µl	25 µl
<i>Crataegus azarolus</i> 48 µg/100µl	2 µl	73 µl	25 µl
<i>Crataegus azarolus</i> 66 µg/100µl	2 µl	73 µl	25 µl
<i>Crataegus azarolus</i> 80 µg/100µl	2 µl	73 µl	25 µl
<i>Crataegus azarolus</i> 96 µg/100µl	2 µl	73 µl	25 µl
Contrôle (-)	2 µl	73 µl	25 µl
<i>Crataegus monogyna</i> 48 µg/100µl	2 µl	73 µl	25 µl
<i>Crataegus monogyna</i> 66 µg/100µl	2 µl	73 µl	25 µl
<i>Crataegus monogyna</i> 80 µg/100µl	2 µl	73 µl	25 µl
<i>Crataegus monogyna</i> 96 µg/100µl	2 µl	73 µl	25 µl

4.2.3 Calculs

L'activité de CAT est calculée en utilisant la formule suivante:

$$\text{L'activité de la catalase (} \mu\text{moles/ min/ ml)} = \frac{\Delta \mu\text{moles (H}_2\text{O}_2) \times d \times 100}{V \times t}$$

- Δµmoles (H₂O₂): différence de quantité de H₂O₂ ajouté à la réaction colorimétrique entre le Blanc et l'échantillon.

- D : dilution de l'échantillon pour la réaction de CAT.
- t : durée de la réaction de CAT (minutes).
- V : volume d'échantillon dans la réaction de CAT ($x \text{ ml} = 0,00x \text{ ml}$).
- 100 : 100 = dilution de la réaction de CAT dans la réaction colorimétrique (10 ml à partir de 1 ml).
 - ❖ Une unité de CAT décompose 1,0 micromole de H_2O_2 en oxygène et eau par minute à pH 7,0 à 25 ° C sur une concentration de 50 mM de H_2O_2 .

4.3 Évaluation de l'activité du GSH réduit *in vitro*










Le GSH, un tripeptide (g-glutamylcystéinyglycine), est le thiol libre majeur dans la plupart des vies cellules et est impliqué dans de nombreux processus biologiques tels que, la détoxification des xénobiotiques, l'élimination d'hydroperoxydes et le maintien de l'état d'oxydation des protéines sulfhydriles. Le GSH est présent à l'intérieur des cellules principalement dans les sous forme (90 à 95% du GSH total). Son oxydation conduit à la formation de glutathion disulfure (Oxydé) (GSSG). Le statut GSH intracellulaire semble être un indicateur sensible de la santé globale d'une cellule, et de sa capacité à résister au défi toxique. Des niveaux élevés de GSH dans la cellule peut indiquer des changements pathologiques.

Le kit de dosage du GSH offre tout les réactifs nécessaires pour un dosage simple et rapide pour mesurer le niveau de GSH total (GSSG + GSH) dans un milieu biologique. De plus, le kit contient de l'acide 5-sulfosalicylique (5-SSA), qui est nécessaire pour la déprotéinisation de l'échantillon biologique.

Les cellules de la lignée cellulaire HepG2 ont étéensemencés en boites de pétri (5 millions de cellules/6 ml milieu de culture) et incubé à 37°C, Co2 5% pendant 24 heures. Ensuite, le milieu de culture a été retiré et 4 différentes concentrations de chaque extrait (6 ml/boite de pétri) ont été ajoutés et incubé à 37°C, Co2 5% pendant 24 heures (**Tableau 12)** (**Annexe 13**).

Matériel et méthodes

Tableau 12. Évaluation de l'activité du GSH réduit *in vitro*. (Boîtes de pétri).

<i>Crataegus azarolus</i>	<i>Crataegus monogyna</i>	Contrôle (-)
 <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid blue; border-radius: 10px; padding: 2px;">5*10⁵ cellules</div> <div style="border: 1px solid gray; border-radius: 10px; padding: 2px;">6 ml</div> </div>	 <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid blue; border-radius: 10px; padding: 2px;">5*10⁵ cellules</div> <div style="border: 1px solid gray; border-radius: 10px; padding: 2px;">6 ml</div> </div>	 <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid blue; border-radius: 10px; padding: 2px;">5*10⁵ cellules</div> <div style="border: 1px solid gray; border-radius: 10px; padding: 2px;">6 ml</div> </div>
 <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid blue; border-radius: 10px; padding: 2px;">5*10⁵ cellules</div> <div style="border: 1px solid gray; border-radius: 10px; padding: 2px;">6 ml</div> </div>	 <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid blue; border-radius: 10px; padding: 2px;">5*10⁵ cellules</div> <div style="border: 1px solid gray; border-radius: 10px; padding: 2px;">6 ml</div> </div>	
 <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid blue; border-radius: 10px; padding: 2px;">5*10⁵ cellules</div> <div style="border: 1px solid gray; border-radius: 10px; padding: 2px;">6 ml</div> </div>	 <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid blue; border-radius: 10px; padding: 2px;">5*10⁵ cellules</div> <div style="border: 1px solid gray; border-radius: 10px; padding: 2px;">6 ml</div> </div>	
 <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid blue; border-radius: 10px; padding: 2px;">5*10⁵ cellules</div> <div style="border: 1px solid gray; border-radius: 10px; padding: 2px;">6 ml</div> </div>	 <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid blue; border-radius: 10px; padding: 2px;">5*10⁵ cellules</div> <div style="border: 1px solid gray; border-radius: 10px; padding: 2px;">6 ml</div> </div>	

➤ Préparer les solutions standards du GSH par série de dilutions comme indiqué dans le (Tableau 13).

➤ Commencez par 50 µl de solution du GSH 50 µM dans le premier puits puis diluer deux fois à chaque fois en prenant un volume de 25 µl du puits précédent et l'ajouter à 25 µl de Solution 5% 5-SSA.

Tableau 13. Préparation des solutions standards du GSH.

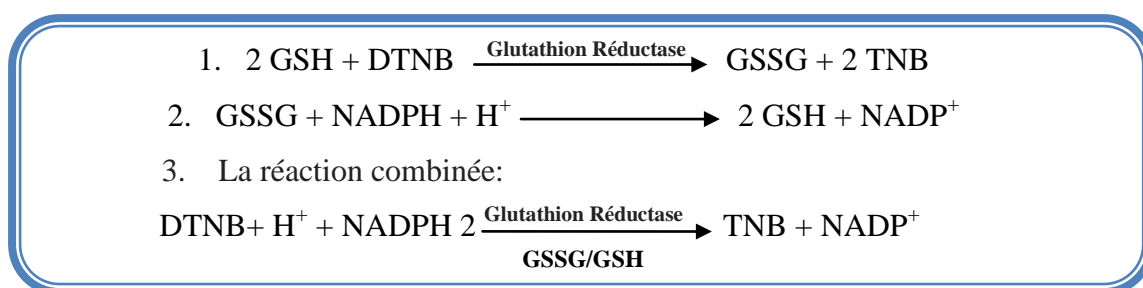
Puits	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5
Concentration du GSH (µM)	50 µM	25 µM	12.5 µM	6.25 µM	3.125 µM
Solution GSH (µl)	50 µl	25 µl de puits N° 1	25 µl de puits N° 2	25 µl de puits N° 3	25 µl de puits N° 4
5%-5 ASS (µl)	/	25 µl	25 µl	25 µl	25 µl
n moles du GSH dans 10 µl d'échantillon	0.5 moles	0.25 moles	0.125 moles	0.625 moles	0.3125 moles

Matériel et méthodes

4.3.1 Principe

Les échantillons sont d'abord déprotéinsés avec la solution 5%-5 ASS, puis, centrifugée pour éliminer les précipités des protéines. La mesure du GSH utilise un essai cinétique dans lequel des quantités catalytiques (nmoles) du GSH provoquent une réduction de l'acide 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à acide 5-thio-2- nitrobenzoïque (TNB) et le GSSG formé est recyclé par glutathion réductase et NADPH. Le GSSG présent réagira également pour donner une valeur positive à cette réaction.

Ce test est basé sur la réduction du glutathion (GSSG) par NADPH en présence de glutathion réductase.



La vitesse de réaction est proportionnelle à la concentration du glutathion jusqu'à 2 µM. Le produit jaune, TNB est mesuré par spectrophotométrie à 412 nm. Le test utilise une courbe standard du GSH réduit pour déterminer la quantité du glutathion dans l'échantillon.

1. Réglez le lecteur de plaque à 412 nm avec une lecture cinétique à intervalle de 1 minute pendant 5 minutes.
2. Mettre en place le schéma de réaction selon le (**Tableau 14**). Effectuez chaque test en 3 réplifications.
3. Utilisez le lecteur de plaque 26 puits pour mesurer l'absorbance.

Tableau 14. Schéma de réaction de l'évaluation de l'activité du GSH réduit *in vivo*.

Échantillon mesuré	Mélanger et incuber pendant 5 minutes			Start
	Volume d'échantillon	5% 5-ACC	Solution Mélange de travail	NADPH (0.16mg/ml)
Contrôle (-)	-	10µl	150µl	50µl
Courbe standard (divers dilutions)	10µl	-	150µl	50µl
Échantillon	x= 10µl	10-x= 0	150µl	50µl

4.3.1 Calculs

- Utilisez les valeurs des solutions standard du glutathion pour déterminer la courbe standard et calculer la $\Delta A_{412} / \text{min}$ équivalent à 1 nmoles du GSH réduit par puits.
- L'activité du GSH réduit a été calculée en utilisant la formule suivante:

$$n \text{ moles GSH dans ml d'échantillon} = \frac{\Delta A_{412} / \text{min}(\text{Echantillon}) \times \text{Dilution}}{\Delta A_{412} \text{ min}(1n \text{ moles}) \times \text{Volume}}$$

- $\Delta A_{412} / \text{min}$ (Echantillon) : pente générée par l'échantillon (après enregistrement des valeurs générées par le contrôle (-)).
- $\Delta A_{412} / \text{min}$ (1n moles) : pente calculée à partir de la courbe standard pour 1 nmoles de GSH.
- Dilution : facteur de dilution de l'échantillon d'origine.
- Volume : volume d'échantillon dans la réaction en ml.
 - ❖ Réactifs de préparation d'échantillons :
- Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS) (Catalog Number D8537).
- Nitrogène liquide.

5. Analyses statistiques

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type. La comparaison des moyennes entre les quatre groupes est effectuée par le test ANOVA à un facteur.

Cette analyse est complétée par le test de Tukey pour classer les moyennes deux à deux, grâce à un logiciel SPSS, version 26.0.

La comparaison où la corrélation est considérée, selon la probabilité (p), comme suit :

- Non significative si $p > 0,05$.
- Significative (*) si $p < 0,05$.
- Hautement significative (**) si $p < 0,01$.
- Très hautement significative (***) si $p < 0,001$.

Résultats et discussion

1. Test de toxicité aiguë

Dans l'étude de la toxicité aiguë, les huiles des graines de *Citrullus lanatus*, *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna*, à une dose de 2000 mg/kg Pv, n'ont montré aucun signe de toxicité ou de mortalité. Au cours de cet essai, 05 souris mâles adultes ont été traitées par voie orale avec la même huile, à la même dose et observées pendant 14 jours et toutes ont survécu jusqu'à la fin de la période d'observation.

L'utilisation des plantes médicinales comme traitement alternatif a augmenté dans le monde entier et a gagné une popularité dans les pays en développement.

Bien que les plantes médicinales aient des activités biologiques bénéfiques pour l'homme, la toxicité potentielle de ces substances bioactives n'a pas été bien établie. Ainsi, l'efficacité de ces plantes doit être étudiée de manière approfondie pour maximiser leurs bénéfices.

Pour évaluer la toxicité des extraits de plantes, les animaux de laboratoire sont traités à des doses spécifiques pendant un temps bien défini. À cette période, les souris sont contrôlées et ont survécu (Almança *et al.*, 2011; Aribi, 2015). Ce résultat est en accord avec ceux de (Nath et Yadav, 2015; Kehili, 2016) qui ont rapporté que l'utilisation d'extrait de feuilles de *Hibiscus rosa-sinensis* et *Phoenix dactylifera* respectivement à 2000 mg/kg Pv comme dose limite est dépourvue d'effets toxiques chez les souris.

2. Effet des extraits sur le poids des souris et la consommation d'aliment

2.1 *Citrullus lanatus*

2.1.1 Variation du poids

La **figure 09** illustre la courbe de l'évolution pondérale des différents groupes. Elle indique que dans le groupe (Témoin), le poids des animaux durant les 3 semaines est de 21.95g, 24.35g et 27.2g respectivement. Donc, il existe une augmentation hautement significative du poids des souris, avec $p < 0,01$.

Dans le groupe (Cholestérol), le poids des animaux est de 24.64g, 27.04g et 28.09g respectivement. Ces résultats montrent une augmentation significative du poids des souris, avec $p = 0.002$.

Dans le groupe (Cholestérol+ *C. lanatus*), le poids durant les 3 semaines est de 28.1g, 28.28g et 29,66g respectivement. Ces résultats indiquent une augmentation significative du poids des souris, avec $p < 0,05$.

Résultats et discussion

Dans le groupe (*C. lanatus*), l'évolution du poids dans les 3 semaines est de 21.8g, 25.1g et 29.33 respectivement. Nous constatons une augmentation non significative du poids des souris, avec $p=0.17$.

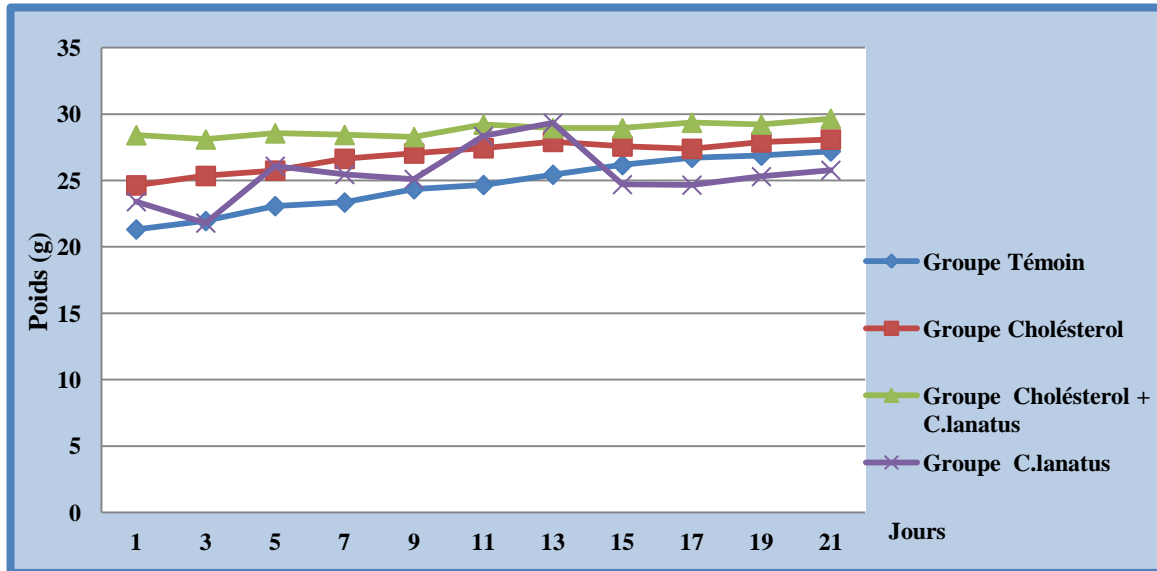


Figure 09. Effet de l'huile de graines de *C. lanatus* sur le poids des souris.

2.1.2 Consommation d'aliment

Au cours du traitement, le groupe recevant le régime hypercholestérolémiant (Cholestérol) les ingesta sont plus élevés par rapport au groupe (Témoin), avec $p=0,001$. Ainsi, le traitement par l'huile de graines de *C. lanatus* induit une diminution significative de consommation d'aliment chez le groupe (*C. lanatus*) par rapport au groupe (Cholestérol), avec $p<0,05$ (Figure 10).

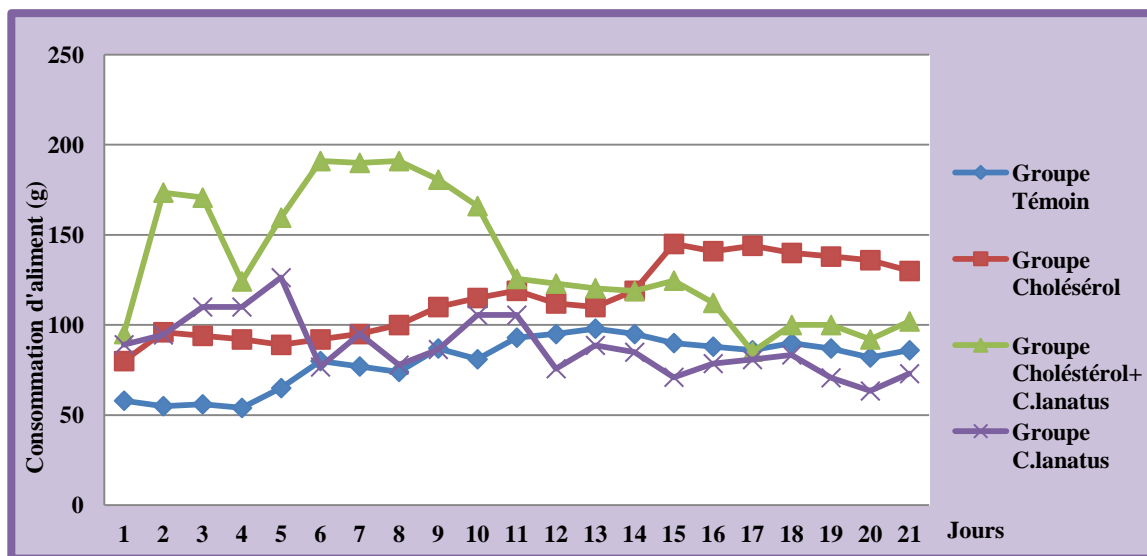


Figure 10. Effet de l'huile de graines *C. lanatus* sur la consommation d'aliment.

Résultats et discussion

2.2 *Crataegus azarolus*

2.2.1 Variation du poids

Afin de déceler l'effet de l'huile de graines de *Crataegus azarolus* sur le régime enrichi en cholestérol et le poids corporel chez les souris, les résultats sont représentés dans la (Figure 11).

Dans le groupe (Témoin), l'évolution du poids durant les 3 semaines est de 21.32g, 24.35g et 27,2g respectivement. Donc, il existe une augmentation significative du poids des souris, avec $p < 0.05$.

Dans le groupe (Cholestérol), le poids au cours les 3 semaines est de 24.64 g, 26.64g et 28.09g respectivement. Ces résultats montrent qu'il existe une augmentation significative du poids des souris, avec $p < 0,05$.

Dans le groupe (Cholestérol+ *C. azarolus*) le poids entre les 3 semaines est de 27.16g, 26.76g et 28.95g respectivement. Ces résultats indiquent une augmentation non significative du poids des souris, avec $p = 0,09$.

Dans le groupe (*C. azarolus*), le poids dans les 3 semaines est de 26.94g, 28.38g et 28.95 g respectivement. Donc, il y a une augmentation non significative du poids des souris, avec $p = 0,22$.

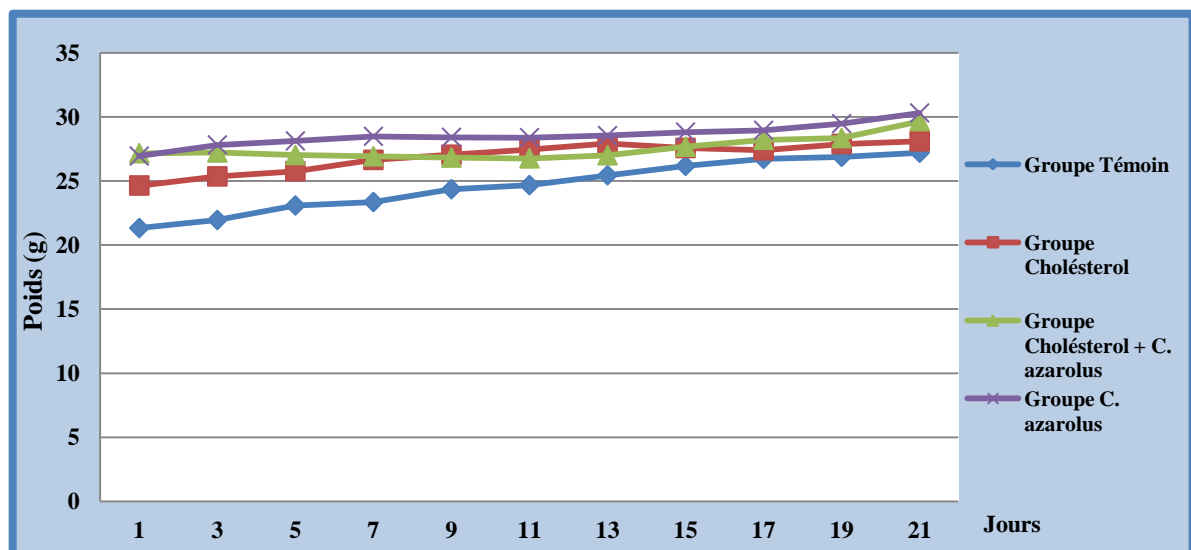


Figure 11. Effet de l'huile de graines de *C. azarolus* sur le poids des souris.

2.2.2 Consommation d'aliment

Dans les groupes (Témoin) et (Cholestérol), on constate une augmentation très hautement significative de la consommation d'aliment durant les 3 semaines, avec $p = 0,000$.

Résultats et discussion

En revanche, dans le groupe (Cholestérol+ *C. azarolus*), la consommation d'aliment au cours des 3 semaines est de 80g, 110g et 130g respectivement. Ces résultats indiquent une diminution significative de la consommation d'aliment, avec $p=0,03$.

Par ailleurs, dans le groupe (*C. azarolus*), la consommation d'aliment durant les 3 semaines est de 100g, 120g et 140g respectivement. Une diminution significative de la consommation d'aliment, avec $p<0,05$ est constatée (**Figure 12**).

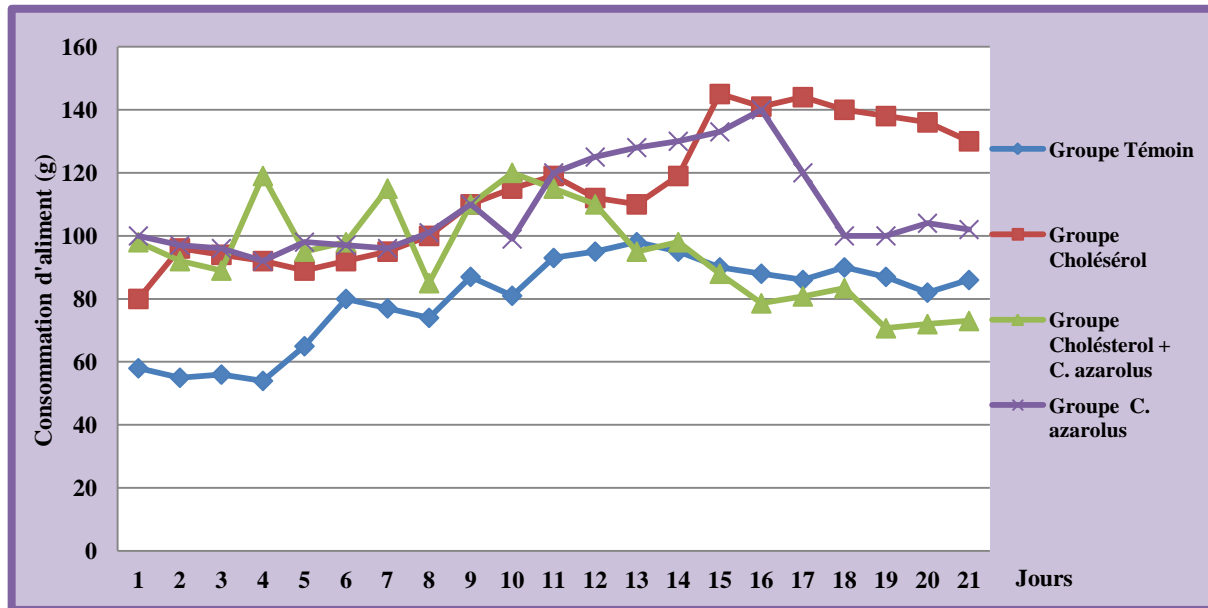


Figure 12. Effet de l'huile de graines de *C. azarolus* sur la consommation d'aliment.

2.3 L'extrait de *Crataegus monogyna*

2.3.1 Variation du poids

L'évolution pondérale pour le groupe (Témoin) de la première à la troisième semaine est de 21.32g, 24.67g et 27.2g respectivement. Ces résultats indiquent qu'il y a une augmentation hautement significative du poids des souris, avec $p=0,001$.

Pour le groupe (Cholestérol), la variation du poids de la première à la troisième semaine est de 24.64 g, 27.44g et 28.09g respectivement. On constate une augmentation significative du poids des souris, avec $p=0,02$.

La figura 33 illustre l'évolution pondérale du groupe (Cholestérol+*C. monogyna*) de la première à la troisième semaine est de 25.62 g, 26.88 g et 27.98 g respectivement et indique qu'il y a une augmentation significative du poids des souris, avec $p<0.05$.

Par contre, le groupe (*C. monogyna*), la variation du poids de la première à la troisième semaine est de 25.32 g, 29.8g et 30.1g respectivement. Ces résultats indiquent qu'il existe une augmentation non significative du poids des souris, avec $p=0.17$ (**Figure 13**).

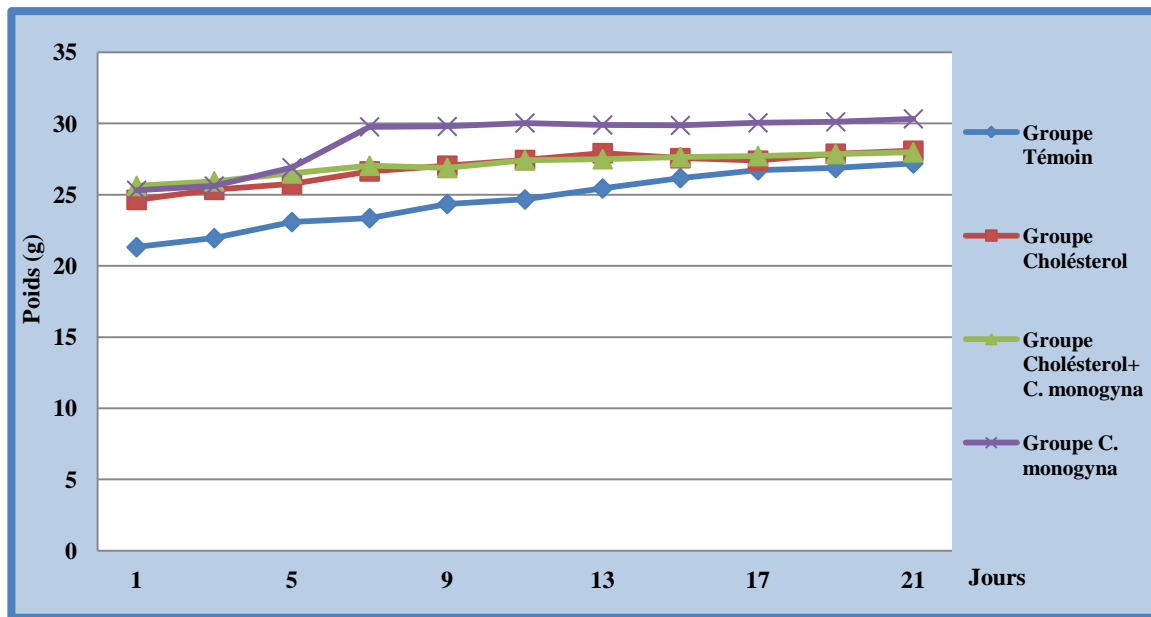


Figure 13. Effet de l'huile de graines de *C. monogyna* sur le poids des souris.

2.3.2 Consommation d'aliment

La consommation d'aliment du groupe (Témoin) de la première à la troisième semaine est de 58g, 81g et 90g respectivement. On constate une augmentation hautement significative de la consommation d'aliment, avec $p=0,001$.

Pour le groupe (Cholestérol), la consommation d'aliment de la première à la troisième semaine est de 80g, 110g et 145g respectivement. Ces résultats indiquent une augmentation hautement significative, avec $p=0,001$.

En revanche, pour le groupe (Cholestérol + *C. monogyna*), la consommation d'aliment de la première à la troisième semaine est de 53g, 81g et 51g respectivement. Les données reflètent une diminution significative, avec $p=0,04$.

Pour le groupe (*C. monogyna*), la consommation d'aliment de la première à la troisième semaine est de 62g, 65g et 58g respectivement. Ces résultats montrent une diminution non significative, avec $p= 0.36$ (**Figure 14**).

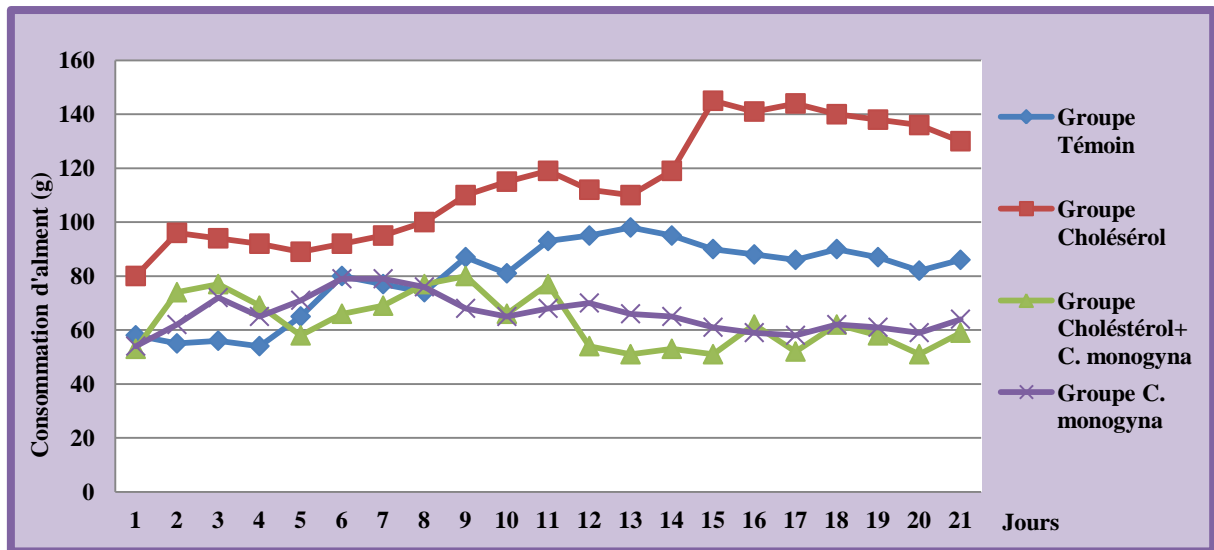


Figure 14. Effet de l'huile de graines de *C. monogyna* sur la consommation d'aliment.

2.4 Discussion générale sur le poids et l'aliment

Dans notre expérimentation, le poids vif des souris soumises à un régime hypercholestérolémiant est significativement plus élevé par rapport au groupe (Témoin). Par ailleurs, on constate que le traitement par l'huile de graines de *C. lanatus*, *C. azarolus* et *C. monogyna* a réduit la prise alimentaire chez les souris obèses. Ces résultats sont comparables à la littérature, lorsque le régime induit une obésité causé par une hyperphagie chez les souris. L'élévation de l'apport énergétique est un déterminant important dans la genèse de l'obésité par accumulation du tissu adipeux. Cette obésité est associée à des altérations des métabolismes glucidique, lipidique et protéique similaires à celles observées au cours de l'obésité humaine (Kopelman, 2000).

Les principaux déterminants de la densité énergétique d'une consommation alimentaire sont les lipides qui forment un élément ayant le plus d'impact sur la satiété et la prise de poids. Il est bien établi qu'une alimentation à haute densité énergétique, riche en lipides comme le régime hypercholestérolémiant diminue la satiété, la sensation de faim et augmente le poids corporel. L'absorption intestinale des lipides est donc majorée chez les souris sous régime hypercholestérolémiant. Il apparaît clairement que ce régime induit chez les souris une hyperphagie et une meilleure capacité de rétention des protéines et des lipides, favorisant une croissance pondérale importante (Bouanane *et al.*, 2009).

Dans notre expérimentation, le régime hyperlipidémiant induit une obésité chez les souris, ce qui confirme nos résultats qui sont en accord avec les travaux de Armitage *et al.* (2005).

Résultats et discussion

Les résultats de l'évaluation de l'effet des différents traitements sur l'évolution du poids des souris montrent, une augmentation significative des poids des souris dans tous les groupes. Ces résultats vont en direction avec les résultats obtenus par Zerizer (2006), montre une augmentation de poids des rats administrés pendant 21 jours avec 200mg/kg/j de L-méthionine. Vu les résultats obtenus, on peut conclure une véritable relation entre l'hypercholestérolémie et le poids des souris.

En ce qui concerne la consommation d'aliment, les résultats ne présentent aucune différence significative dans tous les groupes, sauf dans les groupes (*C. lanatus*), (*C. azarolus*) et (*C. monogyna*) qui révèlent une diminution significative. Ces résultats montrent une relation probable entre les huiles des graines et l'appétit des souris.

Les souris du groupe (Témoin) ont présenté un gain de poids corporel lié à une croissance normale des animaux. Les souris du groupe (*C. lanatus*), (*C. azarolus*) et (*C. monogyna*) ont un gain de poids inférieur à celui des souris du groupe (Témoin) (mais avec $p > 0,05$); ce qui pourrait signifier que l'huile de graines de *C. lanatus*, *C. azarolus* et *C. monogyna* à la dose de 120 mg/kg Pv /jour réduirait légèrement la croissance des souris. Cette observation est en accord avec ceux de Fehri *et al.* (1991).

L'amélioration des poids corporels chez les souris des groupes (Cholestérol+*C. lanatus*), (Cholestérol+ *C. azarolus*) et (Cholestérol+*C. monogyna*) pourrait être expliquée par le pouvoir des huiles des graines de *C. lanatus*, *C. azarolus* et *C. monogyna* à restaurer le stock en TG, grâce à l'amélioration de l'insulinosécrétion et de la glycémie (Babu *et al.*, 2007).

3. Résultats des analyses biochimiques

3.1 Cholestérol total

Le taux de cholestérol des groupes (Témoin) et (Cholestérol) est respectivement $(1,22 \pm 0,10 \text{ g/l})$ et $(1,47 \pm 0,14 \text{ g/l})$; des groupes (Cholestérol+*C. azarolus*) et (*C. azarolus*) est respectivement $(1,38 \pm 0,06 \text{ g/l})$ et $(1,15 \pm 0,10 \text{ g/l})$; des groupes (Cholestérol+*C. monogyna*) et *C. monogyna*) est respectivement $(1,35 \pm 0,05 \text{ g/l})$ et $(1,12 \pm 0,06 \text{ g/l})$ et des groupes (Cholestérol+*C.lanatus*) et (*C.lanatus*) est respectivement $(1,42 \pm 0,10 \text{ g/l})$ et $(1,17 \pm 0,04 \text{ g/l})$ (Figure 15).

Résultats et discussion

La comparaison des données indique que le taux du cholestérol dans le groupe (Cholestérol) est plus élevé par rapport aux autres groupes. Ces résultats sont très hautement significatifs, $p=0,000$. Par contre, le taux du cholestérol des groupes (*C. monogyna*) et (*C. azarolus*) est bas par rapport aux groupes (Cholestérol+*C. monogyna*) et (Cholestérol+*C. azarolus*) respectivement. Ces résultats sont très hautement significatifs, $p=0,000$.

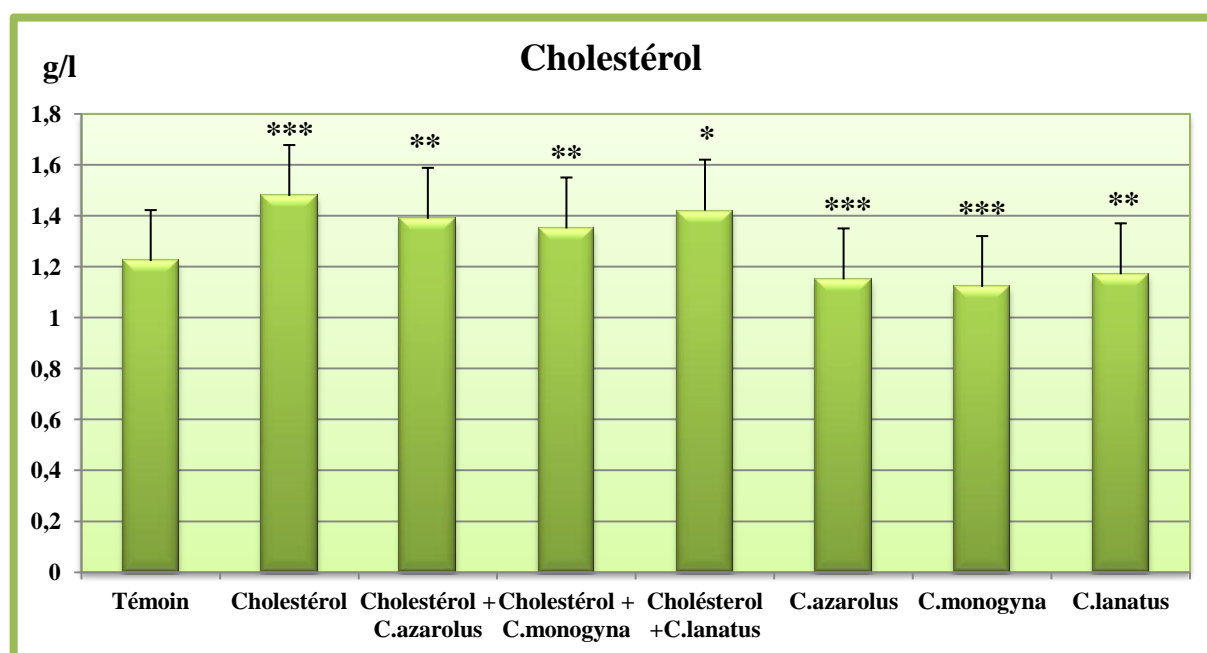


Figure 15. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux du cholestérol chez les souris.

Les données ont été exprimées en moyenne \pm Ecartype de ($n=7$); ANOVA unidirectionnelle suivie par le test Tukey était utilisé pour l'analyse statistique. La différence statistique est considérée hautement significative (**), très hautement significative (***) comparé au groupe (Témoin).

3.2 Triglycérides

Le taux des TG des groupes (Témoin) et (Cholestérol) est respectivement ($0,91\pm 0,02$ g/l) et ($1,27\pm 0,09$ g/l); des groupes (Cholestérol+*C. azarolus*) et (*C. azarolus*) est respectivement ($1,17\pm 0,07$ g/l) et ($0,76\pm 0,10$ g/l); des groupes (Cholestérol+*C. monogyna*) et (*C. monogyna*) est respectivement ($1,15\pm 0,11$ g/l) et ($0,72\pm 0,15$ g/l) et enfin des groupes (Cholestérol+*C. lanatus*) et (*C. lanatus*) est respectivement ($1,21\pm 0,015$ g/l) et ($0,8\pm 0,05$ g/l) (**Figure 16**).

En comparant les différents groupes, il s'avère que le taux des TG dans le groupe (Cholestérol) a une valeur élevée par rapport aux autres groupes. Ces résultats sont très hautement significatifs, $p=0,000$. Par contre, le taux des TG des groupes (*C. monogyna*) et (*C. azarolus*) est réduit par rapport aux groupes (Cholestérol+*C. monogyna*) et

Résultats et discussion

(Cholestérol+C. *azarolus*) respectivement. Ces résultats sont très hautement significatifs, $p=0.000$.

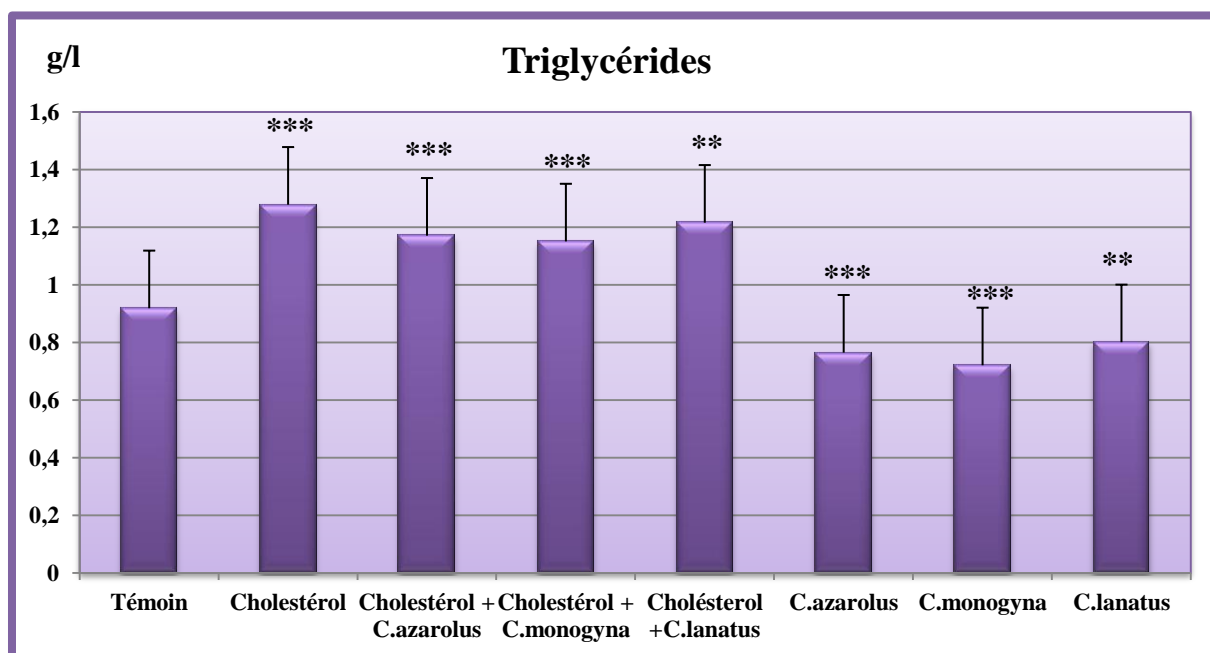


Figure 16. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux des triglycérides chez les souris.

3.3 HDL-c

Le taux de HDL-c des groupes (Témoin) et (Cholestérol) est respectivement $(1,22 \pm 0,10 \text{ g/l})$ et $(0,9 \pm 0,05 \text{ g/l})$; des groupes (Cholestérol+C. *azarolus*) et (C. *azarolus*) est respectivement $(1,16 \pm 0,07 \text{ g/l})$ et $(1,11 \pm 0,25 \text{ g/l})$; des groupes (Cholestérol+C. *monogyna*) et (C. *monogyna*) est respectivement $(1,14 \pm 0,12 \text{ g/l})$ et $(1,30 \pm 0,17 \text{ g/l})$ et celui des groupes (Cholestérol+C. *lanatus*) et (C. *lanatus*) est respectivement $(1,19 \pm 0,09 \text{ g/l})$ et $(1,17 \pm 0,09 \text{ g/l})$ (**Figure 17**).

La comparaison des données montre que le taux de HDL-c dans le groupe (Cholestérol) a une valeur basse par rapport aux autres groupes. Ces résultats sont hautement significatifs, $p < 0,01$. Par contre, le taux de HDL-c du groupe (C. *monogyna*) a une valeur élevée par rapport au groupe (Cholestérol+C. *monogyna*). Ces résultats sont hautement significatifs, $p < 0,01$.

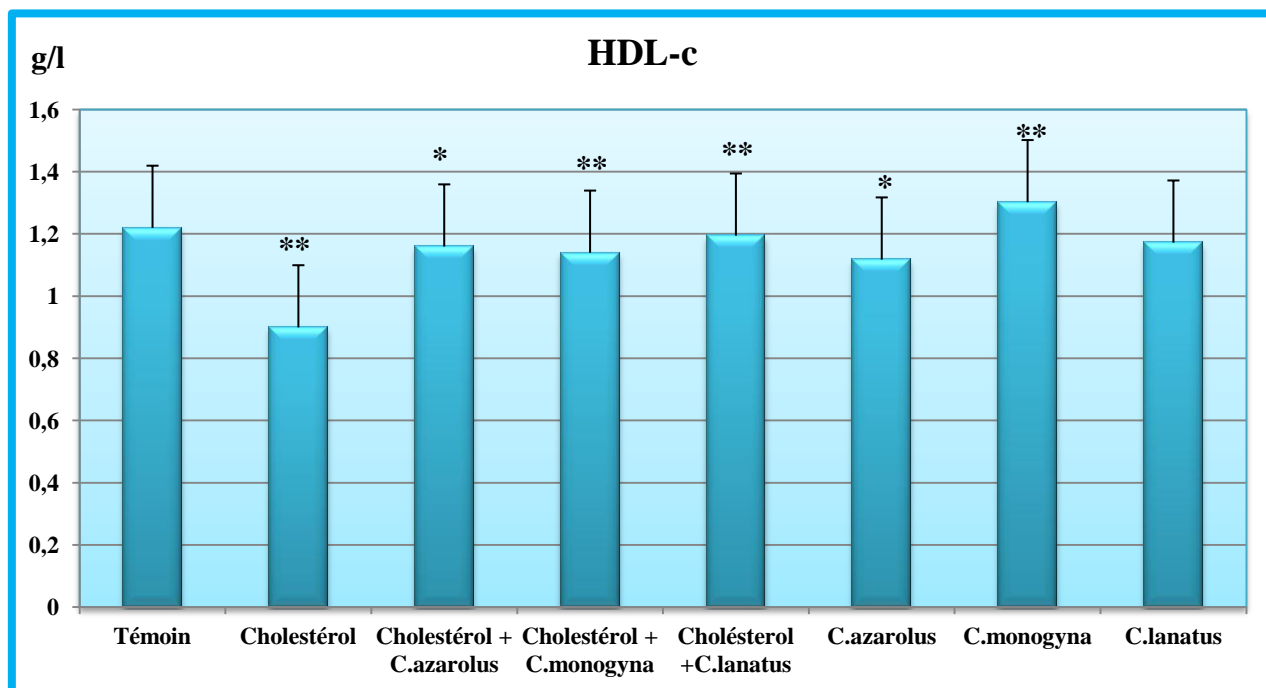


Figure 17. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux du HDL-c chez les souris.

3.4 LDL-c

Le taux de LDL-c des groupes (Témoin) et (Cholestérol) est respectivement $(0,12 \pm 0,07 \text{ g/l})$ et $(0,41 \pm 0,21 \text{ g/l})$.

Le taux de LDL-c des groupes (Cholestérol+C. *azarolus*) et (*C. azarolus*) est respectivement $(0,38 \pm 0,05 \text{ g/l})$ et $(0,20 \pm 0,05 \text{ g/l})$. Le taux de LDL-c des groupes (Cholestérol+C. *monogyna*) et (*C. monogyna*) est respectivement $(0,34 \pm 0,16 \text{ g/l})$ et $(0,18 \pm 0,06 \text{ g/l})$. Le taux de LDL-c des groupes (Cholestérol+C.*lanatus*) et (*C.lanatus*) est respectivement $(0,39 \pm 0,11 \text{ g/l})$ et $(0,23 \pm 0,04 \text{ g/l})$. (**Figure 18**)

La comparaison des données montre que le taux de LDL-c dans le groupe (Cholestérol) a une valeur élevée par rapport aux autres groupes. Ces résultats sont très hautement significatifs, $p=0,000$. Par contre, le taux de LDL-c des groupes (*C. monogyna*) et (*C. azarolus*) ont une valeur basse par rapport aux groupes (Cholestérol+C. *monogyna*) et (Cholestérol+ *C. azarolus*) respectivement. Ces résultats sont très hautement significatifs, $p=0,000$.

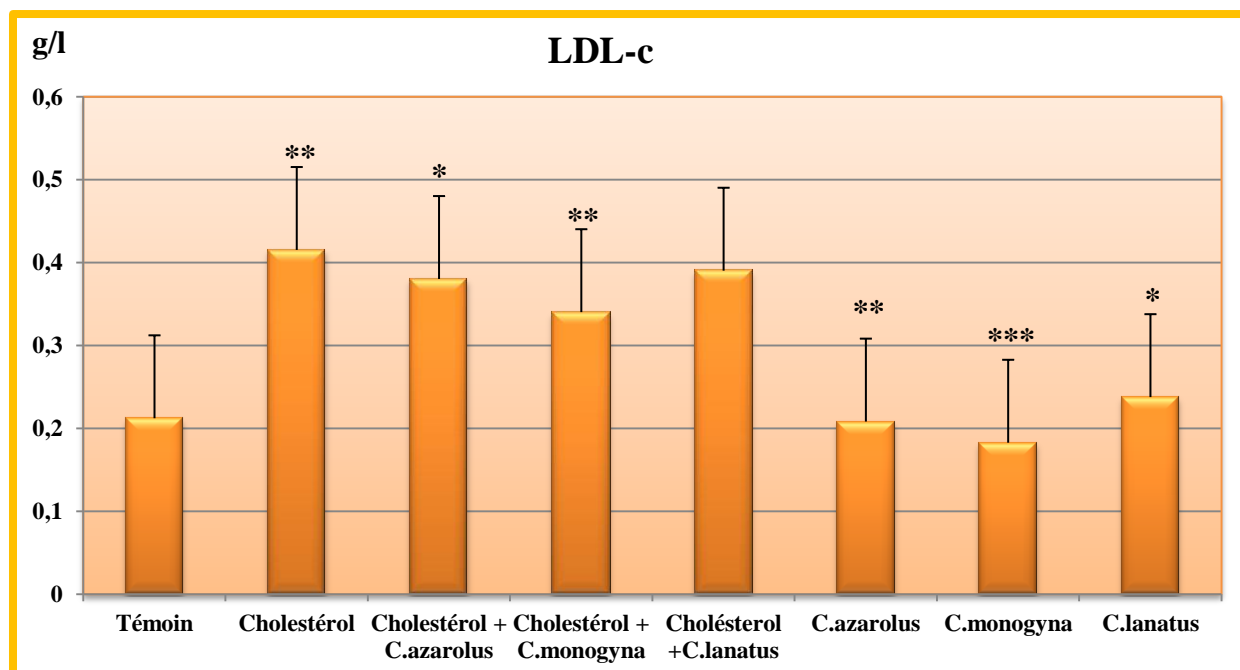


Figure 18. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux du LDL-c chez les souris.

3.5 Aspartame Aminotransférase (ASAT)

Le taux de l'ASAT des groupes (Témoin) et (Cholestérol) est respectivement ($72,3 \pm 9,52$ UI/l) et ($119,06 \pm 7,10$ UI/l).

Le taux de l'ASAT des groupes (Cholestérol+C. *azarolus*) et (*C. azarolus*) est respectivement ($91,26 \pm 10,84$ UI/l) et ($85,66 \pm 5,99$ UI/l) ; des groupes (Cholestérol+C. *monogyna*) et (*C. monogyna*) est respectivement ($86,25 \pm 8,00$ UI/l) et ($83,02 \pm 8,27$ UI/l) et celui des groupes (Cholestérol+C. *lanatus*) et (*C. lanatus*) est respectivement ($94,5 \pm 12,76$ UI/l) et ($86,9 \pm 9,61$ UI/l) (**Figure 19**).

L'interprétation de la **figure 19** indique que le taux de l'ASAT du groupe (Cholestérol) a une valeur élevée par rapport aux autres groupes. Ces résultats sont très hautement significatifs, $p=0,000$. Le test Tukey révèle une différence hautement significative ($p=0,002$) entre les groupes [(Cholestérol+C. *azarolus*), (Cholestérol+C. *lanatus*)] et [(*C. lanatus*), (*C. azarolus*)] respectivement et une différence très hautement significative entre les groupes (Cholestérol+C. *monogyna*) et (*C. monogyna*), $p=0,000$.

