



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

UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
ET DE LA TERRE ET UNIVERS

Laboratoire produits naturels (LAPRONA)

Thèse de Doctorat

Spécialité : **Physiologie**

Effet des esters méthyliques d'acides gras
d'huile de coloquinte sur le métabolisme
lipidique chez des rats Wistar rendus obèses
par un régime hypergras.

Présentée par :

M^r Yazit Sidi Mohammed

Soutenue le 06/07/2019 devant le Jury :

Président :	M ^r Lazouni hammadi Abderahman	Prof, Université de Tlemcen
Promoteur :	M ^r Chabane Sari Douadi	Prof, Université de Tlemcen
Examineurs :	M ^r Azzi Rachid	MCA, Université de Tlemcen
	M ^r Taibi Khaled	MCA, Université de Tiaret
	M ^r Nemmiche Said	Prof, Université de Mostaganem

Résumé

Chez l'homme, la constance énergétique se définit comme le maintien de l'équilibre entre les apports et les dépenses d'énergie. La rupture de cet équilibre conduit au développement de désordres métaboliques et l'installation notamment de l'obésité. Dans notre travail l'utilisation d'un régime hyper lipidique a favorisé l'installation d'une obésité chez les jeunes rats wistar. Des recherches récentes ont montré que la consommation de des huiles végétales riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) a des effets correcteurs et/ou préventifs de l'obésité. L'objectif de notre travail est de valorisé l'effet des esters méthyliques (EMAG) d'huile de coloquinte « *cirtullus colocynthis* » sur le métabolisme lipidique chez des rats mâles de souche Wistar rendu obèse par des régimes hyper lipidiques. Les résultats de notre étude, montrent une correction significative du poids corporel, des paramètres sanguins et en particulier du cholestérol total, des triglycérides, du HDL-C et de la glycémie. Il y a également eu une amélioration de l'état redox par une augmentation significative des taux de vitamines anti oxydantes et de la diminution des teneurs en malondialdéhyde ainsi qu'une augmentation des activités enzymatiques hépatiques par rapport aux rats obèses. En conclusion, ces résultats nous ont permis de déduire le pouvoir régulateur et correctif de notre huile végétale et celles des esters méthyliques d'AG lors de l'installation des maladies métaboliques chez le rat wistar.

Mots clés : Obésité, *Cirtullus Colocynthis*, Huiles végétales, Esters méthyliques, Rats.

Abstract

In humans, energy consistency is defined as maintaining the balance between energy inputs and expenditures. The breakdown of this balance leads to the development of metabolic disorders and the installation of obesity. In our work the use of a high lipid diet has favored the installation of obesity in young wistar rats. Recent research has shown that the consumption of vegetable oils rich in polyunsaturated fatty acids (PUFAs) has corrective and / or preventive effects of obesity. The objective of our work is to valorize the effect of the methyl esters (FAME) of colocynth oil "*Cirtullus colocynthis*" on the lipid metabolism in male rats of Wistar strain made obese by hyper lipid diets. The results of our study show a significant correction of body weight, blood parameters and in particular total cholesterol, triglycerides, HDL-C and blood glucose. There was also an improvement in the redox state by a significant increase in antioxidant vitamin levels and decreased levels of malondialdehyde as well as an increase in hepatic enzymatic activities compared to obese rats. In conclusion, these results enabled us to deduce the regulating and corrective power of our vegetable oil and those of the methyl esters of FA during the installation of metabolic diseases in wistar rats.

Key words: Obesity, *Cirtullus Colocynthis*, Vegetable Oils, Methyl Esters, Rats.

ملخص

يعتبر استهلاك الأطعمة ذات السرعات الحرارية العالية التي تحتوي على الدهون المشبعة والكربوهيدرات عاملاً مهماً ، حيث يساهم في زيادة الوزن والسمنة ، والتي أصبحت مضاعفاتها مشكلة صحية عامة كبرى في القرن الحادي والعشرين. أظهرت الأبحاث الحديثة أن استهلاك الزيوت النباتية الغنية بالأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة له آثار تصحيحية و / أو وقائية من السمنة.