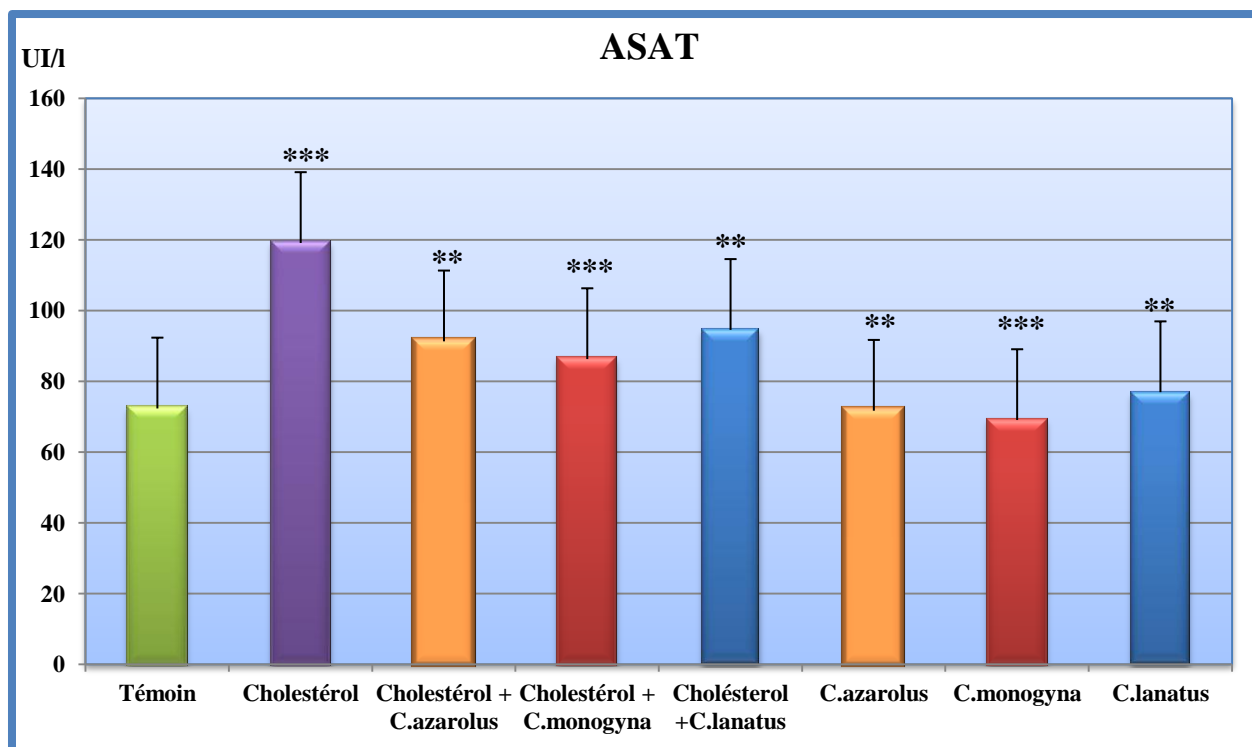


Figure 19. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux de l'ASAT chez les souris.

3.6 Alanine Aminotransférase (ALAT)

Le taux de l'ALAT des groupe (Témoin) et (Cholestérol) est respectivement ($41,86 \pm 5,45$ UI/l) et ($63,77 \pm 5,51$ UI/l) ; des groupes (Cholestérol+C. *azarolus*) et (C. *azarolus*) est respectivement ($50 \pm 11,88$ UI/l) et ($38,8 \pm 7,36$ UI/l) ; des groupes (Cholestérol+C. *monogyna*) et (C. *monogyna*) est respectivement ($46,55 \pm 5,71$ UI/l) et ($37 \pm 5,42$ UI/l) et des groupes (C. *lanatus*) et (Cholestérol+ C. *lanatus*) est respectivement ($51,35 \pm 7,30$ UI/l) et ($41,15 \pm 3,06$ UI/l) (**Figure 20**).

La comparaison des données obtenues montre que le taux de l'ALAT du groupe (Cholestérol) a une valeur élevée par rapport aux autres groupes. Ces résultats sont très hautement significatifs, $p=0.000$. Par contre, le taux de l'ALAT du groupe (C. *monogyna*) a une valeur basse par rapport au groupe (Cholestérol+C. *monogyna*). Ces résultats sont très hautement significatifs, $p=0.000$.

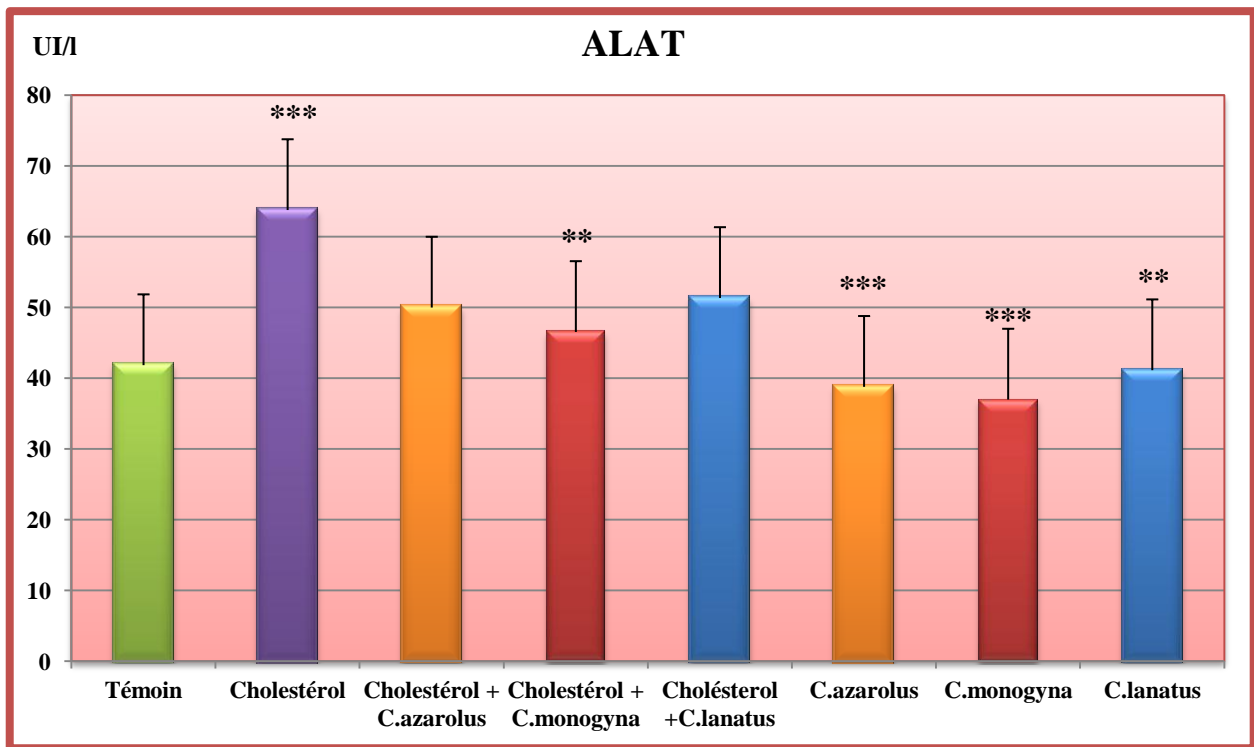


Figure 20. Effet du cholestérol et des extraits sur le taux de l'ALAT chez les souris.

3.7 Protéine C Réactive (CRP)

Le taux de la CRP des groupes (Témoin) et (Cholestérol) est respectivement $(0,18 \pm 0,11 \text{ g/l})$ et $(0,49 \pm 0,06 \text{ g/l})$.

Le taux de la CRP des groupes (Cholestérol+C. *azarolus*) et (C. *azarolus*) est respectivement $(0,43 \pm 0,1 \text{ g/l})$ et $(0,24 \pm 0,03 \text{ g/l})$; des groupes (Cholestérol+C. *monogyna*) et (C. *monogyna*) est respectivement $(0,33 \pm 0,17 \text{ g/l})$ et $(0,19 \pm 0,07 \text{ g/l})$ et des groupes (Cholestérol+C. *lanatus*) et (C. *lanatus*) est respectivement $(0,46 \pm 0,10 \text{ g/l})$ et $(0,2 \pm 0,06 \text{ g/l})$ (Figure 21).

La comparaison des résultats obtenus montre que le taux de la CRP du groupe (Cholestérol) a une valeur élevée par rapport aux autres groupes. Ces résultats sont hautement significatifs, ($p < 0,01$). Le test Tukey révèle une différence hautement significative entre les groupes (Cholestérol+C. *monogyna*) et (C. *monogyna*), ($p < 0,01$).

Résultats et discussion

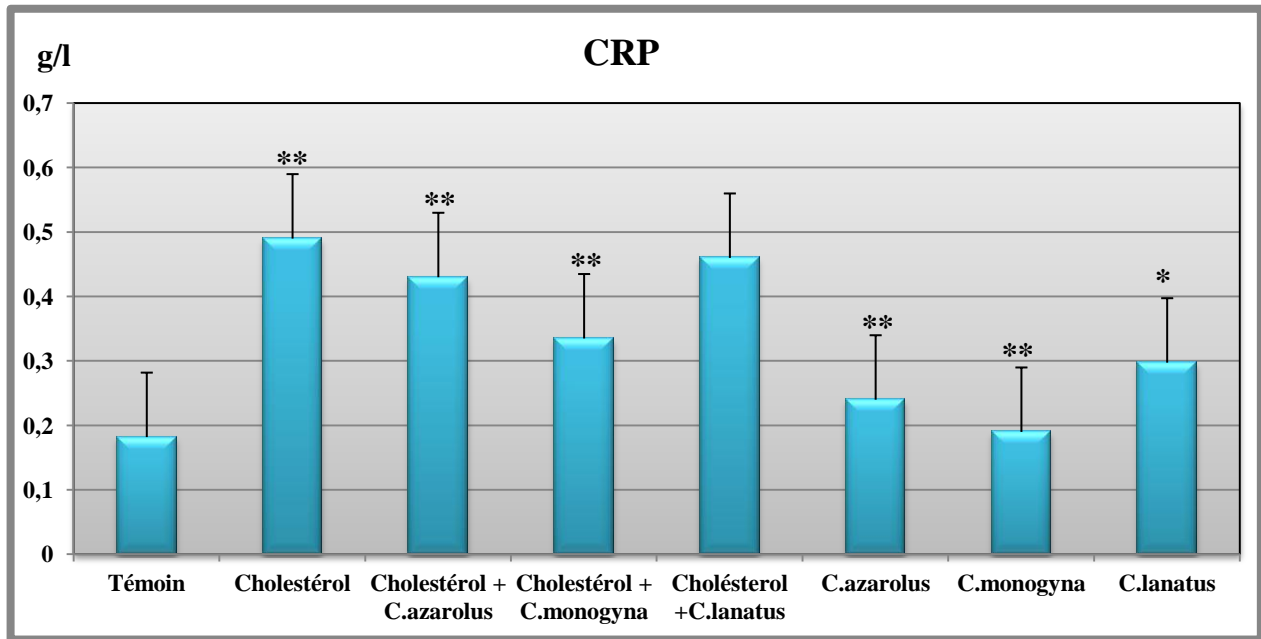


Figure 21. Effet du cholestérol et des extraits sur les taux de la CRP chez les souris.

3.8 Discussion générale des résultats des analyses biochimiques

3.8.1 Cholestérol, TG, HDL-c et LDL-c

D'après les figures 15, 16, 17 et 18, le traitement avec le cholestérol (400 mg/kg Pv /jour) a révélé une élévation très hautement significative ($p=0.000$) au niveau du cholestérol total, et une élévation hautement significative ($p<0.01$) des taux plasmatiques des TG et LDL-c. Par contre le cholestérol a causé une diminution hautement significative ($p<0.01$) des taux plasmatiques de HDL-c.

Le cholestérol agit en tant qu'un agent tensioactif et supprime l'action des lipases pour bloquer la prise des lipoprotéines de la circulation par le tissu extra hépatique ayant pour résultat l'augmentation de la concentration des lipides sanguins (Aarati et Aniket, 2015).

L'induction de l'hyperlipidémie a provoqué une augmentation hautement significative du taux des TG chez les souris du groupe (Cholestérol). Les TG représentent la forme de stockage des acides gras dans l'organisme. Les TG sont intégrées dans les lipoprotéines pour assurer leur transport dans les milieux aqueux. En effet, le régime enrichi en cholestérol est responsable d'une élévation des TG sérique et hépatique (Yang *et al.*, 2006).

Dans la circulation, les pré-HDL-C peuvent subir l'action de la LCAT (Lecithin-Cholestérol Acyl Transférase) qui, en estérifiant le cholestérol capté, permet la formation du cœur hydrophobe et la génération de HDL-c matures. Le récepteur SR-B1 (Scavenger Receptor class B type1) localisé au niveau des cavéoles serait également capable de favoriser l'efflux de cholestérol (Gautier *et al.*, 2011).

Résultats et discussion

Les HDL-c sont aussi appelés le « bon cholestérol » car une concentration élevée des HDL-c dans le sang constitue une protection contre le risque cardiovasculaire (Dilmi-Bouras et Sadoun, 2002). D'après l'étude d'Obeid et Wolfgang (2009), l'augmentation de cholestérol dans le plasma est associée d'une part, à la diminution du métabolisme des HDL-c et d'autre part, à la distribution des lipides plasmatiques et tissulaires.

L'induction de l'hyperlipidémie par le cholestérol a provoqué aussi une augmentation significative au niveau de LDL-c du lot (Cholestérol). L'excès de ce paramètre est la cause de l'athérosclérose (Vergès, 2007). Comme il a été bien admis, l'oxydation du cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL-c) joue un rôle important dans l'athérosclérose. Cette accumulation provoque une cascade de processus inflammatoires, entraînant une plaque athérosclérotique instable qui éclate finalement, provoquant un infarctus du myocarde (Wang *et al.*, 2013). Les LDL-c représentent le produit final de la cascade métabolique VLDL-c, LDL-c et IDL-c qui sont responsables du transport du cholestérol du foie vers les tissus périphériques (Vergès, 2007).

L'oxydation de LDL-c, a contribué à la formation des cellules spumeuses et, par conséquent inhibe la régression des macrophages provenant des plaques. L'augmentation des LDL-c semble être liée à leur peroxydation par les radicaux libres générés par le cholestérol car, cette peroxydation inhibe la reconnaissance des LDL-c oxydés par leurs récepteurs natifs et par conséquent, leur augmentation dans le plasma (Laporte, 2000). Nos résultats sont en accord avec l'étude de Tselmin *et al.* (2013) et différent de l'étude de Amrane *et al.* (2012).

➤ Les résultats obtenus ont montré que les taux plasmatiques du cholestérol et des TG ont été diminués de façon très hautement significative ($p=0.00$) chez le groupe (*C. azarolus*) (**Figure 15**) et (**Figure 16**). Par ailleurs, l'huile de graines de *C. azarolus* a considérablement diminué les taux de LDL-c de façon significative ($p<0.05$) (**Figure 18**). Par contre, l'huile de graines de *C. azarolus* a considérablement augmenté les taux de HDL-c de façon significative ($p<0.05$) (**Figure 17**).

La diminution de l'hypercholestérolémie dans les lots (Cholestérol+*C. azarolus*) et (*C. azarolus*) peut être expliquée par la baisse déjà observée des LDL-c (principaux transporteurs de cholestérol) (Luo *et al.*, 2008). Plusieurs études sur *C. azarolus* ont mentionné que l'effet antihypercholestérolémiant pourrait être dû aux flavonoïdes, triterpènes et saponines. Une nette diminution des lipides totaux a été observée au niveau des deux lots traités par l'huile de graines de *C. azarolus*, ce qui pourrait être dû à la diminution du taux des TG et du cholestérol total. Cette amélioration du profil lipidique a été rapportée par Rigelsky et Sweet

Résultats et discussion

(2002) sur l'espèce du *C. azarolus*. L'huile de graines de *C. azarolus* a empêché l'élévation des lipides dans le sérum et a provoqué une diminution significative de l'accumulation de lipides dans le foie et l'aorte chez les souris (Fan *et al.*, 2006).

L'huile de graines de *C. azarolus* semble augmenter le "bon" cholestérol (HDL-c). Ce dernier est associé à une baisse du risque de développement d'athérosclérose et des maladies coronariennes. Il transporte le cholestérol des tissus périphériques au foie où il sera dégradé en acides biliaires (Tang *et al.*, 2006). L'augmentation du HDL-c pourrait être due au pouvoir de l'huile de graines de *C. azarolus* de restaurer la sécrétion d'insuline. Cette dernière augmenterait l'activité de la lécithine cholestérol Acyl transférase ou « LACT » (enzyme se trouvant à l'intérieur des pré- HDL-c plasmatiques appelés également particules HDL-c naissantes). Cette enzyme forme les esters de cholestérol du pré- HDL-c à partir d'acides gras et de cholestérol libre formant au final des molécules de HDL-c.

La baisse de la triglycéridémie et du taux de LDL-c chez le groupe (*C. azarolus*) peut être due à l'amélioration de l'insulinosécrétion. En effet, cette hormone inhibe l'activité de la lipase hormonosensible (enzyme lipolytique active au niveau des adipocytes), le catabolisme des LDL-c et augmente l'activité des récepteurs LDL-c à la surface des cellules (surtout hépatiques), ce qui conduit à leur internalisation (Babu *et al.*, 2007).

L'huile de graines de *C. azarolus* a empêché également l'élimination des lipides plasmatiques tels que le cholestérol total, les TG et les fractions LDL-c (Ljubuncic *et al.*, 2006).

Les acides triterpéniques comme l'acide oléanolique et l'acide ursolique dans l'huile de graines de *C. azarolus* sont responsables de ses effets hypocholestérolémiants. Il a également été constaté que les esters de stérols végétaux fournissent un effet additif en combinaison avec les acides triterpéniques (Lin *et al.*, 2011).

De nombreuses plantes peuvent réduire l'oxydation des LDL-c. Une recherche a étudié les effets de sept herbes chinoises et a conclu que *C. azarolus* est efficace pour abaisser les taux de lipides sanguins (Xu, 2004).

Notre étude a confirmé les résultats de Zhang *et al.* (2002) révélant que l'huile de graines de *C. azarolus* a considérablement réduit les concentrations plasmatiques de cholestérol non HDL-c (VLDL-c + LDL-c) et diminué la teneur en esters de cholestérol hépatique.

La fraction des flavonoïdes a montré des effets inhibiteurs sur les TG, l'absorption du glucose et des effets accélérateurs sur le transit gastro-intestinal *in vivo*, en plus de la

Résultats et discussion

suppression de l'accumulation de TG et d'acide gras libre (Wang *et al.*, 2011). Nos résultats ont confirmé la conclusion de Jemaa *et al.* (2016) qui a montré que l'extrait des graines de *C. azarolus* a exercé un potentiel hypolipidémiques sur des lapins nourris avec un régime athérogène.

➤ Les résultats obtenus reflètent que les taux plasmatiques du cholestérol et des TG ont été diminuée de façon très hautement significative ($p=0.00$) chez le groupe (*C. monogyna*) (**Figure 15**) et (**Figure 16**). En outre, l'huile de graines de *C. monogyna* a considérablement diminué les taux de LDL-c de façon hautement significative ($p<0.01$) (**Figure 18**). Par contre, l'huile de graines de *C. monogyna* a considérablement augmenté les taux de HDL-c de façon hautement significative ($p<0.01$) (**Figure 17**).

➤ *C. monogyna* est principalement utilisée pour diverses affections cardiovasculaires. On suggère que les effets cardiovasculaires sont le résultat de la capacité d'augmenter l'intégrité de la paroi des vaisseaux sanguins et d'améliorer le flux sanguin coronaire et des effets positifs sur l'utilisation de l'oxygène. Les flavonoïdes sont supposés expliquer ces effets (Scott et Elmer, 2002).

➤ Le mécanisme exact sur la base laquelle l'huile de graines de *C. monogyna* est capable de réduire le cholestérol, les TG, le LDL-c et d'améliorer le HDL-c reste à clarifier. Cependant, une altération des enzymes digestives de l'estomac et du métabolisme du cholestérol dans le foie après la consommation de *C. monogyna* a été signalée (Kwok *et al.*, 2010). Par conséquent, l'huile de graines de *C. monogyna* à effet hypocholestérolémique, qui se rapporte à la teneur en flavonoïdes et triterpénoïdes des extraits, serai un nouveau composé thérapeutique pour le traitement des patients atteints d'hyperlipidémie (Itoh *et al.*, 2009).

➤ Nous avons que l'effet antihyperlipidémique de l'extrait de *C. monogyna* est significativement dominant par rapport à l'huile de graines de *C. azarolus* et *C. lanatus*. Cette remarque est confirmée par l'effet antihyperlipidémique déjà signalé pour l'acide ursolique (Azevedo *et al.*, 2010; Radhiga *et al.*, 2012). Il a été démontré que l'acide ursolique et l'acide oléanolique, les composants triterpénoïdes de *C. monogyna* réduisent l'absorption intestinale du cholestérol via l'inhibition de l'activité de l'acyl-coenzyme A intestinale et l'activité de cholestérol acyltransférase (ACAT) (Lin *et al.*, 2011). Il est probable que le lupéol, en tant que triterpénoïde, en raison d'une structure chimique similaire à l'acide ursolique et à l'acide oléanolique, puisse inhiber l'activité ACAT intestinale et contribuer aux effets hypolipidémiques des extraits de *C. monogyna* (Rezaei-Golmisheh *et al.*, 2015).

Résultats et discussion

Nos résultats sont en accord avec les études de Liang et ye (2004) et Shen *et al.* (2000), qui ont montré une diminution des taux plasmatiques de cholestérol, des TG et de LDL-c.

Contrairement à leur plus grande contrepartie, l' HDL-c principalement délivre le cholestérol vers le foie pour être métabolisé, excrété ou bien réduit. C'est aussi l'hypothèse que les HDL-c sont capables de déloger les molécules de cholestérol à partir des athéromes dans les parois des artères (Huang et Sumpio, 2008).

Les graines de *C. monogyna* contiennent à la fois des composés polyphénols et des flavonoïdes avec une forte propriété antioxydante, donc elles sont capables de réduire le cholestérol, les TG et le LDL-c. Il a également été suggéré que *C. monogyna* a un effet hypolipidémiant (Holubarsch *et al.*, 2000).

➤ Nos résultats confirment que les taux plasmatiques du cholestérol et de LDL-c ont diminué de façon significative ($p < 0.05$) chez le groupe (*C. lanatus*) (**Figure 15**) et (**Figure 18**). L'huile des graines de *C. lanatus* a considérablement abaissé les taux des TG de façon hautement significative ($p < 0.01$) (**Figure 16**). Par contre, l'huile de graines de *C. lanatus* a considérablement augmenté les taux de HDL-c de façon non significative ($p > 0.05$) (**Figure 17**).

Il a été démontré que certains acides gras contenus dans l'huile de graines de pastèque augmentent le HDL-c, ce qui est bénéfique pour la circulation sanguine humaine, tandis que les acides oléique et linoléique sont connus pour réduire le LDL-c, qui est le mauvais cholestérol (Njuguna *et al.*, 2014).

Poduri *et al.* (2012), ont étudié l'effet antihyperlipidémique de *C. lanatus* sur l'athérosclérose induite par l'hypercholestérolémie chez la souris. L'ingestion de *C. lanatus* a entraîné une réduction de l'athérosclérose dans les régions de l'arc aortique et de la région thoracique (Rahman *et al.*, 2013).

Des diminutions significatives ($p < 0,05$) ont également été observées dans le cholestérol total et libre sérique dans le groupe traité à l'huile de graines de *C. lanatus* par rapport au groupe (Témoin). Nos résultats sont en accord avec les études d'Oluba *et al.* (2008) et de Heinecke (1998), qui ont constaté que l'huile de graines de *C. lanatus*, riche en acides gras polyinsaturés, produisait une réduction significative ($p < 0,05$) des concentrations sériques totales, libres et estérifiées de cholestérol et de TG.

Nos résultats ont montré que l'administration de l'huile de graines de *C. lanatus* a provoqué une augmentation liée à la dose de la concentration de HDL-c. L'apolipoprotéine A-1 est un composant central des HDL-c qui a conduit à la formation de HDL-c *in vivo*. Il a été

observé que l'expression transgénique de l'apolipoprotéine A-1 entraînait une réduction de la formation de lésions chez les souris (Lahiji et Navab, 2003).

Cependant, nos résultats ont révélé que l'administration de l'huile de graines de *C. lanatus* a provoqué une diminution non significative liée à la dose des niveaux de LDL-c. Cela peut indiquer le fait probable que des doses élevées de graines de *C. lanatus* peuvent être bénéfiques, en ce qui concerne la capacité d'abaissement du LDL-c.

La consommation de l'huile de graines de *C. lanatus* est liée à la réduction des facteurs de risque cardiovasculaires, notamment le glucose, les acides gras libres, l'homocystéine et l'hypertension artérielle et à l'inhibition de la formation de peroxydes lipidiques, ainsi que de limiter la progression de l'athérosclérose (Figuroa *et al.*, 2012; Poduri *et al.*, 2012). Ces avantages peuvent être compris en notant les concentrations plasmatiques élevées d'arginine et de citrulline après la consommation de pastèque (Tarazona-Diaz *et al.*, 2011). L'arginine augmente l'oxydation des graisses et du glucose, réduisant l'hyperglycémie, améliorant la dyslipidémie et réduisant la masse adipeuse chez les animaux obèses (Fu *et al.*, 2005). La citrulline est convertie en arginine, mettant ainsi en évidence le potentiel pour explorer les effets de la consommation de l'huile de graines de *C. lanatus* sur la régulation du métabolisme des substrats énergétiques, l'amélioration des fonctions cardiovasculaires et immunologiques et la diminution du stress oxydatif (Tarazona-Diaz *et al.*, 2011). Nos résultats corroborent l'étude de Kolaowde *et al.* (2016) qui ont constaté que les composants de *C. lanatus* réduisent significativement le cholestérol, les TG et LDL-c et augmentent significativement le HDL-c chez les rats diabétiques.

3.8.2 ASAT et ALAT

Il est connu que l'ASAT est retrouvée à des concentrations élevées dans les cellules du foie. L'ALAT est localisée uniquement dans le cytosol, sa concentration dans les tissus non hépatiques est très faible et elle est, dans ces cas, confinée au cytoplasme. La forte élévation de sa concentration sérique est relativement spécifique d'une atteinte de l'hépatocyte. L'ALAT et l'ASAT sont libérées en cas de lésions cellulaires en rapport avec une augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire ou d'une nécrose cellulaire. L'ALAT tend à augmenter ou diminuer de façon concomitante à l'ASAT, mais la libération de l'ASAT mitochondriale à partir de l'hépatocyte est supposée impliquée dans des lésions cellulaires plus sévères que la libération de l'ALAT (Wang *et al.*, 2010).

Résultats et discussion

Les résultats obtenus indiquent une augmentation très hautement significative ($p=0,000$) de l'activité sérique de l'ASAT et de l'ALAT chez le groupe (Cholestérol) par rapport aux autres groupes (**Figure 19**) et (**Figure 20**).

Le régime hyperlipidémique augmente le niveau des lipides hépatiques. Cette accumulation excessive de lipides a dépassé la capacité de la mitochondrie à les oxyder, et la voie de l'oxydation microsomale des acides gras à chaîne longue (AGCL), normalement mineure, prend alors le relais pour oxyder les lipides en excès (Robertson *et al.*, 2001).

En raison des dommages aux cellules hépatiques, le taux de synthèse des protéines est réduit, ce qui entraîne de faibles niveaux de protéines plasmatiques dans le groupe (Cholestérol) (Chaturvedi *et al.*, 2014).

L'oxydation microsomale des AGCL génère de grandes quantités d'ERO, en altérant la chaîne respiratoire. Ces modifications vont à leur tour induire une augmentation de la production d'ERO, formant ainsi un cercle vicieux entre peroxydation lipidique et production d'ERO. Ceux-ci entraînent une augmentation des peroxydes lipidiques (Thiols Barbituric Acide Reactive Species ; TBARS) contribuant à une cytolysé hépatocytaire (ALAT/ASAT) et une inflammation (Videla *et al.*, 2004). En outre, la peroxydation des lipides entraîne l'oxydation des protéines, connue pour être délétère pour la cellule. Ceci se traduit par une augmentation du niveau des TG, une cytolysé hépatocytaire (augmentation du rapport ALAT/ASAT) et la présence d'un stress oxydant (augmentation des TBARS). Cette élévation de l'activité des aminotransférases est expliquée par l'augmentation de la perméabilité de la membrane des hépatocytes (Van Herpen et Schrauwen-Hinderling, 2008). Les nombreuses études réalisées sur des souris recevant un régime hyperlipidémique ont mis en évidence une nette amélioration de la concentration sérique des enzymes plasmatiques (Bernal *et al.*, 2013).

➤ L'analyse des résultats obtenus reflète que l'activité sérique de l'ASAT et de l'ALAT a diminué de façon très hautement significative ($p=0,00$) chez le groupe (*C. monogyna*) comparé aux groupes [(*C. azarolus*) et (*C. lanatus*)] (**Figure 19**) et (**Figure 20**).

L'huile de graines de *C. monogyna* a diminué l'infiltration des neutrophiles et la nécrose hépatique induite par le régime hyperlipidémique. L'huile de graines de *C. monogyna* a diminué aussi l'expression hépatique de l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) et de la cyclooxygénase 2 (COX-2) induite par le régime hyperlipidémique chez les souris. De plus, l'huile de graines de *C. monogyna* a inhibé la génération d'ERO(ERO) (Kao *et al.*, 2007). L'expression d'iNOS peut être induite dans diverses cellules telles que les macrophages, les CML et les hépatocytes par exposition à des stimulants endogènes et exogènes.

Résultats et discussion

Une production accrue de NO par l'expression d'iNOS est impliquée dans le processus d'inflammation. Les inhibiteurs de l'activité iNOS pourraient offrir une protection contre l'inflammation et les dommages hépatiques induits par les toxines endogènes et exogènes (Zhang *et al.*, 2000). Ces résultats sont en accord avec les résultats d'Erl-Shyh *et al.* (2005), qui ont publié que le test *in vivo* a manifesté que le traitement des souris avec des concentrations de l'huile de graines de *C. monogyna* (50-200 mg/kg Pv) pendant 18 jours diminue significativement les taux sériques des marqueurs enzymatiques hépatiques ASAT et ALAT.

➤ Dans notre travail, l'huile de graines de *C. azarolus* a diminué l'activité sérique des transaminases ASAT et ALAT de façon hautement significative ($p < 0.01$) et très hautement significative ($p = 0.000$) respectivement (**Figure 19**) et (**Figure 20**).

Cet effet peut être expliqué par la présence des flavonoïdes, triterpénoïdes, saponines et alcaloïdes dans notre huile et qui sont connus par leur activité hépatoprotectrice. La présence de flavonoïdes dans l'huile de graines de *C. azarolus* peut être responsable de son activité antioxydante et donc hépatoprotectrice (Anusha *et al.*, 2011). Ces résultats sont en accord avec ceux de Pramyothin *et al.* (2006) qui ont constaté que le prétraitement de rats avec l'huile de graines de *C. azarolus* selon une dose orale unique de (75 mg kg⁻¹) 4h avant le traitement à l'éthanol, abaissait les niveaux d'ASAT et d'ALAT chez les rats. Aussi, le traitement des rats avec l'huile de graines de *C. azarolus* (75 mg kg⁻¹/jour) a amélioré la récupération des cellules hépatiques en ramenant les niveaux d'ASAT et d'ALAT à la normale.

➤ D'après les résultats obtenus, l'administration de l'huile de *C. lanatus* a diminuée de façon hautement significative ($p < 0.01$) le taux des transaminases chez le groupe (*C. lanatus*) par rapport au groupe (Cholestérol+*C. lanatus*) (**Figure 19**) et (**Figure 20**).

Dans cette étude, la diminution des transaminases chez le groupe (*C. lanatus*) peut être due à une diminution d'apport des acides aminés en conséquence d'amélioration du système de défense contre la protéolyse, ou par une diminution du coenzyme de ces enzymes. Ceci être aussi expliqué par la réduction de processus de la néoglucogenèse, qui nécessite l'intervention de l'ASAT et l'ALAT (Derouiche et Kechrid, 2013).

Ces résultats divergent avec l'étude de Touyz (2000) qui rapporte une diminution non significative du taux des transaminases par l'huile de *C. lanatus*.

L'activité hépatoprotectrice de l'huile de graines de *C. lanatus* a été évaluée sur l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) chez le rat par des taux

d'enzymes hépatiques sériques estimés. Les cellules hépatiques semblent participer à une variété d'activités métaboliques enzymatiques et l'administration de CCl₄ endommage les cellules hépatiques et élève le taux sérique d'ASAT, ALAT de manière significative (Madhavi *et al.*, 2012).

Les faibles activités observées de l'ALAT et de l'ASAT chez les souris nourries à l'huile de *C. lanatus* pourraient résulter du rôle possible de l'acide linoléique dans le maintien de l'intégrité cellulaire (Oluba *et al.*, 2008). Cette constatation est tout à fait contraire de celle de Rabiou *et al.* (2019) et de Nabil *et al.* (2013), mais en accord avec les conclusions d'Ebuechi *et al.* (2012).

3.8.3 Protéine C Réactive (CRP)

L'analyse des données révèle une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) des taux plasmatiques de la CRP chez le groupe (Cholestérol) par rapport aux autres groupes (**Figure 21**).

Pareillement, une augmentation dans la concentration de la protéine C-réactive chez les souris ayant reçu par une dose élevée de cholestérol par rapport au groupe (Témoin) a été constaté.

Nos résultats confirment ceux de Zerbato (2009), qui indiquent que la CRP est caractérisé par une augmentation rapide de sa concentration dans le sérum pendant la phase inflammatoire.

➤ Nos résultats ont montré que les taux sérique de la CRP ont baissé de façon hautement significative ($p < 0,01$) chez les groupe [(*C. azarolus*) et (*C. monogyna*)] comparé au groupe (*C. lanatus*) et que l'huile de graines de *C. azarolus* a diminué l'activité sérique de la CRP de façon hautement significative ($p < 0.01$) (**Figure 21**).

Cette diminution est interprétée par le fait que l'huile de graines de *C. azarolus* pourrait contenir des composés possédant des propriétés anti inflammatoires.

L'activité anti-inflammatoire de l'huile de graines de *C. azarolus* a été explorée *in vivo* par l'induction de l'œdème de la patte et de l'oreille chez les souris en utilisant respectivement le carraghénine et l'huile de croton. Les résultats obtenus indiquent que l'huile de graines de *C. azarolus* a plus ou moins montré une inhibition de l'œdème par rapport au témoin. Cette activité anti-inflammatoire a été confirmée par voie topique avec le test de l'œdème de l'oreille. Ainsi, le lot traité avec une application cutanée de l'huile de graines de *C. azarolus* (0.5 ml/oreille) a présenté un important taux de réduction de l'œdème (6.6 %) (Lakache, 2016).

Résultats et discussion

L'acide ursolique est un composé triterpénoïde présent dans diverses plantes médicinales et de nombreux fruits. L'acide ursolique a montré des propriétés anti-inflammatoires, hépatoprotectrice, antihyperlipidémique, anticancéreuses, une inhibition de la peroxydation lipidique et des activités antimicrobiennes (Somova *et al.*, 2003). La plupart des articles scientifiques se sont préoccupés par l'activité de l'acide ursolique sans données concernant l'antihyperglycémiant et l'antihyperlipidémique de son dérivé acétate (Jana *et al.*, 2010). L'approche la plus courante de dérivatisation réversible des groupes hydroxy consiste à le lier aux groupes acyle. Ainsi, les promédicaments d'acétate se caractérisent par des propriétés pharmacocinétiques et des taux d'activation favorables (Abu Gharbieh et Shehab, 2017).

De nombreuses recherches ont montré que de nombreux composants actifs des plantes médicinales, principalement les flavonoïdes et les acides phénolcarboniques, empêchant l'infiltration des neutrophiles dans la zone inflammée et neutralisant les espèces de radicaux libres, agissent comme des agents anti-inflammatoires (Maleki, 2001).

Cependant, il a été récemment démontré que la fraction flavonoïde de l'extrait aqueux de fruits secs de *C. pinnatifida* produit un fort effet anti-inflammatoire réduisant le lipopolysaccharide (LPS, une endotoxine) induit la production d'oxyde nitrique (NO) et de prostaglandines en raison de l'inhibition de l'expression de iNOS et COX-2. De plus, il a été établi que l'hyperoside est le principal flavonoïde des fruits secs de *C. pinnatifida* et qu'il inhibe de manière dépendante à la fois la COX-2 et l'iNOS (Kao *et al.*, 2005). L'hyperoside s'avère également être le principal flavonoïde de l'huile de graines de *C. azarolus* testé dans notre étude.

En raison de cela, il semble raisonnable de supposer que l'effet décrit ci-dessus de l'hyperoside sur la production de prostaglandines dans les environnements inflammatoires pourrait être impliqué dans l'ensemble de l'effet anti-inflammatoire de cette huile.

iNOS et COX-2 sont tous deux responsables de la production de grands médiateurs pro-inflammatoires, d'oxyde nitrique et de prostaglandines, sur le site inflammatoire. Raso *et al.* (2001) ont suggéré que la quercétine était responsable de l'inhibition de l'expression des enzymes iNOS et COX-2 dans les macrophages stimulés. En outre, récemment, il a été confirmé que la quercétine et l'isoquercitrine sont des suppresseurs d'inflammation efficaces (TADIĆ-Vanja *et al.*, 2008).

Résultats et discussion

➤ L'huile de graines de *C. monogyna* a considérablement diminué les taux plasmatiques de la CRP d'une façon plus importante que l'huile de graines de *C. azarolus* et *C. lanatus* (**Figure 21**).

L'activité antioxydante, anti-inflammatoire, hypotensive des extraits alcooliques de *C. monogyna* (fruits, fleurs, graines et feuilles) a été prouvée *in vitro* (Fong et Bauman, 2002 ; Vivar-Vera *et al.*, 2007). Par ailleurs, des études précliniques et cliniques ont publié que les fruits de *C. monogyna* possèdent des propriétés antibactériennes, antidiabétiques, hypolipidémiques, anticancéreuses, anti-inflammatoires, immunomodulatrices, antiathérogéniques, antihypercholestérolémiques, gastroprotectrices, hépatoprotectrice, protectrices cardiovasculaires et neuroprotectrices (Nampoothiri *et al.*, 2011; Baliga et Dsouza, 2011).

Nos résultats sont en accord avec les conclusions de l'étude de Tadic *et al.* (2008), qui ont confirmé que l'administration orale de l'extrait de *C. monogyna* a provoqué un effet dose-dépendante dans un modèle d'œdème d'injection sous cutanée des patte de rat induit par la carraghénane et a montré une activité anti-inflammatoire.

Les effets anti-inflammatoires observés de l'extrait de *C. monogyna* peuvent être attribués à la régulation négative de l'expression de COX-2, TNF- α , IL-1 β et IL-6 dans la lignée cellulaire de macrophages murins RAW 264.7 stimulées par LPS (Li et Wang, 2011). Cette constatation est appuyée par une expression iNOS réduite, des niveaux de COX-2 régulée et une diminution de la peroxydation lipidique (Vijayan *et al.*, 2012).

L'huile de graines de *C. monogyna* a également inhibé le signal de calcium intracellulaire et l'entrée de calcium extracellulaire dans les neutrophiles appauvris en calcium (Dalli *et al.*, 2008).

De plus, le mécanisme anti-inflammatoire a également montré que l'activité des graines de *C. monogyna* était étroitement liée à l'inhibition de l'infiltration des leucocytes péritonéaux (Wang *et al.*, 2013).

Nos résultats sont en accord avec l'étude de Kang *et al.* (2008) qui ont constaté que les extraits de *C. monogyna* riches en procyanidine, en particulier la procyanidine B2, inhibent l'expression de la protéine COX-2.

➤ D'après les résultats obtenus, l'administration de l'huile de *C. lanatus* a diminuée de façon significative ($p < 0.05$) le taux de la CRP chez le groupe (*C. lanatus*) et de façon non significative ($p > 0.05$) chez le groupe (Cholestérol+*C. lanatus*) (**Figure 21**).

Résultats et discussion

De nombreuses protéines des graines de cucurbitacées auraient une activité pharmacologique, notamment une activité antidiabétique, antifongique, antibactérienne, anti-inflammatoire et antioxydante (Nkosi *et al.*, 2006). Il a été rapporté aussi que les protéines de pastèque contiennent des quantités importantes d'acide glutamique, d'acide aspartique, d'arginine et de leucine (De Mello *et al.*, 2001).

Selon Frankel (1995), *C. lanatus* est une riche source de flavonoïdes et de phénol et aura ainsi la capacité de piéger les radicaux libres, en plus d'inhiber les actions hydrolytiques et inflammatoires. Dans les composés phénoliques des graines de la pastèque, y compris les flavonoïdes, les caroténoïdes et les triterpénoïdes, et possédant des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes qui rendent le fruit bénéfique pour la santé (Tlili *et al.*, 2011).

La cucurbitacine E ou triterpénoïde, phytonutriment, est un agent anti-inflammatoire unique se trouvant dans la pastèque. Il a été démontré que la cucurbitacine E bloque l'activité des enzymes cyclo-oxygénase et neutralise les molécules réactives contenant de l'azote. Cet agent anti-inflammatoire ne neutralise pas l'activité des ERO mais neutralise l'activité des espèces réactives de l'azote (RNS) (Abdelwahab *et al.*, 2011).

Nos résultats sont en accord avec l'étude de Madhavi *et al.* (2012) qui ont évalué *in vivo* et *in vitro* de l'huile de graines de *C. lanatus* sur l'activité anti-inflammatoire. Cette huile a été criblée pour une activité anti-inflammatoire *in vivo* par un œdème de patte induit par la carraghénane dans un modèle de rat et une activité anti-inflammatoire *in vitro* par une méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humains. La puissance de l'huile a été comparée à celle du diclofénac standard (10 mg / kg) (Habibur *et al.*, 2013).

Recio *et al.* (2004), ont isolé deux cucurbitacines : 23, 24-dihydrocucurbitacines B (DHCB) et cucurbitacine R (CCR) provenant des racines de *C. tayuya*. Ils ont démontré que l'activité anti-inflammatoire, anti-allergique et anti-arthritique de DHCB et CCR *in vitro* et *in vivo* était due à leur capacité à inhiber l'expression du TNF α dans les lymphocytes, dans les macrophages, et à leur interférence avec l'activité du facteur nucléaire des lymphocytes T (NF-AT).

L'analyse de la production de prostaglandine E2, d'oxyde nitrique et de TNF α dans les macrophages RAW 264.7, ainsi que celle du TNF α dans les lymphocytes humains, a indiqué une réduction de tous les médiateurs.

La CCR inhibe également le transducteur de signal et l'activateur de l'activation de la transcription dans les lymphocytes des sujets sains et arthritiques (Escandell *et al.*, 2007).

Résultats et discussion

Saba et Oridupa (2010) ont observé que la cucurbitacine B était responsable de l'activité anti-inflammatoire des cucurbitacées et ce, par inhibition de la production de prostaglandine E2 (PGE2) et de l'activité de la COX-2.

4. Résultats du dosage des paramètres du stress oxydant *in vivo*

4.1 GSH *in vivo*

Comme le montre (**Figure 22**), une diminution très hautement significative ($p=0,000$) de la concentration de GSH du groupe (Cholestérol) ($7,99 \pm 0,27$ nmol/mg de protéine) par rapport au groupe (Témoin) ($12,7 \pm 0,29$ nmol/mg de protéine) est constatée. Cependant, la concentration de GSH réduit a augmenté de façon significative dans le groupe (Cholestérol+C. *lanatus*) ($9,09 \pm 0,77$ nmol/mg de protéine) ($P<0,05$), et de façon hautement significative dans les groupe [(Cholestérol+C. *azarolus*) et (Cholestérol+C. *monogyna*)] ($9,53 \pm 0,31$ nmol/mg de protéine) ($10,34 \pm 0,23$ nmol/mg de protéine) respectivement, avec $p<0,01$.

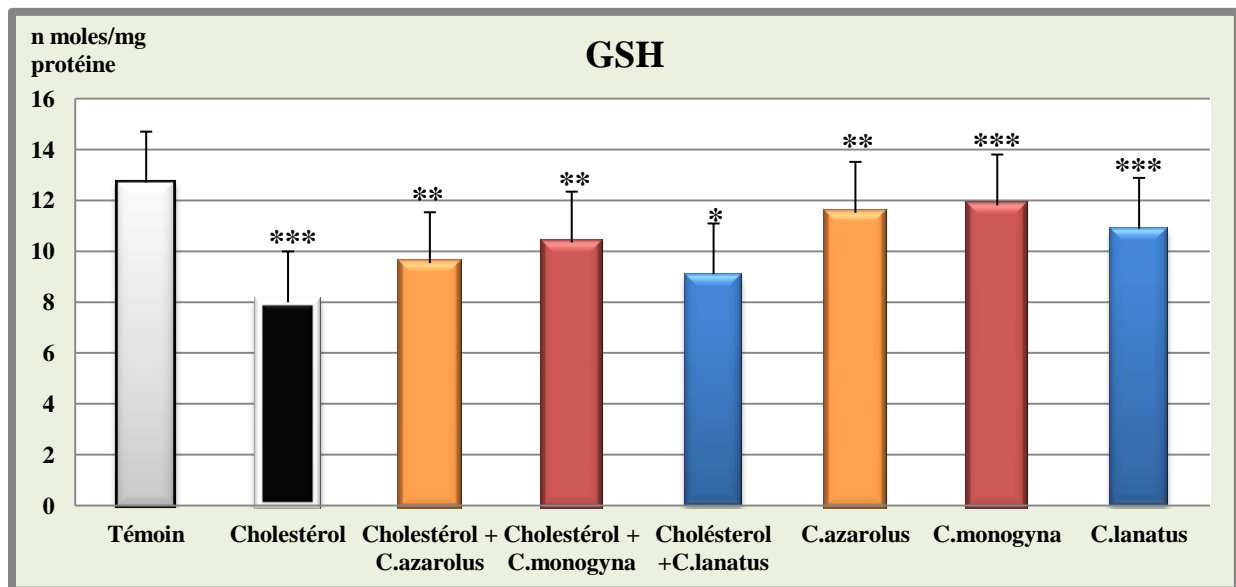


Figure 22. Effet du cholestérol et des huiles sur les taux de GSH chez les souris.

4.1.1 Discussion générale sur les résultats du dosage de GSH *in vivo*

Le stress oxydatif est considéré comme le déséquilibre entre la production d'EROet le système de protection antioxydant dans le corps, entraînant des dommages potentiels dans les cellules vivantes par la génération de radicaux libres et de peroxydes qui peuvent détruire les lipides, les protéines et l'ADN des cellules (Thanh *et al.*, 2015; Joshi *et al.*, 2015). Tous ces événements peuvent engendrer un certain nombre de maladies telles que la néphrotoxicité, la

Résultats et discussion

cirrhose du foie, les cancers, l'athérosclérose, le diabète (Patro *et al.*, 2016), les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et même le vieillissement et (Thanh *et al.*, 2015; Bouaziz *et al.*, 2016).

Les plantes sont connues pour être riches en substances biologiquement actives telles que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les anthocyanes, les huiles étherées et les tanins, dont beaucoup présentent une activité antioxydante (Rakesh *et al.*, 2010).

Les antioxydants peuvent être définis comme des substances dont la présence à des concentrations relativement faibles peuvent inhiber considérablement le rôle d'oxydation des cibles. Ils sont considérés comme des nutraceutiques importants ayant des effets bénéfiques pour la santé (Sharma et Bhat, 2009).

La plupart de ces antioxydants sont des composés phénoliques. Sur la base de la structure du carbone, les composés phénoliques peuvent être classés comme des composés flavonoïdes (flavones, isoflavones, flavanones, flavonols et anthocyanidines) ou des composés non flavonoïdes (acide benzoïque, stilbènes et acides hydroxycinnamiques) (Kang *et al.*, 2010).

Il existe deux types d'antioxydants; les antioxydants primaires et secondaires. Les antioxydants primaires qui peuvent inhiber ou retarder l'oxydation en piégeant les radicaux libres par le don d'atomes d'hydrogène ou d'électrons en les convertissant en produits plus stables. Les antioxydants secondaires fonctionnent par de nombreux mécanismes, notamment la liaison des ions métalliques, l'élimination de l'oxygène, la conversion des hydroperoxydes en espèces non radicalaires, l'absorption du rayonnement ultra violet ou la désactivation de l'oxygène singulet (Maisuthisakul *et al.*, 2007).

Le GSH est l'un des tripeptides les plus abondants, il est largement distribué au niveau des hépatocytes. Ses fonctions sont principalement concernées par la neutralisation de radicaux libres tels que H_2O_2 et le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$). Le glutathion constitue la première ligne de défense contre les ERO (Ogeturka *et al.*, 2005). Cependant, ces processus de défense ne sont pas complètement efficaces s'ils ne sont pas supplémentés par le pouvoir antioxydant des principes actifs des plantes. Une bonne partie des ERO et des radicaux libres est donc neutralisée par des antioxydants exogènes présents dans les organismes des végétaux autotrophes (plantes) (Raja *et al.*, 2007).

Le GSH joue un rôle fondamental dans la défense cellulaire contre les radicaux libres. Ce système se compose de GSH et d'un ensemble d'enzymes fonctionnellement liées, dont le glutathion réductase (GR) est responsable de la régénération de GSH, tandis que la glutathion

Résultats et discussion

peroxydase (GPx) et Glutathion S-transferase (GST) coopèrent avec GSH dans la décomposition du H_2O_2 , des anions superoxyde (O_2^-) et des radicaux alcoxy (Huo *et al.*, 2011; Lavie, 2015). Ainsi, le GSH joue un rôle primordial dans le maintien d'un état redox équilibré. Par conséquent, il peut servir de marqueur potentiel de sensibilité, de lésions tissulaires précoces et réversibles et de diminution de la défense antioxydante. (Jain et Singhai, 2012). De plus, il a été démontré que l'appauvrissement du niveau de GSH était associé à une peroxydation lipidique accrue (Nasir *et al.*, 2013).

Les résultats obtenus ont montré une diminution très hautement significative ($p=0,000$) de la concentration de GSH du groupe (Cholestérol) par rapport aux autres groupes (**Figure 22**).

Plusieurs études indiquent que dans différentes conditions physiopathologiques associées à un stress oxydant, les stocks de glutathion sont réduits du fait d'une consommation accrue de glutathion. Les concentrations plasmatiques et extra-hépatiques en glutathion sont peu affectées à court et moyen terme, ce qui suggère que l'export hépatique de glutathion est augmenté pour maintenir le statut en glutathion extra-hépatique (Darmaun *et al.*, 2005).

La diminution du niveau de GSH dans le groupe (Cholestérol) est liée au stress oxydant induit par le cholestérol et à la conjugaison directe du GSH avec le méthacryaldéhyde et d'autres intermédiaires réactifs de l'oxydation de l'alcool (Oyenih *et al.*, 2016) (**Figure 23**). Les résultats de la présente étude sont en accord avec la conclusion de Pinto *et al.* (2014) qui ont rapporté que le traitement avec le cholestérol a provoqué une réduction des niveaux de glutathion dans différents tissus.

On peut expliquer cette diminution d'une part, par un accroissement de son utilisation par les cellules hépatiques, et d'autre part, par une diminution de la synthèse du GSH ou une augmentation de sa dégradation au cours du stress oxydant, puisque il participe dans les réactions de détoxification des ERO (Abou-Seif et Youssef, 2004). Il est alors transformé en sa forme oxydée (GSSG) sous l'effet du GPX, ceci entraîne la consommation du GSH qui est la raison de sa diminution (Baynes et Thorpe, 1999).