الهدف من عملنا هو تقييم تأثير استرات ميثيل الزيت الحنظل "cirtullus colocynthis" على استقلاب الدهون عند ذكور فئران سلالة ويستار المصابة بالسمنة التي تسببها حميات غذائية تحتوي على نسبة عالية من الدهون .

أظهرت النتائج عند الفئران التي تناولت لاسترات ان وزنها و مستويات السكر في الدم والأنسولين تتخفف بشكل ملحوظ بالمقارنة مع مجموعة الفئران السمنة. كما انخفضت مستويات الدم في الدهون الثلاثية والكوليسترول الكلي والبروتينات الدهنية منخفضة الكثافة بشكل كبير في هذه الفئران ، في حين أن البروتينات الدهنية عالية الكثافة (HDL) كانت مرتفعة بشكل ملحوظ.

وأظهرت نتائجنا أيضاً تصحيح توازن الأوكسدة / مضادات الأوكسدة عند الفئران التي تتلقى الحماية الغذائية التي تحتوي على إسترات زيت الحنظل، والتي من أجلها تستعيد مستويات البلازما الكبدية لبعض عوامل الإجهاد التأكسدي (SOD ، الكاتالاز).

في الختام ، سمحت لنا هذه النتائج باستنتاج التأثير المضاد للسمنة لزيتنا النباتي واسترات الميثيل زيت الحنظل ، والتي تؤثر على استقلاب الدهون. يجب إجراء دراسات أكثر دقة لشرح الآليات المعنية على المستوى الخلوي.

الكلمات المفتاحية: السمنة ، استرات الميثيل ، زيت الحنظل ، الزيوت النباتية

VALORISATION DES TRAVAUX DE THESE

Le travail exposé dans cette thèse de doctorat a fait l'objet de publication scientifique dans un journal scientifique et a été présenté lors des congrès internationaux.

Publication scientifique:

Yazit Sidi M , Saïd Nemmiche , Fouzia Amamou , Radjaa kaouthar Meziane , Daoudi Chabane-Sari. Anti-hyperlipidemic effect of fatty acids methyl esters (FAMES) of *Citrullus colocynthis* in high-fat diet induced obesity in rats. Revue Phytothérapie; DOI 10.3166/phyto-2018-0101

Communications scientifiques:

Yazit Sidi M, Amamou f, Mezian R K, Didi A, Saïd Nemmiche, Chabane Sari D. Effet des esters méthylique d'acides gras d'huile de la coloquinte sur le métabolisme lipidiques chez des rats Wistar obèses. Colloque international « développement durable et environnement du 21 au 22 Novembre 2018 » Université Ibn Khaldoun-Tiaret Algérie.

Yazit Sidi M, Amamou f, Mezian R K, Didi A, Saïd Nemmiche, Chabane Sari D. « Méthodes de préparation des esters méthylique d'acides gras d'huiles de la coloquinte et leurs effets sur le métabolisme lipidiques chez des rats Wistar obèses ». 6^{ème} Exposition d'ethnobotanique & 7^{ème} Atelier d'Initiation à la phytothérapie 10-11 Novembre 2018, El oued, Algérie.

Yazit Sidi M, Amamou f, Mezian R K, Didi A, Saïd Nemmiche, Chabane Sari D. « Effet des esters méthylique d'acides gras d'huile de la coloquinte sur quelques paramètres biochimique chez des rats Wistar obèses ». Journée scientifique Nationale sur la recherche et la valorisation des plantes d'intérêts écologique, économique et patrimonial le 06 octobre 2018 Université de Tiaret.

Yazit Sidi M, Amamou f, Mezian R K, Didi A, Chabane Sari D. « Effet des ester méthyliques d'acides gras d'huile de la coloquinte sur les enzymes hépatiques des rats wistar obèses ». La deuxième journée scientifique des sciences de l'Agriculture, Environnement et Santé 15 avril 2015 Université de Tlemcen.