Nos résultats ont confirmé celles de Liu *et al.*, (1993) qui ont suggéré que l'augmentation du stress oxydatif, résultant d'une augmentation significative dans les produits aldéhydiques de la peroxydation lipidique a probablement diminué le contenu hépatique de GSH.

Résultats et discussion

➤ D'après les résultats de la présente investigation, on a observé une augmentation très hautement significative ($p=0,000$) de la concentration du GSH de foie chez les souris traités par l'huile de graines de *C. monogyna* par rapport aux souris obèses (Cholestérol) (**Figure 22**).

Nos résultats convergent avec ceux de Haque *et al.* (2001) qui ont constaté que les niveaux de GSH ont augmenté de manière hautement significative ($P<0,001$) et les enzymes antioxydantes ont été restaurées par l'huile des graines de *C. monogyna* par rapport au traitement au cyclophosphamide seul. En outre, nos données sont en accord avec la conclusion de Golechha *et al.* (2011) qui ont constaté qu'un prétraitement avec un extrait de *C. monogyna* (500 et 700 mg/kg Pv /jour) de manière hautement significative ($P<0,001$) empêchait l'augmentation des niveaux de TBARS et améliorait la chute de GSH.

Dans les cellules animales, le glutathion joue le rôle de substrat pour la GPx, ce qui réduit les peroxydes lipidiques qui sont formés à partir d'acides gras polyinsaturés dans le régime alimentaire et en tant que substrat pour la glutathion-S transférase, qui conjugue des composés électrophiles. De nombreuses études ont montré que le glutathion obtenu à partir de l'alimentation (issue de l'extrait) est directement absorbé par le tractus gastro-intestinal et donc le glutathion alimentaire peuvent facilement augmenter le statut antioxydant chez l'homme (Babu *et al.*, 2006).

L'effet de l'huile de graines de *C. monogyna* serait probablement dû à l'influence des composés bioactifs présents dans les plantes, tels que les flavonoïdes et leur pouvoir antioxydant. D'autre part, les composés phénoliques sont connus par leurs capacités de recycler la vitamine E et de piéger les radicaux libres, ceci peut donc participer directement à une réduction de l'utilisation de GSH. De plus cette augmentation peut être expliquée par l'effet de vitamine C sur le recyclage de glutathion. L'augmentation des antioxydants naturels dans cette plante favorise l'augmentation des piègeurs des radicaux libres. Ce qui diminue l'incorporation de GSH dans la défense oxydant et permet l'élévation de leur concentration. Ceci, reflète que les composantes du système antioxydant n'agissent donc pas de manière individuelle mais sont en relation les unes avec les autres (Foyer et Noctor, 2005).

L'activité antioxydante de l'huile de graines de *C. monogyna* est statistiquement supérieure à celles de l'huile de graines de *C. azarolus* et de l'huile de graines de *C. lanatus*, il existe probablement des différences qualitatives dans la nature des composés phénoliques (qui existe dans la composition des huiles) influençant le pouvoir antioxydant des huiles. Les flavonoïdes glycosylés de *C. azarolus* et *C. lanatus* ont une activité antioxydante inférieure à

Résultats et discussion

celle des flavonoïdes non glycosylés de (*C. monogyna*). Ces résultats sont en accord avec celles de Marfak (2003) et de Sokol-Letowska *et al.* (2007).

Les activités antioxydantes et anti-radicalaires d'extraits de différentes espèces ont été étudiées dans divers tests *in vitro*. Les résultats ont montré que l'activité antioxydante de *C. monogyna* est la plus élevée dans le dosage du pouvoir réducteur/antioxydant ferrique (FRAP) parmi les 28 fruits étudiés (Guo *et al.*, 2003).

Nos résultats sont en accord avec l'étude de Bechkri *et al.*, (2017), qui ont constaté que l'huile de graines de *C. monogyna* a montré une activité antioxydante plus élevée que les graines de *C. azarolus* avec 77,75% d'inhibition à 4 mg/ml. Cela peut s'expliquer par la richesse de *C. monogyna* en acides: linoléique, oléique et palmitique qui sont connus pour leur activité antioxydante (Ghazi *et al.*, 2015; Grajzer *et al.*, 2015).

➤ L'analyse des données révèle que l'huile de graines de *C. azarolus* a augmenté la concentration de GSH de façon hautement significative ($p < 0,01$) (**Figure 22**). Nos résultats sont conformes aux données rapportées par Bahri-Sahloul *et al.* (2009) ont constaté que les souris ayant consommé du jus aqueux de l'huile de graines de *C. azarolus* ont manifesté une augmentation significative de la teneur en GSH hépatique par rapport aux souris témoins.

Les propriétés antioxydantes de *C. azarolus* ont été étudiées dans divers modèles *in vitro* qui ont montré que les extraits d'azarole ont des activités de piégeage, de chélation, de réduction et de peroxydation anti-lipidiques des radicaux libres par divers dosages antioxydants *in vitro* (Bouaziz *et al.*, 2014). Les différents extraits de *C. azarolus* préparés avec de l'éthanol et de l'eau ont été efficaces pour éliminer le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl-hydrate (DPPH) et l'acide 2,2'-azino-bis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS). L'acide chlorogénique, l'hyperoside, la rutine, le spiraoéside, l'isoquercitrine, la quercétine, l'épicatéchine et la procyanidine B2 ont été suggérées comme étant des composés ayant de fortes activités d'élimination des radicaux dans les extraits de *C. azarolus* (Bernatoniene *et al.*, 2008). Cet effet pourrait être attribué à l'activité synergique des flavonoïdes dans l'huile de graines de *C. azarolus*. Compte tenu du fait que l'huile de graines de *C. azarolus* contient une forte concentration de phénoliques et de flavonoïdes. Ces constituants ont démontré une augmentation significative du niveau de GSH, ainsi, leur présence pourrait expliquer la teneur élevée en GSH après le traitement par l'huile de graines de *C. azarolus* (Jain et Singhai, 2012).

Enfin, sur la base de ces recherches, nous concluons que l'administration de l'huile de graines de *C. azarolus* a provoqué une augmentation de la capacité antioxydante totale, une

Résultats et discussion

amélioration du statut antioxydant et une diminution de la peroxydation lipidique. Cette activité antioxydante *in vivo* pourrait être due à l'action synergique des composés bioactifs présents dans l'extrait qui sont probablement des polyphénols, soulignant l'influence de ces antioxydants dans l'alimentation pour la santé humaine (Athiroh *et al.*, 2014; Bouaziz *et al.*, 2016).

➤ D'après les résultats obtenus, l'administration de l'huile de graines *C. lanatus* a augmenté la concentration de GSH de façon très hautement significative ($p= 0,000$) (**Figure 22**).

Les graines de pastèque contiendraient des quantités élevées d'antioxydants, notamment de citruline et de lycopène. Les graines de pastèque contiennent un antioxydant connu sous le nom de cucurbiticine, qui est utilisé pour abaisser la pression artérielle et améliorer la fonction rénale (Oseni et Okoye, 2013).

La pastèque est une bonne source de composés phytochimiques et de lycopène, qui agit comme antioxydant pendant le métabolisme normal et protège contre le cancer. Le pigment caroténoïde rouge peut agir comme antioxydant en neutralisant les radicaux libres formés au cours du métabolisme normal et peut désactiver les agents de rupture de chaîne d'acide désoxyribonucléique (ADN) qui sont impliqués dans certains cancers (Perkins-Veazie et Collins, 2004). Le lycopène est le caroténoïde dominant dans les pastèques à chair rouge (70 à 90% du total des caroténoïdes), tandis que d'autres caroténoïdes comprennent le phytofluène, le phytoène, le β -carotène, la lutéine, le neurosporène et le ζ -carotène (Tadmor *et al.*, 2005).

Selon Fränkel (1995), *C. lanatus* est une riche source de flavonoïdes et de phénol, il aura ainsi la capacité de piéger les radicaux libres, d'inhiber les actions hydrolytiques et inflammatoires. Par ailleurs, les extraits méthanoliques de *C. lanatus* possèdent une activité antioxydante *in vitro* élevée (Gill *et al.*, 2010).

Nos résultats confirment ceux d'Oyenihi *et al.* (2016) qui ont constaté que le prétraitement par l'huile de graines *C. lanatus* a augmenté la concentration de GSH dans le foie par rapport au groupe témoin de l'éthanol. Nos résultats sont en accord avec celles de Rabiou *et al.* (2019) qui ont montré que le niveau d'activité GSH a augmenté après le traitement avec l'extrait aqueux de graines de *C. lanatus*. Nos constatations sont en accord avec les résultats rapportés par Ebuehi *et al.* (2012) et par Ikpeme *et al.* (2016), qui ont souligné une augmentation remarquable dans la concentration de GSH dans le foie chez les groupes traités au plomb.

Résultats et discussion

D'après les résultats de cette étude, on peut conclure que l'huile de graines de pastèque est un réservoir d'antioxydants ayant la capacité d'améliorer le stress oxydatif induit par le régime hyperlipidémique et d'améliorer la fonction hépatique d'une façon défendue.

Les résultats vont dans le même sens avec à l'étude de Saada *et al.* (2010), qui ont souligné que le prétraitement au lycopène a amélioré significativement le statut oxydant/antioxydant et a contribué à réduire les dommages oxydatifs dus aux radiations.

4.2 CAT *in vivo*

Au niveau de la **Figure 23**, on constate une diminution significative ($p < 0,05$) de la concentration de catalase du groupe (Cholestérol) ($60,72 \pm 0,26$ mmol/mg de protéine) par rapport au groupe (Témoin) ($95,64 \pm 0,30$ mmol/mg de protéine). Cependant, la concentration du catalase a augmenté de façon non significative dans le groupe (Cholestérol+C. *lanatus*) ($72,06 \pm 0,25$ mmol/mg de protéine) ($P > 0,05$), et de façon hautement significative dans les groupe [(Cholestérol+C. *azarolus*) et (Cholestérol+C. *monogyna*)] ($74,57 \pm 0,06$ mmol/mg de protéine) ($80 \pm 0,92$ mmol/mg de protéine) respectivement, avec ($p < 0,01$).

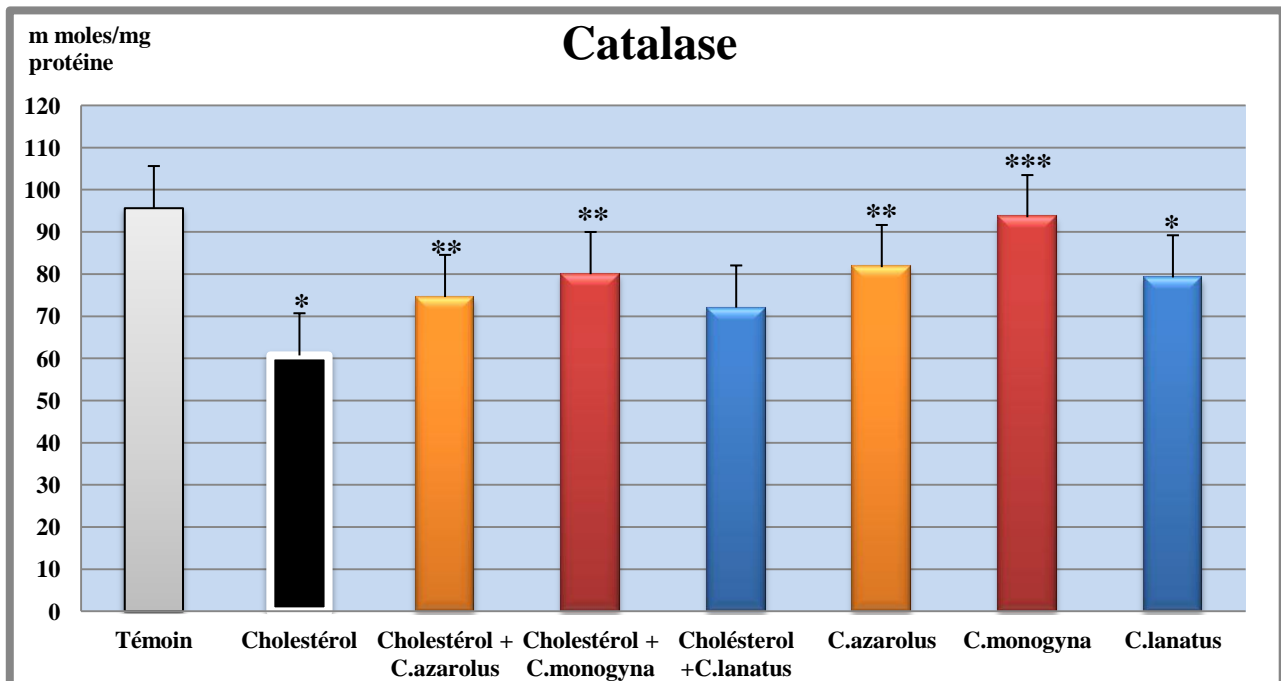


Figure 23. Effet du cholestérol et des huiles sur les taux de la Catalase chez les souris.

4.2.1 Discussion générale sur les résultats du dosage de la CAT *in vivo*

La catalase (CAT), enzyme particulièrement efficace, agit en synergie avec la superoxyde dismutase (SOD) puisque son rôle est d'accélérer la dismutation de H_2O_2 en eau et oxygène moléculaire, empêchant ainsi la formation de radical hydroxyle ($\cdot OH$)

Résultats et discussion

(Goudable et Favier, 2012). La CAT est présente dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Chez les mammifères, la CAT est particulièrement présente dans les peroxysomes. C'est un tétramère dont chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH sur la catalase augmente son efficacité et la protège contre l'inactivation (Kalpakcioglu et Şenel, 2008). La dégradation de l' H_2O_2 est réalisée via la conversion entre 2 conformations de catalase-ferricatalase (fer coordonné en eau) et du composé I (fer complexé avec un atome d'oxygène). Chaque molécule de CAT peut décomposer 40 millions de molécules de H_2O_2 produites par la SOD en eau et en oxygène à chaque seconde. Ce taux élevé montre l'importance de cette enzyme pour détoxifier le H_2O_2 (Birben *et al.*, 2012). Nos résultats montrent que le régime hyperlipidémique a diminué de façon significative l'activité de la catalase hépatique chez le groupe (Cholestérol) par rapport aux autres groupes ($p < 0,05$) (**Figure 23**).

Nos données ont confirmé les conclusions de Meera et Marcus (2012) qui ont publié que les enzymes antioxydantes (Catalase, SOD et GPx) ont été significativement diminuées dans le groupe hyperlipidémique par rapport au groupe témoin. Les résultats de la présente étude sont en accord avec les conclusions de Pinto *et al.* (2014) qui ont rapporté que le traitement avec le cholestérol a provoqué une réduction des niveaux de catalase dans différents tissus. Dans ce cas, le déséquilibre de la balance antioxydante est dû principalement à la diminution importante des antioxydants (vitamine E et bêta carotènes).

Dans le cas d'un stress oxydatif, concernant l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, GPx, CAT), chaque antioxydant est affecté à des degrés divers. Cela peut être expliqué par le fait que la CAT est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de la GPx est limitée (Wassmann *et al.*, 2004).

La diminution de la CAT peut être attribuée à la capacité de cholestérol à induire une peroxydation lipidique, qui est la principale cause de nombreux effets délétères sur la membrane cellulaire (Jadon *et al.*, 2007).

D'après Khan *et al.*, (2009) la peroxydation lipidique est l'une des principales causes de toxicité induite par le hypercholestérolémie, associée par la production de dérivés radicalaires de cholestérol.

L'anion superoxyde (O_2^-), première espèce toxique formée à partir de l'oxygène, est éliminé et maintenu à une concentration assez basse de la SOD qui catalyse sa dismutation en H_2O_2 . Ce dernier est transformé en H_2O et O_2 par la CAT. L'évaluation biochimique de l'activité des systèmes enzymatiques antioxydants a mis en évidence une réduction

significative de l'activité cytosolique de ces enzymes dans le foie des animaux. Cet équilibre de la balance oxydante/antioxydante, peut être une conséquence d'une défense antioxydante importante contre l'attaque radicalaire représentée par un taux sérique élevé en antioxydants et l'activité importante d'autres enzymes antioxydantes (tels que la catalase et la SOD) (Sen *et al.*, 2012).

➤ D'après les résultats de la présente investigation, on a observé une augmentation très hautement significative ($p=0,000$) de la concentration de la catalase de foie chez les souris traitées par l'huile de graines de *C. monogyna* par rapport aux souris obèses (Cholestérol) (**Figure 23**). D'autres part, l'activité antioxydante de l'huile de graines de *C. monogyna* est statistiquement supérieure à celles des huiles des graines de *C. azarolus* et de *C. lanatus*.

Nos résultats sont en accord avec l'étude de Wang *et al.* (2011) qui ont constaté que l'administration de gouttes ophtalmiques d'extrait de feuilles de *C. monogyna* en alternance trois fois par jour chez des rats ayant un stress oxydatif induit par la sélénite a augmenté de manière significative les activités de la SOD et de la CAT et avait tendance à réduire le niveau de malondialdéhyde (MDA) par rapport au groupe témoin. Ces résultats sont en accord aux celles de Haque *et al.* (2001) qui ont montré que les niveaux de la CAT ont été élevé de façon hautement significative ($P<0,01$) et les enzymes antioxydantes ont été restaurées par l'huile des graines de *C. monogyna* par rapport au traitement au cyclophosphamide seul.

Les effets possibles de la réduction de la peroxydation lipidique par l'huile de graines *C. monogyna* peuvent également être liés à la capacité de l'huile des graines de *C. monogyna* d'arrêter les mécanismes mitochondriaux de la peroxydation lipidique (Prabhu *et al.*, 2006; Akila et Devaraj 2008).

➤ Dans cette investigation, on remarque l'huile des graines de *C. azarolus* a augmenté la concentration de la CAT hépatique de façon hautement significative ($p<0,01$) (**Figure 23**).

Nos résultats sont en accord aux données rapportées par Bahri-Sahloul *et al.* (2009), qui mentionnent que les souris ayant consommé du jus aqueux de l'huile de graines de *C. azarolus* ont provoqué une augmentation significative de la teneur en CAT hépatique.

Des études similaires ont montré un effet positif de différentes classes de polyphénols sur les activités des enzymes antioxydantes (CAT, SOD et GPx) sur des modèles animaux et humains (Khan *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2015). Il a également été constaté que la consommation orale de l'huile extra vierge de *C. azarolus* augmente les activités de CAT et GPx, ainsi que leurs expressions d'acide ribonucléique messenger (ARNm) chez les adultes en bonne santé (Oliveras-López *et al.*, 2014; Bouaziz, 2015). Ces résultats soutiennent notre

hypothèse, l'huile des graines de *C. azarolus* pourrait exercer des activités antioxydantes en fonction de sa capacité à stimuler l'activité des enzymes antioxydantes et une induction de l'expression des gènes.

➤ L'administration de l'huile de graines *C. lanatus* a augmenté la concentration de la CAT hépatique de façon significative ($p < 0,05$) (**Figure 23**). Nos résultats ont confirmé celles d'Oyenihi *et al.* (2016) qui ont constaté que le prétraitement par l'huile de graines *C. lanatus* augmente la concentration de la CAT dans le foie par rapport au groupe témoin de l'éthanol. Nos résultats sont conformes à une étude de Ikpeme *et al.* (2016) qui ont révélé que l'extrait de graines de *C. lanatus* augmente les activités de la CAT et la SOD dans le foie des rats à 1000 mg/kg Pv /jour. Cette constatation est en accord avec les résultats rapportés par Egba *et al.* (2016), qui ont publié que l'administration de l'huile de graines de *C. lanatus* a montré une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité de la CAT hépatique. Nos résultats sont en accord avec ceux de Oseni *et al.* (2015) qui ont constaté que le prétraitement des graines de *C. lanatus* augmente la concentration de l'activité de la CAT dans le foie par rapport au groupe témoin de l'éthanol.

La graine de pastèque présente une bonne activité antioxydante *in vitro*. De plus, un effet protecteur hépatique de *C. lanatus* sur le stress oxydatif chez le rat été démontré (Rahman *et al.*, 2013)

Le traitement par l'huile de graines de *C. lanatus* a augmenté les niveaux de la CAT hépatique, suggérant ses effets protecteurs contre les dommages oxydatifs induits par le régime hyperlipidémique (Adebayo *et al.*, 2014).

L'huile de graines de *C. lanatus* est une excellente source de lycopène, avec une teneur d'environ 40% plus élevée dans les tomates cuites (Seif, 2014). Des études ont attribué les propriétés antioxydantes de l'huile de graines de *C. lanatus* à sa haute teneur en lycopène (Zakaria *et al.*, 2014). Le lycopène induit les enzymes des systèmes de défense antioxydants cellulaires en activant le système de transcription des éléments de réponse antioxydants (Oyenihi *et al.*, 2016).

5. Résultats histologiques

L'étude histologique a été réalisée sur le foie, le cœur, l'aorte abdominale et l'aorte iliaque. Les observations sont illustrées et les résultats sont discutés dans ce chapitre.

5.1 Histologie du foie

L'observation pour le groupe (Témoin), révèle une architecture normale du foie sans modification hépatique (**Figure 24**).

Par contre, l'histologie du groupe (Cholestérol), montre une lyse au sein du tissu hépatique, un développement d'une stéatose hépatique en réponse au cholestérol qui induit une diffusion massive des lipides à l'intérieur des hépatocytes. On remarque aussi la présence de veines centrolobulaires dilatées, une formation d'endolyse et la présence de cellules avec un noyau clair. (**Figure 25**).

Pour les groupes (Cholestérol + *C. azarolus*) (Cholestérol + *C. monogyna*) (Cholestérol + *C. lanatus*), (*C. azarolus*) (*C. monogyna*) et (*C. lanatus*) l'observation microscopique présente une morphologie intacte comparable à celle du groupe (Témoin) (**Figures 26, 27 et 28**).

Résultats et discussion

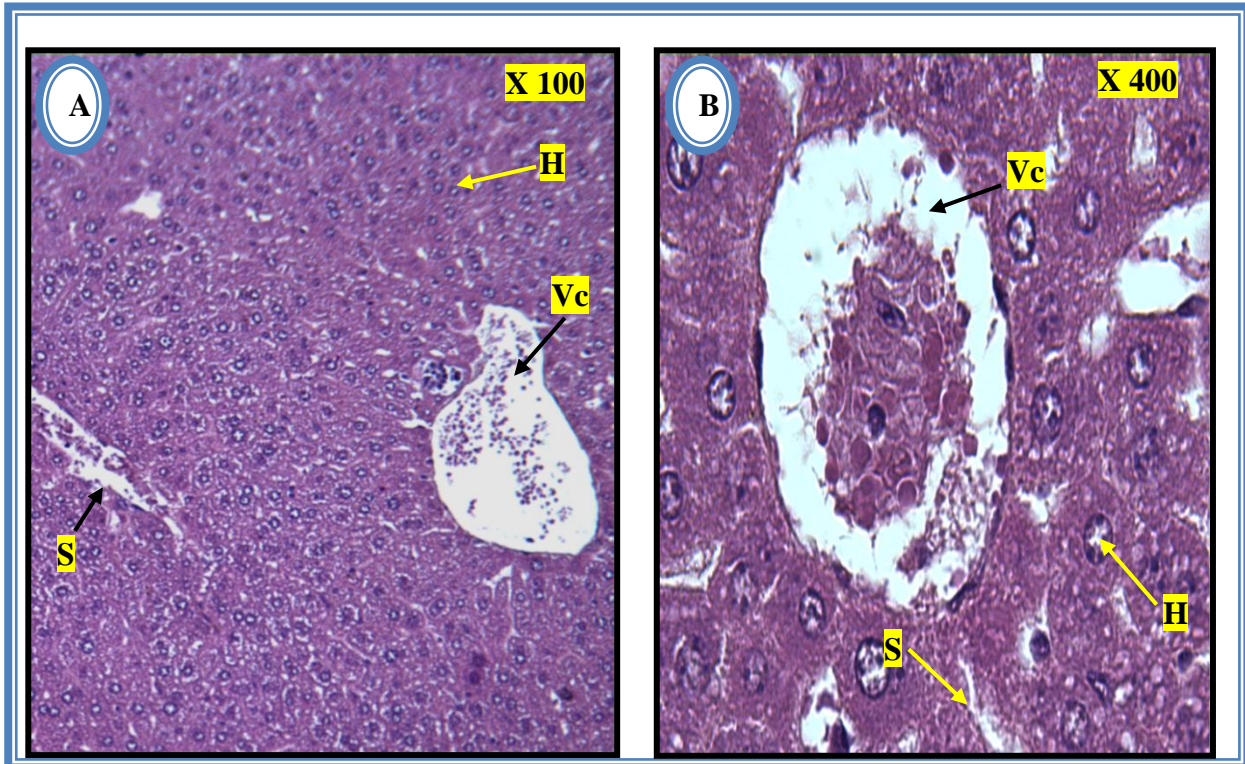


Figure 24. Coupe longitudinale du foie du groupe (Témoin). A : (G x100), B :(Gx400).

Vc : Veine Centrolobulaire, S: Sinusoïdes, H: Hépatocytes.

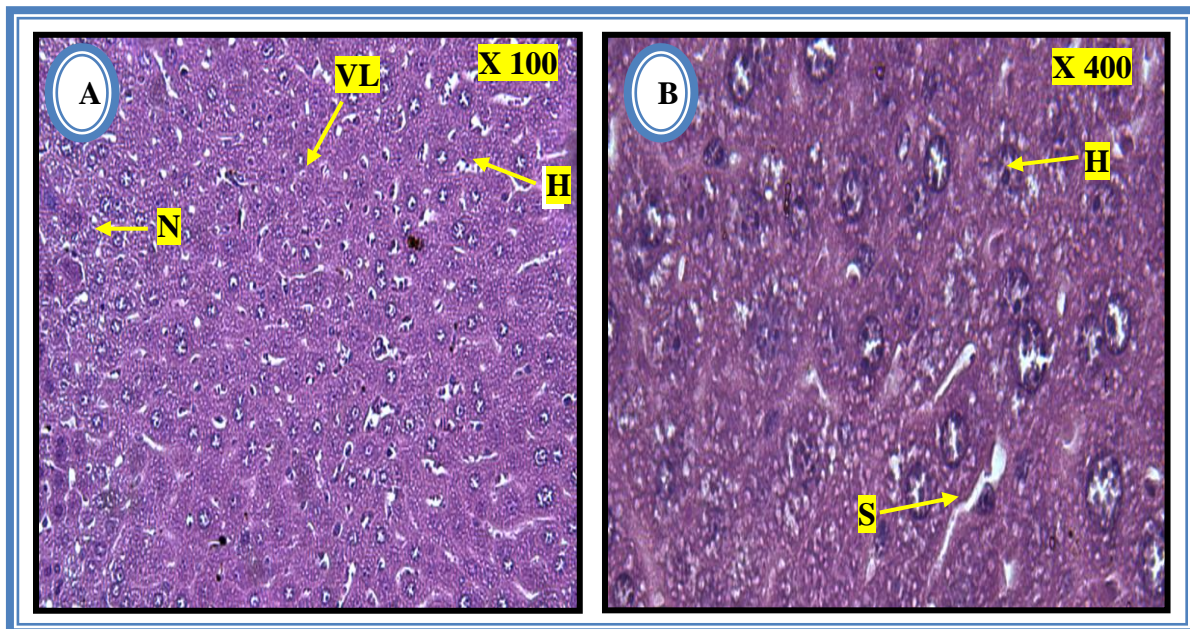


Figure 25. Coupe longitudinale du foie du groupe (Cholestérol). A : (G x100), B :(Gx400).

H: Hépatocytes, N : Nécrose, S : Sinusoïdes, VL : Vacuoles Lipidiques.

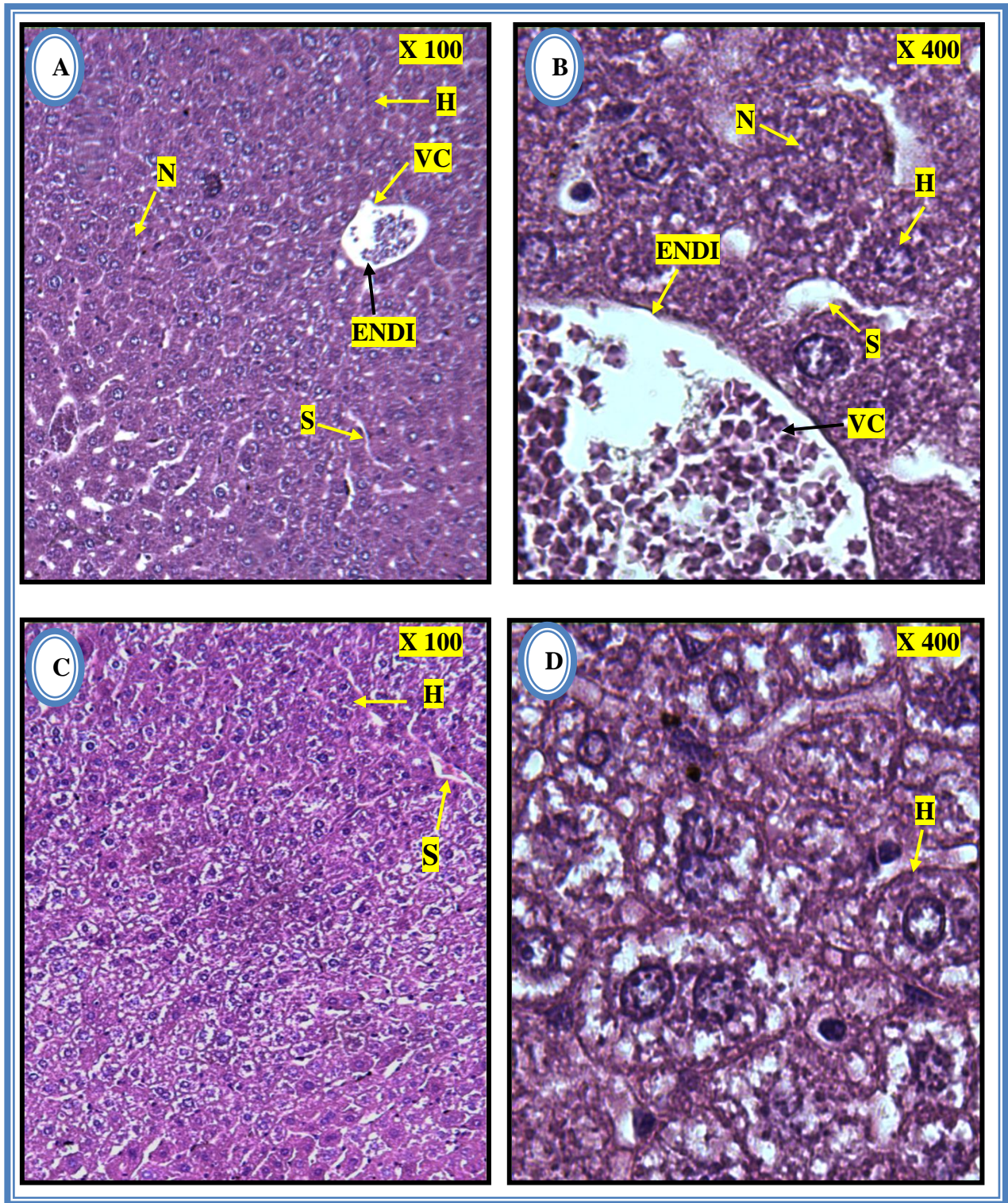


Figure 26. Coupe longitudinale du foie. **A** : groupe (Cholestérol + *C. azarolus*) (**G x100**), **B** : groupe (Cholestérol + *C. azarolus*) (**Gx400**), **C** : groupe (*C. azarolus*) (**G x100**), **D** : groupe (*C. azarolus*) (**Gx400**). **S** : Sinusoïdes, **ENDI** : Endothélium Intact, **H** : Hépatocytes, **N** : Nécrose, **Vc** : Veine Centrolobulaire.

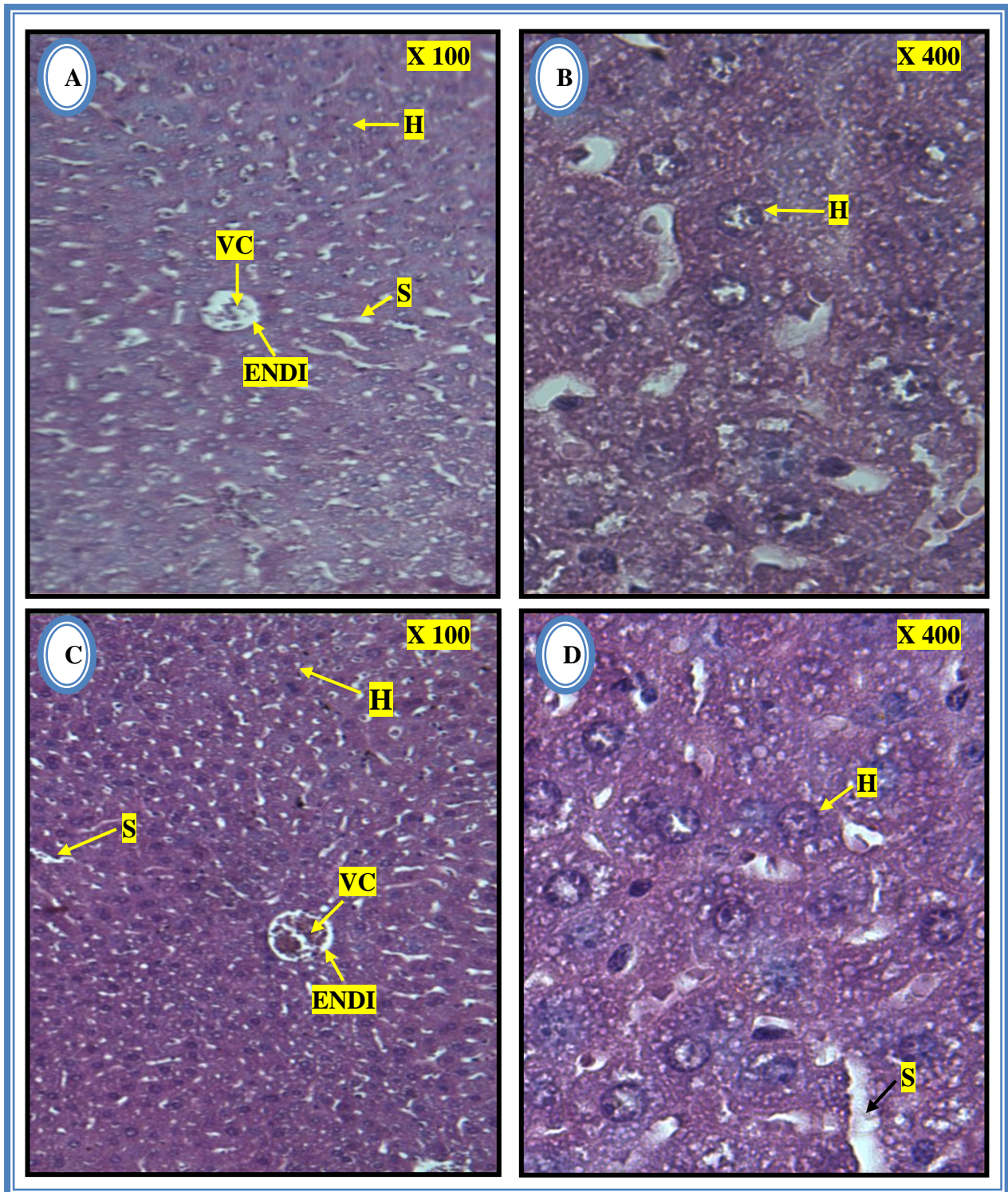


Figure 27. Coupe longitudinale du foie. **A** : groupe (Cholestérol + *C. monogyna*) (G x100), **B** : groupe (Cholestérol + *C. monogyna*) (Gx400), **C** : groupe (*C. monogyna*) (G x100), **D** : groupe (*C. monogyna*) (Gx400). **S** : Sinusoïdes, **ENDI** : Endothélium Intact, **H** : Hépatocytes, **Vc** : Veine Centrolobulaire.

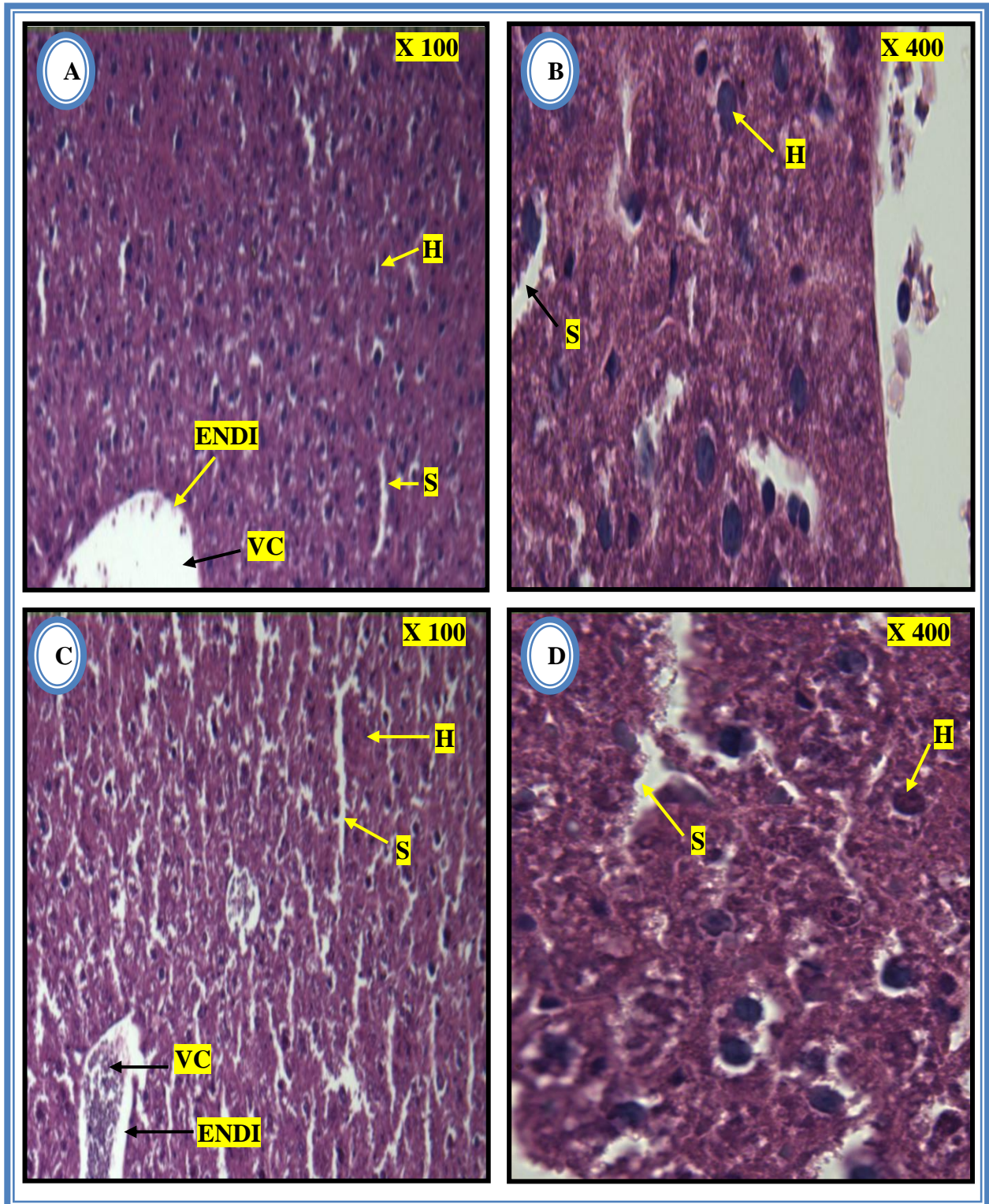


Figure 28. Coupe longitudinale du foie. **A :** groupe (Cholestérol + *C. lanatus*) (**G x100**), **B :** groupe (Cholestérol + *C. lanatus*) (**Gx400**), **C :** groupe (*C. lanatus*) (**G x100**), **D :** groupe (*C. lanatus*) (**Gx400**). **S :** Sinusoides, **ENDI :** Endothélium Intact, **H :** Hépatocytes, **Vc :** Veine Centrolobulaire.

5.2 Histologie du myocarde

L'observation pour le groupe (Témoin), montre une morphologie intacte des fibres musculaires du cœur (**Figure 29**).

Par contre, l'histologie pour le groupe (Cholestérol) présente une lyse dans la structure des fibres musculaires myocardiques (**Figure 30**).

Pour les groupes (Cholestérol + *C. azarolus*) (Cholestérol + *C. monogyna*) (Cholestérol + *C. lanatus*), (*C. azarolus*) (*C. monogyna*) et (*C. lanatus*) on observe une morphologie intacte comparable à celle du groupe témoin (**Figures: 31, 32 et 33**).

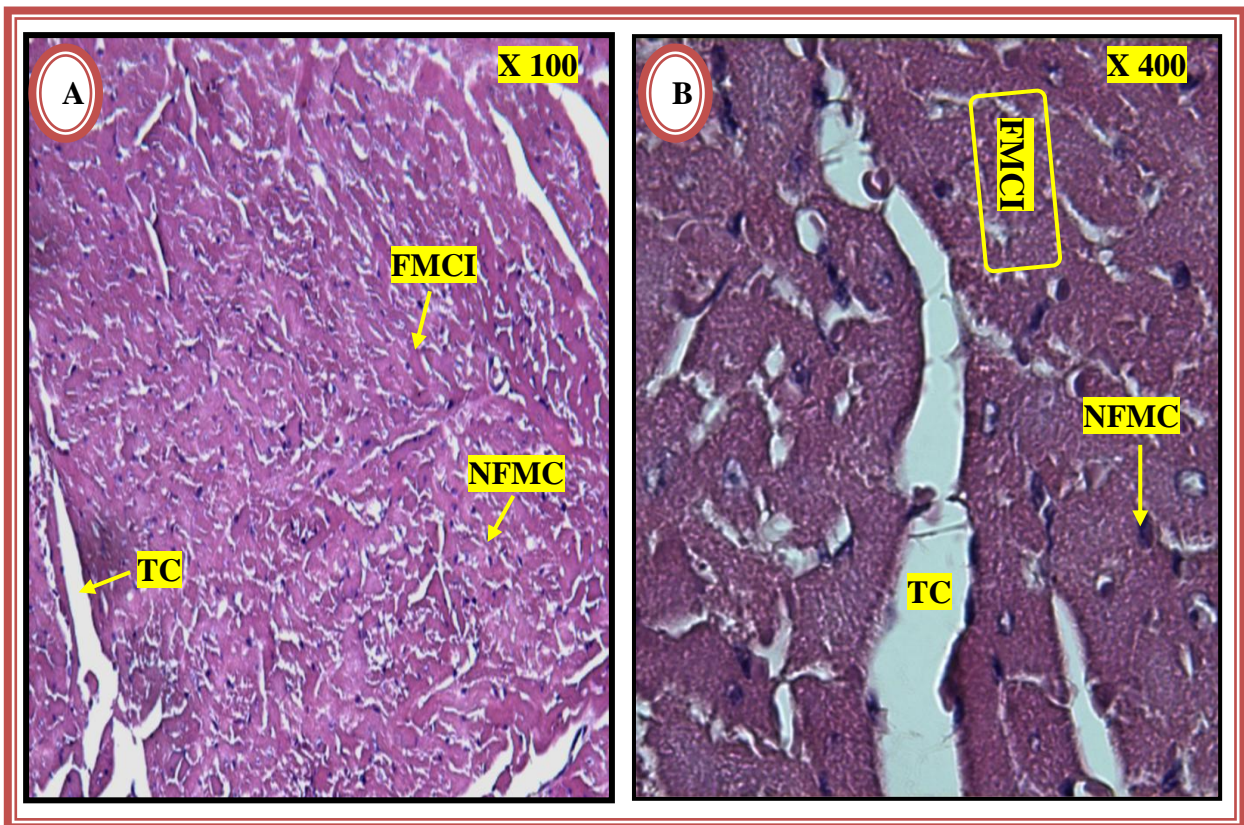


Figure 29. Coupe longitudinale du myocarde du groupe (Témoin). **A :** (G x100), **B:(Gx400)**.
FMCI : Fibre Musculaire Cardiaque Intacte, **NFMC :** Noyau de la Fibre Musculaire Cardiaque,
TC : Tissu Conjunctif.

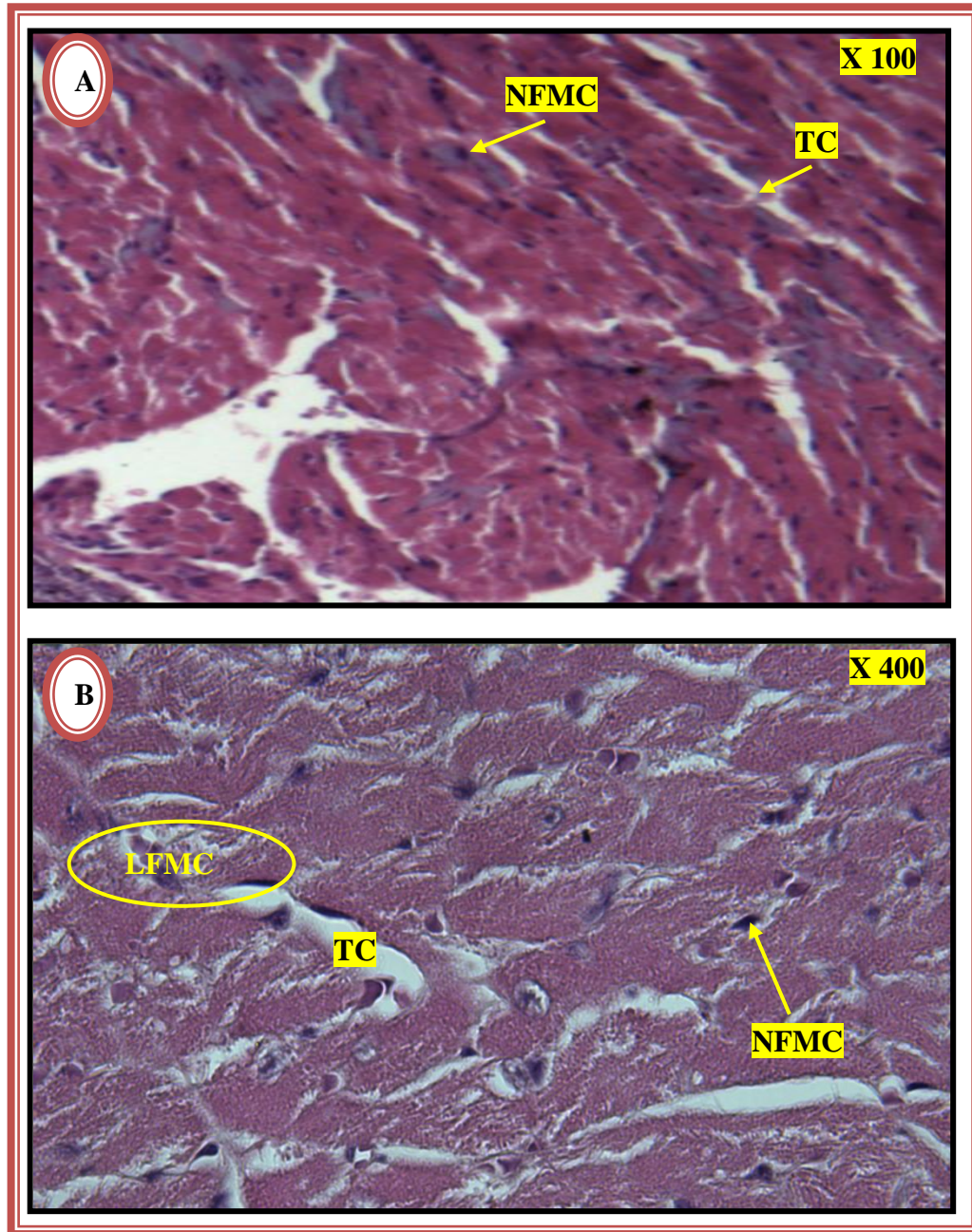


Figure 30. Coupe longitudinale du myocarde du groupe (Cholestérol). **A :** (G x100), **B:(Gx400).**

LFMC: Lyse de la Fibre Musculaire Cardiaque. **NFMC:** Noyau de la fibre Musculaire Cardiaque, **TC:** Tissu Conjonctif.

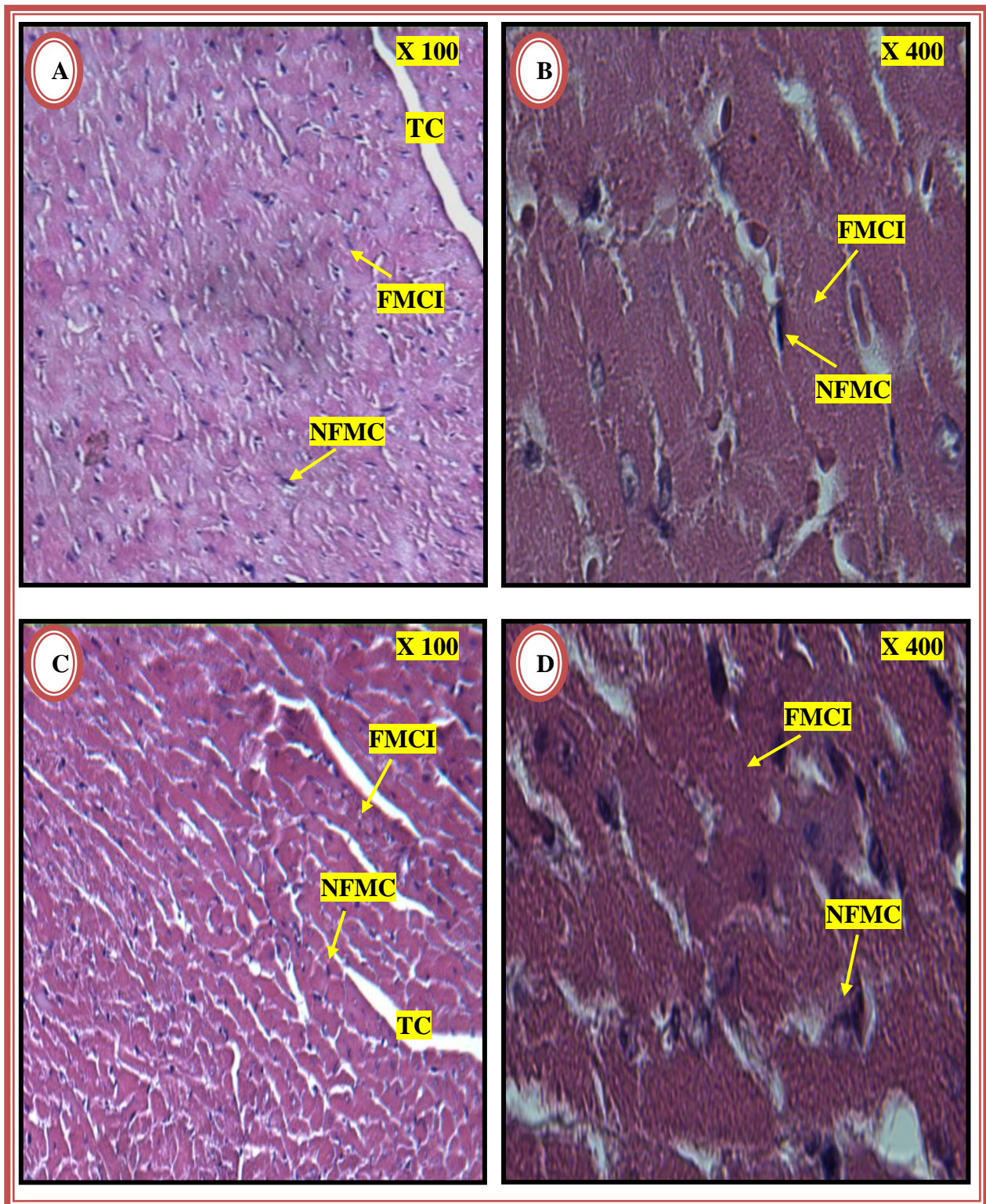


Figure 31. Coupe longitudinale du myocarde. **A** : groupe (Cholestérol + *C. azarolus*) (Gx100), **B**: groupe (Cholestérol + *C. azarolus*) (Gx400), **C** : groupe (*C. azarolus*) (G x100), **D** : groupe (*C. azarolus*) (Gx400). **FMCI** : Fibre Musculaire Cardiaque Intacte, **NFMC** : Noyau de la Fibre Musculaire Cardiaque, **TC** : Tissu Conjonctif.

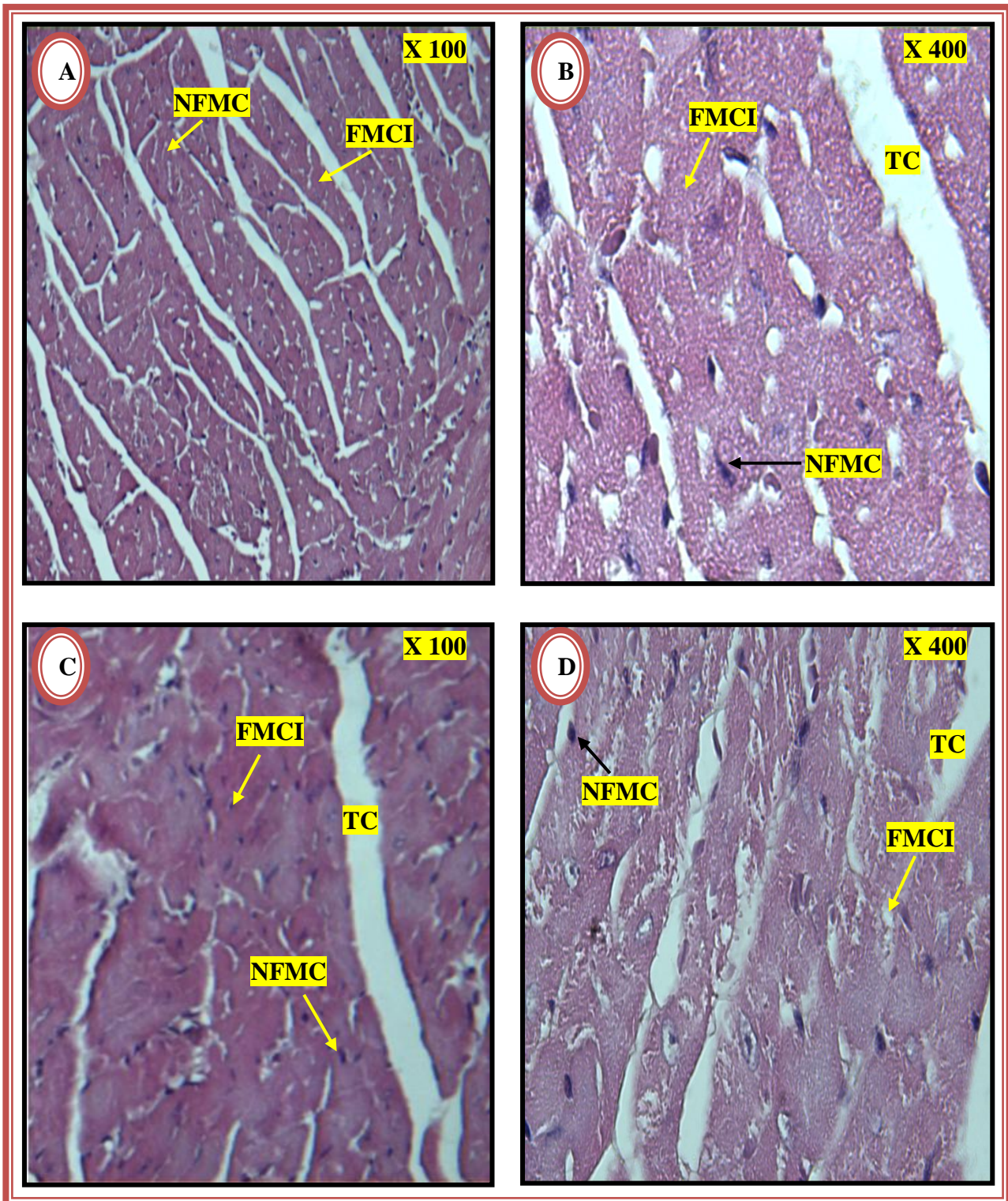


Figure 32. Coupe longitudinale du myocarde. **A** : groupe (Cholestérol + *C. monogyna*) (Gx100), **B** : groupe (Cholestérol + *C. monogyna*) (Gx400), **C** : groupe (*C. monogyna*) (Gx100), **D** : groupe (*C. monogyna*) (Gx400). **FMCI** : Fibre Musculaire Cardiaque Intacte, **NFMC** : Noyau de la Fibre Musculaire Cardiaque, **TC** : Tissu Conjonctif.

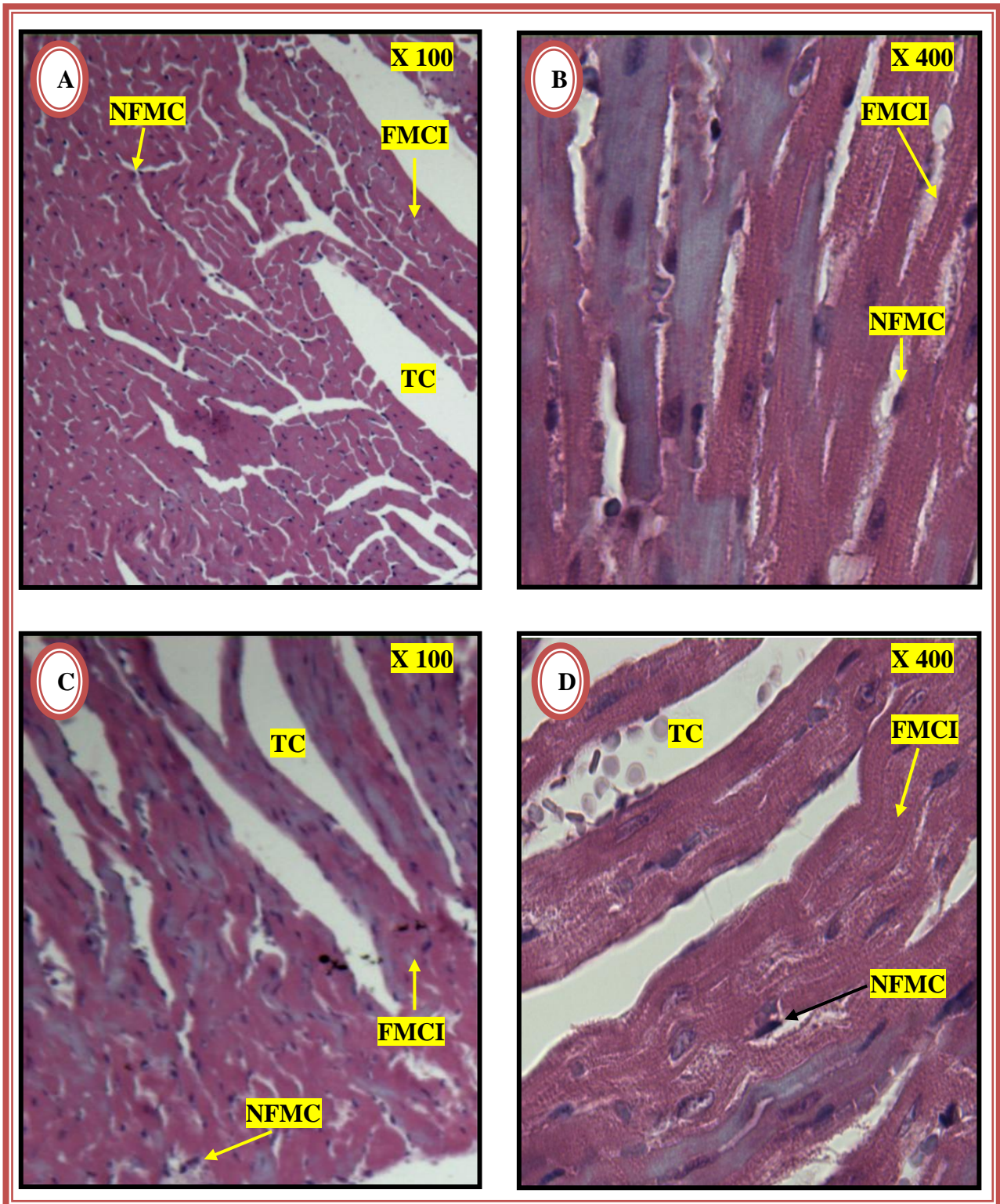


Figure 33. Coupe longitudinale du myocarde. **A** : groupe (Cholestérol + *C. lanatus*) (G x100), **B** : groupe (Cholestérol + *C. lanatus*) (Gx400), **C** : groupe (*C. lanatus*) (G x100), **D** : groupe (*C. lanatus*) (Gx400). **FMCI** : Fibre Musculaire Cardiaque Intacte, **NFMC** : Noyau de la Fibre Musculaire Cardiaque, **TC** : Tissu Conjonctif.

Résultats et discussion

5.3 Histologie de l'aorte abdominale

L'intima du groupe (Témoin) (Figure 34), est bordé d'un épithélium simple et continue. La média, apparait plus épaisse, composés de CML, dont les noyaux fusiformes sont bien visibles. L'adventice est formé par une couche de tissu conjonctif relativement mince renfermant les fibroblastes dont les noyaux sont bien visibles. Les fibres élastiques sont concentrées à la limitante externe du média, constituant la limitante élastique externe. Les fibres de collagènes fusionnent avec celles du tissu conjonctif.

Cependant, le groupe (Cholestérol) a présenté une dégénérescence et une desquamation de cellules endothéliales. Nous avons également observé dans la lyse médiatique, une certaine de région de nécrotique, formation de cellules spumeuses et de noyaux ovales (Figure 35).

L'observation de l'aorte abdominale dans les groupes (Cholestérol + *C. azarolus*), (Cholestérol + *C. monogyna*) et (Cholestérol + *C. lanatus*) a montré l'endothélium intact, des cellules musculaires lisses avec un noyau fusiforme et l'absence de formation de cellules spumeuses. L'observation pour les groupes (*C. azarolus*) (*C. monogyna*) et (*C. lanatus*) ne présente aucune modification morphologique par rapport au groupe (Témoin) (Figures: 36, 37 et 38).

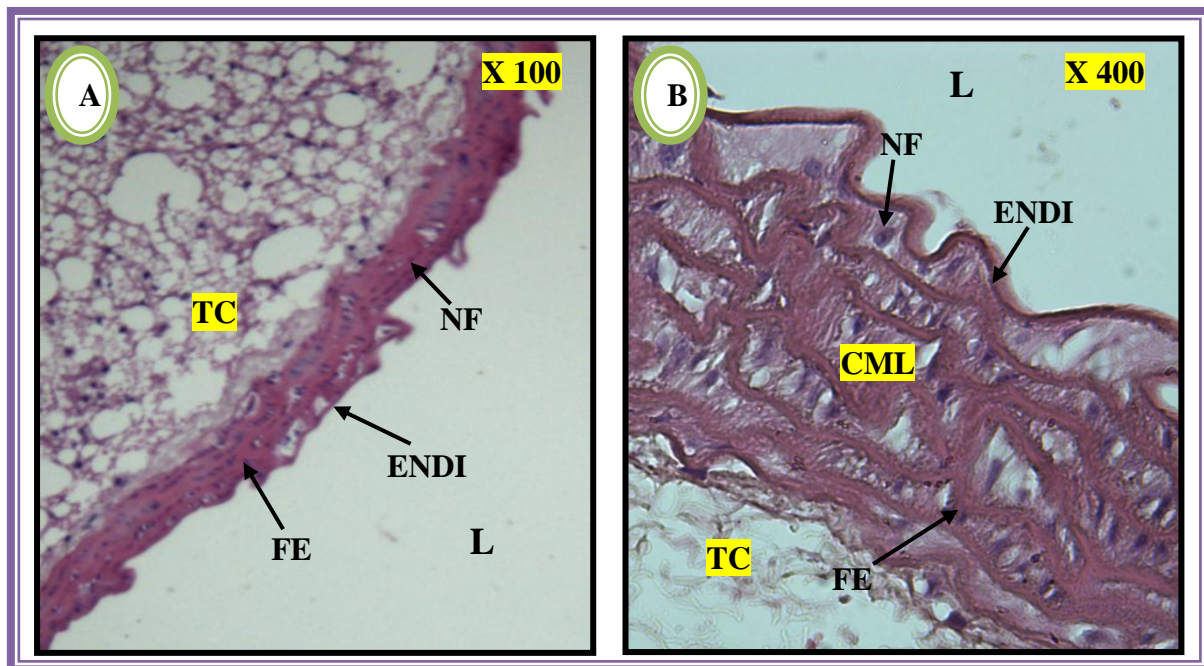


Figure 34. Coupe longitudinale de l'aorte abdominale du groupe (Témoin). A : (G x100), B:(Gx400).

CML: Cellules Musculaires Lisses. ENDI: Endothélium intact, FE: Fibres Elastiques,

L: Lumière, NF : Noyau Fusiforme, TC: Tissu Conjonctif.

Résultats et discussion

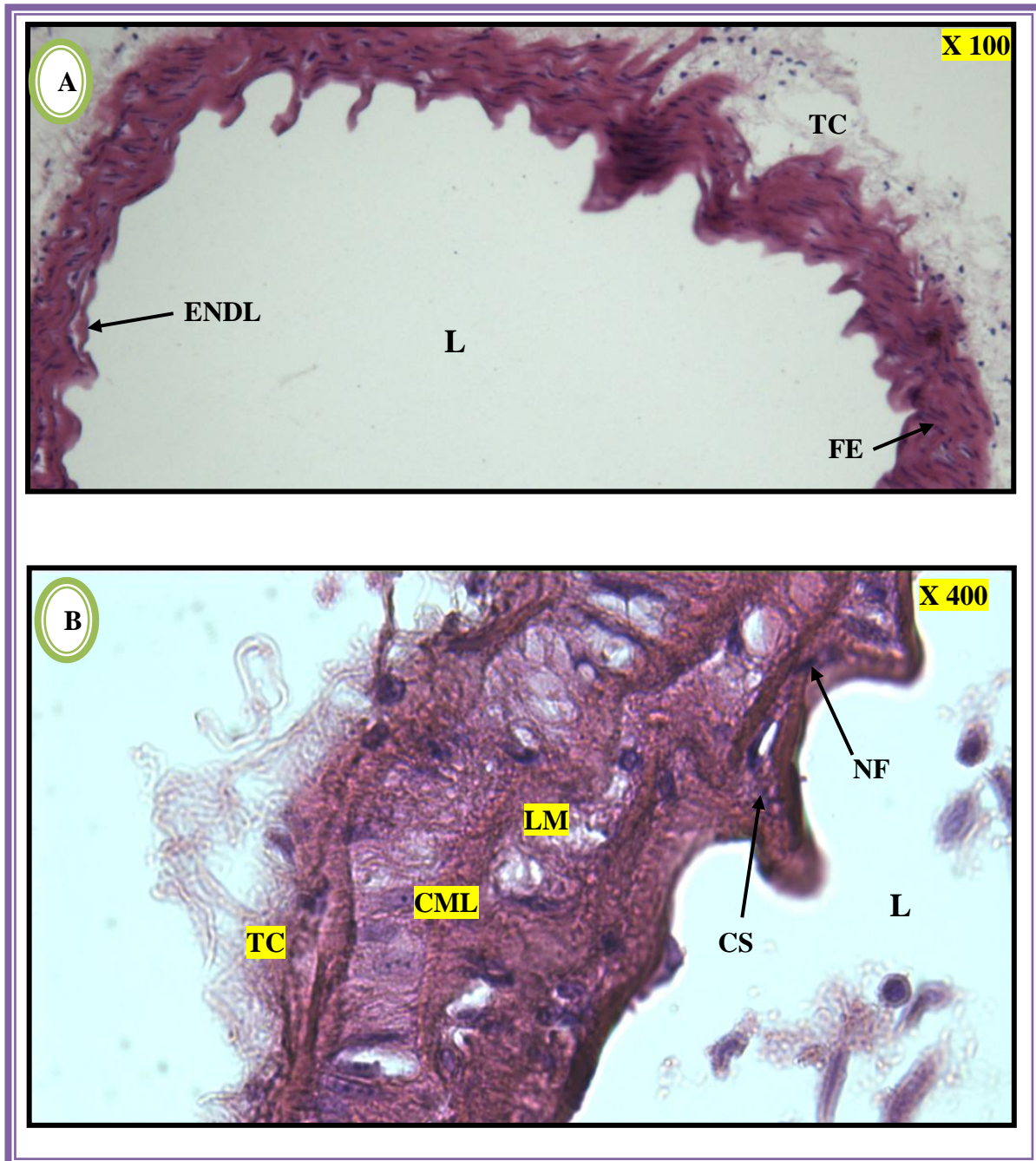


Figure 35. Coupe longitudinale de l'aorte abdominale du groupe (Cholestérol). **A :** (G x100), **B :** (Gx400). **CML:** Cellules Musculaires Lisses. **CS:** Cellule spumeuse, **ENDL:** Endolyse, **FE:** Fibres Elastiques, **L:** Lumière, **LM :** Lyse Musculaire, **NF:** Noyau fusiforme, **NOv :** Noyau ovale, **TC:** Tissu Conjonctif.

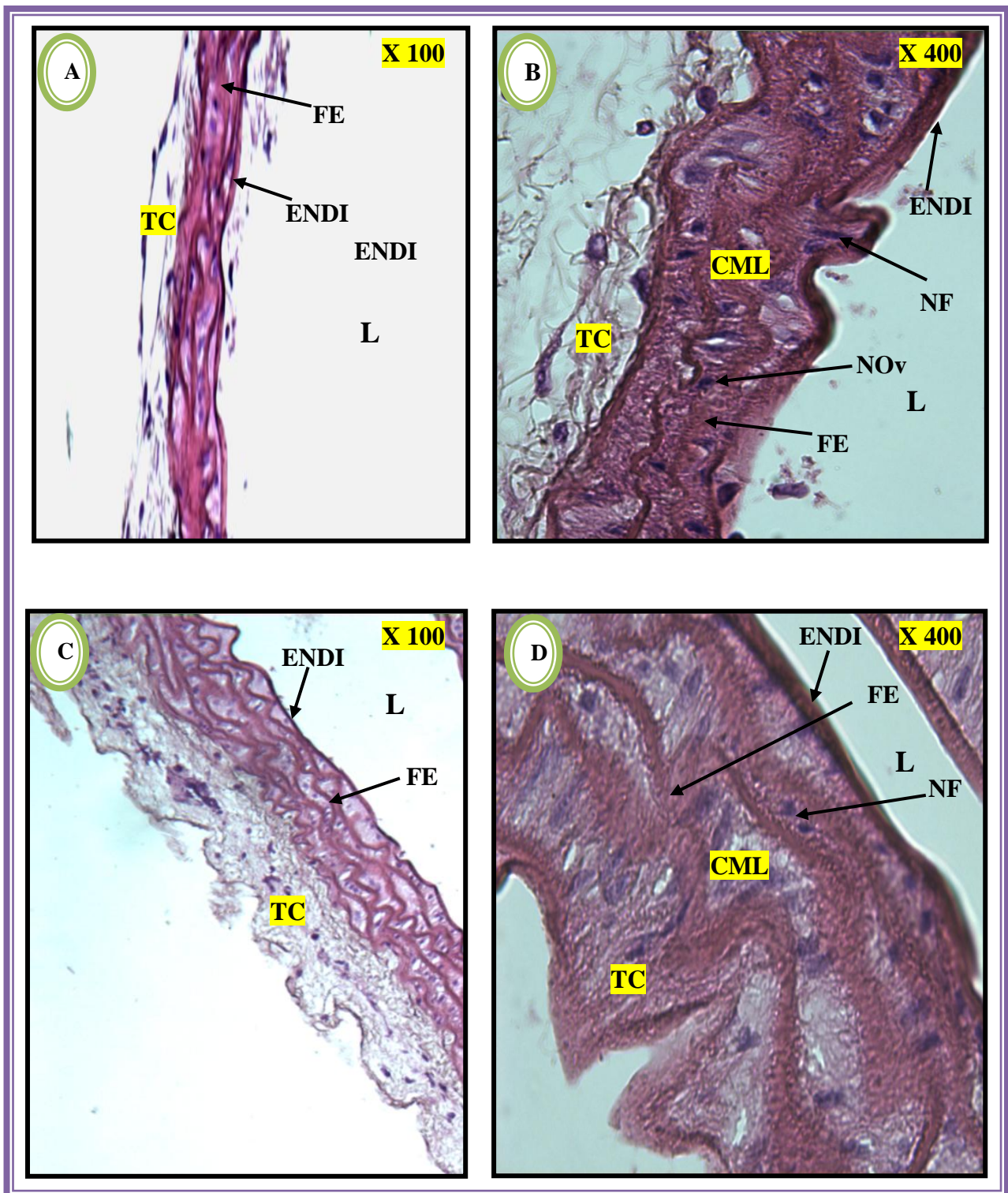


Figure 36. Coupe longitudinale de l'aorte abdominale. **A:** groupe (Cholestérol + *C. azarolus*) (Gx100), **B:** groupe (Cholestérol + *C. azarolus*) (Gx400), **C:** groupe (*C. azarolus*) (G x100), **D:** groupe (*C. azarolus*) (Gx400). **CML:** Cellules Musculaires Lisses. **ENDI:** Endothélium Intact, **FE:** Fibres Elastiques, **L:** Lumière, **NF:** Noyau Fusiforme, **NOv:** Noyau Ovale, **TC:** Tissu Conjonctif.

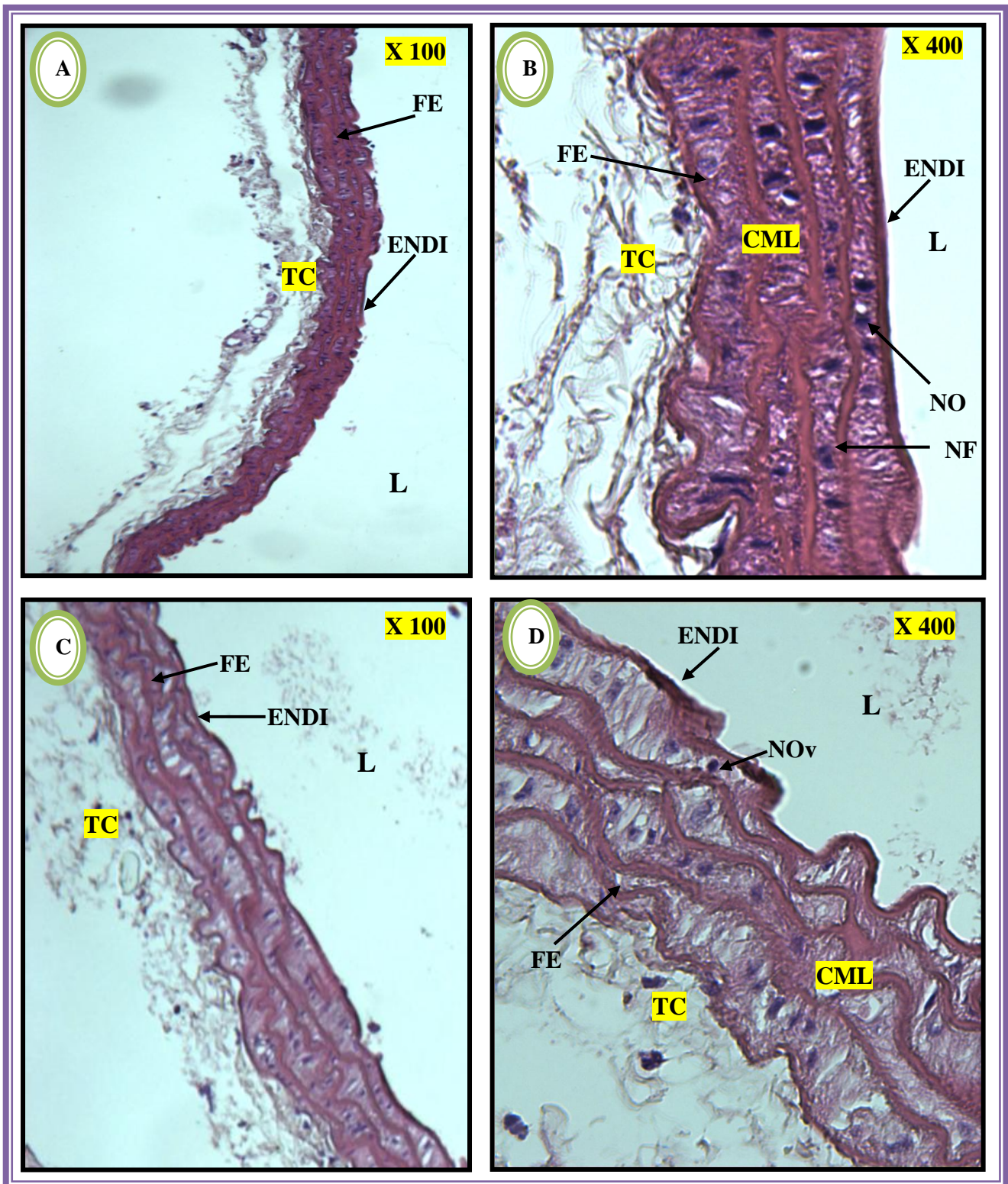


Figure 37. Coupe longitudinale de l'aorte abdominale. **A:** groupe (Cholestérol+C. monogyna) (**G x100**), **B:** groupe (Cholestérol + C. monogyna) (**Gx400**), **C:** groupe (C. monogyna) (**G x100**), **D:** groupe (C. monogyna) (**Gx400**). **CML:** Cellules Musculaires Lisses. **ENDI:** Endothélium Intact, **FE:** Fibres Elastiques, **L:** Lumière, **NF:** Noyau Fusiforme, **NOv:** Noyau Ovale, **TC:** Tissu Conjonctif.

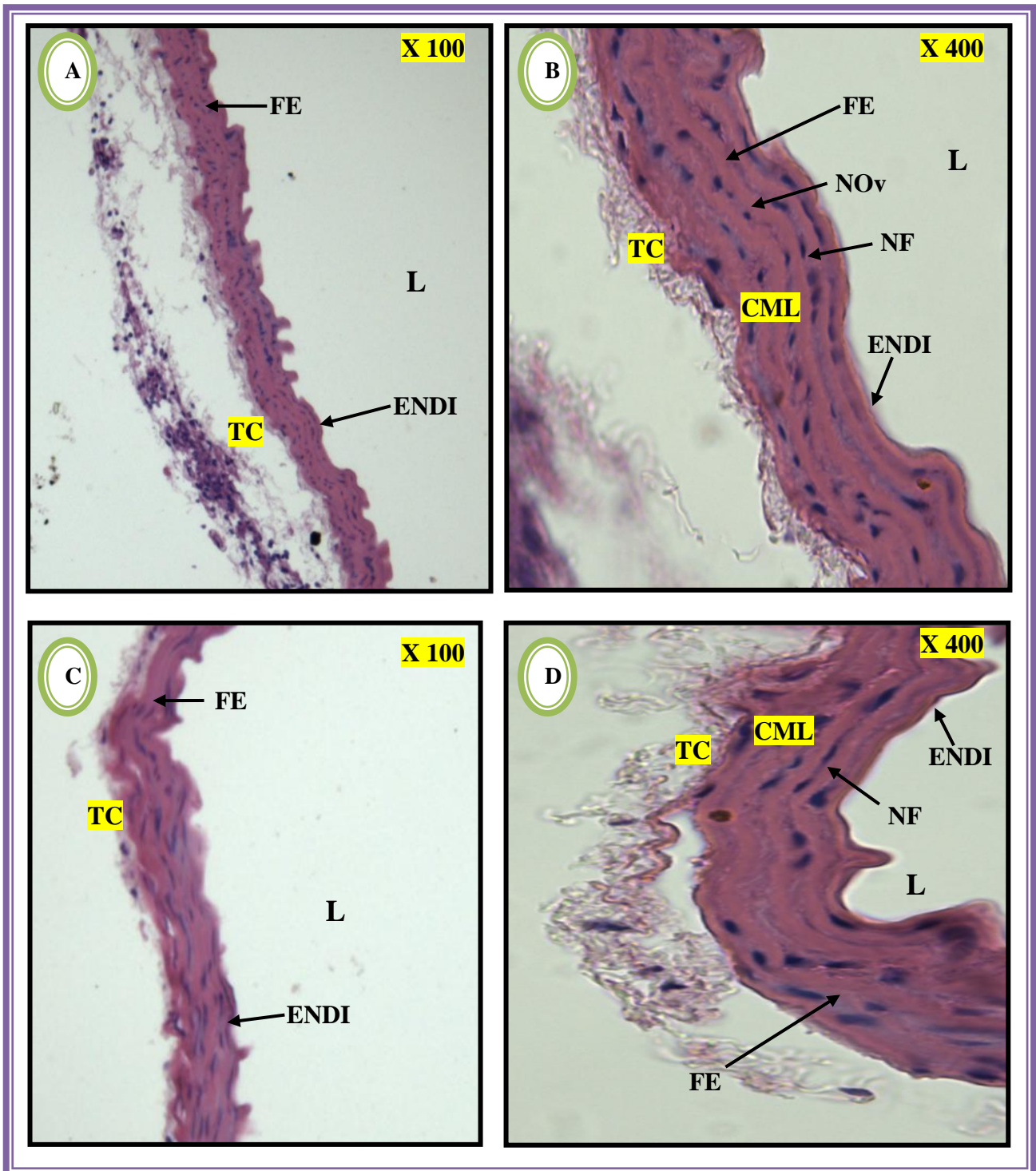


Figure 38. Coupe longitudinale de l'aorte abdominale. **A** : groupe (Cholestérol + *C. lanatus*) (**G x100**), **B** : groupe (Cholestérol + *C. lanatus*) (**Gx400**), **C** : groupe (*C. lanatus*) (**G x100**), **D**: groupe (*C. lanatus*) (**Gx400**). **CML**: Cellules Musculaires Lisses. **ENDI**: Endothélium Intact, **FE**: Fibres Elastiques, **L**:Lumière, **NF** : Noyau Fusiforme, **NOv** : Noyau Ovale, **TC**: Tissu Conjonctif.

Résultats et discussion

5.4 Histologie de l'aorte iliaque

Pour le groupe (Témoin), l'observation microscopique présente une *intima* bordée d'un endothélium intact. La *média* est composée de CML musculaires lisses enrobées de quelques fibres collagènes et élastiques avec des noyaux fusiformes. L'*adventice* est essentiellement constituée de faisceaux de fibres collagènes où se mêlent des fibres élastiques (**Figure 39**).

Par contre, l'observation pour le groupe (Cholestérol) montre des modifications morphologiques marquées par rapport à celle du groupe (Témoin), se traduisant par des images de lyse dans l'endothélium et la *média*, un changement de l'aspect fusiforme du noyau des cellules musculaires vers un aspect arrondi, une desquamation des cellules épithéliales et une formation des cellules spumeuses (**Figure 40**).

Pour les groupes (Cholestérol + *C. azarolus*), (Cholestérol + *C. monogyna*) et (Cholestérol + *C. lanatus*), on observe quelques cellules spumeuses, des CML avec un noyau fusiforme et quelques cellules avec un noyau arrondi. L'observation pour les groupes (*C. azarolus*), (*C. monogyna*) et (*C. lanatus*), ne présente aucune modification morphologique par rapport au groupe témoin (**Figures 41, 42, et 43**)

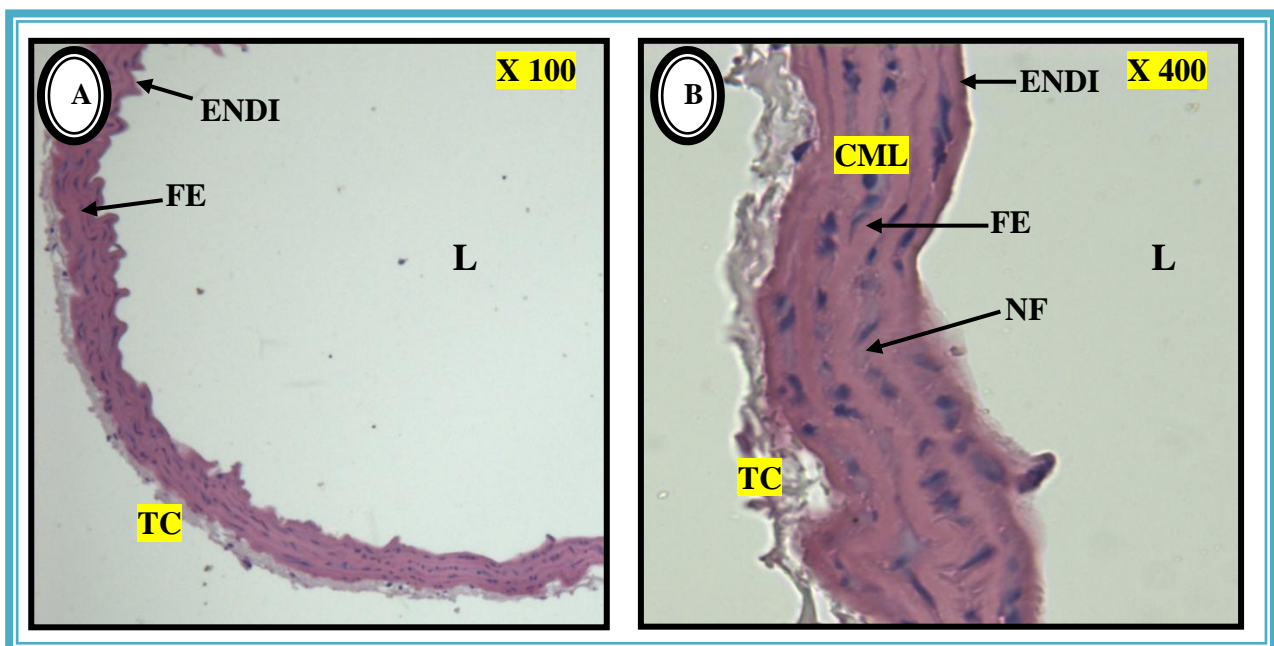


Figure 39. Coupe longitudinale de l'aorte iliaque du groupe (Témoin). **A:** (G x100), **B:**(Gx400).
CML: Cellules Musculaires Lisses, **ENDI:** Endothélium Intact, **FE:** Fibres Elastiques, **L:** Lumière,
NF : Noyau Fusiforme, **TC:** Tissu Conjonctif.

Résultats et discussion

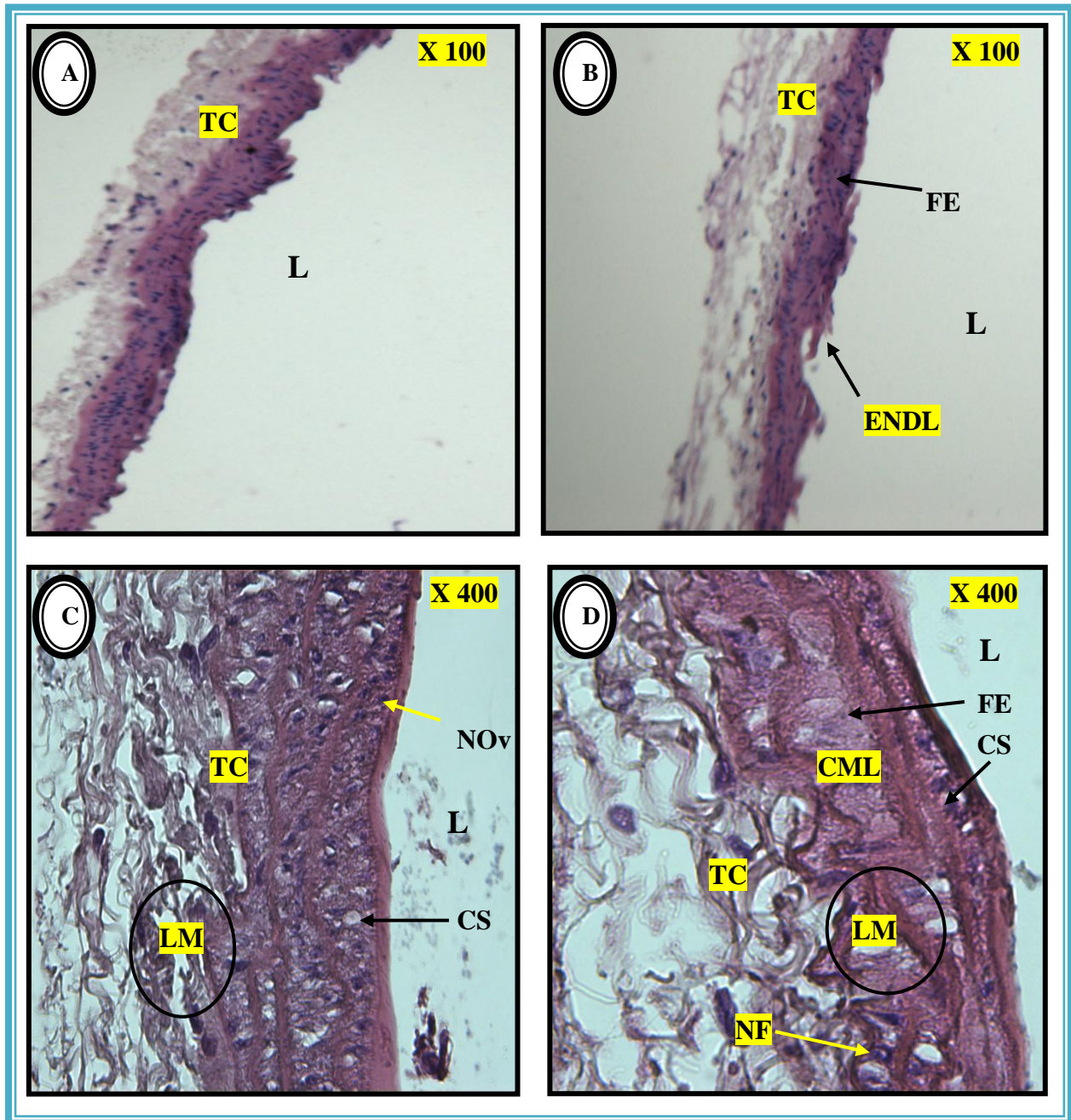


Figure 40. Coupe longitudinale de l'aorte iliaque du groupe (Cholestérol). A et B: (G x100), C et D:(Gx400). CML: Cellules Musculaires Lisses, CS: Cellule Spumeuse, ENDL: Endolyse, FE: Fibres Elastiques, L: Lumière, LM : Lyse Musculaire, NF: Noyau fusiforme, NOv: Noyau Ovale, TC: Tissu Conjonctif.

Résultats et discussion

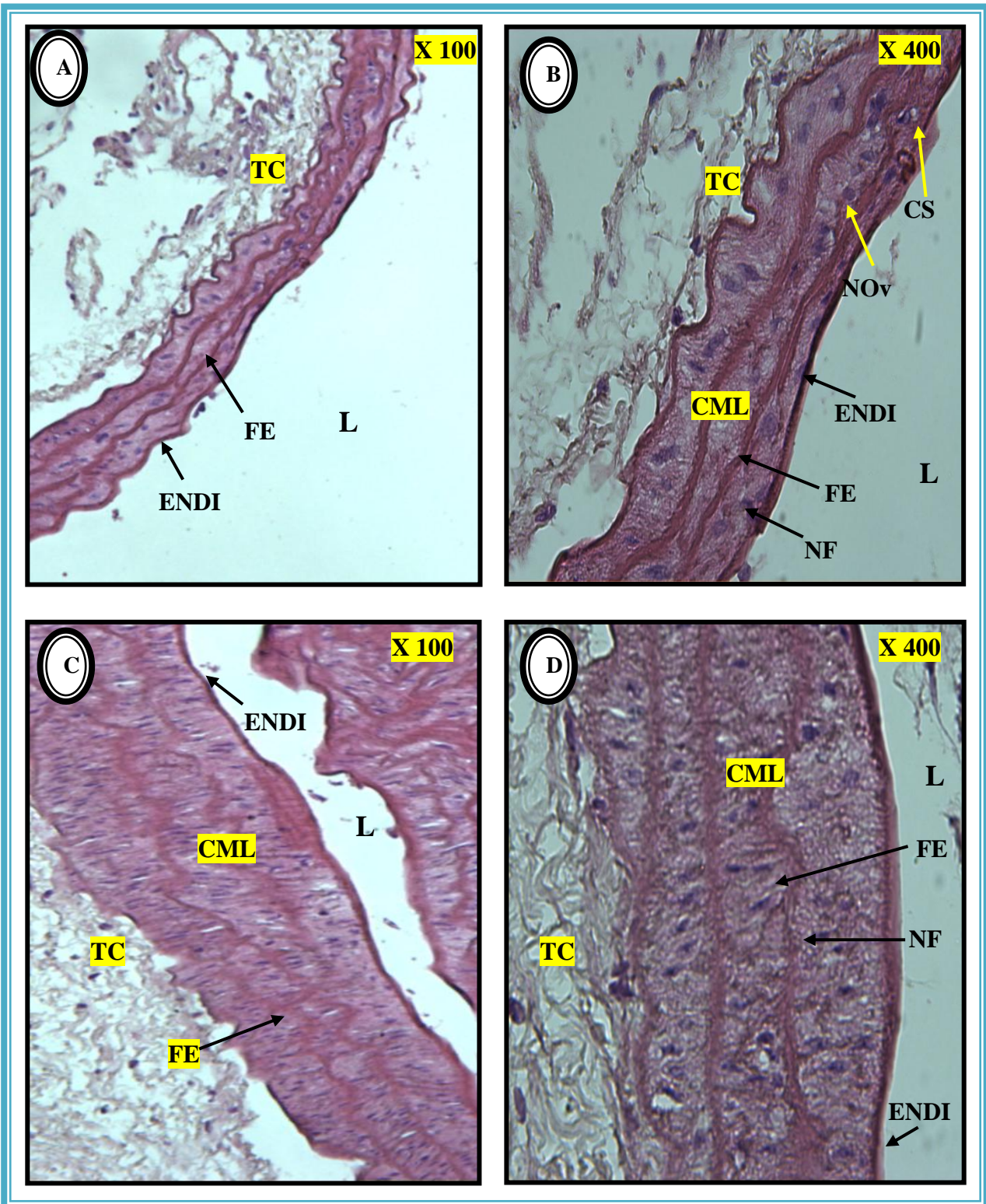


Figure 41. Coupe longitudinale de l'aorte iliaque. **A:** groupe (Cholestérol + *C. azarolus*) (G x100), **B:** groupe (Cholestérol + *C. azarolus*) (Gx400), **C:** groupe (*C. azarolus*) (G x100), **D:** groupe (*C. azarolus*) (Gx400). **CML:** Cellules Musculaires Lisses, **CS:** Cellule Spumeuse, **ENDI:** Endothélium Intact, **FE:** Fibres Elastiques, **L:** Lumière, **NF:** Noyau Fusiforme, **NOv:** Noyau Ovale, **TC:** Tissu Conjonctif.

Résultats et discussion

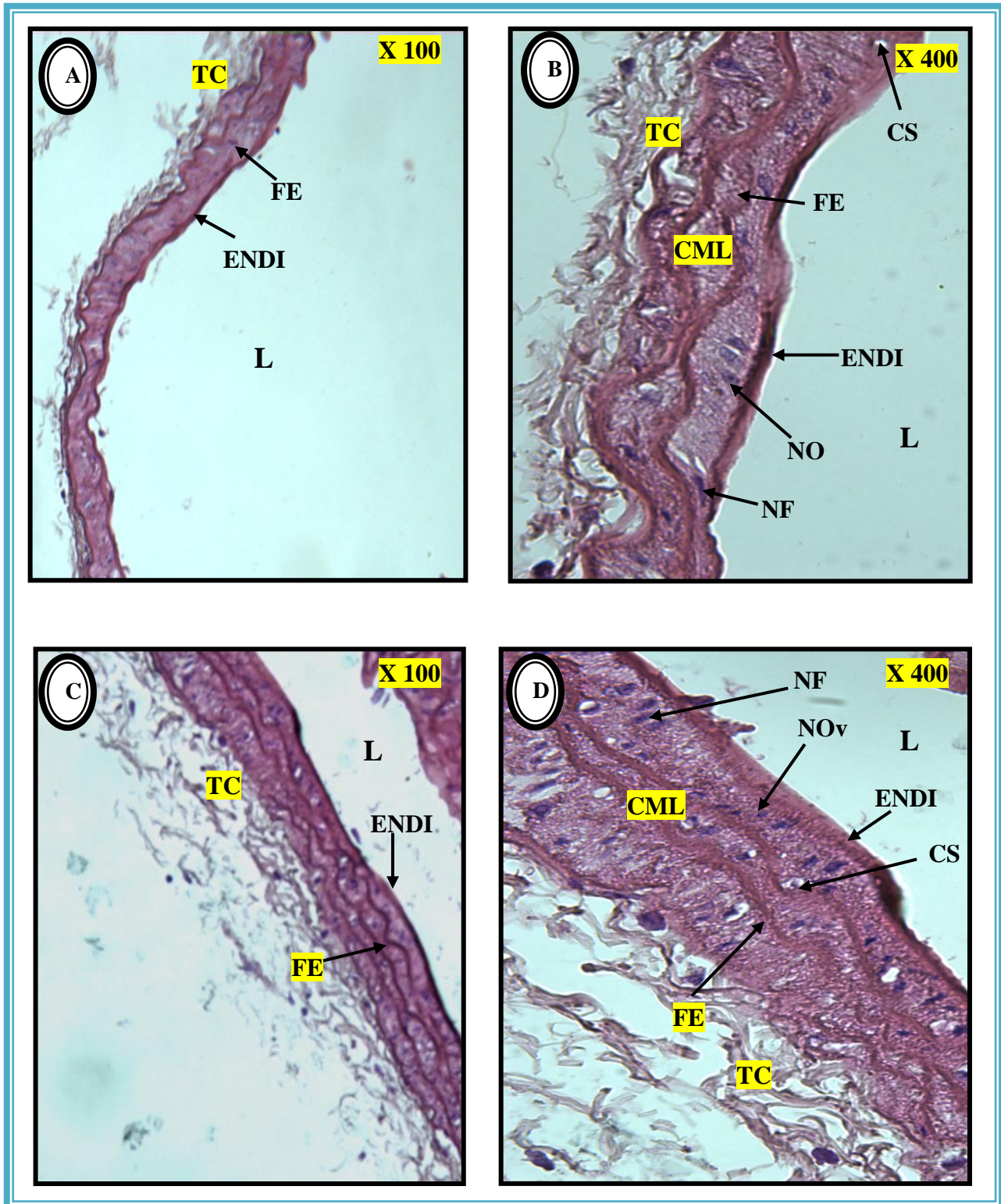


Figure 42. Coupe longitudinale de l'aorte iliaque. **A:** groupe (Cholestérol + *C. monogyna*) (G x100), **B:** groupe (Cholestérol + *C. monogyna*) (Gx400), **C:** groupe (*C. monogyna*) (G x100), **D:** groupe (*C. monogyna*) (Gx400). **CML:** Cellules Musculaires Lisses, **CS:** Cellule Spumeuse, **ENDI:** Endothélium Intact, **FE:** Fibres Elastiques, **L:** Lumière, **NF :** Noyau Fusiforme, **NOv :** Noyau Ovale, **TC:** Tissu Conjonctif.

Résultats et discussion

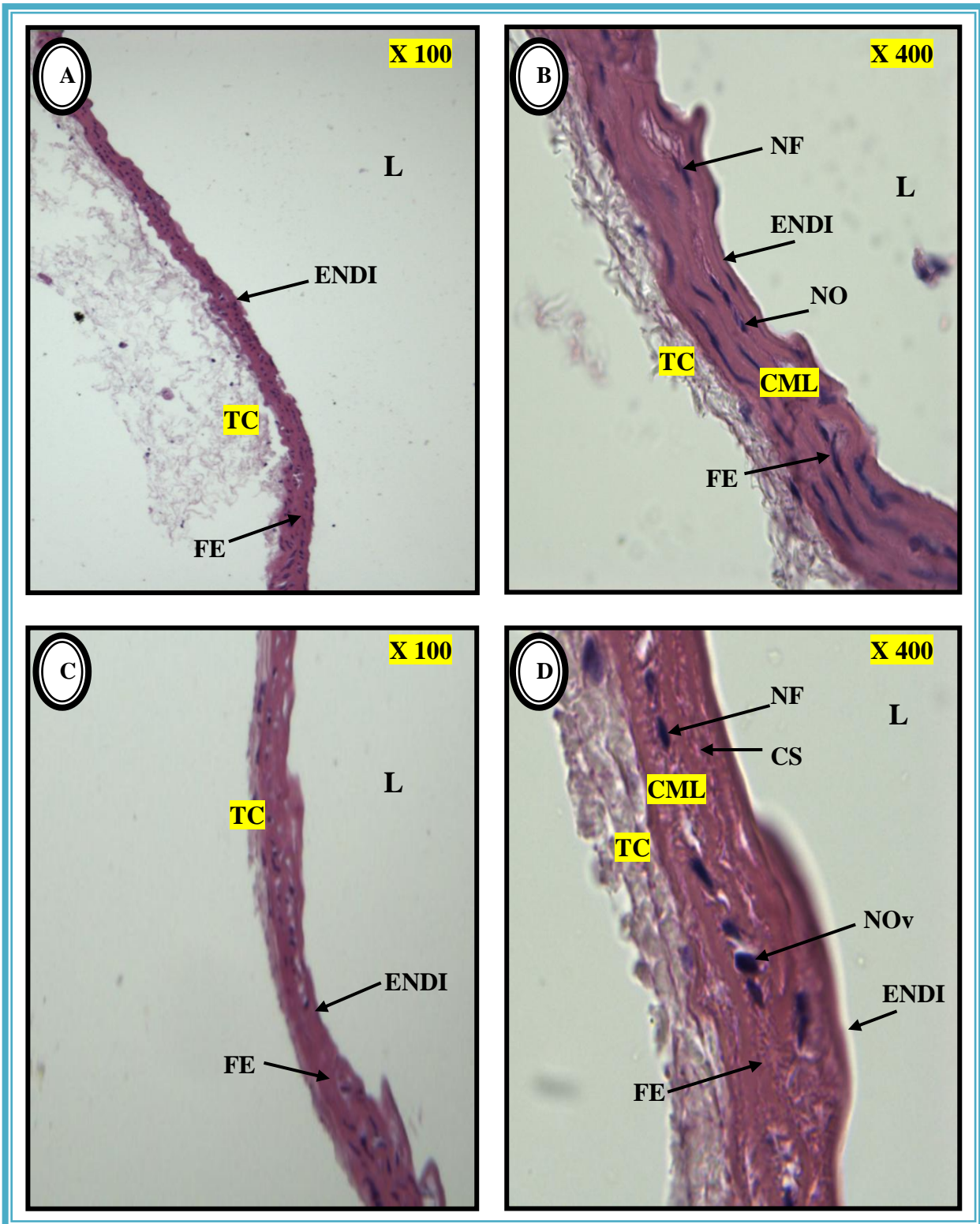


Figure 43. Coupe longitudinale de l'aorte iliaque. **A:** groupe (Cholestérol + *C. lanatus*) (G x100), **B:** groupe (Cholestérol + *C. lanatus*) (Gx400), **C:** groupe (*C. lanatus*) (G x100), **D:** groupe (*C. lanatus*) (Gx400). **CML:** Cellules Musculaires Lisses, **CS:** Cellule Spumeuse, **ENDI:** Endothélium Intact, **FE:** Fibres Elastiques, **L:** Lumière, **NF:** Noyau Fusiforme, **NOv:** Noyau Ovale, **TC:** Tissu Conjonctif.