Yazit Sidi M, Amamou f, Mezian R K, Didi A, Chabane Sari D. « Antihyperlipidemic effect of fatty acids methyl ester from citrullus colocynthis oil un high-fat diet- induced obes rat ». The First international congress of Nutrition and Food Science « From Bench to Bedside » 20/22 November Université de Tlemcen, Algérie.

Yazit SM., Meziane RK., Amamou F., Didi A., Chabane Sari D. « Extraction d'huile de la coloquinte et préparation des ester méthylique d'acides gras et ces effets sur des rats wistar obese ». 2^{ème} Exposition Ethnobotanique et 3^{ème} atelier d'initiation à la phytothérapie 6 juin 2015.

Dédicace

A l'âme de mon père qui nous a quittés, une lumière s'est éteinte dans nos vies, tu as laissé un manque terrible.

A celui qui est l'exemple du courage, du dévouement, de l'honnêteté, de la persévérance et du sacrifice. Tu m'as appris comment affronter la vie, et c'est grâce à tes enseignements des valeurs et du devoir que j'ai pu m'accomplir.

Tu es toujours présent dans mon cœur, tu étais et tu resteras mon premier exemple. Aucun mot ne saurait exprimer ma reconnaissance et ma gratitude à ton égard. La mort n'a pas laissé le temps pour moi pour vous rendre un minimum de vos sacrifices, Les mots me manquent pour exprimer le chagrin et la tristesse que ressent mon cœur à chaque instant que je pense à ta mort.

Mais la mort est le seul événement certain de la vie, la seule vérité, et quand elle arrive elle nous surprend toujours. Quand on perd un être aimé on a l'impression encore tant de chose à lui dire et à lui faire. Qu'Allah l'a accueillie dans son vaste paradis

Dieu a donné! Dieu a repris! Que son âme repose en paix,

A Ma très chère Mère la lumière de ma vie

A celle qui m'a donné la vie, qui a marqué chaque moment de mon existence avec son intarissable tendresse, à celle à qui je dois le meilleur de moi même

Tu as veillé sur mon éducation et mon bien être avec amour, tendresse, dévouement et perfection.

Tu étais toujours mon refuge qui me prodiguait sérénité, soutien et conseil.

Tes prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours, J'espère qu'en ce jour l'un de tes rêves se réalise à travers moi en concrétisant le fruit de tes sacrifices.

A toi, je dédie ce travail en gage de mon amour et mon respect les plus profonds. Puisse Dieu te préserver et faire de moi un fils à la hauteur de ton espérance.

Puisse Dieu tout puissant t'accorder longue vie, santé, bonheur pour que notre vie soit illuminée pour toujours par ta présence.

*A mes sœurs **Hayat** et **Samia**, Mon frère **Lakhdar** et ça femme **Fatima** et a tout mes chères.*

SOMMAIRE

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
MATÉRIELS ET MÉTHODES	11
I- Partie végétale :	11
I-1 Description de la plante :.....	11
I-2 Extraction de l'huile de coloquinte	12
I- Préparation des esters méthyliques d'acide gras (EMAG) d'huile de la coloquinte :	13
II-1- Obtention des acides gras (saponification).....	13
II-2 - Estérification des acides gras :.....	14
II- Partie Animale :.....	14
II-1- Choix des animaux	14
II-2 Préparation des régimes et protocole expérimentale	16
II-3-Sacrifice et prélèvements de sang et d'organes	18
III- Bilans lipidiques	18
III- 1- Détermination des lipides fécaux	19
III-2- Calcul du coefficient d'utilisation digestive des lipides	19
IV- Analyses biochimiques	19
IV-1- Le dosage du glucose	19
IV-2- Le dosage des protéines totales	19
IV-3- Le dosage de la créatinine	20
IV-4- Le dosage de l'urée	20
IV-5- Le dosage de cholestérol total	20
IV-6- Le dosage des transaminases (ASAT, ALAT):	20
V- Paramètres du stress oxydatif	20
V-1- Dosage plasmatique de la vitamine C	20
V-2- Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC)	20