5.5 Discussion générale sur les résultats histologiques

➤ L'analyse histologique du foie, du cœur et de l'aorte abdominale et l'aorte iliaque peut révéler la présence d'une dyslipidémie. C'est dans cette perspective qu'on a prélevé ces organes des souris des différents lots pour effectuer une analyse histologique, afin de confirmer l'efficacité des huiles des graines de *C. azarolus*, *C. monogyna* et *C. lanatus* dans la protection contre l'effet hyperlipidémique du cholestérol.

L'observation microscopique a révélé dans la [Figure 24 (A et B)], représentant une coupe histologique du foie d'une souris du groupe (Témoin), une architecture normale du foie sans modification hépatique, les cellules mononuclées qui forment la classe dominante, avec la présence d'un nombre discret de cellules binuclées, car, c'est les hépatocytes binuclées qui vont donner naissance à un clone d'hépatocyte mononuclées. Ces résultats sont en accord avec celles de Van Zwieten et Hollander (1997).

La [Figure 25 (A et B)] représentant une coupe histologique du foie d'une souris du groupe (Cholestérol) illustre un développement d'une stéatose hépatique en réponse au cholestérol qui induit une diffusion massive des lipides à l'intérieur des hépatocytes, ce qui permet une disposition intra hépatique de ces lipides sous forme de vacuoles. En outre, un grand nombre de micros et macro gouttelettes lipidiques (en blanc) avec la disparition de leur noyau et des veines centrolobulaires dilatées a été observée [Figure 25 (A)]. La dilatation des sinusoides [Figure 25 (B)] est un signe de toxicité du cholestérol. Ces résultats sont en accord avec celles de Le Roy *et al.* (2013).

En ce qui concerne la stéatose hépatique et l'inflammation, nos résultats sont cohérents avec les investigations de Wouters *et al.* (2008) et de Korou *et al.* (2010).

Le stress oxydatif a été impliqué dans le développement des lésions hépatocellulaires, de l'inflammation ainsi que dans sa progression vers la fibrose. Dans de nombreuses études, il a été prouvé que le stress oxydatif et la peroxydation lipidique ultérieure jouaient un rôle central dans le développement de la stéatose hépatique (Zeng, 2002). Les mitochondries sont la source des espèces réactives de l'oxygène; la surproduction de ERO a déclenché une stéatohépatite en oxydant les lipides hépatiques accumulés et en provoquant une peroxydation lipidique, a contribué de manière significative aux lésions hépatocytaires (Zhang *et al.*, 2007). De nombreuses études antérieures ont montré que le régime riche en lipides chez les rongeurs entraînant une stéatose hépatique et une fibrose hépatique (Jeong *et al.*, 2005).

Le taux élevé des enzymes hépatiques (ASAT et ALAT) est une indication de lésion de la membrane cellulaire des hépatocytes conduisant à une perte d'intégrité fonctionnelle du

Résultats et discussion

foie. Puisque l'ALAT est produit dans les hépatocytes; par conséquent, son altération peut servir d'indicateur des lésions des hépatocytes (Beltroy *et al.*, 2007). Les taux plasmatiques d'ALAT et d'ASAT dans l'étude actuelle sont positivement associés à des dommages histopathologiques dans le foie et au profil lipidique sérique également. Il est bien connu qu'il existe une corrélation positive entre une accumulation de cholestérol libre et l'induction du stress du réticulum endoplasmique (Wang *et al.*, 2006).

Les (**Figures 26, 27 et 28**) illustrent des coupes histologiques du foie des souris traités par la dose de (120 mg/kg Pv /j) des huiles des graines de *C. azarolus*, *C. monogyna* et *C. lanatus*. Ces figures retracent un petit nombre de vacuoles lipidiques réparties dans les hépatocytes avec l'absence de leur noyau et une architecture se rapprochant à la normale. Ces observations reflètent que la dose de (120 mg/kg Pv /j) a réduit le volume et le nombre des vacuoles lipidiques en diminuant ainsi l'effet de la stéatose hépatique due au cholestérol et donc la disparition de gouttelettes lipidiques de cette dose a un effet sur la protection du foie de la dyslipidémie.

Selon l'analyse histologique des souris traitées par des huiles des graines de *C. azarolus*, *C. monogyna* et *C. lanatus*, indique que ces huiles ont diminué la stéatose hépatique par la diminution remarquable des vacuoles lipidiques, agissant ainsi comme des anti-hyperlipidémiant, ce qui confirme notre étude biochimique. Les huiles des graines de *C. azarolus*, *C. monogyna* et *C. lanatus*, ont restitué l'architecture normale du foie.

La disparition de la stéatose est très importante et peut être expliquée par diverses hypothèses: l'activation des lipases a été bloquée par le cholestérol, l'empêchement du mécanisme de surfactant de l'agent inducteur de la lipidémie qui rend les membranes des cellules épithéliales de l'estomac plus stables et moins perméables au passage des lipides (Martinet *et al.*, 2001) et l'activation du métabolisme des lipides ingérés, puisque ceux-ci ne sont pas stockés au niveau du foie. Si les lipides ne sont pas stockés, ils pourraient être utilisés pour la synthèse des hormones. En agissant comme des phytostérols, les polyphénols des extraits de plantes peuvent empêcher la digestion des lipides externes (Muanda, 2010).

Notre étude a montré que les huiles des graines de *C. azarolus* et de *C. monogyna* ont diminué la stéatose induite par le régime hyperlipidémiant et ont supprimé presque complètement les biomarqueurs des lésions hépatiques, du stress oxydatif ainsi que des fractions lipidiques (**Figures 26 et 27**).

Les niveaux de retour de l'ASAT et l'ALAT proches de la ligne de base lors du traitement avec les huiles des graines de *C. azarolus* et de *C. monogyna* pourraient expliquer

Résultats et discussion

l'amélioration de l'histologie hépatique comme indiqué par une infiltration moindre en lipides dans les cellules hépatiques et une meilleure architecture des hépatocytes (Alhumayed, 2017).

L'étude de Rezaei-Golmisheh *et al.* (2015) a montré que les extraits du *C. azarolus* ont une teneur considérable en phénols, une association positive et forte entre la teneur en phénol et le pouvoir de piégeage des radicaux libres des extraits a été noté. L'étude analytique de Liu *et al.* (2010) a identifié les principaux composés phénoliques de l'idéine, de l'acide chlorogénique, de la procyanidine B2, de l'épicatéchine, de l'hyperoside et de l'isoquercitrine dans l'aubépine chinoise.

Abo-Salem *et al.* (2011) ont révélé que l'extrait de *C. monogyna* possède une quantité considérable de quercétine. Ces flavonols fortement liés indiquent que les effets hépatoprotecteurs probables de l'huile de graines de *C. monogyna* sont attribuables à leur teneur élevée en polyphénols, à leur pouvoir de piégeage des radicaux libres considérable et à leur capacité antihyperlipidémique. Les extraits de *C. monogyna* pourraient, ainsi, réduire les lésions hépatiques aiguës en atténuant les perturbations circulatoires précoces produites par le cholestérol.

Chez les rats diabétiques, une nécrose des hépatocytes entraînant une destruction complète des lobules hépatiques et une hyperémie ont été observées, et que le traitement avec l'extrait de *C. lanatus* a empêché les changements pathologiques. Nos résultats vont dans le même sens et indiquent que l'extrait de *C. lanatus* a entravé la dégradation des tissus hépatiques et ainsi leur dysfonctionnement chez les rats diabétiques (Ahmadinasab *et al.*, 2019).

La propriété hépatoprotectrice de l'huile de graines de *C. lanatus* peut être due à la présence de flavonoïdes dans leur état individuel ou aux effets combinés de ces composés phytochimiques (Adebayo *et al.*, 2014)

Nos résultats sont cohérents avec ceux de Deshmukh et Jain (2015) qui révèlent que toutes les altérations morphologiques telles que la nécrose, l'inflammation et les vacuolations induites dans le foie par streptozotocin (65 mg/kg Pv), sont restaurées avec l'administration chronique de l'extrait de *C. lanatus*.

➤ Nos résultats évoquent que le cholestérol a un effet toxique sur le cœur [Figure 30 (A et B)] et une activité angiotoxique sur l'aorte abdominale et l'aorte iliaque [Figures: (35 A et B) et 40 (A et B)]. Cela a été observé à travers les modifications histopathologiques du myocarde, la perte et la dégénérescence de l'endothélium et la formation de cellules spumeuses dans les différentes sections de l'aorte abdominale et l'aorte iliaque.

Résultats et discussion

Ces données ont confirmé les études de Dimitrova-Shumkovska *et al.* (2010), Ouvrier *et al.* (2011) et El Rabey *et al.* (2011) publiant l'existence d'une corrélation entre l'hypercholestérolémie et les modifications histologiques de ces différents organes.

Dans notre étude, nous avons constaté que le régime hyperlipidémiant administré n'a pas conduit à la formation de stries lipidiques ou de plaques athéromateuses au niveau de l'aorte des souris, ces résultats sont similaires à ceux de Sener *et al.* (2004).

D'après Saïle et Hassan (2007), les sites privilégiés de formation des lésions sont les embranchements des vaisseaux au niveau des zones de turbulence du courant sanguin. Dans ces zones, les forces hémodynamiques changent les propriétés de l'endothélium en augmentant notamment sa perméabilité aux LDL-c circulants.

Dans l'étude actuelle, l'examen microscopique des sections colorées de l'aorte abdominale et de l'aorte iliaque du groupe (Cholestérol) a révélé des changements structurels évidents impliquant toute la paroi.

Les changements endothéliaux visualisent l'irrégularité de forme de l'endothélium dans de vastes zones dénudées. Une adhésion des leucocytes mononucléaires et une migration des cellules sanguines avec une augmentation de la perméabilité de l'endothélium a été détectée et manifestant une augmentation des macrophages et de lipides sous la forme d'une augmentation des cellules spumeuses. Ces résultats sont en accord avec Amin et Abd El-Twab (2009) qui ont rapporté des anomalies de l'endothélium de l'aorte des rats nourris au régime hyperlipidémique avec apparition de cellules spumeuses et de zones de plaque mince avec infiltration de cellules inflammatoires. Ces données sont également cohérentes avec celles de Castillo *et al.* (2008) qui ont remarqué une adhérence et une infiltration des macrophages, de cellules mononucléées au niveau de l'*intima* et l'apparition de cellules spumeuses dans l'aorte des rats nourris avec un régime athérogène.

Plusieurs études ont attribué ces changements au stress oxydatif. L'augmentation de la production d'ERO a réduit la production et par conséquent la biodisponibilité du NO, qui est sécrété par les cellules endothéliales, entraînant une vasoconstriction, une agrégation plaquettaire et une adhésion des neutrophiles à l'endothélium (Vogiatzi *et al.*, 2009).

Un changement de statut oxydatif avec une diminution du NO et une augmentation des radicaux oxygénés suggère la fonction vasculaire anormale dans l'hyperlipidémie (Deepa et Varalakshmi, 2005). Le résultat net du stress oxydatif est un phénotype pro-inflammatoire qui se manifeste par un trafic leucocytaire accru et une perméabilité vasculaire accrue (Kapoor *et al.*, 2008).

Résultats et discussion

Le stress oxydant par le H₂O₂ augmente la phosphorylation des tyrosine-kinases, ce qui conduit à une liaison plus forte des cellules neutrophiles à l'endothélium et à une altération de la perméabilité des vaisseaux. Elle conduit également à la production de facteurs de transcription tels que le facteur nucléaire IB (NF-IB) et la protéine activatrice 1 (AP-1) qui participe à l'expression de molécules d'adhésion telles que les molécules d'adhésion cellulaire vasculaire -1 (VCAM-1), molécules intracellulaire d'adhésion -1 (MICA-1), E-sélectines et autres cytokines (Martinet *et al.*, 2001; Kapoor *et al.*, 2008).

Le NO est produit à partir de l'acide aminé L-arginine par l'oxyde nitrique synthase (NOS). L'inhibition de la synthèse de NO augmente l'expression de la protéine chimiotactique monocyte-1 (MCP-1) qui est le promoteur important de l'accumulation de monocytes dans l'athérosclérose. Le NO inhibe la prolifération des CMLV, et également la synthèse des protéines dans les VSMC (Hazra *et al.*, 2008; Safi *et al.*, 2016).

Dans une étude récente menée par Martinet *et al.* (2001), ils ont constaté que les statines, par l'augmentation des taux de catalase et de tétrahydrobioptérine (BH4), entraînent une augmentation de la production de NO et inhibent l'oxydation des LDL-c, tout en rétablissant les niveaux de vitamine C et E et des antioxydants endogènes tels que l'ubiquinone et le glutathion. Les vitamines C et E sont également des antioxydants qui peuvent inhiber le processus oxydatif pour la prévention des lésions athéroscléreuses.

Dans notre étude, l'examen histologique, de l'aorte abdominale et l'aorte iliaque des groupes (Cholestérol+ *C. azarolus*), (Cholestérol+ *C. monogyna*) et (Cholestérol+ *C. lanatus*) a révélé une amélioration des changements athérosclérotiques aortiques par rapport à l'aorte abdominale et l'aorte iliaque des souris hyperlipidémiques. **[Figures 36 (A et B), 37 (A et B), 38 (A et B), 41 (A et B), 42 (A et B) et 43 (A et B)].**

L'activité protectrice des huiles des graines de *C. azarolus*, *C. monogyna* et *C. lanatus* sur les lésions d'athéroscléreuses peut être attribuée par leurs actions antioxydantes grâce à leurs capacités à activer les enzymes antioxydantes.

Fait intéressant, la co-administration ou le post-traitement des animaux avec *C. azarolus* a amélioré les dommages oxydatifs et normalisé les activités de défense enzymatique et non enzymatique et réduit de manière significative la peroxydation lipidique dans les tissus cardiaques (Shatoor et Ahmed, 2014). L'effet modulateur de *C. azarolus* est probablement dû, au moins en partie, à son potentiel de piégeage des antioxydants, car des réductions significatives des niveaux de GSH ont été observées dans le groupe de souris recevant uniquement *C. azarolus*.

Les extraits de *C. monogyna* possèdent des propriétés vasodilatatrices et provoquent une vasorelaxation dépendante de l'endothélium dans les artères mésentériques isolées chez le rat et dans les artères coronaires (Chen et al., 2011). Ces effets vasodilatateurs ont été réduits par la N-nitro-L-arginine (un inhibiteur compétitif de la NO synthase), suggérant l'implication de l'oxyde nitrique. Les extraits de *C. monogyna* sont devenus des suppléments à base de plantes populaires en raison de leur réputation d'agents cardiotoniques (Anselm et al., 2009).

Les données de plusieurs essais cliniques suggèrent un bénéfice pour les patients atteints d'insuffisance cardiaque de stade II traités avec des extraits de *C. monogyna* standardisés (Salam et al., 2012). Il est bien connu que les composants trouvés dans *C. monogyna* tels que la quercétine, l'hyperoside et l'isoquercitrine possèdent des effets de relaxation via la cascade dépendante de l'endothélium (Zhang et al., 2001; Taubert et al., 2002) et les procyanidines. Il a été suggéré pour être responsable de la relaxation médiée par le NO dépendant de l'endothélium dans l'aorte isolée de rat (Kwok et al., 2010; Kim et al., 2013).

L'hyperoside et la rutine peuvent augmenter le flux coronaire; la rutine, l'acide chlorogénique, l'isoquercitrine et l'épicatéchine peuvent réduire la production de substances réactives lors de l'oxydation des LDL-c induite par le cuivre (Cu^{+2}); la procyanidine B2 peut inhiber la prolifération et la migration des CML aortiques humaines induites par les produits avancés de glycation (Yang et Liu, 2012; Zhang et al., 2013).

Nos résultats ont confirmé ceux de Poduri et al. (2013) qui ont trouvé que l'apport d'extrait de *C. lanatus* a entraîné une réduction de l'athérosclérose dans les régions de l'aorte thoracique et de l'aorte abdominale.

6. Résultats de l'évaluation de l'activité antiproliférative des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna*

6.1 Effet des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la prolifération des cellules de la lignée cellulaire humaine de cancer du sein (MCF7)

Les résultats concernant l'effet des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la prolifération des cellules de la lignée cellulaire humaine de cancer du sein (MCF7) ont montré une forte diminution de la viabilité des cellules cancéreuses (**Figure 44**).

Résultats et discussion

Cette diminution est dépendante de la concentration (plus la concentration augmente, plus la viabilité diminue). En comparant les deux huiles, l'huile de graines de *C. monogyna* est plus efficace que l'huile de graines de *C. azarolus* avec de toutes concentrations. (Tableau 15).

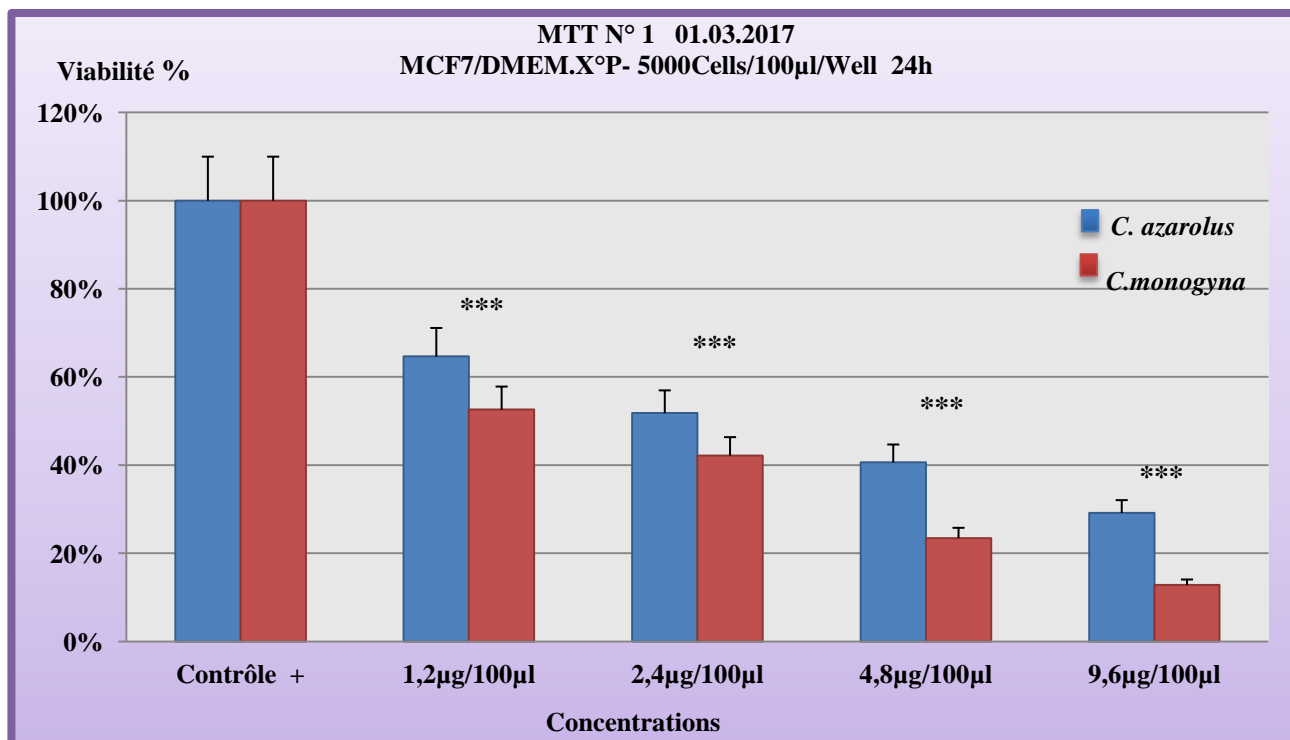


Figure 44. Effet des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la viabilité des cellules MCF7.

Tableau 15. Comparaison entre les effets des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la viabilité des cellules MCF.

Concentrations	<i>C. azarolus</i>	<i>C. monogyna</i>
1,2 µg / 100µl	64,68 ± 1.02 %	52,60 ± 1.13 %
2,4 µg / 100µl	51,81 ± 0.75 %	42,17 ± 1.95 %
4,8 µg / 100µl	40,65 ± 0.78 %	23,47 ± 1.20 %
9,6 µg / 100µl	29,18 ± 1.03 %	12,82 ± 0.85 %

Résultats et discussion

6.2 Effet des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la prolifération des cellules de la lignée cellulaire de carcinome hépatocellulaire humain (HepG2)

Les résultats concernant l'effet des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la prolifération des cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome (**HepG2**) ont montré une forte diminution de la viabilité des cellules cancéreuses (**Figure 45**).

La diminution de la viabilité des cellules était une diminution dépendante de la concentration (plus la concentration augmentait, plus la viabilité diminuait). En comparant les deux huiles, l'huile de graines de *C. monogyna* était plus efficace que l'huile de graines de *C. azarolus* avec de toutes concentrations. (**Tableau 16**).

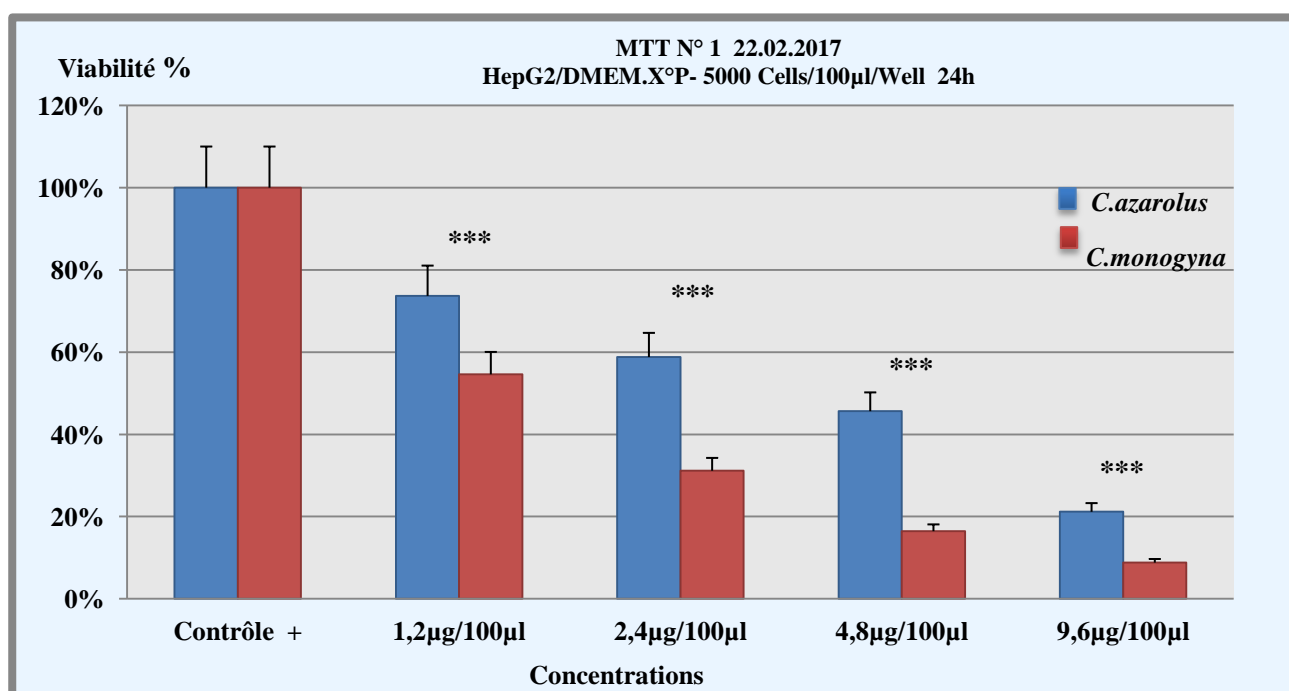


Figure 45. Effet des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la viabilité des cellules de carcinome hépatocellulaire humain **HepG2**.

Tableau 16. Comparaison entre les effets des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la viabilité des cellules **HepG2**.

Concentrations	<i>C. azarolus</i>	<i>C. monogyna</i>
1,2 µg / 100µl	73,32 ± 1,07%	54,47 ± 0,85%
2,4 µg / 100µl	58,22 ± 1,10%	31,22 ± 0,86%
4,8 µg / 100µl	45,12 ± 1,20%	16,35 ± 1,21%
9,6 µg / 100µl	21,20 ± 0,78%	8,79 ± 1,11%

6.3 Discussion générale sur les résultats de l'évaluation de l'activité antiproliférative des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna*

Le cancer est l'une des principales causes de décès et devient rapidement une pathologie à l'échelle mondiale (Jemal *et al.*, 2009). De nombreux facteurs jouent un rôle important dans le développement du cancer, comme le mode de vie, l'environnement, le stress et la nutrition. Au fil des années, les méthodes de traitement du cancer ont subi des changements révolutionnaires. En revanche, la chimiothérapie des tumeurs solides est encore limitée par le manque de médicaments anticancéreux; par conséquent, de nouveaux médicaments n'ont pas encore été développés pour guérir le cancer (Sahin Yaghioglu *et al.*, 2016).

Historiquement, les plantes sont bien connues pour leur valeur médicinale, principalement en raison de leur contenu en composants phytochimiques, y compris les composés phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins et d'autres produits sensibles au stress (El-Mahdy *et al.*, 2008). En effet, l'apport quotidien d'antioxydants naturels a été corrélé à une diminution de la fréquence de différentes maladies, dont le cancer, le diabète et les maladies cardiovasculaires. De plus, les composés phénoliques et les flavonoïdes de diverses plantes médicinales présentent de puissantes capacités anti-inflammatoires et antiprolifératives (Oak *et al.*, 2006). Les effets bénéfiques des polyphénols sont attribués à leurs propriétés antioxydantes et à leur capacité de capter les radicaux libres. Ces substances présentent des propriétés anticancéreuses, antimutagènes et antibactérienne non négligeables (Hatano *et al.*, 2005). Les études *in vitro* concentrées sur les actions directes et indirectes des polyphénols et des flavonoïdes sur les cellules tumorales, ont trouvé une variété d'effets anticancéreux tels que la croissance cellulaire et l'inhibition de l'activité kinase, l'induction de l'apoptose, la suppression de la sécrétion de métalloprotéinases matricielles et du comportement invasif tumoral (Kim *et al.*, 2013).

Les effets des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la croissance de deux lignées cellulaires tumorales humaines MCF7 et HepG2, représentant les concentrations causant l'inhibition de la croissance cellulaire, sont résumées dans les (**Figure 44; Figure 45**) et (**Tableau 15 ; Tableau 16**) respectivement. Ces lignées cellulaires ont été sélectionnées parce qu'elles sont bien caractérisées et représentatives de deux différents types de cellules tumorales, avec différentes origines tissulaires, et sont largement utilisées pour cribler le potentiel antitumoral.

L'huile de graines de *C. monogyna* était le plus puissant de deux lignées cellulaires testées ($p=0.000$), présentant des valeurs variant de 12 à 96 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pour les cellules MCF7 et

Résultats et discussion

HepG2 (**Figure 44; Figure 45**). Les données obtenus pour les échantillons de *C. monogyna* les plus actifs sont comparables à d'autres matrices naturelles étudiées dans les mêmes lignées cellulaires (Vaz *et al.*, 2012; Rodrigues *et al.*, 2012).

Nos résultats sont en accord avec les résultats de Sahin Yaglioglu *et al.* (2016) qui ont démontré que les espèces : *Crataegus monogyna*, *Vitis vinifera* et *Acrasis rosea* ont présenté une meilleure activité antiproliférative que le 5-fluorouracile (5-FU) et le cisplatine à des concentrations de 75 à 100 µg/mL, contre les lignées cellulaires de tumeur cérébrale des rats et les lignées cellulaires de cancer du col de l'utérus humain. De plus, les extraits de *C. monogyna* et *V. vinifera* ont révélé une activité antiproliférative considérable contre les cellules de cancer du col de l'utérus de Henrietta Lacks (HeLa) par rapport au 5-FU et au cisplatine à 75-100 µg/mL.

Les résultats obtenus des échantillons de l'huile de graines *C. monogyna* sont comparables à ceux de la même espèce cultivée au Portugal (Rodriguez *et al.*, 2012).

L'action différentielle de deux huiles sur les lignées cellulaires tumorales MCF7 et HepG2 peut être due à la structure chimique différente. Comme pour toute relation structure-activité, des études antérieures suggèrent que la position, le nombre et la substitution de l'hydroxyle des anneaux A et B peuvent être des facteurs importants affectant les activités cytotoxiques et / ou antiprolifératives des flavonoïdes (Sanchez *et al.*, 2001).

Les flavonoïdes sont généralement non toxiques et manifestent une gamme variée d'activités biologiques bénéfiques. Les flavonoïdes alimentaires ont la propension à moduler une variété d'événements biologiques associés à la progression et au développement du cancer. Il a été démontré que ces composés ont des activités antivirales, anti-inflammatoires, antimutagènes et anticarcinogènes (Belkhir *et al.* , 2016). Les flavones et les flavonols ont des squelettes basiques présentent une double liaison C2-C3 dans les flavonoïdes polyhydroxylés et le nombre de substituants sur les cycles A et B et leur nature (hydroxyles libres ou méthylés). Ce sont des structures plates avec un substituant 3-hydroxyle caractéristique. Un autre élément structurel qui peut influencer l'activité antiproliférative est le nombre et la position des substituants dans le squelette de la base flavonoïde. La lutéoline et l'apéginine (flavones) et la quercétine, le kaempférol (flavonols) ont une structure catéchol (O-hydroxy) dans son anneau B, la présence d'un nouvel hydroxyle dans cet anneau conduit à ces structures un fort effet antiprolifératif (Mraihi *et al.*, 2015).

Les extraits polyphénoliques de feuilles, d'écorces de fruits et de pulpe de *C. azarolus* et *C. monogyna* (0,24 à 4,8 mg/ml) sont cytotoxiques pour la lignée cellulaire de cancer du

Résultats et discussion

colon (Caco-2), tout en étant non toxiques pour les cellules Caco-2 différenciées (Venskutonis, 2018).

L'activité antiproliférative plus accrue observée pour l'huile de graines de *C. monogyna* pourrait être liée à ses concentrations plus élevées de composés phénoliques, en particulier les quantités plus élevées de dérivés de quercétine et d'acides phénoliques. Les principaux composés phénoliques de *C. monogyna* ont été déterminés en tant que dérivés de quercétine et acides phénoliques (Rodrigues *et al.*, 2012).

Il est connu que la quercétine a un effet inhibiteur sur diverses cellules tumorales. Tieppo *et al.* (2007) et Sahin Yagliglu *et al.* (2016) ont démontré que la quercétine n'est pas génotoxique et en revanche elle a augmenté la stabilité génomique chez les rats ayant une cirrhose biliaire. En plus, Li et Jiang. (2007) ont observé une activité anticancéreuse, pour l'épicatéchine, procyanidine B2, procyanidine B4 de la fraction d'acétate d'éthyle des extraits de *Litchi chinensis*. Une étude clinique a permis de montrer une activité anticancéreuse de la quercétine, administrée par voie intraveineuse chez des patients atteints du cancer (Martin et Andriantsitohaina, 2002). La quercétine a déjà été signalée comme exerçant de puissants effets inhibiteurs de croissance sur plusieurs lignées cellulaires tumorales malignes, telles que les cellules tumorales Natural Killer/Lymphocytes NK/LY, les cellules HeLa, les cellules cancéreuses gastriques, les cellules cancéreuses du côlon, les cellules cancéreuses du sein humain, les cellules cancéreuses ovariennes, le cancer épidermoïde humain (A431), les cellules cancéreuses hépatiques humaines et les cellules cancéreuses pancréatiques humaines (Moon *et al.*, 2003; Rodrigues *et al.*, 2012). En outre, les acides phénoliques de *C. monogyna*, tels que les dérivés de l'acide gallique et l'acide caféique, ont montré un effet antiprolifératif contre plusieurs lignées cancéreuses (Gomes *et al.*, 2003).

Comme illustré sur les (**Figure 44; Figure 45**), l'incubation de l'huile de graines *C. azarolus* avec les lignées cellulaires MCF7 et HepG2 a inhibé de manière très hautement significative la prolifération cellulaire d'une manière dépendante de la dose ($p=0.000$).

Nos résultats ont confirmé les résultats de Kumar *et al.* (2012) et Sun *et al.* (2013) qui ont constaté que les extraits du *C. azarolus* inhibent la croissance de nombreuses cellules cancéreuses, par divers mécanismes. Les plus répandus sont la mort cellulaire programmée (PCD) de type I (apoptose), la mort cellulaire PCD autophagique de type II et la nécrose (Shimizu *et al.*, 2014; Mustapha *et al.*, 2016).

Les extraits éthanoliques de *C. azarolus* ont exercé des capacités antioxydantes, anti-inflammatoires et antiprolifératives substantielles, et ont été évaluées en mesurant les

quantités sécrétées de la prostaglandine médiatrice pro-inflammatoire E2 (PGE2) et en dosant les niveaux d'ARNm des cytokines pro-inflammatoires (IL- α , IL- β et IL-6), chimiokines et enzymes COX2 et iNOS sensibles à l'inflammation (Kallassy *et al.*, 2017).

L'activité antiproliférative de l'huile de graines de *C. azarolus* peut être attribuée à la présence de composants spécifiques tels que les flavonoïdes et les triterpènes. L'étude chimique de Mustapha *et al.* (2015) a constaté que l'acide ursolique à montrer une activité antiproliférative contre les cellules de mélanome. Nous pensons que l'acide ursolique est responsable au moins en partie du potentiel antiprolifératif de l'huile de graines *C. azarolus*. En fait, il a été constaté que l'acide ursolique inhibe la prolifération des cellules de mélanome d'une manière dépendante de la dose et du temps avec une concentration inhibitrice médiane (CI50) comprises entre 12,5 et 15 mM après 24 h d'incubation et entre 10 et 12,5 mM après 48 h d'incubation (Pinon *et al.*, 2011).

D'ailleurs, l'analyse chimique a révélé la présence d'autres composants tels que la vitexin-2''-O-rhamnoside dans l'huile de graines *C. azarolus*. Mustapha *et al.* (2015) ont montré que ce flavonoïde diminuait de 50% la prolifération des cellules de mélanome B16F10 à une dose de 20 mM. On peut donc confirmer que le vitexin-2''-O-rhamnoside est également être responsable du potentiel antiprolifératif de l'huile de graines *C. azarolus*. Les études réalisées par Mustapha *et al.* (2016a, b, c) ont démontré divers effets de l'extrait d'acétate d'éthyle de *C. azarolus* ainsi que l'isolement de celui-ci hyperoside et vitexin-2''-O-rhamnoside.

7. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna*

7.1 Résultats du test de l'activité de piégeage du radical H₂O₂ *in vitro*

Les résultats concernant l'effet des huiles de graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la prolifération des cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome **HepG2** après provocation avec (75 μ l H₂O₂ 85 μ M) manifestent une augmentation très hautement significative de la viabilité des cellules cancéreuses (p=0.000) (**Figure 46**).

Résultats et discussion

L'accroissement de la viabilité des cellules se traduit par une augmentation dépendante de la concentration (plus la concentration augmente, plus la viabilité est accrue). En comparant les deux huiles, l'huile de graines de *C. monogyna* est plus efficace que l'huile de graines de *C. azarolus* avec toutes les concentrations. (Tableau 17).

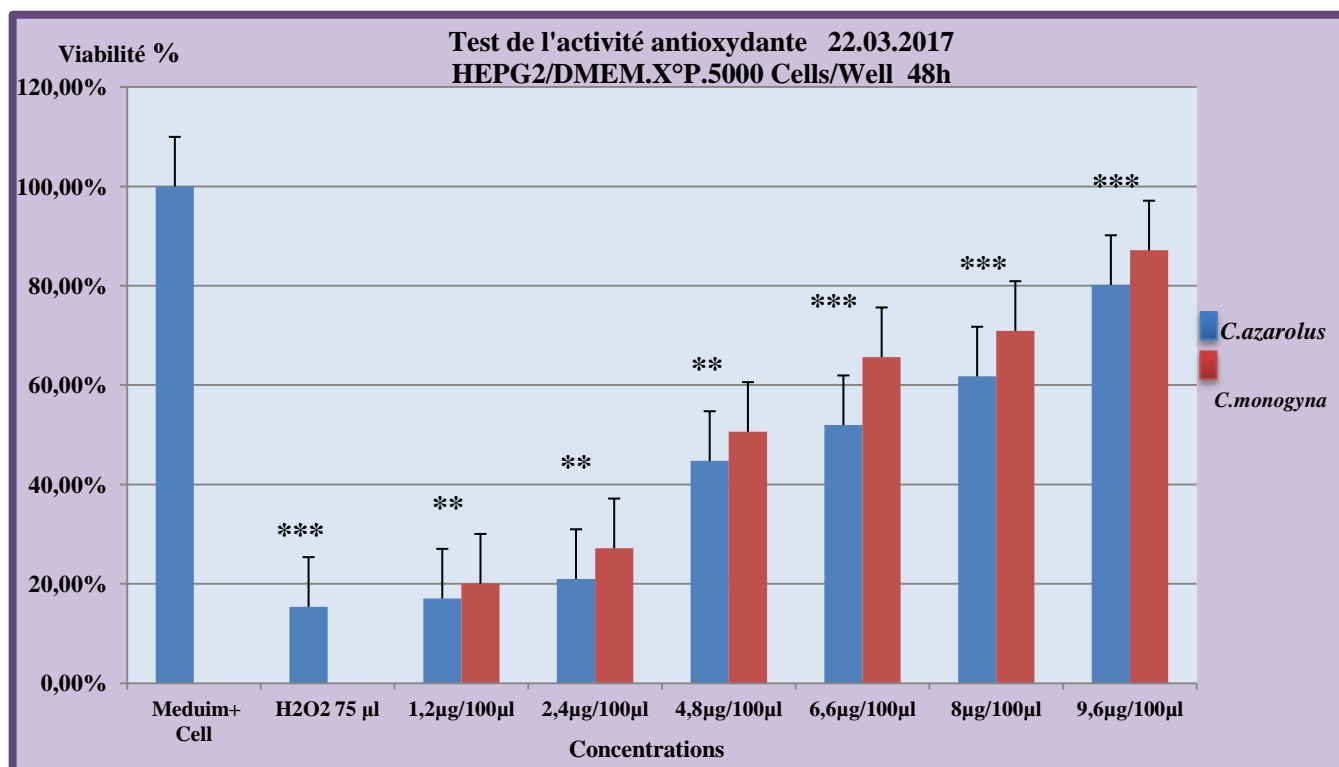


Figure 46. Effet des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la viabilité des cellules HepG2 après provocation avec (75 µl H₂O₂ 85 µ M).

Tableau 17. Comparaison entre les effets des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur la viabilité des cellules HepG2 après provocation avec (75 µl H₂O₂ 85 µ M).

Concentrations	<i>C. azarolus</i>	<i>C. monogyna</i>
1.2 µg /100 µl	17,07 ± 0.6 %	20,06 ± 0.4 %
2.4 µg / 100µl	21,01 ± 0.65 %	27,19 ± 0.65 %
4.8 µg / 100µl	44,77 ± 0.16 %	50,63 ± 0.3 %
6.6 µg / 100µl	51,97 ± 0.24 %	65,66 ± 0.94 %
8 µg / 100µl	61,78 ± 1.1 %	70,95 ± 1.3 %
9.6 µg / 100µl	80,19 ± 0.5 %	87,15 ± 1.2%

7.2 Discussion générale sur les résultats du test de l'activité de piégeage du radical H_2O_2 *in vitro*

Les radicaux libres, tel que H_2O_2 , ont un rôle important dans la pathogenèse de plusieurs maladies, dont les cancers. Les antioxydants peuvent protéger les substances biologiques et chimiques des dommages oxydatifs induits par les radicaux libres (Kaur *et al.*, 2009). Par ailleurs, la conversion cellulaire du H_2O_2 en radicaux hydroxyles endommage les macromolécules cellulaires comme les lipides, les protéines et l'ADN. À des concentrations plus faibles, les ERO et les RNS sont des molécules de signalisation importantes. Les ERO, y compris H_2O_2 , participent également à la signalisation des voies liées à la prolifération cellulaire, la migration et l'apoptose (Kumar et Chattopadhyay, 2007).

La mesure des ERO est une très bonne indication du stress oxydatif dans les cellules vivantes. La capacité antioxydante des composés peut être bien évaluée en utilisant un modèle de cellules oxydées intracellulaires en testant leur capacité de piégeage des ERO intracellulaires (Zhou *et al.*, 2019). En général, H_2O_2 est couramment utilisé comme générateur de radicaux oxygène, qui peut pénétrer à l'intérieur des cellules et provoquer la génération d'autres radicaux, tels que les radicaux hydroxyles et les radicaux anions superoxyde. Par conséquent, un excès de ERO attaque les molécules biologiques, entraînant des dommages cellulaires (Liang *et al.*, 2019). Le foie est le principal organe détoxifiant du corps humain, la lignée cellulaire HepG2 a été utilisé comme système de test dans la présente étude pour évaluer l'effet protecteur des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* contre les dommages oxydatifs induits par le H_2O_2 .

L'effet du traitement par les huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur le pourcentage de viabilité cellulaire dans les cellules HepG2 après provocation avec H_2O_2 est représenté dans la (**Figure 46**).

La viabilité cellulaire a été évaluée à l'aide du test MTT. Le pourcentage de viabilité cellulaire dans le groupe (Milieu de culture+cellules) a été défini comme 100%. Après provocation par H_2O_2 , le pourcentage de viabilité cellulaire était significativement ($p=0,000$) diminué dans le groupe (H_2O_2 75 μ l) en raison de la génération de stress oxydatif par rapport au groupe (Milieu de culture+Cellules). En outre, le traitement par les différentes concentrations des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* a augmenté de façon très hautement significative ($p= 0,000$) le pourcentage de viabilité cellulaire par rapport au groupe (H_2O_2 75 μ l).

Résultats et discussion

Globalement, l'huile de graines de *C. monogyna* possède une meilleure protection contre le stress oxydatif induit par le H₂O₂ (Trivedi et al., 2018). Par conséquent, nos résultats ont démontré que le traitement par l'huile de graines de *C. monogyna* présentait une activité antioxydante plus forte dans les cellules HepG2 que celle de l'huile de graines de *C. azarolus*, en améliorant les systèmes de défense antioxydants endogènes pour piéger les ERO intracellulaires et en améliorant le système de défense enzymatique antioxydant endogène. Nos résultats sont en accord avec Bernatoniene *et al.* 2008 et Bahri-Sahloul *et al.* 2009 qui ont constaté que les extraits d'acétate d'éthyle préparés à partir des boutons floraux et des fleurs ouvertes de *C. azarolus* et les extraits de fruits de *C. monogyna* préparés avec de l'éthanol et de l'eau ont été efficaces pour éliminer la DPPH et ABTS.

La présente étude suggère que l'huile de graines de *C. monogyna* pourrait protéger les cellules HepG2 contre le stress oxydatif en piégeant les ERO intracellulaires induits par H₂O₂.

Le DMEM Biofield Energy Treated a montré une meilleure protection antioxydante contre le stress oxydatif dans les cellules HepG2, qui était induit par H₂O₂. L'élément de référence, la quercétine, a montré une augmentation significative ($p \leq 0,001$) de la viabilité cellulaire de 14,2% et 52,7% à la concentration de 10 et 50 μ M, respectivement par rapport au groupe témoin négatif (Trivedi *et al.*, 2018). Zhang *et al.* (2011) ont démontré que les propriétés antioxydantes de la quercétine, un flavonol principal dans la composition chimique de *C. monogyna*, étaient utilisées comme complément nutritionnel et pouvaient être bénéfiques contre diverses maladies, dont le cancer.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Bernatoniene *et al.* (2008), l'extrait des fruits de *C. monogyna* contient des niveaux plus élevés de composés phénoliques tels que la quercétine et manifeste des activités d'élimination des radicaux plus importantes que l'extrait aqueux d'autres fruits. En outre, nos résultats sont comparables à ceux de Froehlicher *et al.* (2009) qui ont constaté que l'extrait de fleurs séchées de *C. monogyna* contient une forte teneur en procyanidines (en équivalent cyanidine, 17 g/kg/jour). Les extraits des sommités fleuries et des fleurs ont montré des activités antioxydantes / antiradicalaires plus élevées que celles des fruits frais et séchés dans les tests d'oxydation des LDL-c induits par ABTS et DPPH. Les composés de référence quercétine, procyanidine B2 et épicatechine ont montré des activités plus élevées que celles de l'acide chlorogénique, de l'hyperoside et de la rutine dans ces tests. De plus, Nos résultats sont en accord avec celles de Jin et Liu. (2007) qui ont constaté que la fraction procyanidine (DP 1-3) des fruits de *Crataegus pinnatifida var.* a inhibé le stress oxydatif *in vitro* qui était induit par H₂O₂.

Résultats et discussion

L'effet protecteur observé de l'huile de graines de *C. azarolus* peut être attribué aux flavonoïdes détectés dans cette huile. L'étude chimique de Wang *et al.* (2010) indique que l'hyperoside est l'un des principaux composants chimiques de l'huile de graines de *C. azarolus* et comme il a été décrit pour son activité antioxydante, nous suggérons que l'hyperoside est responsable d'une partie de potentiel antioxydant de l'huile de graines de *C. azarolus*. En fait, il a été constaté que l'hyperoside piège les radicaux hydroxyles générés dans un système acellulaire (Piao *et al.*, 2008). De plus, Zou *et al.* (2004) ont démontré que l'hyperoside est un piège efficace pour éliminer la DPPH et le ($O_2^{\cdot-}$) avec des valeurs IC50 de 10 et 28,30 $\mu\text{g/mL}$, respectivement.

L'hyperoside a également présenté une forte activité réductrice ; il a agit comme un agent donneur d'électrons dans le test de réduction du fer (III) au fer (II). Piao *et al.* (2008) ont démontré que l'hyperoside prévient les dommages oxydatifs induits par le H_2O_2 dans les cellules des fibroblastes pulmonaires via un effet antioxydant.

Nos résultats ont confirmé celles de Mustapha *et al.* (2014) qui ont démontré que 800 $\mu\text{g/ml}$ d'extrait de *C. azarolus* inhibent la génotoxicité induite par H_2O_2 avec un taux de 41,30%, après 4h d'incubation. De plus, cet extrait a révélé une capacité antioxydante cellulaire importante contre les espèces réactives de l'oxygène dans la lignée cellulaire de leucémie myéloïde immortalisée humaine (K562). Aussi, nos résultats sont analogues aux conclusions de Bahri-Sahloul *et al.* (2009) qui ont constaté que l'acide chlorogénique, l'hyperoside, la rutine, le spiraéoside, l'isoquercitrine, la quercétine, l'épicatéchine et la procyanidine B2 sont considérés comme étant les composés ayant de fortes activités d'élimination des radicaux libres dans les extraits floraux de *C. azarolus*.

De plus, notre étude a confirmé les résultats de l'étude de Ljubuncic *et al.* (2006) qui ont montré que l'extrait aqueux d'un mélange de feuilles et de fruits non mûrs de *Crataegus aronia syn.et Crataegus azarolus L.* a inhibé l'oxydation du β -carotène dans l'oxydation couplée du β -carotène et de l'acide linoléique, et a également inhibé l'oxydation des lipides induite par le dichlorhydrate de 2,2'-azobis (2-amidinopropane) (AAPH) dans le plasma humain. L'extrait de *C. azarolus* a piégé les radicaux superoxydes dans le test MTT a augmenté les niveaux intracellulaires de glutathion dans les cellules HepG2 cultivées. Un effet clair dépendant de la dose a été observé dans les effets de l'extrait dans la plupart des dosages.

Résultats et discussion

7.3 Résultats de l'évaluation de l'activité *in vitro* de GSH

La (Figure 47) illustre l'effet de huiles de graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur l'activité *in vitro* du GSH dans les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome HepG2. Les résultats ont montré un accroissement très hautement significative de l'activité *in vitro* du GSH dans les cellules cancéreuses ($p=0.000$). L'accroissement de l'activité *in vitro* de GSH des cellules est une augmentation dépendante de la concentration (plus la concentration s'élève, plus la l'activité augmente). En comparant les deux huiles, l'huile de graines de *C. monogyna* est plus efficace que l'huile de graines de *C. azarolus* avec toutes les concentrations. (Tableau 18).

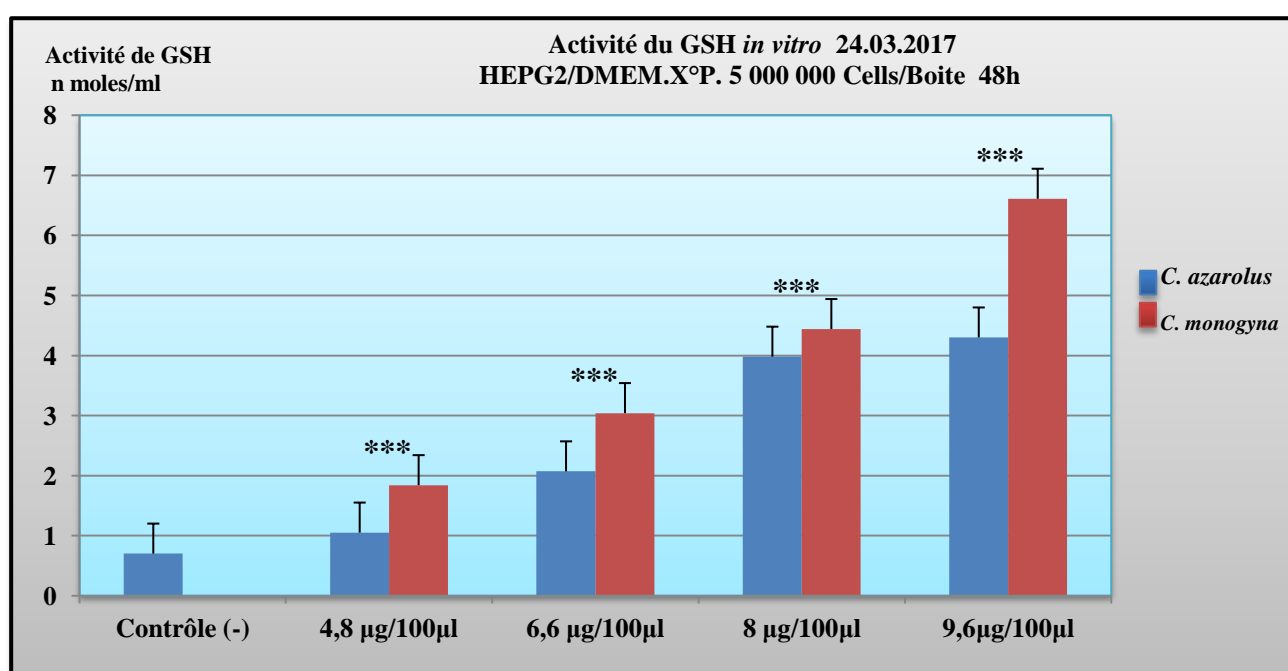


Figure 47. Effet des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur l'activité *in vitro* du GSH dans les cellules HepG2.

Tableau 18. Comparaison entre les effets des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur l'activité *in vitro* de la CAT dans les cellules HepG2.

Concentrations	<i>C. azarolus</i>	<i>C. monogyna</i>
4.8 µg/100 µl	1.05 moles/ml	1.84 moles/ml
6.6 µg/100 µl	2.07 moles/ml	3.04 moles/ml
8 µg/ 100µl	3.98 moles/ml	4.44 moles/ml
9.6 µg/ 100µl	4.3 moles/ml	6.61 moles/ml

7.4 Discussion générale sur les résultats de l'évaluation de l'activité *in vitro* du GSH

Les huiles des graines de *C. azarolus* et de *C. monogyna* ont fait accroître le niveau de GSH intracellulaire dans les cellules HepG2 de façon très hautement significative par rapport au groupe contrôle (-) ($p=0.000$) (**Figure 47**). Les huiles ont provoqué des augmentations dépendantes de la concentration des niveaux de GSH.

Ces résultats suggèrent que les huiles des graines de *C. azarolus* et de *C. monogyna* ont un potentiel important en tant qu'antioxydants naturels pour promouvoir la santé et réduire la survenue ou la progression des maladies liées au stress oxydatif. En conséquence, nous proposons que l'intérêt thérapeutique d'huiles des graines de *C. azarolus* et de *C. monogyna* peut être, au moins en partie, attribué à leur inhibition efficace des processus oxydatifs, à la récupération efficace de ($O_2^{\cdot-}$) et à l'augmentation possible de la biosynthèse du GSH.

Chu *et al.* (2003) ont rapporté que les extraits préparés à partir de *Crataegus pinnatifida* empêchaient l'épuisement du GSH dans les macrophages de culture causé par le nitroprussiate de sodium ($C_5FeN_6Na_2O$). Collectivement, ces résultats ajoutent une dimension intrigante à l'action antioxydante des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* car ils impliquent que les huiles peuvent augmenter la biosynthèse de cet antioxydant intracellulaire vital.

Il est bien documenté que le genre *crataegus* contient des flavonoïdes et des proanthocyaninidines antioxydants, ainsi que des acides triterpéniques, des acides organiques, des stérols et des traces d'amines cardioactives (Ljubuncic *et al.*, 2006).

L'extrait de *Crataegus pinnatifida* contient de catéchine, épicatechine (monomère) et procyanidines (dimères à hexamères) qui ont une forte activité de piégeage des radicaux et inhibaient significativement les LDL-c oxydés (Lu et Foo, 2000). Les huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* peuvent inhiber l'oxydation des LDL-c par un effet de chélation des ions, piégeant les radicaux libres et bloquant la formation de peroxydes lipidiques cellulaires pouvant ainsi améliorer l'oxydation des LDL-c (Lotito *et al.*, 2000). Nos résultats sont en accord avec ceux de Ganie *et al.* (2016) qui ont constaté que l'administration d'extrait de *Crataegus songarica* à la dose de 300 mg/kg Pv a diminué significativement le MDA, avec augmentation *in vitro* du GSH.

Étant donné que le GSH est considéré comme une défense importante contre les dommages oxydatifs lipidiques dans les cellules HepG2 en éliminant le H_2O_2 , les radicaux peroxyde et hydroxyle formés au cours de ce processus, les enzymes dépendantes du GSH seront donc affectées lorsque son niveau sera épuisé dans les cellules (Khan *et al.*, 2009). Les huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* ont un effet antioxydant car ils protègent les

cellules HepG2 contre la toxicité et empêche l'endommagement de l'ADN. Les effets possibles de réduction de la peroxydation lipidique par les deux huiles peuvent également être liés à la capacité à prévenir et à mettre fin aux mécanismes mitochondriaux de la peroxydation lipidique.

Notre étude *in vitro* a montré que *C. monogyna* possède un potentiel antioxydant plus important que celui de *C. azarolus*. Nos résultats confirment ceux de Durdun *et al.* (2010) qui ont constaté que l'administration d'extraits de *C. monogyna* a diminué les niveaux de peroxydation lipidique. L'administration de polyphénols végétaux a amélioré les activités du GSH chez les souris induites par le stress oxydatif. De plus, Elango *et al.* (2009) ont montré que la réduction des lésions cérébrales et l'amélioration du comportement neurologique après 24 h de reperfusion dans le groupe prétraité d'extrait d'aubépine peuvent être attribuées à sa propriété antioxydante qui restaure les niveaux de GSH. Cela suggère que le prétraitement par *C. monogyna* a empêché l'oxydation de GSH et a maintenu un niveau sûr dans les cellules HepG2. Cela peut être dû à la propriété d'élimination des radicaux libres de l'huile de *C. monogyna*.

Akila et Devaraj (2008) ont constaté que l'extrait de *C. azarolus* a considérablement restauré l'activité des enzymes antioxydantes telles que la SOD, la CAT, la GSH-Px et le GSH. De plus, Shatoor et Ahmed (2014) ont montré que l'administration de *C. azarolus* a amélioré les dommages oxydatifs et normalisé les activités de défense enzymatique et non enzymatique et réduit de manière significative la peroxydation lipidique dans les tissus cardiaques. Bouaziz *et al.* (2016) ont montré que l'extrait méthanolique de *C. azarolus* (100 et 200 mg/kg Pv) a provoqué une élévation significative de la capacité antioxydante plasmatique en utilisant une activité de piégeage des radicaux DPPH. En outre, le traitement avec l'extrait méthanolique de *C. azarolus* a augmenté le niveau de protéines dans le foie et amélioré le statut antioxydant dans le foie et les reins en réduisant le niveau de MDA et en augmentant l'activité CAT et le niveau de GSH.

La propriété antioxydante de *C. azarolus* a déjà été étudiée par Ljubuncic *et al.* (2006), ils ont rapporté que cet extrait était capable d'inhiber l'oxydation du bêta-carotène sans aucun effet cytotoxique. De plus l'extrait de *C. azarolus* a augmenté les niveaux intracellulaires du GSH.

Résultats et discussion

7.5 Résultats de l'évaluation de l'activité *in vitro* de la CAT

La (Figure 48) montre l'effet des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur l'activité *in vitro* de la catalase dans les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome HepG2. Les résultats indiquent une augmentation très hautement significative de l'activité *in vitro* de la catalase dans les cellules cancéreuses ($p=0.000$). L'élévation de l'activité *in vitro* de la catalase des cellules se manifeste par une augmentation dépendante de la concentration (plus la concentration augmente, plus l'activité est élevée). En comparant les deux huiles, l'huile de graines de *C. monogyna* est plus efficace que l'huile de graines de *C. azarolus* avec toutes les concentrations (Tableau 19).

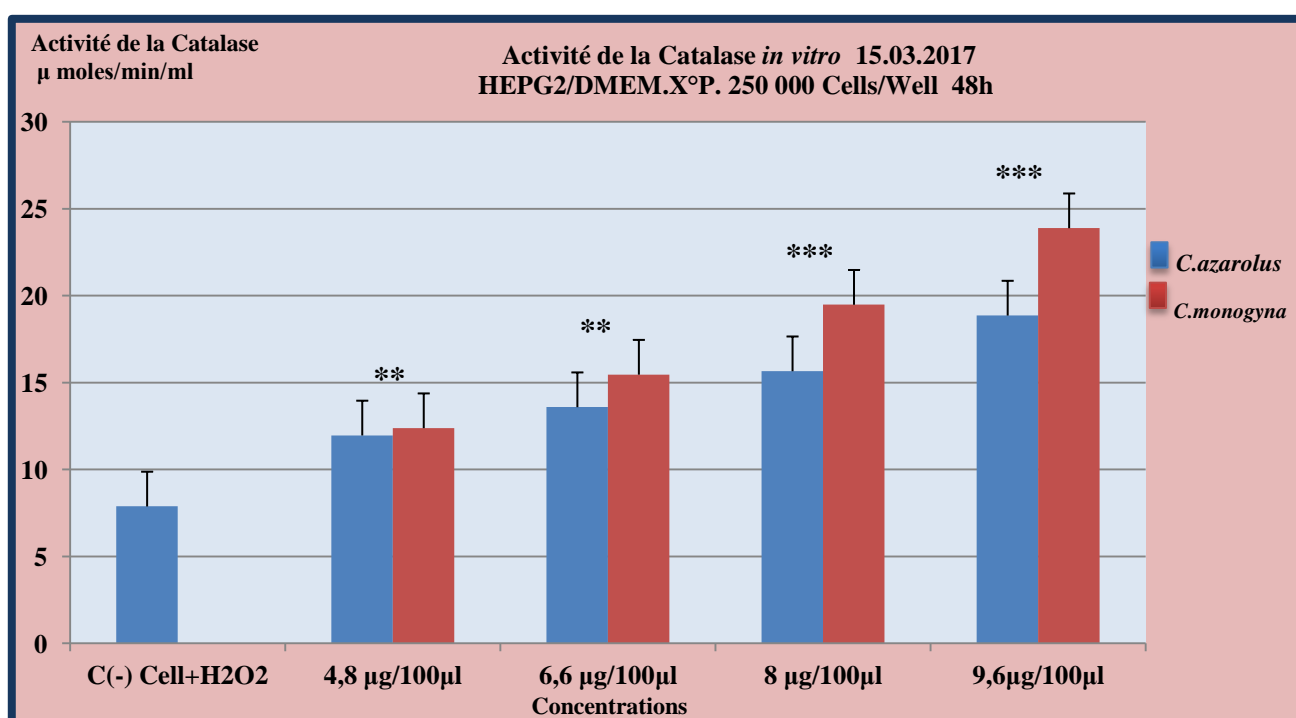


Figure 48. Effet des huiles des graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur l'activité *in vitro* de la catalase dans les cellules HepG2.

Tableau 19. Comparaison entre les effets des huiles de graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* sur l'activité *in vitro* de la CAT dans les cellules HepG2.

Concentrations	<i>C. azarolus</i>	<i>C. monogyna</i>
4.8 μ g/100 μ l	11,967 μ moles/min/ml	12,387 μ moles/min/ml
6.6 μ g/100 μ l	13,594 μ moles/min/ml	15,465 μ moles/min/ml
8 μ g/ 100 μ l	15,661 μ moles/min/ml	19,487 μ moles/min/ml
9.6 μ g/ 100 μ l	18,865 μ moles/min/ml	23,890 μ moles/min/ml

7.6 Discussion générale sur les résultats de l'évaluation de l'activité *in vitro* de la CAT

L'anion superoxyde est transformé en H₂O₂ par l'action de l'enzyme SOD. Ensuite, H₂O₂ est à son tour converti en H₂O et O₂ par l'enzyme CAT. Cette dernière, catalysant la dismutation du H₂O₂ toxique, est un déterminant majeur de la résistance cellulaire à la toxicité du H₂O₂. Il a été prouvé qu'un niveau élevé d'activité CAT protège contre les dommages oxydants (Wang *et al.*, 2011).

Le H₂O₂ est un substrat couramment utilisé pour les réactions enzymatiques de la CAT. La détermination spectrophotométrique de l'activité de la catalase nécessite généralement des niveaux plus élevés de H₂O₂. Une éventuelle inactivation de l'enzyme par des conditions d'incubation peut être exclue, car le test de stabilité en temps réel a indiqué que l'activité de la catalase est restée stable pendant au moins 72 h (Mhamdi *et al.*, 2012).

L'incubation des échantillons en présence de 25 µl de H₂O₂ 200 mM a significativement augmenté l'activité de la catalase dans les cellules HepG2 (p=0.000) (**Figure 48**).

Dans la présente étude, l'augmentation de l'activité de la CAT observée après le traitement avec des huiles de graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* peut être due aux niveaux élevés d'antioxydants exogènes sous forme de polyphénols dans ces huiles. La CAT semble jouer un rôle central dans les processus de signalisation entraînés par H₂O₂, dans lesquels ERO sont clairement impliqués. Les données rapportées sur la modulation potentielle de la catalase par les ERO pourraient être traduites dans d'autres systèmes biologiques, où les catalases jouent un rôle important dans le développement et les réponses au stress (Corpas *et al.*, 2019; Rodríguez-Ruiz *et al.*, 2019).

De nombreuses publications ont confirmé que les extraits du genre *Crataegus* ont des effets antioxydants *in vitro* ou *in vivo*. Ils ont éliminé l'anion superoxyde, le (O₂[•]) et les peroxydes d'hydrogène et inhibé la peroxydation lipidique (Ferrari, 2001). Par ailleurs, Wang *et al.* (2007) ont publié que les flavonoïdes de *Spirodela polyrrhiza* L. protègent de manière significative les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (ECV-304) contre les dommages de H₂O₂ et diminué les quantités de MDA, ce qui était probablement associé à l'augmentation de la SOD, de la CAT et de la GPx. Une autre étude *in vivo* a également montré que l'administration de flavonoïdes de *Mangifera indica* et d'*Embllica officinalis* aux rats nourris avec un régime contenant du cholestérol augmente considérablement l'activité de la CAT (Anila et Vijayalakshmi, 2003). En outre, Šarić *et al.* (2009) ont confirmé que le potentiel antioxydant des flavonoïdes du pollen de *Cystus incanus* L. dans les érythrocytes des souris est due grâce à l'augmentation de l'activité de la CAT.

Résultats et discussion

La présente étude a clairement démontré que l'huile de graines de *C. monogyna* possède de fortes propriétés antioxydantes, ce qui est cohérent avec les rapports de Zhang et al. (2001). Nos résultats confirment ceux de Wang *et al.* (2011) qui ont observés que la supplémentation en extrait de *C. monogyna* a montré une expression génique régulée de SOD, GPx et CAT dans le foie ($p < 0,05$). De plus, Kwok *et al.* (2010) ont constaté que la supplémentation en poudre de *C. monogyna* a augmenté de manière significative les niveaux de la SOD, la CAT et la GPx. Nos résultats sont en accord avec ceux de Shanthi *et al.* (1994), qui ont constaté que la consommation d'aubépine empêche la diminution du niveau des activités enzymatiques antioxydantes dans le foie, l'aorte et le cœur des rats soumis à un régime athérogène. Dumitriu *et al.* (2012) rapportent que l'extrait de *C. monogyna*, riche en flavones et acides polyphénolcarboxyliques, a présenté une capacité antioxydante intracellulaire très efficace.

D'après nos résultats, nous confirmons que l'administration de l'huile de graines de *C. azarolus* a provoqué une augmentation de la capacité antioxydante et une diminution de la peroxydation lipidique dans les cellules HepG2 (**Figure 48**). Cette activité antioxydante *in vitro* pourrait être due à l'action synergique des composés bioactifs présents dans l'huile de graines de *C. azarolus* qui sont probablement des polyphénols. (Wu *et al.*, 2015 et Bouaziz *et al.*, 2016). Les extraits de feuilles d'azarole jaune et d'écorces de fruits ont montré les activités antioxydantes les plus fortes en utilisant les tests DPPH et FRAP (Belkhir *et al.*, 2013).

Sakano *et al.* (2005) ont étudié le mécanisme d'action préventive de la procyanidine B2 contre les dommages oxydatifs à l'ADN dans les cellules cultivées humaines et ont prouvé que ce flavonol exerce des propriétés antioxydantes en interagissant avec H_2O_2 et les ions métalliques (Fe (II)). Kallassy *et al.* (2017) ont constaté que les extraits d'alcool (méthanol et éthanol) de *C. azarolus*, riches en molécules bioactives, provoqué une augmentation de la capacité antioxydante, anti-inflammatoire et antiproliférative dans les Cellules Jurkat (lignée de cellules T leucémiques humaines).

Les flavonoïdes ont révélé une corrélation plus élevée avec l'activité antioxydante. La plupart des plantes ont amélioré la viabilité cellulaire et ont montré des effets protecteurs contre le stress oxydatif induit par le H_2O_2 dans les fibroblastes pulmonaires de hamster chinois (V79-4), ainsi qu'une activité accrue des enzymes antioxydantes telles que la catalase (CAT) de manière dose-dépendante (Yoo *et al.*, 2008).

Résultats et discussion

Des études similaires ont prouvé un effet positif de différentes classes de polyphénols sur les activités enzymatiques antioxydantes (SOD, CAT et GPx) sur des modèles d'animaux et d'humains (Kim *et al.*, 2013; Avila-Nava *et al.*, 2014 et Kardum *et al.*, 2014) .

En résumé, la présente étude, il ressort des résultats que l'administration de l'huile de graines de *C. monogyna* et de *C. azarolus*, riches en flavonoïdes antioxydants, a augmenté l'activité de la CAT dans les cellules HepG2 et a réduit les dommages oxydatifs induits par l'H₂O₂. L'effet protecteur des huiles de graines de *C. monogyna* et de *C. azarolus* est associé en partie à une régulation à l'augmentation de l'expression des enzymes antioxydantes endogènes. Les huiles de graines de *C. azarolus* et *C. monogyna* ont des niveaux élevés d'activité de la CAT et inhibent le stress oxydatif induit par H₂O₂.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Bien que de grands progrès aient été réalisés ces dernières années pour prévenir l'athérosclérose, celle-ci reste toujours la principale cause de mortalité dans les pays industrialisés. Les stratégies actuelles, qui visent avant tout à modifier les paramètres lipidiques plasmatiques, n'apportent pas de solution thérapeutique à l'ensemble des patients. Des études plus fines des mécanismes physiologiques impliqués sont donc à poursuivre pour proposer de nouvelles approches médicamenteuses.

L'objectif principal de cette investigation est de tester les effets d'une dose élevée du cholestérol (400mg/kg Pv/jour) sur quelques paramètres biochimiques chez les souris *Mus musculus* et d'explorer l'effet thérapeutique de l'huile de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* sur les anomalies causées par l'administration de la dose élevée du cholestérol. Après avoir respecté la voie métabolique, une dose élevée de cholestérol a été administrée aux animaux pendant 21 jours, dans le but d'induire une hypercholestérolémie.

Nos résultats montrent que le régime hyperlipidémiant a induit une hyperphagie chez les souris du groupe (cholestérol) avec une augmentation significative du poids par une accumulation des triglycérides dans le tissu adipeux, comparés aux autres groupes expérimentaux. Cette modification est observée chez les souris avec une augmentation des teneurs plasmatiques du cholestérol, des triglycérides, de LDL et des sécrétions hépatiques des transaminases (ASAT et ALAT) et des enzymes (GSH et CAT).

La supplémentation en huile de graines *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* a réduit les taux plasmatiques de (cholestérol, TG, et LDL) confirmant l'effet bénéfique, hypolipidémiant et hypocholestérolémiant de ces plantes.

En outre, grâce à la diminution de l'activité des enzymes hépatiques (GSH et CAT) de façon très significative, nous suggérons que ces plantes possèdent des activités antioxydantes potentielles.

En outre, ce travail de recherche consiste en l'administration de cholestérol à fortes doses initiant un processus inflammatoire déterminé par l'élévation des taux plasmatiques de CRP, et qui est confirmé par l'augmentation du processus inflammatoire observé dans l'étude histologique.

En ce qui concerne le rôle du traitement par les huiles des graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* dans ce modèle, les résultats indiquent leurs effets dans la génération de réponse anti-inflammatoire.

Conclusion et Perspectives

L'étude *in vivo* évoque que *C. monogyna* possède des potentiels antihyperlipidémiant, anti-inflammatoires et antioxydants plus importants que ceux de *C. azarolus* et de *Citrullus lanatus*.

D'après les données obtenues, l'étude *in vitro* confirme que les huiles utilisées à partir de graines de *Crataegus azarolus* et de graines de *Crataegus monogyna* ont un effet antiprolifératif sur deux lignées cellulaires cancéreuses [les cellules de la lignée cellulaire humaine de cancer du sein (MCF7) et les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome (HepG2)]. Cela apparaît en affectant la croissance des cellules tumorales.

Par ailleurs, l'étude *in vitro* de l'activité de Catalase et du GSH dans les cellules de la lignée cellulaire d'hépatocarcinome (HepG2), après le test de piégeage du radical H_2O_2 *in vitro* a montré une activité antioxydante très hautement significative des huiles des graines de *Crataegus azarolus* et de *Crataegus monogyna*.

L'étude *in vitro* révèlent aussi que *C. monogyna* possède des potentiels antiprolifératifs et antioxydants plus marqués que ceux de *C. azarolus*.

L'hypercholestérolémie est souvent considérée comme un facteur de risque indépendant d'athérosclérose. Dans ce modeste travail, nous avons démontré la réalité de cette assertion chez des souris ayant reçu une dose élevée de cholestérol et qui ont présenté d'altérations importantes non seulement au niveau de l'aorte, siège où se manifeste le processus d'athérogenèse, mais aussi au niveau des autres organes étudiés :

- au niveau de l'aorte, les altérations sont présentées par des lyses au niveau de l'endothélium (*intima*) et de la *media*, un changement de l'aspect fusiforme du noyau des cellules musculaires vers un aspect arrondi, une desquamation des cellules épithéliales et une formation des cellules spumeuses ;
- l'histopathologie du cœur présente une lyse dans la structure des fibres musculaires ;
- l'histologie du foie révèle une lyse au sein du tissu hépatique, une formation d'endolyse et la présence de cellules avec un noyau clair des hépatocytes.

Selon l'analyse histologique des souris traitées par des huiles des graines de *C. azarolus*, *C. monogyna* et *C. lanatus*, nous avons constaté que ces huiles ont diminué la stéatose hépatique par une diminution remarquable des vacuoles lipidiques ainsi qu'une amélioration des changements athérosclérotiques aortiques et myocardiques.

Conclusion et Perspectives

À la lumière de ces résultats très intéressants, on voit comme perspectives d'avenir :

- utiliser ce même axe de recherche pour approfondir les données et déterminer la quantité efficace et exacte des huiles des graines de *C. azarolus*, *C. monogyna* et *C. lanatus* en l'associant avec la supplémentation de différents types d'antioxydants d'origines végétales (fruits et légumes), comme moyen de lutte contre les complications associées à l'obésité ;
- développer la culture de cellules endothéliales dans le but d'explorer la relation entre l'hypercholestérolémie et la dysfonction endothéliale du niveau moléculaire ;
- instituer une meilleure compréhension de la relation étroite entre le cholestérol et l'hyperlipidémie par le dosage des autres marqueurs;
- évaluer le pouvoir thérapeutique des plantes *C. azarolus*, *C. monogyna* et *C. lanatus*, afin d'établir l'efficacité de ces molécules bioactives *in vivo* et *in vitro* en développant des essais de culture cellulaire pour comparer les résultats et procéder à la préparation de substances thérapeutiques plus efficaces;
- purifier les molécules bioactives présentes dans les huiles des graines de *C. azarolus*, *C. monogyna* et *C. lanatus*;
- caractériser l'effet de *C. azarolus*, *C. monogyna* et *C. lanatus* sur la régulation de certaines protéines pro-apoptotiques, anti-apoptotiques et d'autres voies de signalisation dans les lignées cellulaires cancéreuses solides, comme le cancer du sein et le cancer du côlon ainsi que d'autres protéines impliquées dans le stress oxydatif.

Références

bibliographiques

Références bibliographiques

- Aarati S. et Aniket K. (2015).** Anti-atherosclerosis activity of seed oil of *Punica Granatum* L in Triton X-100 induced hyperlipidemic rats. *International Journal of Advanced Research*, 10(3): 1276-1280.
- Abdelwahab S.I., Hassan L.E.A., Sirat H.M., Sakina M.Y.A., Koko W.S., et al. (2011).** Anti-inflammatory activities of cucurbitacin E isolated from *Citrullus lanatus*. *Fitoterapia*, 82(8): 1190-1197.
- Aberkane M.C. (2006).** Etude phytochimique de la plante *Publicaria laciniata*. Thèse de doctorat en sciences. Option : Chimie. *Université Elhadj Lakhdar Batna 1*. Algérie: 163.
- Abo-Salem O. M., Abd-Ellah M. F., Ghonaim M. M. (2011).** Hepatoprotective activity of quercetin against acrylonitrile-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 25(6): 386-392.
- Abou Seif M. A. et Youssef A. A. (2004).** Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clinica Chimica Acta*, 346(2): 161-170.
- Abu Gharbieh E. et Shehab N.G. (2017).** Therapeutic potentials of *Crataegus azarolus* leaves and its isolated compounds. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1): 218.
- Adebayo A. H., Yakubu O. F., Balogun T. M. (2014).** Protective properties of *Citrullus lanatus* on carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *European journal of medicinal plants*, 4(8): 979-989.
- Adnan M., Jan S., Mussarat S., Tariq A., Begum S. et al. (2014).** A review on ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of plant genus *Caralluma*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66(10): 1351-1368.
- Aebi H.E. (1983).** Methods of enzymatic analysis. Catalase. *Verlag chemie*, 3: 673-686.
- Ahmadinasab M., Valipour C. C. S., SETORKI M. (2019).** Effects of hydroalcoholic extract of *Crataegus monogyna* Jacq. on histopathology and biomarkers of liver injury in diabetic male rats. *Iranian Journal Of Medicinal And Aromatic Plants*, 35(4); 539-555.
- Akila M. et Devaraj H. (2008).** Synergistic effect of tincture of *Crataegus* and *Mangifera indica* L. extract on hyperlipidemic and antioxidant status in atherogenic rats. *Vascular pharmacology*, 49(4-6): 173-177.
- Alayoud A., El Amrani M., Belarbi M., El Kharras A., Chtioui M., et al. (2020).** Facteurs de risque de progression des calcifications des artères coronaires après 5 ans d'évolution en dialyse. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 69(2): 81-85
- Alhumayed S. (2017).** Protective and therapeutic effects of *Crataegus aronia* in non-alcoholic fatty liver disease. *Archives of physiology and biochemistry*, 123(1): 23-30.

Références bibliographiques

- Allam A., Tirichine A., Cheloufi H., Arif Y., Tama M., *et al.* (2013). Etude de la diversité biologique des espèces maraichères cultivées dans les palmeraies de la vallée d'Oued Righ. *Revue des Bioressources*, 257(1622), 1-18.
- Almança C.C.J., Saldanha S.V., Sousa D.R., Trivilin L.O., Nunes L.C. *et al.* (2011). Toxicological evaluation of acute and sub-chronic ingestion of hydroalcoholic extract of *Solanum cernuum* Vell. in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 138(2): 508-512.
- Amin K. A. et Abd El-Twab T. M. (2009). Oxidative markers, nitric oxide and homocysteine alteration in hypercholesterolemic rats: role of atorvastatin and cinnamon. *International journal of clinical and experimental medicine*, 2(3): 254-265.
- Amrane M., Houcher Z., Begag S., Bakhouche H., Benlatreche C., *et al.* (2012). Influence of retinopathy on plasma concentrations of total homocysteine and other biochemical parameters in Algerian patients with type 2 diabetes mellitus. *Pteridines*, 23(1): 96-103.
- Anila L. et Vijayalakshmi N.R. (2003). Antioxidant action of flavonoids from *Mangifera indica* and *Embllica officinalis* in hypercholesterolemic rats. *Food chemistry*, 83(4): 569-574.
- Anselm E., Socorro V. F. M., Dal-Ros S., Schott C., Bronner C., *et al.* (2009). *Crataegus* special extract WS 1442 causes endothelium-dependent relaxation via a redox-sensitive Src- and Akt-dependent activation of endothelial NO synthase but not via activation of estrogen receptors. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 53(3): 253-260.
- Anusha M., Venkateswarlu M., Prabhakaran V., Shareen TAJ S., Pushpa Kumari B. *et al.* (2011). Hepatoprotective activity of aqueous extract of *Portulaca oleracea* in combination with lycopene in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 43(5): 563-567.
- Aribi B. (2015). Biological activities of some medicinal plants on rheumatoid arthritis induced by hyperhomocysteinemia and formalin and on tumoral process. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle. Option : Immuno-oncologie. *Université des Frères Mentouri Constantine I*. Algérie: 37.
- Armitage J.A., Taylor P.D., Poston L. (2005). Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *The Journal of physiology*, 565(1): 3-8.
- Athiroh N., Permatasari N., Sargowo D., Widodo M.A. (2014). Antioxidative and blood pressure-lowering effects of *Scurrula atropurpurea* on deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Biomarkers and Genomic Medicine*, 6(1): 32-36.
- Avila-Nava A., Calderón-Oliver M., Medina-Campos O.N., Zou T., Gu L., *et al.* (2014). Extract of cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes scavenges reactive oxygen species *in vitro* and enhances plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Functional Foods*, 10(1): 13-24.

Références bibliographiques

- Azevedo M.F., Camsari Ç., Sá C.M., Lima C.F., Fernandes-Ferreira M., *et al.* (2010). Ursolic acid and luteolin 7 glucoside improve lipid profiles and increase liver glycogen content through glycogen synthase kinase 3. *Phytotherapy research*, 24(2): 220-224.
- Babu P.S., Prabuseenivansan S., Ignacimuthus S. (2007). Cinnamaldehyde - A potential antidiabetic agent. *Phytomedicine*, 14(1): 15-22.
- Babu P.V.A. et Sabitha K.E., Shyamaladevi C.S. (2006). Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 162(2), 114-120.
- Bahri-Sahloul R., Ammar S., Fredj R.B., Saguem S., Grec S., *et al.* (2009). Polyphenol contents and antioxidant activities of extracts from flowers of two *Crataegus azarolus L.* varieties. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12(9): 660-668.
- Baliga M.S. et Dsouza J.J. (2011). Amla (*Emblica officinalis*), a wonder berry in the treatment and prevention of cancer. *European Journal of Cancer Prevention*, 20(3): 225-239.
- Barral J. P. et Croibier A. (2009). Organisation générale de l'appareil cardiovasculaire, manipulations vasculaires viscérales. Ed. *Elsevier Masson*, Paris- France: 3-33.
- Barros L., Carvalho A.M., Ferreira I.C. (2011). Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. *Phytochemical Analysis*, 22 (2): 181-188.
- Basdevant A. et Clément K. (2011). Histoire naturelle et origine des obésités. Traité de médecine et chirurgie de l'obésité. Ed. *Médecine Sciences Publications, Lavoisier*, Paris, France: 10-20.
- Baynes J.W. et Thorpe S.R. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48(1): 1-9.
- Bechkri S., Berrehal D., Semra Z., Bachari K., Kabouche A., *et al.* (2017). Composition and biological activities of seeds oils of two *Crataegus* species growing in Algeria. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8(5): 1526-1530.
- Belamri S., Aouba A., Pavillon G., Jouglà E. (2010). Connaissance des causes de décès en Algérie. Etude des décès enregistrés par l'INSP. Méthodes et premiers résultats. *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique*. 58(3): 226 -230.
- Belkhir M., Dhaouadi K., Rosa A., Atzeri A., Nieddu M., *et al.* (2016). Protective effects of azarole polyphenolic extracts against oxidative damage using *in vitro* biomolecular and cellular models. *Industrial Crops and Products*, 86: 239-250.

Références bibliographiques

- Belkhir M., Rebai O., Dhaouadi K., Congiu F., Tuberoso C.I.G., et al. (2013).** Comparative analysis of Tunisian wild *Crataegus azarolus* and *Crataegus monogyna* leaf, fruit, and traditionally derived syrup. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(40): 9594-9601.
- Belouad A. (2005).** Plantes médicinales d'Algérie. Ed. *Offices des publications universitaires*, Alger, Algérie: 284.
- Beltaifa L., Traissac P., El Ati J., Lefèvre P., Romdhane H.B. et al. (2009).** Prévalence de l'obésité et des facteurs socio-économiques associés chez les femmes tunisiennes de différents milieux de vie. *Obesity Reviews*. 10(2):145-53.
- Beltroy E. P., Liu B., Dietschy J. M., Turley S. D. (2007).** Lysosomal unesterified cholesterol content correlates with liver cell death in murine Niemann-Pick type C disease. *Journal of lipid research*, 48(4): 869-881.
- Ben-Horin S., Bardan E., Barshack I., Zaks N., Livneh A. (2003).** Cholesterol crystal embolization to the digestive system: characterization of a common yet overlooked presentation of atheroembolism. *The American Journal of Gastroenterology*. 98(7): 1471-1479.
- Benso A. et Prinetto P. (2003).** Fault injection techniques and tools for embedded systems reliability evaluation. *Springer Science & Business Media*, 23:1-16.
- Bernal C., Martin-Pozuelo G., Lozano A.B., Sevilla A., Garcia-Alonso J. et al. (2013).** Lipid biomarkers and metabolic effects of lycopene from tomato juice on liver of rats with induced hepatic steatosis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(11): 1870-1881.
- Bernatoniene J., Masteikova R., Majiene D., Savickas A., Kevelaitis E., et al. (2008).** Free radical-scavenging activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Medicina*, 44(9): 706-712.
- Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O. (2012).** Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 9-12.
- Bonnet J. (2005).** Athérosclérose. *EMC-Cardiologie-Angéiologie*. 2(4): 436-458.
- Bonser R.S., Pagano D., Lewis M.E., Rooney S.J., Guest P. et al. (2000).** Clinical and patho-anatomical factors affecting expansion of thoracic aortic aneurysms. *Heart*. 84(3): 277-283.
- Bouanane S., Benkalfat N.B., Baba Ahmed F.Z., Merzouk H., Soulimane M.N., et al. (2009).** Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in cafeteria fed obese rats and their offspring. *Clinical Science*, 116 (8): 669-680.
- Bouaziz A. (2015).** Screening of the antioxidant and hypotensive activities of some medicinal plants in relation to their polyphenolic contents. Thèse de doctorat en sciences. Spécialité: Biologie Animale. *Université Ferhat Abbas Sétif 1*. Algérie : 35.

Références bibliographiques

- Bouaziz A., Khennouf S., Abdalla S., Djidel S., Abu Zarga M., et al. (2014).** Phytochemical analysis, antioxidant activity and hypotensive effect of Algerian azarole (*Crataegus azarolus L.*) leaves extracts. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(2): 286-305.
- Bouaziz A., Khennouf S., Djidel S., Baghiani A., Dahamna S., et al. (2016).** Effects of methanolic extract of *Crataegus azarolus L.* on plasma antioxidant capacity and biomarkers of oxidative stress in liver and kidney of rats. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(6), 968-976.
- Boudraa S., Hambaba L., Zidani S., Boudraa, H. (2010).** Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie. *Fruits* 65(2), 75-84.
- Bouzid W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M.C., Ayachi A. (2011).** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12(1): 59-69.
- Bradford M.A. (1976).** Rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72 (1-2): 248-254.
- Brosse J. (2000).** Larousse des arbres et arbustes. Ed. *Larousse – Bordass*, France: 132-133.
- Bruce R.D. (1985).** An Up-and-Down Procedure for Acute Toxicity Testing. *Fundamental and Applied Toxicology*, 5(1): 151-157.
- Castillo S. S., Doger M. M., Bolkent S., Yanardag R. (2008).** Cholesterol efflux and the effect of combined treatment with niacin and chromium on aorta of hyperlipidemic rat. *Molecular and cellular biochemistry*, 308(1-2): 151-159.
- Chang Q., Zuo Z., Chow M.S.S., Walter King H. (2006).** Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn fruits and a hawthorn drink. *Food Chemistry*, 98(3): 426-430.
- Chaturvedi P., Pipedi-Tshekiso M., Tumed, A. (2014).** Supplementation with watermelon renders protection against toxicity induced by paracetamol in albino rats. *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences*, 4(1): 102-111.
- Chen Z.Y., Ma K.Y., Liang Y., Peng C., Zuo Y. (2011).** Role and classification of cholesterol-lowering functional foods. *Journal of functional foods*, 3(2): 61-69.
- Chu C.Y., Lee M.J., Liao C.L., Lin W.L., Yin Y.F., et al. (2003).** Inhibitory effect of hot-water extract from dried fruit of *Crataegus pinnatifida* on LDL oxidation in cell and cell-free systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26): 7583-7588.
- Corpas F.J., Barroso J.B., González-Gordo S., Muñoz-Vargas M.A., Palma J.M. (2019).** Hydrogen sulfide: A novel component in Arabidopsis peroxisomes which triggers catalase inhibition. *Journal of integrative plant biology*, 61(7): 871-883.

Références bibliographiques

- Cullen P., Baetta R., Bellosta S., Bernini F., Chinetti G. et al. (2003).** Rupture of the atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 23(4): 535-542.
- Dalli E., Milara J., Cortijo J., Morcillo E.J., Cosín-Sales J., et al. (2008).** Hawthorn extract inhibits human isolated neutrophil functions. *Pharmacological Research*, 57(6): 445-450.
- Darmaun D., Smith S.D., Sweeten S., Sager B.K., Welch S., et al. (2005).** Evidence for accelerated rates of glutathione utilization and glutathione depletion in adolescents with poorly controlled type 1 diabetes. *Diabetes*, 54(1): 190-196.
- De Mello M.L.S., Bora P.S., Narain N. (2001).** Fatty and amino acids composition of melon (*Cucumis melo*) seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14(1): 69-74.
- Deepa P. R. et Varalakshmi P. (2005).** Atheroprotective effect of exogenous heparin-derivative treatment on the aortic disturbances and lipoprotein oxidation in hypercholesterolemic diet fed rats. *Clinica Chimica Acta*, 355(1-2): 119-130.
- Degenring F.H., Suter A., Weber M., Saller R. (2003).** A randomised double blind placebo controlled clinical trial of a standardised extract of fresh *Crataegus* berries in the treatment of patients with congestive heart failure. *Phytomedicine*, 10(5): 363-369.
- Derouiche S. et Kechrid Z. (2013).** Influence of calcium supplements on zinc status, carbohydrate metabolism and the liver activity of detoxifying glutathione enzymatic system in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 1(6): 425-429.
- Deshmukh C. D. et Jain A. (2015).** Hypoglycemic effect of methanolic extract of *Citrullus lanatus* seeds. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical & Biological Sciences*, 5(4): 807-816.
- Dilmi-Bouras A. et Sadoun D. (2002).** Effet du yaourt à *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii*ssp. *Bulgaricus* sur le cholestérol sanguin chez le lapin. *Médecine et Nutrition*, 38(1): 24-32.
- Dimitrova-Shumkovska J., Veenman L., Ristoski T., Leschiner S., Gavish M. (2010).** Chronic high fat, high cholesterol supplementation decreases 18 kDa Translocator Protein binding capacity in association with increased oxidative stress in rat liver and aorta. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3): 910-921.
- Dumitriu B.G., Olariu L., Ene D.M., Zglimbea L., Rosoiu N. (2012).** The photoprotective activity of *Crataegus monogyna* extract proved by complementary mechanisms of skin inflammation. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 1(3): 177-188.

Références bibliographiques

- Durdun C., Papuc C., Crivineanu M., Nicorescu V., Nicorescu I. (2010).** Effects of various plant polyphenols on lipid peroxidation, reduced glutathione and some endogenous enzymes in stressed mice. *Scientific Works-University of Agronomical Sciences and Veterinary Medicine*, 56(3-4): 105-112.
- Ebuehi O.A.T., Ogedebe R.A., Ebuehi O.M. (2012).** Oral administration of vitamin C and E ameliorate lead induced hepatoxicity and oxidative stress in the rat brain. *Nigerian Quarterly Journal of Hospital Medicine*, 22(2): 85-90.
- Egba S.I., Ogugua V.N., Azubuike-Izah O.F., Nwankwo C.I., Nwokejezi U.M. (2016).** Influence of crude and degummed seed oil of *Citrullus lanatus* on some serum minerals and oxidative stress markers in wistar albino rats. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 24(9): 2708-2714.
- Eggebrecht H., Oldenburg O., Dirsch O., Haude M., Baumgart D. et al. (2000).** Potential embolization by atherosclerotic debris dislodged from aortic wall during cardiac catheterization: histological and clinical findings in 7621 patients. *Catheterization and Cardiovascular Intervention*, 49(4): 389-394.
- El Rabey H. A., Al-Seeni M. N., Amer H. M. (2013).** Efficiency of barley bran and oat bran in ameliorating blood lipid profile and the adverse histological changes in hypercholesterolemic male rats. *BioMed research international*, (2013): 1-10.
- Elango C., Jayachandaran K.S., Devaraj S.N. (2009).** Hawthorn extract reduces infarct volume and improves neurological score by reducing oxidative stress in rat brain following middle cerebral artery occlusion. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 27(8): 799-803.
- El-Mahdy M.A., Zhu Q., Wang Q.E., Wani G., Patnaik S., et al. (2008).** Naringenin protects HaCaT human keratinocytes against UVB-induced apoptosis and enhances the removal of cyclobutane pyrimidine dimers from the genome. *Photochemistry and photobiology*, 84(2): 307-316.
- Emmerich J. et Bruneval P. (2000).** L'athérosclérose. Ed. *John Libbey Eurotext*, Paris, France: 18.
- Ehirhie E.O. et Ekene N.E. (2014).** Medicinal values on *Citrullus lanatus*: pharmacological review. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 4(4): 1305-1312.
- Erl-Shyh K., Chau-Jong W., Wea-Lung L., Yu-Fang Y., Chi-Pin W. et al. (2005).** Anti-inflammatory potential of flavonoid contents from dried fruit of *Crataegus pinnatifida* *in vitro* and *in vivo*. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 53(2): 430-436

Références bibliographiques

- Escandell J.M., Recio M.C., Manez S., Giner R.M., Cerda-Nicolas M., et al. (2007).** Cucurbitacin R reduces the inflammation and bone damage associated with adjuvant arthritis in Lewis rats by suppression of tumor necrosis factor- α in T lymphocytes and macrophages. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 320(2): 581-590.
- Espiard E. (2002).** Introduction à la transformation industrielle des fruits. *Ed. Technique et documentation*, Paris, France: 259-265.
- Fan C., Yan J., Qian Y., Wo X., Gao L. (2006).** Regulation of lipoprotein lipase expression by effect of hawthorn flavonoids on peroxisome proliferator response element pathway. *Journal of pharmacological sciences*, 100(1): 51-58.
- Farhat R. (2007).** Etude de la fraction lipidique et la composition en acides gras des huiles des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L. Thèse de magister. Option : agronomie. *Université el Hadj Lakhdar Batna1*, Algérie: 109
- Fehri B., Aiache J.M., Boukef K., Memmi A., Hizaoui B. (1995).** *Valeriana officinalis* et *Crataegus oxyacantha*: Toxicité par administrations réitérées et investigations pharmacologiques. *Journal de pharmacie de Belgique*, 46(3): 165-176.
- Ferhat R., Laroui S., Abdeddaim M. (2014).** Huile et profil en acides gras des amandes du *Crataegus azarolus* L. *Lebanese Science Journal*, 15(2): 73-79.
- Fernandez M. (2003).** Quelques plantes dites médicinales et de leur fonction. *Ed Aenigma*. Paris, France: 63.
- Ferrari C.K.B. (2001).** Oxidative stress pathophysiology: Searching for an effective antioxidant protection. *International Medical Journal*, 8(3): 175-184.
- Ferretti G., Bacchetti T., Masciangelo S., Bertoli E. (2009).** High-density lipoproteins: the guardian angel of the cell membrane. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 2(2): 93-96.
- Figuroa A., Sanchez-Gonzalez M.A., Wong A., Arjmandi B. H. (2012).** Watermelon extract supplementation reduces ankle blood pressure and carotid augmentation index in obese. *American journal of hypertension*, 25(6): 640–643.
- Florence L. (2010).** La maladie coronaire de la femme est-elle particulière?. *La Presse Médicale*, 39(2): 242-248.
- Fong H. S. et Bauman J. L., (2002).** Hawthorn. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 16(4):1-8.
- Fortier A., Gullapalli V., Mirshams R. A. (2014).** Review of biomechanical studies of arteries and their effect on stent performance. *International Journal Of Cardiology Heart And Vessels*, 4(1): 12-18.

Références bibliographiques

- Foyer C.H. et Noctor G. (2005).** Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell & Environment*, 28(8): 1056-1071.
- Frankel E. (1995).** Nutritional Benefits of Flavonoids. *Chemistry and Cancer Prevention*, 2-6.
- Fraser P.D. et Bramley P.M. (2004).** The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in lipid research*, 43(3): 228-265.
- Froehlicher T., Hennebelle T., Martin-Nizard F., Cleenewerck P., Hilbert J.L., et al. (2009).** Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chemistry*, 115(3): 897-903.
- Fu W.J., Haynes T.E., Kohli R., Hu J., Shi W., et al. (2005).** Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. *The Journal of nutrition*, 135(4): 714-721.
- Fuster V., Moreno P. R., Fayad Z. A. Corti R. Badimon J. J. (2005).** Atherothrombosis and high-risk plaque. *Journal of the American College of Cardiology*, 46(6): 937-954.
- Ganie S.A., Ali Dar T., Zargar S., Bhat A.H., Dar K.B., et al. (2016).** *Crataegus songarica* methanolic extract accelerates enzymatic status in kidney and heart tissue damage in albino rats and its *in vitro* cytotoxic activity. *Pharmaceutical biology*, 54(7): 1246-1254.
- Gautier T., Masson D., Lagrost L. (2011).** Métabolisme des lipoprotéines de haute densité (HDL). *Archives of Cardiovascular Diseases Supplements*, 3(4): 267-272.
- Ghazi Z., Ramdani M., Tahri M., Rmili R., Elmsellem H., et al. (2015).** Chemical composition and antioxidant activity of seeds oils and fruit juice of *Opuntia Ficus Indica* and *Opuntia Dillenii* from Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(8): 2338-2345.
- Gill N.S., Bansal R.K., Manju G., Shailja S., Arunachalam M., et al. (2010).** Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and analgesic potential of *Citrullus lanatus* seed extract in rodent model. *Internet Journal of Nutrition and Wellness*, 9(2): 1-7.
- Girre L. (2000).** Les plantes médicinales. Ouest-France.Ed. Rennes, Paris, France: 30.
- Glass C.K. et Witztum J.L. (2001).** Atherosclerosis. The road ahead. *Journal of Cell Biology*, 104(4): 503-16.
- Golechha M., Bhatia J., Ojha S., Arya D. S. (2011).** Hydroalcoholic extract of *Embllica officinalis* protects against kainic acid-induced status epilepticus in rats: evidence for an antioxidant, anti-inflammatory, and neuroprotective intervention. *Pharmaceutical biology*, 49(11): 1128-1136.

Références bibliographiques

- Gomes C.A., Girão da Cruz T., Andrade J.L., Milhazes N., Borges F., et al. (2003).** Anticancer activity of phenolic acids of natural or synthetic origin: a structure - activity study. *Journal of medicinal chemistry*, 46(25): 5395-5401.
- Gomina M., Ngobi G.Y., Akpona S.A. (2013).** Profil des lipides sériques des sujets adultes béninois consommateurs habituels de tabac. *European Scientific Journal*, 9(30) : 125-140.
- Goudable J. et Favier A. (2012).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2): 115-120.
- Grajzer M., Prescha A., Korzonek K., Wojakowska A., Dziadas M., et al. (2015).** Characteristics of rose hip (*Rosa canina L.*) cold-pressed oil and its oxidative stability studied by the differential scanning calorimetry method. *Food chemistry*, 188: 459-466.
- Guo C., Yang J., Wei J., Li Y., Xu J., et al. (2003).** Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition research*, 23(12): 1719-1726.
- Habibur R., Puramsetti P., Thumma L., Nukabathini S., Payili R. K. (2013).** A review on ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Citrullus lanatus L.* *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 3(2): 77-81.
- Hacène L. B., Khelil M. A., Sari D. C., Meguenni K., Tani A. M. (2017).** Prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire au sein des communautés urbaine et rurale dans la Wilaya de Tlemcen (Algérie). *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 65(4) : 277-284.
- Hansson G. K. (2005).** Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine*, 352(16): 1685-1695.
- Haque R., Bin-Hafeez B., Ahmad I., Parvez S., Pandey S., et al. (2001).** Protective effects of *Emblica officinalis* in cyclophosphamide-treated mice. *Human & experimental toxicology*, 20(12): 643-650.
- Hatano T., Kusuda M., Inada K., Ogawa T. O., Shiota S., et al. (2005).** Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 66(17): 2047-2055.
- Hayashi H., Matsuoka Y., Sakamoto I., Sueyoshi E., Okimoto T. et al. (2000).** Penetrating atherosclerotic ulcer of the aorta: imaging features and disease concept. *Radiographics*. 20(4): 995-1005.
- Hazra B., Biswas S., Mandal N. (2008).** Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BMC complementary and Alternative Medicine*, 8(1): 1-10.
- Heinecke J. W. (1998).** Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis. *Atherosclerosis*, 141(1): 1-15.

Références bibliographiques

- Holubarsch C. J. E., Colucci W. S., Meinertz T., Gans W., Tendera M. (2000).** Survival and prognosis: investigation of *Crataegus* extract in congestive heart failure (SPICE) rationale, study design and study protocol. *European journal of heart failure*, 2(4): 431-437.
- Huang C.L. et Sumpio B.E. (2008).** Olive oil, the mediterranean diet, and cardiovascular health. *Journal of the American College of Surgeons*, 207(3): 407-416.
- Huo H. Z., Wang B., Liang Y. K., Bao Y. Y., Gu Y. (2011).** Hepatoprotective and antioxidant effects of licorice extract against CCl₄-induced oxidative damage in rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10): 6529-6543.
- Ikpeme E.V., Udensi O.U., Ekerette E.E., Okon U.H. (2016).** Potential of Ginger (*Zingiber officinale*) rhizome and watermelon (*Citrullus lanatus*) seeds in mitigating Aspartame-induced oxidative stress in rat model. *Research Journal of Medicinal Plant*, 10(1): 55-66.
- Itoh M., Hiwatashi K., Abe Y., Kimura F., Toshima G., et al. (2009).** Lupeol reduces triglyceride and cholesterol synthesis in human hepatoma cells. *Phytochemistry Letters*, 2(4): 176-178.
- Jadon A., Bhaduria M., Shukla S. (2007).** Protective effect of *Terminalia bellerica* Roxb. and gallic acid against carbon tetrachloride induced damage in albino rats. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2): 214-218.
- Jain N. K. et Singhai A. K. (2012).** Hepatoprotective activity of *Chenopodium album* Linn: *in vitro* and *in vivo* studies. *Journal of experimental and integrative medicine*, 2(4): 331-336.
- Jana S., Mandlekar S., Marathe P. (2010).** Prodrug design to improve pharmacokinetic and drug delivery properties: challenges to the discovery scientists. *Current medicinal chemistry*, 17(32): 3874-908.
- Jemaa H., Ben-Aouni Y., Chihi S., Khlifi S., Hmed H. B., et al. (2016).** Effets antihypercholestérolémiantes et antioxydant de l'extrait de *Crataegus azarolus* chez des rats ayant reçu un régime gras. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 30(3): 283.
- Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., et al. (2009).** Cancer statistics. *Cancer Journal for Clinicians*, 59(4): 225-249.
- Jeong W. I., Jeong D. H., Kim Y. K., Park H. Y., Kwon O. D., et al. (2005).** Mild hepatic fibrosis in cholesterol and sodium cholate diet-fed rats. *Journal of veterinary medical science*, 67(3): 235-242.
- Jin N. et Liu T. (2007).** Antioxidant activity of procyanidins from hawthorn fruit. *Food and Fermentation Industries*, 33(1): 45-47.