V-3- Détermination du taux d'hydropéroxydes.....	21
V-4- Détermination des protéines carbonylées.....	22
V-5- Dosage du malondialdehyde (MDA).....	22
V-6- Détermination de l'activité de l'enzyme antioxydant catalase (CAT)	22
VI- Analyse statistique	23
RÉSULTATS	24
DISCUSSION.....	58
CONCLUSION.....	72
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	75

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Fruits de <i>Citrullus colocynthis</i>	11
Figure 02 : plan d'expérimentation.....	17
Figure 03: Changement dans le poids corporel des rats recevant les différents régimes.....	25
Figure 04: Histogrammes représente le poids des rats recevant les différents régimes à la fin de huitième semaine de régime.....	26
Figure 05: Histogramme représente le poids de foie des rats recevant les différents régimes.....	32
Figure 06: Histogramme représente le poids de reins des rats recevant les différents régimes.....	32
Figure 07: Histogramme représente le poids de testicules des rats recevant les différents régimes.....	33
Figure 08: Histogramme représente le poids de tissus adipeux épидидymal des rats recevant les différents régimes.....	33
Figure 09: Histogramme représente le poids de tissus adipeux abdominal des rats recevant les différents régimes.....	34
Figure 10: Histogramme représente le poids de tissus adipeux périrénal des rats recevant les différents régimes.....	34
Figure 11: Histogrammes représente le taux d'insulinémie des rats recevant les différents régimes.....	36
Figure 12: Histogramme représente le taux de glucose sanguins des rats recevant les différents régimes.....	36
Figure 13: Histogramme représente le taux de Triglycéride sanguins des rats recevant les différents régimes.....	37
Figure 14: Histogramme représente le taux de cholestérol sanguins des rats recevant les différents régimes.....	37
Figure 15: Histogramme représente le taux de LDL cholestérol sanguins des rats recevant les différents régimes.....	38
Figure 16: Histogramme représente le taux de HDL cholestérol sanguins des rats recevant les différents régimes.....	38
Figure 17: Histogramme représente le taux de VLDL cholestérol sanguins des rats recevant les différents régimes.....	39

Figure 18: Histogramme représente le taux des protéines total sanguins des rats recevant les différents régimes.....	39
Figure 19: Histogrammes représente le taux d'Albumine sanguins des rats recevant les différents régimes.....	40
Figure 20: Histogrammes représente le de l'urée sanguins des rats recevant les différents régimes.....	40
Figure 21: Histogramme représente le taux d'acide urique sanguins des rats recevant les différents régimes.....	41
Figure 22: Histogrammes représente le taux de créatinine sanguins des rats recevant les différents régimes.....	41
Figure 23: Histogramme représente l'enzyme hépatique (ALP) des rats recevant les différents régimes.....	43
Figure 24 : Histogramme représente l'enzyme hépatique (LDH) des rats recevant les différents régimes.....	43
Figure 25 : Histogramme représente l'enzyme hépatique (GOT) des rats recevant les différents régimes.....	44
Figure 26: Histogramme représente l'enzyme hépatique (GPT) des rats recevant les différents régimes.....	44
Figure 27: Histogramme représente le taux des lipides totaux hépatiques des rats recevant les différents régimes.....	46
Figure 28: Histogrammes représente le taux de cholestérols hépatiques des rats recevant les différents régimes.....	46
Figure 29: Histogramme représente le taux des triglycérides hépatiques des rats recevant les différents régimes.....	47
Figure 30: Histogrammes représente le taux de MAD plasmatiques des rats recevant les différents régimes.....	49
Figure 31: Histogramme représente le taux de protéines carbonylés plasmatiques des rats recevant les différents régimes.....	49
Figure 32: Histogramme représente le taux de la vitamine c plasmatiques des rats recevant les différents régimes.....	50
Figure 33: Histogramme représente le taux de l'ORAC plasmatiques des rats recevant les différents régimes.....	50