Références bibliographiques

- John T. W. et Hongyan N. (2014).** Coronary heart disease risks associated with high levels of HDL cholesterol. *Journal of the American Heart Association*, 3(2): 487-499.
- Joshi B. C., Prakash A., Kalia A. N. (2015).** Hepatoprotective potential of antioxidant potent fraction from *Urtica dioica* Linn. in CCl₄ challenged rats. *Toxicology reports*, 2: 1101-1110.
- Kallassy H., Fayyad-Kazan M., Makki R., El-Makhour Y., Hamade E., et al. (2017).** Chemical composition, anti-oxidant, anti-inflammatory, and antiproliferative activities of the plant Lebanese *Crataegus azarolus* L. *Medical Science Monitor Basic Research*, 23: 270-284.
- Kalpakioglu B. et Şenel K. (2008).** The inter relation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clinical rheumatology*, 27(2): 141-145.
- Kang W. Y., Li C. F., Liu Y. X. (2010).** Antioxidant phenolic compounds and flavonoids of *Mitragyna rotundifolia* Kuntze in vitro. *Medicinal chemistry research*, 19(9): 1222-1232.
- Kao E. S., Wang C. J., Lin W. L., Chu C. Y., Tseng T. H. (2007).** Effects of polyphenols derived from fruit of *Crataegus pinnatifida* on cell transformation, dermal edema and skin tumor formation by phorbol ester application. *Food and Chemical Toxicology*, 45(10), 1795-1804.
- Kapoor P., Ansari M. N., Bhandari U. (2008).** Modulatory effect of curcumin on methionine-induced hyperlipidemia and hyperhomocysteinemia in albino rats. *Indian journal of experimental biology*, 46(7):534-540
- Kardum N., Takić M., Šavikin K., Zec M., Zdunić G., et al. (2014).** Effects of polyphenol-rich chokeberry juice on cellular antioxidant enzymes and membrane lipid status in healthy women. *Journal of Functional Foods*, 9(1): 89-97.
- Kashyap C. P., Arya V., Thakur N. (2012).** Ethnomedicinal and phytopharmacological potential of *Crataegus oxyacantha* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2): 1194-1199.
- Kaur P., Kaur S., Kumar N., Singh B., Kumar S. (2009).** Evaluation of antigenotoxic activity of isoliquiritin apioside from *Glycyrrhiza glabra* L. *Toxicology in Vitro*, 23(4): 680-686.
- Kehili H. E. (2016).** Biological activities of *Phoenix dactylifera* and Treg in Rheumatoid arthritis induced by hyperhomocysteinemia and formalin and on tumoral process. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle. Option : Immuno-oncologie. *Université des Frères Mentouri Constantine1*, Algérie: 84.
- Khan I., Yousif A. M., Johnson S. K., Gamlath S. (2015).** Acute effect of sorghum flour-containing pasta on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and oxidative stress markers in healthy subjects: A randomised controlled trial. *Clinical Nutrition*, 34(3): 415-421.

Références bibliographiques

- Khan M. R., Rizvi W., Khan G. N., Khan R. A., Shaheen S. (2009).** Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats: Protective role of *Digera muricata*. *Journal of ethnopharmacology*, 122(1): 91-99.
- Kim B., Ku C. S., Pham T. X., Park Y., Martin D. A., et al. (2013).** Aronia melanocarpa polyphenol-rich extract improves antioxidant function and reduces total plasma cholesterol in apolipoprotein E knockout mice. *Nutrition Research*, 33(5): 406-413.
- Kolaowde T. T., Ojeka S. O., Doppert D. V. (2016).** Anti-diabetic effect of the methanolic extract of the rind of *Citrullus lanatus* in alloxan induced diabetes in male Albino Wistar rats. *Journal of Medicine and Medical Sciences*, 7(2): 23-29.
- Kopelman P. G. (2000).** Obesity as a medical problem. *Nature*, 404 (6778): 635-643.
- Korou L. M., Agrogiannis G., Pantopoulou A., Vlachos I. S., Iliopoulos D., et al. (2010).** Comparative antilipidemic effect of N-acetylcysteine and sesame oil administration in diet-induced hypercholesterolemic mice. *Lipids in Health and Disease*, 9(1): 23-30.
- Koyuncu T., Pinar Y., Lule F. (2007).** Convective drying characteristics of azarole red (*Crataegus monogyna* Jacq.) and yellow (*Crataegus aronia*) fruits. *Journal of food Engineering*, 78(4): 1471-1475.
- Kumar A. et Chattopadhyay S. (2007).** DNA damage protecting activity and antioxidant potential of pudina extract. *Food Chemistry*, 100(4): 1377-1384.
- Kumar D., Arya V., Bhat Z. A., Khan N. A., Prasad D. N. (2012).** The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(5): 1187-1200.
- Kwok C. Y., Wong C. N. Y., Yau M. Y. C., Yu P. H. F., Au A. L. S., et al. (2010).** Consumption of dried fruit of *Crataegus pinnatifida* (hawthorn) suppresses high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Journal of functional foods*, 2(3): 179-186.
- Lahiji A. et Navab M. (2003).** The protective capacity of normal high density lipoprotein against lipid oxidation. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 1: 3-5.
- Lakache Z. (2016).** Investigation d'activités biologiques de différents extraits de deux plantes médicinales Algériennes: *Olea europaea* et *Crataegus azarolus*. Thèse de doctorat. Option: Biochimie. L'école Normale Supérieure De Kouba, Algérie: 55.
- Laporte F. (2000).** Oxidized LDL membrane receptors: their role in atherogenesis. *Néphrologie*, 21(7): 327-328.
- Latifa B.H., et Kaouel M. (2007).** Facteurs de risque cardio-vasculaire dans la communauté urbaine de Tlemcen (Algérie). *Cahiers d'études et de recherches francophones*, 17(3): 153-158.

Références bibliographiques

- Lavie L. (2015).** Oxidative stress in obstructive sleep apnea and intermittent hypoxia—revisited—the bad ugly and good: implications to the heart and brain. *Sleep medicine reviews*, 20: 27-45.
- Le Roy T., Llopis M., Lepage P., Bruneau A., Rabot S., et al. (2013).** Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Gut*, 62(12): 1787-1794.
- Li C. et Wang M. H. (2011).** Anti-inflammatory effect of the water fraction from hawthorn fruit on LPS-stimulated RAW 264.7 cells, *Nutrition research and practice*, 5(2): 101-106.
- Li J. et Jiang Y. (2007).** Litchi flavonoids: isolation, identification and biological activity. *Molecules*, 12(4): 745-758.
- Liang R., Cheng S., Dong Y., Ju H. (2019).** Intracellular antioxidant activity and apoptosis inhibition capacity of PEF-treated KDHC in HepG2 cells. *Food research international*, 121: 336-347.
- Liang Y. F. et Ye H. (2004).** Clinical effect of *Shanzha Jing Jiangzhi* Pill in the treatment of hyperlipidemia. *Strait Pharmaceutical Journal*, 16(2): 93-94.
- Libby P., Ridker P. M., Maseri A. (2002).** Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation*, 105(9): 1135-1143.
- Lin Y., Vermeer M. A., Trautwein E. A. (2011).** Triterpenic acids present in hawthorn lower plasma cholesterol by inhibiting intestinal ACAT activity in hamsters. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011: 1-9.
- Liu P., Yang B., Kallio H. (2010).** Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) fruit by high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*, 121(4): 1188-1197.
- Ljubuncic P., Azaizeh H., Cogan U., Bomzon A. (2006).** The effects of a decoction prepared from the leaves and unripe fruits of *Crataegus aronia* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 3(1): no pages.
- Lotito S.B., Actis-Goretta L., Renart M.L., Caligiuri M., Rein D., et al. (2000).** Influence of oligomer chain length on the antioxidant activity of procyanidins. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276(3): 945-951.
- Lu Y. et Foo L. Y. (2000).** Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food chemistry*, 68(1): 81-85.
- Luo Y., Chen G., Ji B., Guo Y., Tian F. (2009).** Evaluation of antioxidative and hypolipidemic properties of a novel functional diet formulation of *Auricularia auricularia* and Hawthorn. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(2): 215-221.
- Madhavi P., Kamala V., Habibur R. (2012).** Hepatoprotective activity of *Citrullus lanatus* seed oil on CCl₄ induced liver damage in rats. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, 1 (1): 30-33.

Références bibliographiques

- Maisuthisakul P., Suttajit M., Pongsawatmanit R. (2007).** Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai plants. *Food chemistry*, 100(4): 1409-1418.
- Maleki N., Garjani A., Nazemiyeh H., Nilfouroushan N. Eftekhar Sadat A. T. et al. (2001).** Potent antiinflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 75(2): 213-218.
- Mallic M. F. R. et Masui M. (1986).** Origin, distribution and taxonomy of melons. *Scientia Horticulturae*, 28(3): 251-261.
- Marfak A. (2003).** Radiolyse Gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. Spécialité: Biophysique. Limoges, France: 87
- Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51(6): 304-315.
- Martinet W., Knaapen M. W., De Meyer G. R., Herman A. G., Kockx M. M. (2001).** Oxidative DNA damage and repair in experimental atherosclerosis are reversed by dietary lipid lowering. *Circulation research*, 88(7): 733-739.
- Meera K. S. et Marcus S.M. (2012).** Endothelial dysfunction and oxidative stress in hypertension. *Asian Journal of Medical Research*, 1(3): 84-89.
- Messaili B. (1995).** Botanique, systématique des spermaphytes. *Office des publications universitaires*, Alger, Algérie: 91.
- Meziani F., Tesse A., Asfar P., Schneider F., Andriantsitohaina R., et al. (2007).** De la toxémie gravidique à l'éclampsie: physiopathologie. *Réanimation*, 16(5): 380-385.
- Mhamdi A., Noctor G., Baker A. (2012).** Plant catalases: peroxisomal redox guardians. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 525(2): 181-194.
- Moon S. K., Cho G. O., Jung S. Y., Gal S. W., Kwon T. K., et al. (2003).** Quercetin exerts multiple inhibitory effects on vascular smooth muscle cells: role of ERK1/2, cell-cycle regulation, and matrix metalloproteinase-9. *Biochemical and biophysical research communications*, 301(4): 1069-1078.
- More D. et White J. (2005).** Encyclopédie des arbres, plus de 1800 espèces et variétés du monde. *Ed. Flammarion*, Paris, France: 457.
- Mraihi F., Fadhil H., Trabelsi-Ayadi M., Chérif J. K. (2015).** Chemical characterization by HPLC-DAD-ESI/MS of flavonoids from hawthorn fruits and their inhibition of human tumor growth. *Journal of New Sciences*, 3: 840-846.

Références bibliographiques

- Muanda F. N. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. *Thèse de doctorat en Chimie organique. Ecole doctorale SESAMES Université Paul Verlaine-Metz, France*: 294.
- Mustapha N., Bouhleb I., Chaabane F., Bzéouich I. M., Ghedira K., et al. (2014).** Aqueous extract of *Crataegus azarolus* protects against DNA damage in human lymphoblast Cell K562 and enhances antioxidant activity. *Applied biochemistry and biotechnology*, 172(4): 2266-2275.
- Mustapha N., Bzéouich I. M., Ghedira K., Hennebelle T., Chekir-Ghedira L. (2015).** Compounds isolated from the aerial part of *Crataegus azarolus* inhibit growth of B16F10 melanoma cells and exert a potent inhibition of the melanin synthesis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 69: 139-144.
- Mustapha N., Mokdad-Bzeouich I., Maatouk M., Ghedira K., Hennebelle T., et al. (2016a).** Antitumoral, antioxidant, and antimelanogenesis potencies of hawthorn, a potential natural agent in the treatment of melanoma. *Melanoma Research*, 26(3): 211-222.
- Mustapha N., Mokdad-Bzeouich I., Sassi A., Abed B., Ghedira K., et al. (2016b).** Immunomodulatory potencies of isolated compounds from *Crataegus azarolus* through their antioxidant activities. *Tumor Biology*, 37(6): 7967-7980.
- Mustapha N., Pinon A., Limami Y., Simon A., Ghedira K., et al. (2016c).** *Crataegus azarolus* leaves induce antiproliferative activity, cell cycle arrest, and apoptosis in human HT-29 and HCT-116 colorectal cancer cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 117(5): 1262-1272.
- Nabil T., Mahdi K., Abdelwahab M., Muhammad L., Eman A. (2013).** Effect of lead toxicity on mineral metabolism and immunological factors in rats. *Alexandria Journal of Veterinary Science*, 39(1): 64-73.
- Nampoothiri S. V., Prathapan A., Cherian O. L., Raghu K. G., Venugopalan V. V., et al. (2011).** *In vitro* antioxidant and inhibitory potential of *Terminalia bellerica* and *Emblica officinalis* fruits against LDL oxidation and key enzymes linked to type 2 diabetes. *Food and Chemical Toxicology*, 49(1): 125-131.
- Nasar M. A., Jarrari A., Naseer M. A., Subhani T. F., Shetty B. V., et al. (2009).** Antioxidant status of atorvastatin in hypercholesterolemic patients. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74(10): 1063-1073.
- Nasir A., Abubakar M. G., Shehu R. A., Aliyu U., Toge B. K. (2013).** Hepatoprotective effect of the aqueous leaf extract of *Andrographis paniculata* Nees against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Nigerian Journal of Basic and applied sciences*, 21(1): 45-54.

Références bibliographiques

- Nath P. et Yadav A. K. (2015).** Acute and sub-acute oral toxicity assessment of the methanolic extract from leaves of *Hibiscus rosa-sinensis* in mice. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 4(1): 70-73.
- Njuguna D. E., Wanyoko J. K., Kinyanjui T., Wachira F. N. (2014).** Fatty acid residues composition in the de-oiled tea seed oil cakes. *Science Journal of Biotechnology*, 263(1): 1-3.
- Nkosi C. Z., Opoku A. R., Terblanche S. E. (2006).** Antioxidative effects of pumpkin seed (*Cucurbita pepo*) protein isolate in CCl₄-Induced liver injury in low-protein fed rats. *Phytotherapy Research*, 20(11): 935-940.
- Oak M. H., Bedoui J. E., Madeira S. F., Chalupsky K., Schini-Kerth V. B. (2006).** Delphinidin and cyanidin inhibit PDGF α B-induced VEGF release in vascular smooth muscle cells by preventing activation of p38 MAPK and JNK. *British journal of pharmacology*, 149(3): 283-290.
- Obeid R. et Wolfgang H. (2009).** Homocysteine and lipids: S-Adenosylmethionine as a key intermediate. *Fédération des sociétés biochimiques européennes*, 583(8) : 1215-1225.
- Ogeturka M., Kus I., Colakoglu N., Zararsiz I., Ilhan N., et al. (2005).** Caffeic acid phenethyl ester protects kidneys against carbon tetrachloride toxicity in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 97(2): 273-280.
- Oliveras-López M. J., Berná G., Jurado-Ruiz E., De La Serrana H. L. G., Martín F. (2014).** Consumption of extra-virgin olive oil rich in phenolic compounds has beneficial antioxidant effects in healthy human adults. *Journal of Functional Foods*, 10: 475-484.
- Oluba O., Adeyemi O., Ojeh G., Isiosio I. (2008).** Fatty acid composition of *Citrullus lanatus* and its effect on serum lipids and some serum enzymes. *The Internet Journal of Cardiovascular Researchs*, 5(2): 10-17.
- Organisation mondiale de la Santé. (2018).** Global Health Estimates 2016: Disease burden by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. Geneva. Switzerland.
- Oseni O. A. et Okoye V. I. (2013).** Studies of Phytochemical and Antioxidant properties of the fruit of watermelon. *Journal of Pharmaceutical and Biochemical Sciences*, 27: 508-514.
- Oseni O. A., Odesanmi O. E., Oladele F. C. (2015).** Antioxidative and antidiabetic activities of watermelon (*Citrullus lanatus*) juice on oxidative stress in alloxan-induced diabetic male Wistar albino rats. *Nigerian medical journal*, 56(4): 272.
- Ouvrier A., Alves G., Damon-Soubeyrand C., Marceau G., Cadet R., et al. (2011).** Dietary cholesterol-induced post-testicular infertility. *PLoS one*, 6(11): 26966-26979.

Références bibliographiques

- Oyenihi O. R., Afolabi B. A., Oyenihi A. B., Ogunmokun O. J., Oguntibeju O. O. (2016). Hepato-and neuro-protective effects of watermelon juice on acute ethanol-induced oxidative stress in rats. *Toxicology reports*, 3: 288-294.
- Özcan M., Haciseferoğulları H., Marakoğlu T., Arslan, D. (2005). Hawthorn (*Crataegus* spp.) fruit: some physical and chemical properties. *Journal of Food Engineering*, 69(4): 409-413.
- Patel S., Gheewala N., Suthar A., Shah A. (2009). *In-vitro* cytotoxicity activity of *solanum nigrum* extract against *Hela* cell line and *Vero* cell line. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1(1): 38-46.
- Patro G., Bhattamisra S. K., Mohanty B. K., Sahoo H. B. (2016). *In vitro* and *in vivo* antioxidant evaluation and estimation of total phenolic, flavonoidal content of *Mimosa pudica* L. *Pharmacognosy research*, 8(1): 22.
- Perkins-Veazie P. et Collins J.K. (2004). Flesh quality and lycopene stability of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*, 31(2): 159-166.
- Philippe C., Philippe G., Dominique B. R., Alain C. (2010). Les dyslipidémies héréditaires. *Revue Francophone des Laboratoires*, 425: 73-85.
- Piao M. J., Kang K. A., Zhang R., Ko D. O., Wang Z. H., et al. (2008). Hyperoside prevents oxidative damage induced by hydrogen peroxide in lung fibroblast cells via an antioxidant effect. *Biochimica & Biophysica Acta-General Subjects*, 1780(12): 1448-1457.
- Pinon A., Limami Y., Micallef L., Cook-Moreau J., Liagre B., et al. (2011). A novel form of melanoma apoptosis resistance: melanogenesis up-regulation in apoptotic B16-F0 cells delays ursolic acid-triggered cell death. *Experimental cell research*, 317(12): 1669-1676.
- Pinto C., Cestero J. J., Rodríguez-Galdón B., Macías P. (2014). Xanthohumol, a prenylated flavonoid from hops (*Humulus lupulus* L.), protects rat tissues against oxidative damage after acute ethanol administration. *Toxicology reports*, 1: 726-733.
- Poduri A., Rateri D.L., Saha S.K., Saha S., Daugherty A. (2012). *Citrullus lanatus* extract reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(5): 882-886.
- Prabhu S., Mallika J., Sabitha K. E., Shyamala Devi C. S. (2006). Effect of mangiferin on mitochondrial energy production in experimentally induced myocardial infarcted rats. *Vascular Pharmacology*, 44(6): 519-525.
- Pramyothin P., Samosorn P., Pongshompoo S., Chaichantipyuth C. (2006). The protective effects of *Phyllanthus emblica* Linn. extract on ethanol induced rat hepatic injury. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(3): 361-364.

Références bibliographiques

- Rabiu S., Bello A., Dandare A., Eneji S. M. (2019).** Ameliorative effect of aqueous seed extract of *Citrullus Lanatus* on liver function parameters and markers of oxidative stress in lead treated rats. *Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences*, 27(1): 76-80.
- Rader D.J. et Daugherty A. (2008).** Translating molecular discoveries into new therapies for atherosclerosis. *Nature*, 451(7181): 904-913.
- Radhiga T., Rajamanickam C., Senthil S., Pugalendi K. V. (2012).** Effect of ursolic acid on cardiac marker enzymes, lipid profile and macroscopic enzyme mapping assay in isoproterenol induced myocardial ischemic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 50(11): 3971-3977.
- Rahman H., Manjula K., Anoosha T., Nagaveni K., Eswaraiah M. C., et al. (2013).** In-vitro antioxidant activity of *Citrullus lanatus* seed extracts. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(3), 152-157.
- Raja S., Ahamed K. N., Kumar V., Mukherjee K., Bandyopadhyay A., et al. (2007).** Antioxidant effect of *Cytisus scoparius* against carbon tetrachloride treated liver injury in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 109(1): 41-47.
- Rakesh S. U., Patil P. R., Mane S. R. (2010).** Use of natural antioxidants to scavenge free radicals. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2): 1074-1081.
- Raso G. M., Meli R., Di Carlo G., Pacilio M., Di Carlo R. (2001).** Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage. *Life sciences*, 68(8): 921-931.
- Recio M. C., Prieto M., Bonucelli M., Orsi C., Máñez S., et al. (2004).** Anti-inflammatory activity of two cucurbitacins isolated from *Cayaponia tayuya*. *Planta medica*, 70(05): 414-420.
- Regoli F. M. et Principato G. (1995).** Glutathion-dependent and antioxidant enzymes in mussel *Mytilus galloprovincialis*; exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 31(2): 143-164.
- Retornaz F., Beliard S., Gremeaux E., Chiche L., Lagarde L., et al. (2016).** Statine et pathologies cardiovasculaires après 75 ans. *La Revue de Médecine Interne*, 37(9) : 625-631.
- Rezaei-Golmishah A., Malekinejad H., Asri-Rezaei S., Farshid A. A., Akbari P. (2015).** Hawthorn ethanolic extracts with triterpenoids and flavonoids exert hepatoprotective effects and suppress the hypercholesterolemia-induced oxidative stress in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(7): 691.
- Rigelsky J. M. et Sweet B. V., (2002).** Hawthorn: Pharmacologie and therapeutic uses. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 59(5):417-422.

Références bibliographiques

- Robertson G, Leclercq I, Farrell G. C. (2001).** Non alcoholic steatosis and steatohepatitis. Cytochrome P-450 enzymes and oxidative stress. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 281(5):1135-1139.
- Rodrigues S., Calhella R. C., Barreira J. C., Dueñas M., Carvalho A. M., et al. (2012).** *Crataegus monogyna* buds and fruits phenolic extracts: Growth inhibitory activity on human tumor cell lines and chemical characterization by HPLC–DAD–ESI/MS. *Food research international*, 49(1): 516-523.
- Rodríguez-Ruiz M., González-Gordo S., Cañas A., Campos M. J., Paradela A., et al. (2019).** Sweet Pepper (*Capsicum annuum* L.) fruits contain an atypical peroxisomal catalase that is modulated by Reactive Oxygen and Nitrogen Species. *Antioxidants*, 8(9): 374-392.
- Saada H. N., Rezk R. G., Eltahawy N. A. (2010).** Lycopene protects the structure of the small intestine against gamma radiation induced oxidative stress. *Phytotherapy research*, 24(2): 204-208.
- Saba A. B. et Oridupa A. O. (2010).** Search for a novel antioxidant, antiinflammatory/analgesic or anti-proliferative drug: Cucurbitacins hold the ace. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(25): 2821-2826.
- Safi M. M., Abou-Nazel M. W., Karawya F. S., Omar A. M. (2016).** The possible protective effects of inegy *Versus cinnamon* oil on the aorta of albino rats with experimentally induced hyperlipidemia. *International Journal of Clinical and Experimental Medical Sciences*, 1(4): 78-91
- Sahin Yaghlouglu A., Eser F., Tekin S., Onal A. (2016).** Antiproliferative activities of several plant extracts from Turkey on rat brain tumor and human cervix carcinoma cell lines. *Frontiers in Life Science*, 9(1): 69-74.
- Saile R. et Hassan T. (2007).** Cholestérol, lipoprotéines et athérosclérose: de la biochimie à la physiopathologie. *Les technologies de laboratoire*. 2(2): 4-11.
- Sakano K., Mizutani M., Murata M., Oikawa S., Hiraku Y., et al. (2005).** Procyanidin B2 has anti-and pro-oxidant effects on metal-mediated DNA damage. *Free Radical Biology and Medicine*, 39(8): 1041-1049.
- Salam O. M. A., Sleem A. A., Shafee N. (2012).** Effect of *Crataegus* extract on carbon tetrachloride-induced hepatic damage. *Comparative Clinical Pathology*, 21(6): 1719-1726.
- Sanchez I., Calderon J., Ruiz B., Tellez J., Calzada L., et al. (2001).** *In vitro* cytotoxicity of flavonoids against MK2 and C6 tumour cells. *Phytotherapy Research*, 15(4): 290-293.
- Šarić A., Balog T., Sobočanec S., Kušić B., Šverko V., et al. (2009).** Antioxidant effects of flavonoid from Croatian *Cystus incanus* L. rich bee pollen. *Food and Chemical Toxicology*, 47(3): 547-554.

Références bibliographiques

- Scott G. N. et Elmer G. W. (2002).** Update on Natural Product-Drug Interactions. *American Journal of Health System Pharmacy*, 59(4): 339-347.
- Seif H. S. A. (2014).** Ameliorative effect of pumpkin oil (*Cucurbita pepo* L.) against alcohol-induced hepatotoxicity and oxidative stress in albino rats. *Beni-suef University Journal of basic and applied sciences*, 3(3): 178-185.
- Sen S., Biplab De N. D., Chakraborty R. (2012).** Anthelmintic and *in vitro* antioxidant evaluation of fractions of methanol extract of *Leea asiatica*. *Ancient science of life*, 31(3): 101.
- Şener G., Balkan J., Çevikbaş U., Keyer Uysal M., Uysal M. (2004).** Melatonin reduces cholesterol accumulation and prooxidant state induced by high cholesterol diet in the plasma, the liver and probably in the aorta of mice. *Journal of pineal research*, 36(3): 212-216.
- Shanthi S., Parasakthy K., Deepalakshmi P. D., Devaraj S. N. (1994).** Hypolipidemic activity of tincture of *Crataegus* in rats. *Indian journal of biochemistry & biophysics*, 31(2): 143-146.
- Sharma O. P. et Bhat T. K. (2009).** DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4): 1202-1205.
- Shatoor A. S. et Ahmed M. A. A. S. (2014).** Cardioprotective effect of *Crataegus aronia syn. azarolus* (L) aqueous extract against doxorubicin-induced cardiotoxicity and heart failure in Wistar rats. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 4: 102-114.
- Shen L.Q., Lan M., Li Y. P., Zhang C. Q. (2000).** Clinical value of the Shanzha Jing Jiang zhi Pill on lipoprotein (a) and the changes of nitric oxide of senile hyperlipidemia patients after intervention. *Strait Pharmaceutical Journal*, 12(3): 85-86.
- Shimizu S., Yoshida T., Tsujioka M., Arakawa S. (2014).** Autophagic cell death and cancer. *International journal of molecular sciences*, 15(2): 3145-3153.
- Sokol-Letowska A., Oszmiansk J., Wojdylo A. (2007).** Antioxydant activity of the phenolic compound of Hawthorn, pine and skullcap. *Food chemistry*, 103(3): 853-859.
- Somova L. O, Nadar A., Rammanan P., Shode F. O. (2003).** Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. *Phytomedicine*, 10(2): 115–21.
- Sun J., Gao G., Gao Y., Li X., Guo J., et al. (2013).** Experimental research on the *in vitro* antitumor effects of *Crataegus sanguinea*. *Cell biochemistry and biophysics*, 67(1): 207-213.
- Svedström U., Vuorela H., Kostianen R., Laakso I. (2006).** Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins. *Journal of Chromatography*, 1112(1-2):103-111.

Références bibliographiques

- Tadić-Vanja M., Dobrić S., Marković G. M., Dordević S. M., Arsić I. A., et al. (2008).** Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(17): 7700-7709.
- Tadmor Y., King S., Levi A., Davis A., Meir A., et al. (2005).** Comparative fruit coloration in watermelon and tomato. *Food Research International*, 38(8-9): 837-841.
- Tang L. Q., Wei W., Chen L. M., Lieu S. (2006).** Effects of berberine on diabète induced by alloxan and high-cholesterol diet in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(1): 109-115.
- Tarazona-Díaz M. P., Viegas J., Moldao-Martins M., Aguayo E. (2011).** Bioactive compounds from flesh and by product of fresh cut watermelon cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5): 805-812.
- Taubert D., Berkels R., Klaus W., Roesen R. (2002).** Nitric oxide formation and corresponding relaxation of porcine coronary arteries induced by plant phenols. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 40(5): 701-713.
- Thanh T. B., Thanh H. N., Minh H. P. T., Le-Thi-Thu H., Ly H. D. T., et al. (2015).** Protective effect of *Tetracera scandens L.* leaf extract against CCl₄-induced acute liver injury in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(3): 221-227.
- Tieppo J., Vercelino R., Dias A. S., Vaz M. S., Silveira T. R., et al. (2007).** Evaluation of the protective effects of quercetin in the hepatopulmonary syndrome. *Food and Chemical Toxicology*, 45(7): 1140-1146.
- Tlili I., Hdider C., Lenucci M. S., Ilahy R., Jebari H., et al. (2011).** Bioactive compounds and antioxidant activities of different watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) cultivars as affected by fruit sampling area, *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(3): 307-314
- Touyz R. M. (2000).** Oxidative stress and vascular damage in hypertension. *Current hypertension reports*, 2(1): 98-105.
- Trivedi M. K., Branton A., Trivedi D., Nayak G., Mondal S. C., et al. (2018).** Antioxidative potential of consciousness energy healing treatment on HepG2 cells and DMEM after oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *Journal of Antioxidant Activity*, 1(4): 1-7.
- Tselmin S., Rodionov R. N., Müller G., Bornstein S., Julius U. (2013).** Homocysteine in lipoprotein apheresis patients. *Atherosclerosis Supplements*, 14(1): 123-128.
- Tunstall-Pedoe H. (2012).** The decline in coronary heart disease; did it fall or was it pushed?. *British Medical Journal*, 344:1-2.

Références bibliographiques

- Valls Richard T., Trotin F., Monti J. P., Mérillon j. M., Vitrac X. (2007).** Analytical, nutritional and clinical methods carbon -14 biolabeling of flavonols and chlorogenic acids in *Crataegus monogyna* cell suspension cultures. *Food chemistry*, 105: 879-882.
- Van Herpen N. A. et Schrauwen-Hinderling V. B. (2008).** Lipid accumulation in non-adipose tissue and lipotoxicity. *Physiology & behavior*, 94(2): 231-241.
- Van Zwieten M. J. et Hollander C. F. (1997).** Polyploidy, liver, rat. *Digestive System, Springer*, 3: 130-133
- Vaz J. A., Ferreira I. C., Tavares C., Almeida G. M., Martins A., et al. (2012).** *Suillus collinitus* methanolic extract increases p53 expression and causes cell cycle arrest and apoptosis in a breast cancer cell line. *Food chemistry*, 135(2): 596-602.
- Venskutonis P. R. (2018).** Phytochemical composition and bioactivities of hawthorn (*Crataegus* spp.): review of recent research advances. *Journal of Food Bioactives*, 4: 69-87.
- Vergès B. (2007).** Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 21(1): 9-16
- Videla L. A, Rodrigo R., Orellana M., Fernandez V., Tapia G. et al. (2004).** Oxidative stress related parameters in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Clinical Science*, 106(3): 261-268.
- Vijayan N. A., Thiruchenduran M., Devaraj S. N. (2012).** Anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of *Crataegus oxyacantha* on isoproterenol-induced myocardial damage. *Molecular and cellular biochemistry*, 367(1): 1-8.
- Virmani R., Burke A. P., Farb A. (2001).** Sudden cardiac death. *Cardiovascular Pathology*, 10(5): 211-218.
- Vivar-Vera M. A., Salazar-Montoya J. A., Calva-Calva G., Ramos-Ramírez E. G. (2007).** Extraction, thermal stability and kinetic behavior of pectinmethylesterase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit. *food Science and Technology*, 40(2): 278-284.
- Vogiatzi G., Tousoulis D., Stefanadis C. (2009).** The role of oxidative stress in atherosclerosis. *Hellenic Journal of Cardiology*, 50(5): 402-409.
- Wang B., Peng L., Zhu L., Ren P. (2007).** Protective effect of total flavonoids from *Spirodela polyrrhiza* L. Schleid on human umbilical vein endothelial cell damage induced by hydrogen peroxide. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60(1): 36-40.
- Wang D., Wei Y., Pagliassotti M. J. (2006).** Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. *Endocrinology*, 147(2): 943-951.

Références bibliographiques

- Wang J., Xiong X., Feng B. (2013).** Effect of *Crataegus* usage in cardiovascular disease prevention. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- Wang T., An Y., Zhao C., Han L., Boakye-Yiadom M., et al. (2011).** Regulation effects of *Crataegus pinnatifida* leaf on glucose and lipids metabolism. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59 (9): 4987-4994.
- Wassmann S., Wassmann K., Nickenig G. (2004).** Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*, 44(4): 381-386.
- Weckbeker G. et Cory J.G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukaemia L 1210 cells *in vitro*. *Cancer letters*, 40(3): 257-264.
- Wirth N., Derlon V., Michy B., Peyrin-Biroulet C., Martinet Y. et al. (2015).** Tabagisme périopératoire. Ed. *EMC Anesthésie-réanimation, Elsevier Masson*, Paris, France : 1-12.
- Wouters K., van Gorp P. J., Bieghs V., Gijbels M. J., Duimel H., et al. (2008).** Dietary cholesterol, rather than liver steatosis, leads to hepatic inflammation in hyperlipidemic mouse models of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 48(2): 474-486.
- Wu P., Ma G., Li N., Deng Q., Yin Y., et al. (2015).** Investigation of *in vitro* and *in vivo* antioxidant activities of flavonoids rich extract from the berries of *Rhodomyrtus tomentosa*. *Food chemistry*, 173: 194-202.
- Xu H. (2004).** Use of biomarkers in toxic risk assessment for rare earth element in “the progress of resource, environment and health in China. *Beijing: Peking University Medical Press*, 4: 20.
- Yang B. et Liu P. (2012).** Composition and health effects of phenolic compounds in hawthorn of different origins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8): 1578-1590.
- Yang J. Y., Lee S. J., Park H. W., Cha Y. S. (2006).** Effect of genistein with carnitine administration on lipid parameters and obesity in C57Bl/6J mice fed a high-fat diet. *Journal of Medicinal Food*, 9(4): 459-467.
- Yoo K. M., Lee C. H., Lee H., Moon B., Lee C. Y. (2008).** Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food chemistry*, 106(3): 929-936.
- Yusuf S., Reddy S., Ounpuu S., Anand S. (2001).** Global burden of cardiovascular diseases. Part II: variations in cardiovascular disease by specific ethnic groups and geographic regions and prevention strategies. *Circulation*, 104(22): 2855-2864.
- Zakaria A. M., Ghazali N., Mohammad M. K. A., Mohamed M. I., Isa M. M., et al. (2014).** Radioprotective effect of watermelon juice against low dose ionizing radiation-induced inflammatory response in mice. *World Journal of Medical Sciences*, 10(2): 191-197.

Références bibliographiques

- Zeng M. D. (2002).** Pathogenesis and two “hits” hypothesis of fatty liver. *Chinese Journal of Digestive Diseases*, 22: 167-8.
- Zerbato M. (2009).** Intérêt du dosage par Micro méthode de la protéine C réactive au cabinet de pédiatrie. Thèse de doctorat. Faculté de Pharmacie. *Université Henri Poincaré -Nancy I.France* :124.
- Zerizer S. (2006).** Hyperhomocysteinemia, B vitamins and atherogenesis. Clinical and experimental studies. Thèse de doctorat d'Etat, Option : Physiologie animale. *Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université des Frères Mentouri, Constantine*: 33-34.
- Zhang C., Walker L. M., Hinson J. A., Mayeux P. R. (2000).** Oxidant stress in rat liver after lipopolysaccharide administration: effect of inducible nitric-oxide synthase inhibition. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 293(3): 968-972.
- Zhang D. L., Zhang Y. T., Yin J. J., Zhao B. L. (2004).** Oral administration of *Crataegus* flavonoids protects against ischemia/reperfusion brain damage in gerbils. *Journal of Neurochemistry*, 90(1): 211-219.
- Zhang J., Liang R., Wang L., Yan R., Hou R., et al. (2013).** Effects of an aqueous extract of *Crataegus pinnatifida* fruit on experimental atherosclerosis in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 148(2): 563-569.
- Zhang M., Swarts S. G., Yin L., Liu C., Tian Y., et al. (2011).** Antioxidant properties of quercetin. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 701: 283-289.
- Zhang Y., XIE M. L., ZHU L. J., GU, Z. L. (2007).** Therapeutic effect of osthole on hyperlipidemic fatty liver in rats. *Acta pharmacologica sinica*, 28(3): 398-403.
- Zhang Z., Chang Q., Zhu M., Huang Y., Ho W. K., et al. (2001).** Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *The Journal of nutritional biochemistry*, 12(3):144-152.
- Zhang Z., Ho W. K., Huang Y. U., James A. E., Lam L. W., et al. (2002).** Hawthorn fruit is hypolipidemic in rabbits fed a high cholesterol diet. *The Journal of nutrition*, 132(1): 5-10.
- Zhou Z., Zhou B., Chen H., Tang X., Wang Y. (2019).** Reactive oxygen species and the Ca²⁺ mediated extrinsic and intrinsic pathways underlying BDE-47-induced apoptosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gonadal cells. *Science of The Total Environment*, 656: 778-788.
- Ziskind B. (2009).** La bilharziose urinaire en ancienne Égypte. *Néphrologie & thérapeutique*, 5(7): 658-661.
- Zou Y., Lu Y., Wei D. (2004).** Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16): 5032-5039.

Annexes

Annexes

1. Composants de l'aliment des souris (ONAB) (Office National du Bétail)

Protéines	15%
Lipides	2,5%
Cellulose	8%
Humidité	13%
Vitamine A	150.000 UI
Vitamine D3	200.000 UI
Vitamine E	3 mg
Fer	6 mg
Cu	1,2 mg
Zn	14,400 mg
Cobalt	60 mg
Mn	10,800 mg
Iode	150 mg
Sélénium	300 mg
Ca⁺²	1%
Phosphore	0,8%

2. Calcul de la dose

➤ La dose de l'huile de graines

0,18 ml —————> 1000g

X ml —————> poids de souris (g)

La dose de l'huile de graines = $\frac{0,18 \times \text{poids de souris}}{1000}$ ml

➤ La dose de cholestérol

17,5 g (jaune d'œuf) —————> 60000g

X —————> poids de souris (g)

La dose de cholestérol = $\frac{17,5 \times \text{poids de souris}}{60000}$ g $\times 3$ fois /jour $\times 2$ fois.

03. Solution Bouin alcoolique

- 45 ml Solution d'acide picrique de 1% (dilué dans l'éthanol 95%).
- 26 ml Formol.
- 7 ml Acide acétique.
- 22 ml Eau distillée.

04. Coloration hématoxyline éosine

- Tremper les lames dans l'alcool pendant 5 minutes.
- Rincer par l'eau.
- Colorer les lames dans l'hématoxyline pendant 4 minutes.
- Après rinçage, colorer par l'éosine pendant 10 minutes.
- Rincer par l'eau.
- Tremper les lames dans l'alcool pendant 1 minute.
- Après rinçage puis séchage, le montage se fait à l'aide de xylène.

05. Solution de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM) pH 7.4

- Calcul de la quantité de produit (g) selon la règle de trois:
- n: nombre de moles.
- La quantité de produit = $(n \times \text{masse molaire}) / 1g$.
- Dissoudre 6,057g de tris (121,14g/mole) et 8,766g de NaCl (58,44g/mole) dans un litre d'eau distillé. Puis ajuster le pH à 7,4 avec l'HCL.

06. Dosage des protéines *in vivo* :

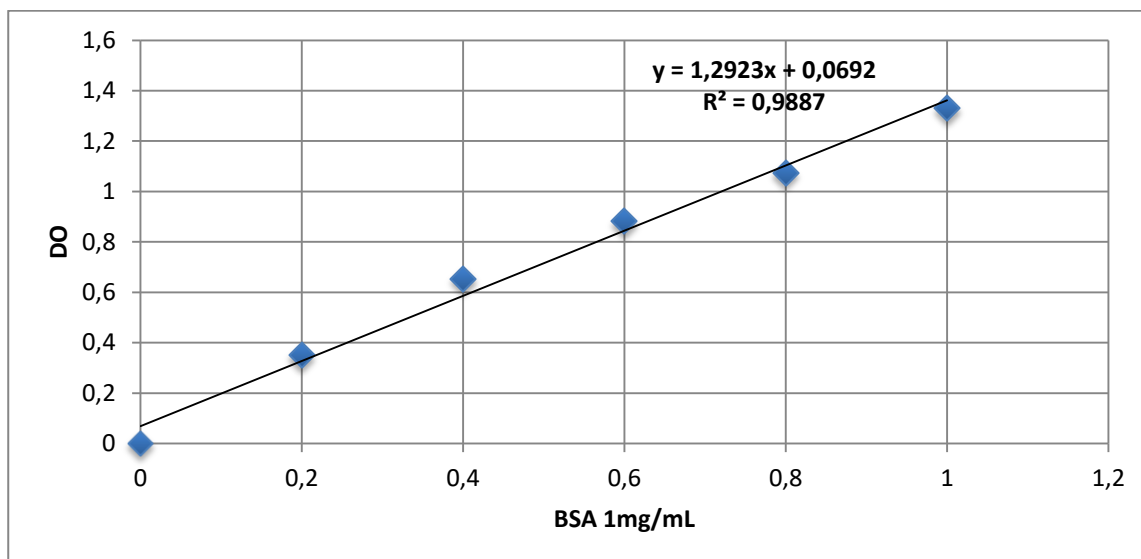
06.1 Réactif de Bradford

- Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G250) dans 50 ml d'éthanol (95%). Agiter par l'agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 ml d'acide ortho-phosphorique (85%) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1 L de solution).
- Ce réactif peut être filtré puis conserver pendant 1 mois au maximum à une température de 4°C à l'abri de la lumière.

06.2 Solution de BSA (Bovine Sérum Albumine):(1mg/ml)

Dissoudre 5 mg de BSA dans 5 ml d'eau distillée.

07. La gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.



08. Dosage du GSH *in vivo*:

08.1 Solution d'acide sulfo-salicylique 0,25%

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

08.2 Solution Tris (0,4M), EDTA (0,02M) et pH 9,6

Dissoudre 12,114 g tris et 1,871g EDTA dans 250 ml d'eau distillée et ajuster le pH à 9,6 en ajoutant Hcl ou NaOH.

08.3 Solution DTNB (0,01M)

Dissoudre 200 mg DTNB dans 50 ml de méthanol absolu.

08.4 La procédure expérimentale du dosage du GSH est la suivante :

- prélever 0,8 ml de l'homogénat ;
- ajouter 0,2 ml de la solution d'acide sulfo-salicylique (0,25%) ;
- agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace ;
- centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min ;
- prélever 0,5 ml du surnageant ;
- ajouter 1 ml de tampon Tris- Éthylènediaminetétraacétique (Tris-EDTA), pH 9,6 ;
- mélanger et ajouter 0,025 ml (DTNB) à 0,01M.
- Laissez pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412nm contre le blanc.

09. Dosage de la CAT *in vivo* :

09.1 Tampon Phosphate 100 Mm, pH 7.5

$$\begin{array}{l} \text{➤ Pois Moléculaire (NaH}_2\text{PO}_4) \longrightarrow 1000 \text{ mMole} = 1\text{L} \\ \text{X (NaH}_2\text{PO}_4) \longrightarrow 100 \text{ mMole} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} \text{➤} \\ \text{X} \end{array}} \right\}$$

$$x = \frac{\text{Pois Moléculaire (NaH}_2\text{PO}_4) \times 100}{1000 \text{ mMole}}$$

$$\begin{array}{l} \text{➤ Pois Moléculaire (Na}_2\text{HPO}_4) \longrightarrow 1000 \text{ mMole} = 1\text{L} \\ \text{X (Na}_2\text{HPO}_4) \longrightarrow 100 \text{ mMole} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} \text{➤} \\ \text{X} \end{array}} \right\}$$

$$y = \frac{\text{Pois Moléculaire (Na}_2\text{HPO}_4) \times 100}{1000 \text{ mMole}}$$

09.2 H₂O₂ 30%

$$\begin{array}{l} \text{➤ 30 g (H}_2\text{O}_2) \longrightarrow 882 \text{ Mole} \\ \text{X (H}_2\text{O}_2) \longrightarrow 500 \text{ Mole} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} \text{➤} \\ \text{X} \end{array}} \right\}$$

$$z = \frac{30\text{g} \times 500 \text{ Mole}}{882 \text{ mMole}}$$

10. Evaluation de l'activité antiproliferative *in vitro*:

10.1 Volume MTT et milieu de culture

Stock : 5 mg/ml.

Concentration (MTT) : 0.65 mg/ml.

Volume : 1000ml / 1000 puits ; (100µl/puits).

$$5 \text{ mg} \longrightarrow 1\text{ml}$$

$$0.65 \text{ mg} \times 100 \text{ puits} \longrightarrow y$$

$$y = \frac{0.65 \text{ mg} \times 100 \times 1\text{ml}}{5 \text{ mg}} = 13\text{ml} \text{ (Volume MTT)}$$

Donc :

Volume PBS = 100 ml – 13 ml = 87 ml.

Volume Milieu = Volume PBS (87 ml) + Volume MTT 0.65 mg (13 ml).

10.2 Comptage des cellules

5000 cellules \longrightarrow 100 μ l / puits

X cellules \longrightarrow 6000 μ l / 60puits

$$X \text{ cellules} = \frac{6000 \mu\text{l} \times 5000 \text{ cellules}}{100\mu\text{l}} = 300000 \text{ cellules}$$

Nombre de cellules: 145 cellules x 2x 1000= 290000

290000 cellules \longrightarrow 1 ml

300000 cellules \longrightarrow z ml

$$z = \frac{300000 \text{ cellules} \times 1 \text{ ml}}{290000 \text{ cellules}} = 0.1 \text{ ml} = 100\mu\text{l}$$

6000 (volume total) - 100 μ l (solution cellulaire) = **5900 μ l** (milieu de culture).

11. Evaluation de l'activité de la CAT *in vitro* :

11.1 Protocole de la quantification de catalase *in vitro*

- Retirer le milieu de culture.
- Laver les puits a l'aide de 500 μ l de DPBS.
- Ajouter 300 μ l de trypsine.
- Incuber à 37°C, Co2 5% pendant 5 minutes.
- Ajouter 900 μ l du milieu de culture.
- Prélever la suspension (Cellules+ Milieu de culture+ Trypsine+ DPBS).
- Mettre la suspension dans des flacons T-75.
- Laver les puits a l'aide de 1 ml de DPBS.
- Centrifuger à 300g pendant 5 minutes.
- Enlever le surnageant.
- Laver le culot (cellules) a l'aide de 500 μ l de DPBS.
- Ajouter 300 μ l de tampon de dilution (pour lyser les cellules et libérer les protéines intracellulaires dans la suspension cellulaire).
- Centrifuger à 1200g pendant 10minutes.
- Récupérer le surnageant (protéines intracellulaires) et le mettre dans des eppendorfs.

11.2 Concentration de H₂O₂

Stock = 1 M = 1000 μM.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \longrightarrow 1000 \mu\text{M} \times Y = 75 \mu\text{M} \times 1000 \mu\text{l}$$

$$Y = 7.5 \mu\text{l H}_2\text{O}_2$$

11.3 Contrôle (-) de la catalase *in vitro*

- Diluer 20 μl de l'enzyme catalase dans 380 μl de tampon de dilution (1 :20).
- Diluer 20 μl de la suspension 1 dans 380 μl de tampon de dilution (1:400).
- Diluer 20 μl de la suspension 2 dans 480 μl de tampon de dilution (1:10.000).

11.4 Tampon de dilution de la catalase *in vitro*

- Diluer 2 ml du tampon d'essai 10x (Numéro de catalogue A9725) 10 fois à 20 ml avec de l'eau.
- Le tampon de dosage 1x est du phosphate de potassium KOH 50 mM tampon, pH 7,0.rangé à une température ambiante.

11.5 Réactif de coloration de la catalase *in vitro*

- Tampon phosphate de potassium 150 mM, pH 7,0, contenant 0,25 mM de 4-aminoantipyrine et Acide 3,5-dichloro-2-hydroxybenzènesulfonique 2 mM.
- Préparez 200 ml de la solution chromogène.
- Mélanger 60 ml de Tampon de dilution avec 140 ml de l'eau.
- Ajouter 10 ml de tampon dilué au chromogène Flacon de réactif (numéro de catalogue C5237) et mélanger jusqu'à la dissolution complète.
- Transférer la solution chromogène du flacon dans le bécher contenant le tampon et mélanger bien la solution et conserver à -20 ° C.
- Avant l'utilisation, préparer le Réactif de coloration en ajoutant 30 ml de la solution de peroxydase à chaque 30 ml de solution de chromogène. T
- Le Réactif de coloration peut être conservé à 4 ° C pendant trois jours.

Annexes

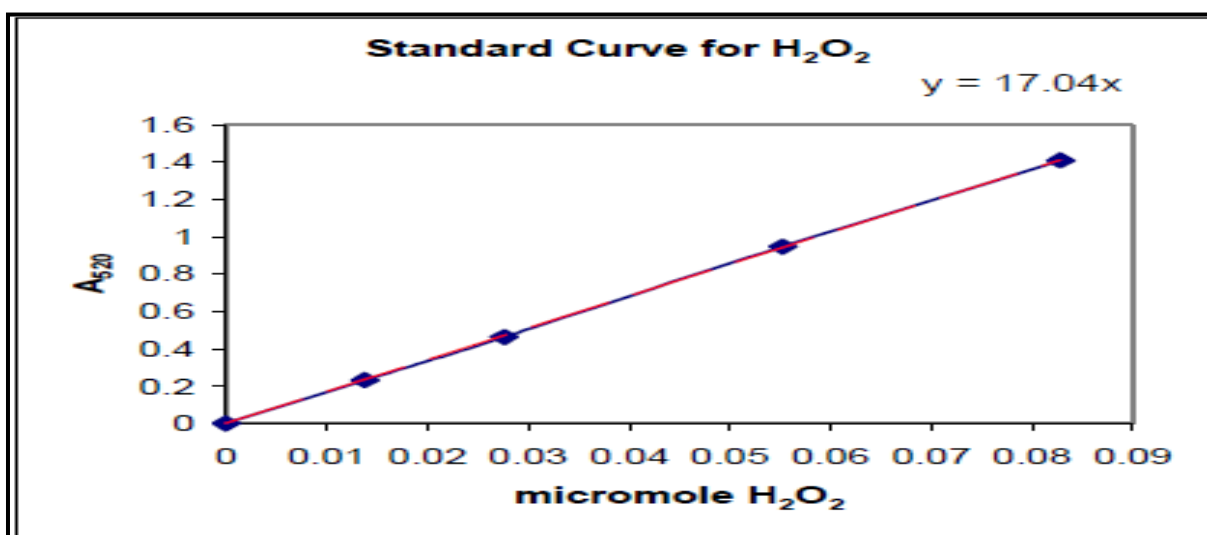
12. La courbe standard de l'H₂O₂ :

12.1 Données des concentrations du BSA pour faire une gamme étalon.

BSA (µg/ml) en µl.	0	20	40	60	80	100
Eau distillée en µl.	100	80	60	40	20	0
Bradford en ml.	5	5	5	5	5	5

Homogénéisation par renversement ou au vortex. Attendre 5 minutes (stabilisation de la coloration), on fait la première lecture. Après 1 heure d'incubation où la coloration est bien stabilisée, on fait la deuxième lecture à 595nm qui sera reporté sur la gamme.

12.2 La courbe standard de l'H₂O₂.



13. Evaluation de l'activité du GSH *in vitro* :

13.1 Solution de Stock : DTNB (1.5 mg/ml)

- Dissoudre le contenu du flacon (8 mg) de DTNB (numéro de catalogue D8130) avec 5,33 ml de DMSO (numéro de catalogue D8418) pour faire une solution à 1,5 mg / ml.
- La solution peut être conservé à -20 ° C pendant au moins 3 mois.

13.2 Solution de Stock : NADPH (40 mg/ml)

- Dissoudre le contenu du flacon de NADPH (25 mg) dans 0,625 ml de eau pour donner une solution à 40 mg / ml.
- La solution peut être conservé à -20 ° C pendant au moins 6 mois.

13.3 Solution de Stock :Acide 5% 5- Sulfosalicylique (ASS)

- Dissoudre le contenu du flacon - Acide 5% 5Sulfosalicylique (2,5 g) dans 50 ml d'eau.
- Assurez-vous que la poudre est complètement dissoute. Conserver à 2–8 ° C.

13.4 Solution de Stock: Glutathion (GSH) Standard (10 mM)

- Dissoudre le contenu du flacon de glutathion réduit, standard dans 0,1 ml d'eau.
- La solution peut être conservé à –20 ° C pendant au moins 3 mois.

13.5 Tampon de dilution (12 ml)

- 100 mM de tampon phosphate de potassium, pH 7.0, avec 1 mM d'EDTA.
- Diluer 2,4 ml de Tampon de dilution (numéro de catalogue A5103) par addition de 9,6 ml d'eau.

13.6 Solution Enzymatique diluée (6 unités/ml, 0.25 ml)

- Diluer 3,8 ml de Glutathion réductase (numéro de catalogue G2424, 400 unités / ml) jusqu'à un volume final de 250 ml avec le tampon de dilution.

13.7 Solution : NADPH (0.16 mg/ml, 2.5 ml)

- Ajouter 10 ml de Solution mère de NADPH (40 mg / ml) à 2,5 ml de tampon de dilution.

13.8 Solution Mélange de travail (8 ml)

- Pour 8 ml de tampon de dilution, ajouter 228 ml de la solution enzymatique diluée (6 unités / ml) et 228 ml de solution mère DTNB (1,5 mg / ml).
- Mélanger bien. Cette solution peut être conservée jusqu'à 3 heures à température ambiante.

13.9 Solutions standard de glutathion

- Diluez la solution mère standard de glutathion (GSH) (10 mM) 200 fois à 50 mM avec la solution l'acide 5% 5-sulfosalicylique.
- Préparer la solution 50 mM dans la solution l'acide 5% 5-sulfosalicylique fraîche pour chaque courbe standard.
- Une solution de glutathion est considérablement plus stable dans l'eau que dans la solution de l'acide 5% 5-sulfosalicylique, de sorte que la solution mère doit toujours être conservé dans l'eau à –20 ° C.

13.10 Réaction colorimétrique :

- Retirer le milieu de culture.
- Laver les puits a l'aide de 2 ml de DPBS.
- Ajouter 1.5 ml de trypsine-EDTA.
- Incuber à 37°C, Co₂ 5% pendant 5 minutes.
- Ajouter 4.5ml du milieu de culture.
- Prélever la suspension (Cellules+ Milieu de culture+ Trypsine-EDTA + DPBS).
- Mettre la suspension dans des tubes.
- Laver les boites de pétri a l'aide de 4 ml de DPBS.
- Centrifuger à 600g pendant 5 minutes.
- Enlever le surnageant.
- Laver le culot (protéines) a l'aide de 500µl de DPBS.
- Mélanger la suspension.
- Récupérer la suspension (protéines intracellulaires) et la mettre dans des eppendorfs.
- Centrifuger à 600g pendant 5 minutes.
- Enlever le surnageant.
- Ajouter 180 µl de 5% 5-SSA.
- Mélanger a l'aide de vortex (déproteinisation)
- Mettre les eppendorfs dans l'azote pendant 5 minutes, puis dans un bain marie 37°C pendant 5 minutes à 2 reprises.
- Laisser pendant 5 minutes, - 4 °c.
- Centrifuger à 10.000g pendant 10 minutes.
- Le volume du surnageant est le volume initial.

Publication



Anti-hyperlipidemic, Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of *Citrullus lanatus*

Sabar Messaoudi^{1*}, Soraya Tebibel¹, Aya Khadidja Beladjila², Fatima Khelifi Touhami¹
and Zahia Kabouche²

¹Laboratory of Ethnobotany Palynology and Ethno Pharmacology Toxicology, Department of Animal Biology, University Mentouri Brothers, Constantine1, Algeria.

²Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (LOST), Department of Chemistry, University Mentouri Brothers, Constantine1, Algeria.

ABSTRACT

Aims: The objective of this study was to evaluate the hypolipidemic effect, anti-inflammatory and antioxidant properties of *Citrullus lanatus* seed extract in cholesterol induced experimental obese mice. **Methods and Material:** Adult male *Mus Musculus* mice were divided into four groups. The control group (S) was fed with flour balls (100 mg/mice), group (B) was fed with cholesterol (400 mg/kg/day), group (E) was fed with cholesterol (400 mg/kg/day) plus *C. lanatus* seed extract (120 mg/kg/day) and the group (R) was treated with *C. lanatus* seed extract (120 mg/kg/day). Cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, AST, ALT and CRP were measured with enzymatic methods. To elucidate the antioxidant property, the enzymatic antioxidants such as glutathione (GSH) and catalase, in hepatic supernatant have been determined. **Statistical analysis used:** The results were analyzed by ANOVA test and Tukey's multiple comparison tests (SPSS V.20). **Results:** The results showed that the administration of seed extract of *C. lanatus* significantly decreased serum cholesterol, TG and LDL-c levels, and significantly increased serum HDL-c level. Hyperlipidemic diet induced a significant rise in AST and ALT concentrations. The administration of the seed extract of *C. lanatus* effectively reduced cholesterol. The CRP concentrations were significantly elevated after the administration of cholesterol to mice. The results showed a significantly high decrease in CRP values in the plant group. The glutathione was reduced, and the catalase levels in plant group were significantly decreased. **Conclusions:** This study demonstrated a good anti-hyperlipidemic, anti-inflammatory and antioxidant potential of *C. lanatus*, which fitted well with their use in folk medicine.

Keywords: Hyperlipidemia, *Citrullus lanatus*, oxidative stress, anti-inflammatory activity.

Corresponding author: Sabar Messaoudi

E-mail ✉ sabar.messaoudi@umc.edu.dz

Received: 04 September 2018

Accepted: 27 March 2019

1. INTRODUCTION

From the seventeen major causes of human death, cardiovascular diseases (CVD) rank the seventh. The coronary heart disease (CHD) has been the cause of mortality in 50% of people around the world (Sullivan & David 2002). The hyperlipidemia has been considered the most influential risk factor for CHD (Marzyieh et al. 2007). Moreover, the reactive oxygen species like superoxide anions, hydrogen peroxide and hydroxyl, and nitric oxide radicals, have had an important role in oxidative stress related to the pathogenesis of numerous diseases like the cardiovascular diseases (Jayaraman & Christina 2013).

The inflammation is a prominent feature of atherosclerosis (Libby et al. 2002) and it has been postulated like an acute-phase protein, and the elevation of plasma C-reactive protein may signal the underlying atherosclerotic process. Although, many epidemiological studies have shown that plasma CRP level is an excellent independent predictor of CVD in both men and women (Ridker et al. 2002) and it is an excellent marker of the rate of progression of atherosclerosis (Paul et al., 2004).

Fruits and vegetables have been recognized as natural sources of various bioactive compounds (Pennington & Fisher, 2010) which could be attributed to their phytochemical constituents such as flavonoids, anthocyanin, ascorbic acid, tocopherol, phenolic compounds, dietary fiber, and carotenoids present in fruits and vegetables (Kolawole et al. 2016).

Flavonoids are a group of polyphenolic compounds found abundantly in the plant kingdom. Interest in the possible health benefits of flavonoids and other polyphenolic compounds has increased in recent years owing to their potent antioxidant and free-radical scavenging activities (Rahman et al. 2013 a).

Watermelon (*Citrullus lanatus*, family Cucurbitaceae) is a vine-like flowering plant originally from Southern Africa (Mandel et al. 2005). It is an important vegetable crop in Africa, and can adapt to different environmental conditions (Adetutu et al. 2015).

Gill et al. evaluated the antioxidant, anti-inflammatory and analgesic potential of the *Citrullus lanatus* seeds (Gill et al. 2010). Logaraj et al. investigated that the watermelon seeds are a good source of linoleic acid (18:2 ω-6) as a major fatty acid (Logaraj, 2011). Atlas et al. concluded that the watermelon juice keeps the liver, kidney and brain tissues safe in case of experimental CCL4 toxicity in rats, and the protective effect of watermelon juice may be because of having antioxidant

activity and inhibiting lipid peroxide formation (Altaş et al. 2011).

There have been therapeutic effects of *C. lanatus* fruit found, which have been stated to be related to its antioxidant and certain phytochemical compounds (Adetutu et al. 2015).

In this context, the aim of this research was to determine the effects of the consumption of watermelon seeds' extract against hypercholesterolemia induced by high cholesterol intake in mice and also to assess its antioxidant and anti-inflammatory potentials.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Plant material

The seeds of *C. lanatus* were collected from Constantine (East of Algeria). They were mechanically grinded and converted into the coarse powder, then the extract was prepared by simple maceration process. The coarse seed powder was weighed, and adequate distilled water was added. After the completion of duration of maceration, they were filtered using whatmann filter, then the filtrates were collected in order to be used for treatment preparations.

2.2. Experimental animal and diets

The experiments were performed on 28 adult male *Mus Musculus* mice (2.5- 3 months old) which were obtained from animal center of Pasteur's Institute (Algiers–Algeria), weighing (14-18g). They were housed in hanging transparent plastic cages (55 × 33× 19 cm) in the animal room of Faculty of Sciences (University Mentouri Brothers, Constantine 1-Algeria) and maintained under the controlled conditions of humidity; 12-h light and 12-h dark cycle, and a constant temperature of 22±3°C. Food and water were freely available in the home cages. The food was provided in the form of dry pellets (SARL Production Locale, Bouzareah, Algiers-Algeria). The litter was renewed every 3 days.

After the adaptative period, the animals were assigned into four groups of similar mean of body weights, and were fed for 3 w* with control and experimental diets.

The control group (S) was fed with white flour (100 mg/mice), group (B) was fed with cholesterol (400mg/kg/day), group (E) was fed with cholesterol (400mg/kg/day) plus *C. lanatus* seed extract (120m g/kg/day), and the group (R) was treated with *C. lanatus* seed extract (120mg/kg/day). The experimental diets were given white flour.

The experiments were carried out in strict compliance based on ethical principles, and provided by the Committee for the Purpose of Control and Supervision of Experiments on the Animal (CPCSEA).

2.3. Biochemical investigation

After 3 w* of the treatment, the blood samples were collected after fasting, from the retro orbital plexus into EDTA tubes by using glass capillaries. Plasma was obtained by low speed (2000 rpm) centrifugation for biochemical analysis.

Total cholesterol, TG, HDL-Cholesterol, LDL-Cholesterol and Aspartate Transaminase _AST and Alanine Transaminase _ALT concentrations, assays were done by enzymatic kits.

The plasma CRP values were measured by the immunoturbidimetric method. All parameters were analysed by Auto analyser Cobas integra 400 plus analyzer (Roche).

The livers were removed from all animals, and washed with ice cold saline. Small pieces of liver tissues was collected and kept

in 10% formalin solution for conducting histopathological examinations.

2.4. Preparation of the homogenate

The liver was excised, and rinsed in ice- cold saline. The weight of 0,5g liver was homogenized in 2ml of TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4) at 4°C, in a Potter–Elvehjem homogenizer with a Teflon pestle at 600 rpm for 3 min. The homogenate was then centrifuged at 9000 g for 15 min at 4°C. The supernatant was collected as tissue homogenate, that was used to determine protein concentrations, reduced glutathione and the catalase activities.

2.5. Protein quantification

The total soluble protein in the supernatant was measured the method of Bradford (Bradford 1976) by using bovine serum albumin as standard protein.

2.6. Determination of reduced glutathione (GSH)

The decreased glutathione content in the liver was estimated spectrophotometrically by using 5,5'-dithiobis-2 nitrobenzoic acid (DTNB) as a coloring reagent, according to the method of Weckbeker (Rahman 2006).

2.7. Determination of catalase (CAT)

Tissue CAT activity was determined according to Aebi's method (Aebi 1974). The principle of the assay was based on the determination of H₂O₂ decomposition rate at 240 nm.

2.8. Statistical analysis

The results were analyzed for differences between the groups across dietary treatments by one way ANOVA test and Tukey's multiple comparison tests (SPSS version 20), P value* < 0.05 was considered as statistically significant.

3. RESULTS

3.1. Effect of cholesterol and the extract of *C. lanatus* seed on the serum lipid profile

The results of the effect of administration of cholesterol and the extract of *C. lanatus* seed on lipid profile (table 1) showed that, the total cholesterol concentration of mice in group (B) (1,67±0,15 mmol/L) was significantly higher (p<0.05) compared to the other groups.

Also, the administration of cholesterol caused a significantly high elevation (P=0,000) of triglyceride concentration in group (B) (1,81±0,30 mmol/L).

However, HDL-c concentration in groups (B) (0,86±0,12 mmol/L) and (R) (0,77±0,08 mmol/L) was significantly different (P=0,000) compared to the groups (S) (1,09±0,04 mmol/L) and (E) (0,95±0,06 mmol/L); respectively.

Furthermore, LDL-c concentration in group (B) (0,53±0,42 mmol/L) statistically showed no significant difference (p>0.05) when compared to the group (S) (0,28±0,11 mmol/L).

The administration of the seed extract of *C. lanatus* seed, caused a significant reduction (p<0.05) in the values of total cholesterol, triglyceride and LDL-c in groups (E) and as (R); respectively compared to group B. However, the extract of *C. lanatus* seed caused a significant elevation in the values of HDL-c cholesterol in groups (E) (0,48±0,20 mmol/L) and (R) (0,22±0,06 mmol/L); respectively (p<0.05).

Table 1. Effect of cholesterol and the extract of *C. lanatus* seed on lipid profile of mice.

Treatment	Total cholesterol (mmol/L)	Triglyceride (mmol/L)	High Density Lipoprotein (mmol/L)	Low Density Lipoprotein (mmol/L)
(S) Control group: white flour (100mg/mice)	1,5±0,31	1,73±0,12	1,09±0,04***	0,28±0,11
(B) : cholesterol (400mg/kg/day)	1,67±0,15 *	1,81±0,30***	0,86±0,12***	0,53±0,42 **
(E) :cholesterol (400mg/kg/day) +C. lanatus seed extract (120m g/kg/day)	1,47±0,13*	1,15±0,16	0,95±0,06*	0,48±0,20
(R) :C. lanatus seed extract (120mg/kg/day)	1,4±0,07*	0,84±0,08	0,77±0,08*	0,22±0,06

n = 7; *p<0.05, **p<0.01 and ***p=0.000; compared with the control (one way ANOVA; LSD post hoc test); values represented in Mean ± SEM.

3.2. Effect of cholesterol and the extract of *C. lanatus* seed on the CRP values

The present data showed that, at the third week, there was a significantly high difference in the means for the plasma CRP concentrations between the groups (P=0,000). Fig.1 showed that the plasma CRP concentration in group (B) achieved higher levels, and the average was (4,36 ± 0,06 μmol/L), which was very higher than that of the control group (S) (0,11±0,06) and group (E) (3,72±1,04) (P=0,000). However, the treatment with the extract of *C. lanatus* seed in the group (R) (2.55±0,84) decreased very significantly compared to the groups of (B) and (E); respectively (P=0,000).

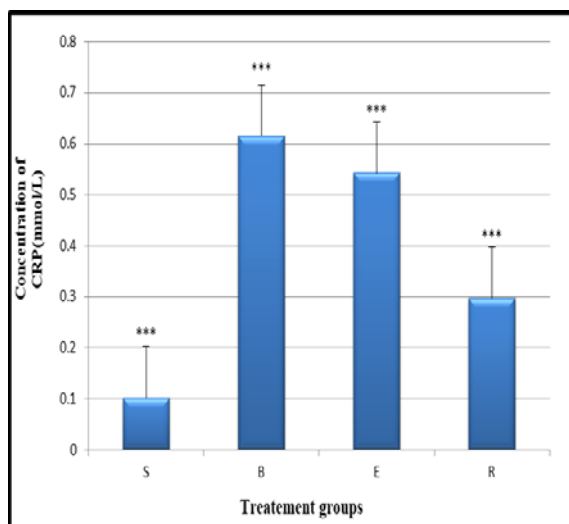


Fig. 1. The interaction of cholesterol and the extract of *C. lanatus* seed on the plasma CRP in mice during 21 days of treatment, Values are the means ± SEM (n=7); *p<0.05, **p<0.01 and ***p=0.000

3.3. Effects of cholesterol and the extract of *C. lanatus* seed on the assayed liver enzymes

The effects of the extract of *C. lanatus* seed on the assayed liver enzymes, (ALT) and (AST) has been shown in (table 2).

The administration of cholesterol resulted in a significant (P<0.05) increase in both the serum levels of ALT and AST in group (B) when compared with the control group (S) (table 2). However, the treatment with the extract of *C. lanatus* seed caused a very high significant (p=0.000) reduction in the levels of AST in group (R) (101,80±3,12 IU/L) compared to the control group (S) (88,37±21,26 IU/L).

Also, the results indicated that the animals treated with the extract of *C. lanatus* seed, group (R) (94,66±9,93 IU/L) showed a significantly high (p=0.000) decrease in the activity of ALT compared to the control group (S) (28,35±4,86 IU/L).

Table 2. Effect of cholesterol and the extract of *C. lanatus* seed on AST and ALT levels

Treatment	AST (IU/L)	ALT (IU/L)
(S) Control group: white flour (100mg/mice)	88,37±21,26	28,35±4,86
(B) :cholesterol (400mg/kg/day)	121,06±14,85 *	101,58±22,76 *
(E) :cholesterol (400mg/kg/day) + C. lanatus seed extract (120m g/kg/day)	106,9±25***	95,57±10,14***
(R) : C. lanatus seed extract (120mg/kg/day)	101,80±3,12***	94,66±9,93***

n = 7; *p<0.05, **p<0.01 and ***p=0.000; compared with the control (one way ANOVA; LSD post hoc test); values represented in Mean ± SEM

3.4. Effect of cholesterol and the extract of *C. lanatus* seed on oxidative stress parameters of mice

As shown in (fig.2), there was a significantly high (p=0.000) decrease in the GSH concentration of group (B) (7,99±0,27 n mol/mg protein) compared with the normal control group (S) (12,7±0,29 n mol/mg protein). However, the concentration of reduced GSH increased very highly in group (R) (10.88±0.89 n mol/mg protein) (P=0.000), and significantly in group (E) (9.09±0.75 n mol/mg protein) (P<0.05). On the other hand, the concentration of catalase decreased significantly (p<0.05) in group (B) (60.72±0.26 m mol/mg protein) compared to the control group (S) (85.64±0.3 m mol/mg protein). While, a significant (p<0.05) increase was observed in the catalase level of group (R) (79.22±0.05 m mol/mg protein), but it was not significant in the group (E) (72.06±0.25 m mol/mg protein) (P>0.05) (fig. 3).

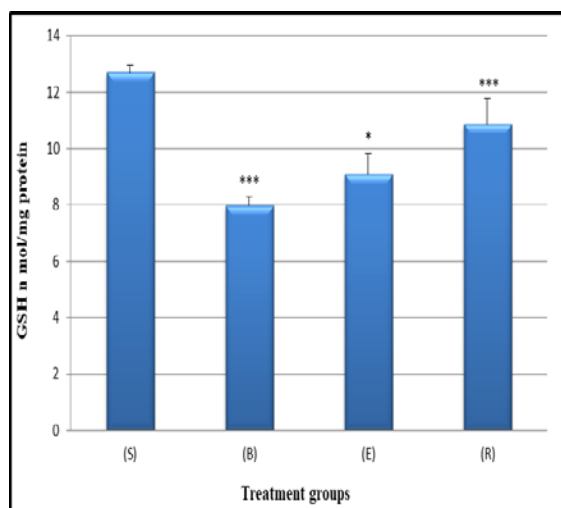


Fig. 2. The interaction of cholesterol and the extract of *C. lanatus* seed on the reduced glutathione GSH in mice during 21 days of treatment, Values are the means \pm SEM (n=7); *p<0.05, **p<0.01 and ***p=0.000.

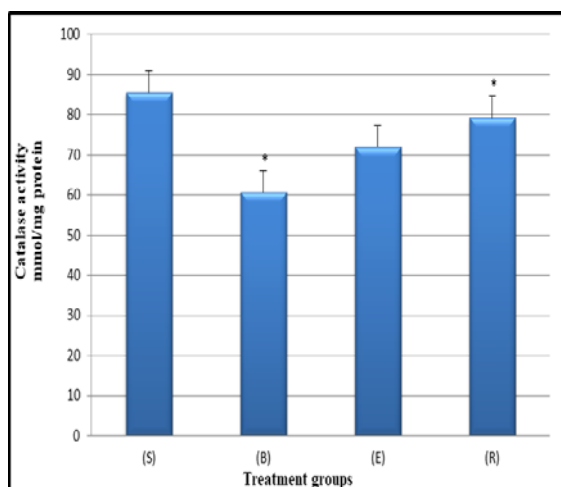


Fig. 3. The interaction of cholesterol and the extract of *C. lanatus* seed on Catalase activity in mice during 21 days of treatment, Values are the means \pm SEM (n=7); *p<0.05, **p<0.01 and ***p=0.000.

4. DISCUSSION

The present study determined the effects of the extract of *C. lanatus* seed on lipid profile parameters, CRP, AST, ALT and some oxidative stress parameters in normal and obese mice. This was with the view to determine the anti-hyperlipidemic potentials of the extract of *C. lanatus* seed.

Before the time cholesterol was deposited in the plaques that hardens and narrow arteries, it must be oxidized by free radicals. Several epidemiological studies have indicated an inverse relationship between HDL-cholesterol levels in serum and the incidence and prevalence of coronary heart disease (Georgina et al. 2011).

The results of this study showed that the administration of cholesterol (400mg/kg/day) to the experimental animals for a period of 3 w* caused a significant increase in the

concentration of total cholesterol, triglyceride and LDL-c. Also, the administration of cholesterol caused a significant reduction in the values of HDL-c.

This result could be attributed to hepatotoxicity caused by the administration of 400mg/kg/day of cholesterol.

Hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia have probably been resulted due to the increased synthesis and secretion of lipoproteins because of hepatic hyperlipogenesis (Khemmar et al. 2012).

In addition, the extract of *C. lanatus* seed was found to significantly reduce cholesterol, triglyceride and LDL-c concentration, and significantly increase the HDL-c concentration in the obese treated mice.

In accordance with (Mehta & Gelfand 2014), the consumption of *C. lanatus* led to the reduced body weight gain, decreased plasma cholesterol, triglyceride and LDL-c concentrations which was in agreement with the findings of this research work.

These effects can be explained by the presence of some inhibitory factors of digestibility in *C. lanatus* decreasing intestinal absorption of lipids by promoting their fecal elimination. Moreover, the mean levels of plasma lipids remained relatively low in rats which were fed diets with *C. lanatus*, which was rich in minor components such as hydrocarbons, mainly squalenes, α -tocopherol and phytosterols (Khemmar et al. 2012). Many and various studies have shown that these substances exerted beneficial effects (Chan et al. 1996).

The observed decrease in serum triglyceride concentration in the water melon-fed group (R) with *C. lanatus* seed extract (120mg/kg/day) also explained the positive benefits of the extract of *C. lanatus* seed on serum lipids.

High density lipoprotein (HDL-c) acted as a powerful endogenous defense mechanism against atherogenesis. Apolipoprotein A-1 is a central component of HDL-c that led to the formation of HDL-c *in vivo*.

It has been observed that apolipoprotein A-1 transgenic expression resulted in the reduction of lesion formation in apolipoprotein-E knockout mice (Alex & Adekunle 2016).

LDL-c is a lipoprotein that transports cholesterol and triglyceride from the liver to peripheral tissues. It enables fat and cholesterol to move within the water blood solution of the blood stream. LDL-c is often called bad cholesterol; hence low levels are beneficial (Georgina et al. 2011).

In group (R), there was a significant decrease in the levels of LDL-c, this might be due to the fact that *C. lanatus* contains citrulline, which is an amino acid produced in the body from glutamate; citrulline is used in the body to make arginine which produces the nitric oxide that is vital in maintaining the vessels including L-arginine and nitric oxide dilates vessels, hence, aid the kidney to function better, also lower the concentration of LDL-c (Onyeso et al. 2016).

Arginine increases the oxidation of fats and glucose, reduces hyperglycemia, improves dyslipidemia, and reduces the fat mass in obese diabetic animals (Fu et al. 2005). Citrulline is converted into arginine, thus highlights the potential for exploring the effects of the consumption of watermelon on regulating the metabolism of energy substrates, improves the cardiovascular and immunological functions, and avoids the increased oxidative stress (Massa et al. 2016).

Group B (cholesterol) showed a very high increase in the level of plasma CRP compared to the control group (S). This result could reflect the initiation of an inflammatory process.

In group (E), it was noticed that the extract of *C. lanatus* seed lowered the plasma CRP level because of its confirmed anti-inflammatory effect, and this was due to the presence of established polyphenolic compounds such as tannin and flavonoids (Benmebarek et al. 2013). Flavonoids like fisetin and quercetin have been shown to inhibit the oxidative modification of LDL-c by macrophages. The activation of NF- κ B is critical for the production of pro-inflammatory cytokines (Benmebarek et al. 2014).

Considering the findings of the current examination, the oral administration of *C. lanatus* seed resulted in anti-inflammatory and analgesic actions which might be caused by the free radical scavenging activity (Gill et al. 2010).

The metabolism of cholesterol takes place in the liver. Consequently, the metabolism of cholesterol in the liver was affected by cholesterol extra induced hepatotoxicity (Mehta & Gelfand 2014).

The biochemical quantification of activities of liver enzymes such as AST and ALT has been used as biomarkers of liver damage (Adeyemi et al. 2018). In particular, the increased AST and ALT levels have been the indicators of liver damage (Adebayo et al. 2014). They are located in hepatic cells and are released after cell damage (Himmerich et al. 2001). The rise in levels of ALT is always accompanied by the elevation in the level of AST, which plays a role in the conversion of amino acid to keto acid (Haturvedi et al. 2014).

The results showed a significant increase in ALT and AST levels in the cholesterol-treated group (B) homogenate. The elevated levels of these liver marker enzymes were the indications of cell membrane damage in the hepatocytes leading to the loss of functional integrity of the liver (Onyeso et al. 2016).

The results of this study revealed that the administration of the extract of *C. lanatus* seed caused very high ($p=0.000$) decrease on AST and ALT level in mice groups treated with the extract (120 mg/kg/day) compared to the untreated groups.

This result was in line with the work reported by (Rahman et al. 2013 b) that the plant *C. lanatus* lowered the serum level of transaminases, and that the plant had a hepatoprotective function.

The hepatoprotective property of this plant might be due to the presence of flavonoids in their individual state (Gupta & Misra 2006).

The antioxidant properties of plants must be evaluated by several methods because these plants contain complex phytochemicals. In this case, tests of the antioxidant activity whose mechanisms of action were different and complementary were necessary (Boudjouref et al., 2018).

The activity levels of antioxidant enzymes such as catalase and glutathione peroxidase have often been employed as biomarkers of oxidative stress in animals (Adeyemi et al. 2018).

Oral administration of extract of *C. lanatus* seed at doses of (120 mg/kg/day) showed a very high ($P<0.01$) decrease in catalase and glutathione concentrations compared with the cholesterol exposed mice (400 mg/kg/day) as shown in (table 2).

This might suggest that the consumption of high amount of watermelon might protect against lipid peroxidation. And as

(Pellegrini & Porrini 2000) stated, eating foods rich in lycopene, beta carotene and vitamin C might not inhibit the activity of other antioxidant enzymes in plasma.

An increase in the level of lipid peroxidation in hepatotoxic mice suggested that there was an increased generation of free radicals. Cellular radical scavenging systems included the enzymes such as catalase (CAT) which removes hydrogen peroxide.

Therefore, the reduction in the activity of this enzyme (CAT) resulted in a number of deleterious effects due to the accumulation of hydrogen peroxide (Ehrhart & Zeevalk 2003). Glutathione (GSH) is the abundant thiol compound present in mammalian cells and plays an important role to scavenge free radicals in the first line of anti-oxidant defense system. Glutathione is a natural antioxidant which donates one electron to hydrogen peroxide and is formed in the process of oxidized glutathione. The reaction is catalyzed by glutathione peroxidase. Subsequently, the oxidized glutathione (GSSG) is reduced to GSH via NADPH-dependent reduction by glutathione reductase. The depletion of glutathione results in the inhibition of glutathione peroxidase activity and thus enhancement in the lipid peroxidation activities. The antioxidant role of glutathione is both direct and indirect in that it stimulates other endogenous antioxidants (Haturvedi et al. 2014).

This phenomenon might indicate that the supplementation of antioxidant in watermelon has successfully increased the levels of GSH in liver tissues.

The obtained results of the current study were in agreement with the study done by (Saada et al. 2010) which demonstrated that the pretreatment with lycopene, which is abundant in watermelon, remarkably improved the oxidant/antioxidant status and decreased the oxidative damage.

Watermelon showed a good antioxidant activity in vitro. In addition, the hepatic-protective effect of water-melon on oxidative stress in mice has been demonstrated (Oyenihi et al. 2016; Adebayo et al. 2014).

Also, the study of (Kumar et al. 2010) suggested that an increased intake of antioxidants appeared to be protective in cardiovascular diseases.

5. CONCLUSION

In conclusion, the present study reported that the administration of the extract of *C. lanatus* seed caused a reduction in the concentration of cholesterol, triglyceride, LDL-c and increased HDL-c concentration with associated reduction in the concentration of CRP, AST and ALT concentrations in male *M. musculus* mice.

It also reported that *C. lanatus* seed contains some nutrients possibly antioxidants which were capable of suppressing oxidative stress.

This study suggested that the extract of *C. lanatus* seed might be a good antioxidant as its supplementation decreased lipid peroxidation.

However, the phytoconstituents which cause the antioxidant activity of the extract have not been determined clearly. Hence, more examinations are needed to be conducted to identify the mechanism of the antioxidant activity of this plant.

Conflict of Interest

The authors declared no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to express their thanks to the MESRS (Ministry of Scientific Research, Algeria).

REFERENCES

- Adebayo AH, Song FH, Liu XT et al. (2014) Citrullus lanatus extract reverses oxidative and haematological dysfunction in carbon tetrachloride induced liver damaged rats. *Inter J Pharmacol* 10 (4): 218-224.
- Adebayo AH, Yakubu OF, Balogun TM (2014) Protective properties of Citrullus lanatus on carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *Eur J Med Plants* 4 (8): 979-989.
- Adetutu A, Olorunnisola OS, Owoade OA (2015) Nutritive values and antioxidant activity of Citrullus lanatus fruit extract. *Food Nutr Sci* 6 (11): 1056-1064.
- Adeyemi JA, Arowolo OK, Olawuyi ST et al. (2018) Effect of co-administration of Green Tea (*Camellia sinensis*) on Clove-*(Syzygium Aromaticum)* Induced Hepatotoxicity and Oxidative Stress in Wistar Rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 62 (2): 195-201.
- Aebi H (1974) Catalase in *Methods of Enzymatic Analysis*. In: Bergmayer, H.U., Ed., *Chemie*, 2nd Edition, Vol. 2, FRG, Weinheim, 673-684.
- Alex OD, Adekunle AA (2016) Effect of methanolic extract of Citrullus lanatus seed on lipid profile and oxidative stress in acetaminophen intoxicated rats. *Adv Biomed Pharm* 3 (2): 87-93.
- Altaş S, Kizil G, Kizil M, Ketani A, Haris PI (2011) Protective effect of Diyarbakır watermelon juice on carbon tetrachloride-induced toxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 49 (9): 2433-2438.
- Benmebarek A, Zerizer S, Laggoune S, Kabouche Z (2013) Immunostimulatory activity of *Stachys mialhesi* de Noé. *Allergy, Asthma Clin Immunol* 9 (1): 2.
- Benmebarek A, Zerizer S, Lakhil H, Kabouche Z (2014) Biphasic dose response effect of *Stachys ocymastrum* on the reticuloendothelial system phagocytic activity. *Intern J Pharm Pharm Sci* 6 (2): 534-537.
- Boudjouref M, Belhattab R, Bouteghrine S (2018) Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Artemisia Campestris* from Two Regions of Algeria. *World Journal of Environmental Biosciences* 7 (2): 61-66.
- Bradford MA (1976) Rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72 (1-2): 248-254.
- Chan P, Tomlinson B, Lee CB, Lee YS (1996) Effectiveness and safety of low-dose pravastatin and squalene, alone and in combination, in elderly patients with hypercholesterolemia. *J Clin Pharmacol* 36 (5): 422-427.
- Ehrhart J, Zeevalk GD (2003) Cooperative interaction between ascorbate and glutathione during mitochondrial impairment in mesencephalic cultures. *J Neurochem* 86 (6): 1487-1497.
- Fu WJ, Haynes TE, Kohli R et al. (2005) Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. *J Nutr* 135 (4): 714-721.
- Georgina EO, Kingsley O, Esosa US, Njoya KH, Amegor OF, Okonkwo CA (2011) Comparative evaluation of antioxidant effects of watermelon and orange, and their effects on some serum lipid profile of Wistar albino rats. *Inter J Nutr Metab* 3 (8): 97-102.
- Gill NS, Bansal RK, Manju G, Shailja, S, Arunachalam M, Manoj B (2010) Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and analgesic potential of Citrullus lanatus seed extract in rodent model. *Internet J Nutr Wellness* 9. The Internet Journal of Nutrition and Wellness. 2009 Volume 9 Number 2. unpaginated ref.25.
- Gupta AK, Misra N (2006) Hepatoprotective activity of aqueous ethanolic extract of Chamomile capitula in paracetamol intoxicated albino rats. *Am J Pharmacol Toxicol* 1 (1): 17-20.
- Haturvedi P, Pipedi TM, Tumed A (2014) Supplementation with watermelon renders protection against toxicity induced by paracetamol in albino rats: the mutual and fine interaction of antioxidants prevented the cellular damage. *Int J Food Agric Vet Sci* 4(1): 102-111.
- Himmerich H, Anghelescu I, Klawe C, Szegedi A (2001) Vitamin B12 and hepatic enzyme serum levels correlate in male alcohol-dependent patients. *Alcohol* 36 (1): 26-28.
- Jayaraman R, Christina AJM (2013) Citrullus colocynthis attenuates hyperlipidemia and hyperglycemia through its anti-oxidant property against hyperlipidemic and diabetic animal models. *Der Pharmacia Sinica* 4 (1): 60-66.
- Khemmar L, Amamou F, Yazit M, Didi A, Daoudi CS (2012) Anti-obesity and anti-hyperlipidemic effect of Citrullus colocynthis oil in the offspring of obese rats. *Ann Biol Res* 3 (5): 2486-2490.
- Kolawole TA, Ojeka SO, Dapper DV (2016) Effect of methanolic extract of Citrullus lanatus seed on lipid profile and oxidative stress in acetaminophen intoxicated rats. *Adv Biomed Pharm* 3 (2): 87-93.
- Kumar SV, Saritha G, Fareedullah Md (2010) Role of antioxidants and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Ann Biol Res* 1 (3): 158-173.
- Libby P, Ridker PM, Maseri A (2002) Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 105 (9): 868-874.
- Logaraj TV (2011) Watermelon Citrullus lanatus (Thunb) Matsumura and Nakai seed oils and their use in health. *Nuts and seeds in health and disease prevention*. (1st edtn), Cambridge, Massachusetts (USA): Academic Press p 1149-1157.
- Mandel H, Levy N, Izkovitch S, Korman SH (2005) Elevated plasma citrulline and arginine due to consumption of Citrullus vulgaris. *J Inherited Metab Dis* 28 (4): 467-472.
- Massa NML, Silva AS, Oliveira CVC, Darlene CP, Carlos VS, Maria CR (2016) Supplementation with watermelon extract reduces total cholesterol and LDL

- cholesterol in adults with dyslipidemia under the influence of the MTHFR C677T polymorphism. *J Am Coll Nutr* 35 (6): 514-520.
28. Mehta NN, Gelfand JM (2014) High-density lipoprotein cholesterol function improves after successful treatment of psoriasis: a step forward in the right direction. *J Invest Dermatol* 134 (3): 592-595.
 29. Onyeso GI, Nkpaa KW, Onokohwomo JN, Nwaeme OVA (2016) Coadministration of caffeine and hydromethanolic fraction of *Citrullus lanatus* seeds extracts improved hematological and lipid profile of wistar albino rats. *J Adv Med Pharm Sci* 5 (2): 1-7.
 30. Oyenihni OR, Afolabi BA, Oyenihni AB, Ogunmokun OJ, Oguntibeju OO (2016) Hepato-and neuro-protective effects of watermelon juice on acute ethanol-induced oxidative stress in rats. *Toxicol Rep* 3: 288-294.
 31. Paul A, KO WS, Lan L et al. (2004) C-reactive protein accelerates the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 109 (5): 647-655.
 32. Pellegrini NP, Porrini M (2000) Tomato consumption does not affect the total antioxidant capacity of plasma. *Nutrition* 16 (4): 268-271.
 33. Pennington JAT, Fisher RA (2010) Food component profiles for fruit and vegetable subgroups. *J Food Compos Anal* 23 (5): 411-418.
 34. Rahman H, Kode A, Biswas SK (2006) Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nat Protoc* 1 (6): 3159-3165.
 35. Rahman H, Manjula K, Anoocha T .a (2013) In-vitro antioxidant activity of *Citrullus lanatus* seed extracts. *Asian J Pharm Clin Res* 6 (3): 152-157.
 36. Rahman H, Manjula K, Anoocha T, Nagaveni K, Eswaraiiah CM, Bardalai D .b (2013) In-vitro antioxidant activity of *Citrullus lanatus* seed extracts. *Asian J Pharm Clin Res* 6 (3): 152-157.
 37. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR (2002) Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 347 (20): 1557-1565.
 38. Saada HN, Rezk RG, Eltahawy NA (2010) Lycopene protects the structure of the small intestine against gamma-radiation-induced oxidative stress. *Phytother Res* 24 (2): 204-208.
 39. Sullivan D, David R (2002) Screening for cardiovascular disease with cholesterol. *Clin Chim Acta* 315 (1-2): 49-60.
 40. Zamani, M. Rahimi, O. Mahdavi, R. Nikbakhsh, M. (2007) Assessment of anti-hyperlipidemic effect of *Citrullus colocynthis*. *Rev Bras Farmacogn* 17 (4): 492-496.

Résumé

Résumé

L'hyperlipidémie, maladie métabolique, regroupe des augmentations quantitatives d'une ou plusieurs lipoprotéines dans le plasma sanguin. L'hypercholestérolémie est liée étroitement à la dyslipidémie constituée d'une hausse considérable du cholestérol dans le sang. Les traitements hypolipidémiants ont prouvés leur efficacité dans la prévention des maladies cardiovasculaires mais non dépourvus d'effets secondaires.

L'objectif de notre travail a été d'évaluer l'effet antihyperlipidémique des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* sur le poids des souris et la consommation d'aliment. L'hyperlipidémie a été induite par l'administration de 400 mg/kg du poids vif /jour de cholestérol pendant 21 jours. Les paramètres biochimiques (cholestérol total, triglycérides, HDL-c, LDL-c, ASAT, ALAT et la CRP) ont été déterminés suivis par une analyse histologique du (foie, cœur et l'aorte). En outre, dans notre recherche, nous avons mesuré le glutathion réduit et la catalase dans le tissu hépatique. *In vitro*, nous avons étudié l'activité antiproliférative des huiles de graines de *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna* sur les lignées cellulaires du foie (HepG2) et du sein (MCF7), aussi l'activité de la catalase et du glutathion dans les lignées cellulaires (HepG2) et (MCF7) après faire le test de l'activité de piégeage du radical H₂O₂ in vitro.

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré clairement que le régime hyperlipidémique induit chez les souris une obésité caractérisée par une hyperlipidémie sérique et tissulaire, une inflammation, une hépatopathie, une cardiopathie et un stress oxydatif au niveau tissulaire. Cependant, l'administration orale des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* (120 mg/kg du poids vif/jour) a provoqué une diminution très hautement significative du gain de poids corporel, de l'activité des transaminases (ASAT, ALA), de la concentration plasmatique de cholestérol, triglycérides, et LDL-c ($p=0.000$) et hautement significative des valeurs de la CRP ($P\leq 0,01$). Aussi, une augmentation hautement significative de la concentration de l'HDL-c chez les souris obèses par rapport aux souris témoins, ($p\leq 0.01$) a été constatée.

L'évaluation du statut de stress oxydant révèle que les trois huiles ont également entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans le tissu hépatique par une augmentation du taux de GSH et de la CAT hépatique chez les souris obèses par rapport aux souris témoins. Ces effets bénéfiques ont été observés au niveau des différentes coupes histologiques. Ces activités s'expriment d'une façon très hautement significative dans les

Résumé

groupes de souris traitées par l'huile de graines de *Crataegus monogyna* (120 mg/kg du poids vif /jour) par rapport au autres groupes, (P=0,000).

Nos résultats mettent en évidence que les huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* ne présentent aucun effet toxique à la dose de 2000 mg/kg du poids vif. En plus, l'étude *in vitro* a mis en évidence que le traitement avec les quatre différentes concentrations (1,2 µg/100µl, 2,4 µg/100µl, 4,8 µg/100µl et 9,6 µg/100µl) a inhibé la croissance des cellules tumorales d'une manière dose dépendante, mais n'a eu aucune toxicité sur les cellules saines.

Enfin, nos données indiquent que les huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* augmenté l'activité de la CAT et du GSH intracellulaires de façon très hautement significative dans les cellules (HepG2) et (MCF7), (P=0,000).

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude révèlent que les huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* peuvent être considérées comme sources naturelles pour prévenir et traiter les maladies cardiovasculaires.

Mots clés. *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna*, *Citrullus lanatus*, hypercholestérolémie, activité antihyperlipidémique, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

Abstract

Hyperlipidemia is a metabolic disease that groups quantitative increases in one or more lipoproteins in the blood plasma. Hypercholesterolemia is closely related to dyslipidemia consisting of a considerable increase in cholesterol in the blood. Lipid-lowering treatments have proven their effectiveness in preventing cardiovascular disease but they are not without side effects.

The objective of our work was to evaluate the antihyperlipidemic effect of *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* and *Citrullus lanatus* seed oils on mouse weight and food consumption. Hyperlipidemia was induced by the administration of 400 mg/kg body weight /day of cholesterol for 21 days. Biochemical parameters (total cholesterol, triglycerides, HDL-C, LDL-C, AST, ALT and CRP) were determined followed by histological analysis of the liver, heart and aorta. In addition, in our research, we measured reduced glutathione and catalase in liver tissue. *In vitro*, we studied the antiproliferative activity of seed oils of *Crataegus azarolus* and *Crataegus monogyna* on liver (HepG2) and breast (MCF7) cell lines, also catalase and glutathione activity in cell lines (HepG2) and (MCF7) after testing the H₂O₂ radical trapping activity *in vitro*.

The results obtained in the present study clearly showed that the hyperlipidemic diet induces obesity in mice characterized by serum and tissue hyperlipidemia, inflammation, hepatopathy, cardiopathy, and oxidative stress at the tissue level. However, oral administration of seed oils of *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* and *Citrullus lanatus* (120 mg / kg body weight / day) caused a very highly significant decrease in body weight gain, transaminase activity (AST, ALT), plasma concentration of cholesterol, triglycerides, and LDL-C ($p = 0.000$) and highly significant CRP values ($p \leq 0.01$). Also, a highly significant increase in HDL-C concentration in obese mice compared to control mice, ($p \leq 0.01$). Evaluation of oxidative stress status shows that the three oils also resulted in a clear improvement in antioxidant status in liver tissue by an increase in GSH and hepatic CAT levels in obese mice compared to control mice. These beneficial effects were evident in histological sections. These activities were expressed very significantly in the groups of mice treated with *Crataegus monogyna* seed oil (120 mg/kg body weight /day) compared to the other groups, ($P = 0.000$). Our results highlight that the seed oils of *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* and *Citrullus lanatus* show no toxic effects at a dose of 2000 mg / kg. In addition, the *in vitro* study showed that treatment with the four different concentrations (1.2 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$, 2.4 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$, 4.8 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ and 9.6 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$) inhibited tumor cell growth in a

Abstract

dose-dependent manner, but had no toxicity on healthy cells. Finally, our results revealed that seed oils of *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* increased intracellular CAT and GSH activity very highly significantly in cells (HepG2) and (MCF7), ($P = 0.000$).

In conclusion, the results obtained in this study show that the seed oils of *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* and *Citrullus lanatus* can be considered as natural sources to prevent and treat cardiovascular diseases.

Key words. *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna*, *Citrullus lanatus*, antihyperlipidemic activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

فرط الدهون في الدم هو مرض أيضي ينطوي على زيادات كمية في بروتين أو أكثر من البروتينات الدهنية في بلازما الدم. يرتبط فرط كوليسترول الدم ارتباطاً وثيقاً بعسر الدهون في الدم ، وهو ارتفاع كبير في نسبة الكوليسترول في الدم. أثبتت علاجات خفض الدهون فعاليتها في الوقاية من أمراض القلب والأوعية الدموية، لكنها لا تخلو من الآثار الجانبية.

كان الهدف من عملنا هو تقييم التأثير المضاد لفرط الدهون في الدم لزيوت بذور *Crataegus azarolus* و *Crataegus monogyna* على وزن الفئران واستهلاك الطعام. تم إحداث فرط الدهون في الدم عن طريق إعطاء (400 ملغم / كغم وزن حي/ يوم) من الكوليسترول لمدة 21 يوماً. تم تحديد التحاليل البيوكيميائية (الكوليسترول الكلي ، الدهون الثلاثية ، HDL-c ، LDL-c ، ASAT ، ALAT و CRP) متبوعاً بالدراسة النسيجية (الكبد والقلب والشريان الأورطي). بالإضافة إلى ذلك ، في بحثنا ، قمنا بقياس انخفاض الجلوتاثيون والكتلاز في أنسجة الكبد. في المختبر ، درسنا النشاط المضاد للتكاثر لزيوت بذور *Crataegus azarolus* و *Crataegus monogyna* على خطوط خلايا الكبد (HepG2) والثدي (MCF7) ، وكذلك نشاط الكاتلاز والجلوتاثيون في خطوط خلايا (HepG2) و (MCF7) بعد اختبار نشاط اتقناص الجذر H_2O_2 في المختبر.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة بوضوح أن النظام الغذائي لفرط الدهون في الدم يؤدي إلى السمنة عند الفئران التي تتميز بفرط الدهون في الدم والأنسجة والالتهاب واعتلال الكبد و القلب والإجهاد التأكسدي على مستوى الأنسجة. ومع ذلك ، فإن تناول زيوت بذور *Crataegus azarolus* و *Crataegus monogyna* و *Citrullus lanatus* بجرعة (120 ملغم / كغم وزن حي / يوم) عن طريق الفم قد تسبب في انخفاض كبير للغاية في زيادة وزن الجسم ونشاط الترانساميناز (ALA ، ASAT) ، وتراكم كوليسترول البلازما ، والدهون الثلاثية ، و-LDL c (p = 0.000) و قيم عالية الأهمية لتراكيز CRP (P≤0.01). أيضاً، زيادة معنوية عالية في تركيز HDL-c عند الفئران البدينة مقارنة بالفئران الشاهدة، (p≤0.01).

يوضح تقييم حالة الإجهاد التأكسدي أن الزيوت الثلاثة تسببت أيضاً في تحسن ملحوظ في حالة مضادات الأكسدة في أنسجة الكبد عن طريق زيادة مستوى GSH و CAT الكبدية في الفئران البدينة مقارنة بالفئران الشاهدة. كانت هذه الآثار المفيدة واضحة في الدراسة النسيجية. كانت هذه الأنشطة ظاهرة للغاية في مجموعات الفئران المعالجة بزيوت بذور *Crataegus monogyna* (120 ملغم / كغم وزن حي / يوم) مقارنة بالمجموعات الأخرى (P = 0.000). نتائجننا توضح بأن زيوت بذور *Crataegus azarolus* و *Crataegus monogyna* و *Citrullus lanatus* لم تظهر أي آثار سامة بجرعة 2000 ملغم / كغم.

بالإضافة إلى ذلك ، أظهرت الدراسة في المختبر أن العلاج بأربعة تراكيز مختلفة (1.2 ميكروغرام/100 ميكروغرام، 2.4 ميكروغرام/100 ميكروغرام ، 4.8 ميكروغرام/100 ميكروغرام و 9.6 ميكروغرام/100 ميكروغرام) أوقفت نمو الخلايا السرطانية بطريقة تعتمد على الجرعة ، و لم يكن لها سمية على الخلايا السليمة. أخيراً، أوضحت نتائجننا أن زيوت بذور *Crataegus azarolus* و *Crataegus monogyna* زادت من نشاط CAT و GSH الخلويين بشكل كبير جداً في خلايا (HepG2) و (MCF7) ، (P = 0.000).

ملخص

في الختام ، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة أن زيوت بذور *Crataegus azarolus* و *Crataegus monogyna* و *Citrullus lanatus* يمكن اعتبارها مصادر طبيعية للوقاية من أمراض القلب والأوعية الدموية وعلاجها.

الكلمات المفتاحية: *Crataegus azarolus* ، *Crataegus monogyna* ، *Citrullus lanatus* ، نشاط مضاد لفرط الدهون في الدم ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للالتهابات.

Intitulé : Etude comparative de l'activité biologique de certaines plantes sur les maladies cardiovasculaires, induite par une hypercholestérolémie chez les souris.**Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences.**

L'hyperlipidémie est une maladie métabolique qui regroupe des augmentations quantitatives d'une ou plusieurs lipoprotéines dans le plasma sanguin. L'hypercholestérolémie est liée étroitement à la dyslipidémie constituée d'une hausse considérable du cholestérol dans le sang. Les traitements hypolipémiants ont prouvé leur efficacité dans la prévention des maladies cardiovasculaires mais ils ne sont pas dépourvus d'effets secondaires.

L'objectif de notre travail a été d'évaluer l'effet antihyperlipidémique des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* sur le poids des souris et la consommation d'aliment. L'hyperlipidémie a été induite par l'administration de 400 mg/kg du poids vif/jour de cholestérol pendant 21 jours. Les paramètres biochimiques (cholestérol total, triglycérides, HDL-c, LDL-c, ASAT, ALAT et la CRP) ont été déterminés suivis par une analyse histologique du (foie, cœur et l'aorte). En outre, dans notre recherche, nous avons mesuré le glutathion réduit et la catalase dans le tissu hépatique. *In vitro*, nous avons étudié l'activité antiproliférative des huiles de graines de *Crataegus azarolus* et *Crataegus monogyna* sur les lignées cellulaires du foie (HepG2) et du sein (MCF7), aussi l'activité de la catalase et du glutathion dans la lignée cellulaire (HepG2) après faire le test de l'activité de piégeage du radical H_2O_2 in vitro.

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré clairement que le régime hyperlipidémique induit chez les souris une obésité caractérisé par une hyperlipidémie sérique et tissulaire, une inflammation, une hépatopathie, une cardiopathie et un stress oxydatif au niveau tissulaire. Cependant, l'administration orale des huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* (120 mg/kg du poids vif /jour) a provoqué une diminution très hautement significative du gain de poids corporel, de l'activité des transaminases (ASAT, ALA), de la concentration plasmatique de cholestérol, triglycérides, et LDL-c ($p=0.000$) et hautement significative des valeurs de la CRP ($P\leq 0,01$). Aussi, une augmentation hautement significative de la concentration de l'HDL-c chez les souris obèses par rapport aux souris témoins, ($p\leq 0.01$). L'évaluation du statut de stress oxydant montre que les trois huiles ont également entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans le tissu hépatique par une augmentation du taux de GSH et de la CAT hépatique chez les souris obèses par rapport aux souris témoins. Ces effets bénéfiques ont été évidents au niveau des coupes histologiques. Ces activités s'expriment d'une façon très hautement significative dans les groupes de souris traitées par l'huile de graines de *Crataegus monogyna* (120 mg/kg du poids vif /jour) par rapport au autres groupes, ($P=0,000$). Nos résultats soulignent que les huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* ne présentent aucun effet toxique à la dose de 2000 mg/kg. En plus, l'étude *in vitro* a montré que le traitement avec les quatre différentes concentrations (1,2 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$, 2,4 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$, 4,8 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ et 9,6 $\mu\text{g}/100\mu\text{l}$) a inhibé la croissance des cellules tumorales d'une manière dose dépendante, mais n'a eu aucune toxicité sur les cellules saines. Enfin, Nos résultats ont révélé que les huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* augmente l'activité de la CAT et du GSH intracellulaires de façon très hautement significative dans les cellules (HepG2) et (MCF7), ($P=0,000$).

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude montrent que les huiles de graines de *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna* et *Citrullus lanatus* peuvent être considérer comme des sources naturelles pour prévenir et traiter les maladies cardiovasculaires.

Mots clés : *Crataegus azarolus*, *Crataegus monogyna*, *Citrullus lanatus*, activité antihyperlipidémique, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

Laboratoire de recherche: Département des sciences médicales, chirurgicales et expérimentales, Université de Sassari, Sassari, Italie.