Figure 34: Histogramme représente le taux de l'hydroperoxyde plasmatique des rats recevant les différents régimes.....	51
Figure 35: Histogramme représente le taux des diènes conjugués plasmatiques des rats recevant les différents régimes.....	51
Figure 36: Histogrammes représente le taux de catalase plasmatique des rats recevant les différents régimes.....	52
Figure 37: Histogrammes représente le taux de SOD plasmatique des rats recevant les différents régimes.....	52
Figure 38: Histogramme représente le taux de Glutathion plasmatiques des rats recevant les différents régimes.....	53
Figure 39: Histogramme représente le taux de MDA hépatiques des rats recevant les différents régimes.....	54
Figure 10: Histogramme représente le taux des protéines carbonylés hépatiques des rats recevant les différents régimes.....	54
Figure 41 : Histogrammes représente le taux des hydroperoxydes hépatiques des rats recevant les différents régimes.....	56
Figure 42 : Histogrammes représente le taux de catalase hépatiques des rats recevant les différents régimes.....	56
Figure 43 : Histogramme représente le taux de SOD hépatiques des rats recevant les différents régimes.....	57
Figure 44 : Histogramme représente le taux de Glutathion réduit hépatiques des rats recevant les différents régimes.....	57

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Composition des régimes expérimentaux.....	15
Tableau 02 : Composition des huiles an acides gras.....	16
Tableau 03 : Bilan nutritionnel; poids corporel; quantité d'aliment et calorie ingéré.....	28
Tableau 04 : Quantité des fécès, lipids fecal et coefficient digestive des lipids.....	30

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AET : Apport énergétique total	HOMA : Homeostasis Model Assessment of insulin resistance
AGMI : Acides gras monoinsaturés	HT : Huile de tournesol
AGPI : Acides gras polyinsaturés	HYDP : Hydroperoxydes
AGPI-LC : Acides gras polyinsaturés à longue chaîne	IGFs : Insulin-like growth factors
AGS : Acides gras saturés	IL : Interleukine
AGT : Acides gras trans	IMC : Indice de Masse Corporelle
ALA : Acide Alpha linoléique	IR : Insulino-résistance
ALAT : Alanine aminotransferase	LA : Acide linoléique
AMPc : Adénosine monophosphate cyclique	LDL : Low density lipoprotein
ARA : Acide arachidonique	MCV : Maladie cardiovasculaire
ASAT : aspartate aminotransférase	MDA : Malondialdehyde
AVC : Accident vasculaire cérébral	NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
BMI : Body Mass Index	OMS : Organisation mondiale de la santé
CPG : Chromatographie en phase gazeuse	ORAC : Pouvoir antioxydant total du plasma
CT : Cholestérol total	PC : Poids corporel
CUDL : Coefficient d'utilisation digestive des lipides	PCAR : Protéines carbonylées
DGLA : Acide dihomog- γ -linoléique	PPAR : Peroxisome Proliferator-Activated Receptors
DHA : Acide docosahexaénoïque	ROS : Espèces réactives de l'oxygène
DNPH : Dinitrophénylhydrazine	SNC : Système nerveux central
DOHaD : Developmental Origins of Health and Disease	SO : Stress oxydatif
DTPA : Di-ethylenetriaminepentaacetic acid	SOD : Superoxyde dismutase
EMAG : Ester méthylique d'acides gras	STZ : Streptozotocine
Eliza : Enzyme Linked Immuno Sorbent Essay	TBA : Acide thiobarbiturique
EPA : Acide eicosapentaénoïque	TCA : Trichloroacétique
FAMEs : Fatty acids methyl esters	

GOD : Glucose oxydase

GSH : Glutathione réduit

GSH-PX : Glutathion peroxydase

H2O2 : Peroxyde d'hydrogène

HC : Huile de coloquinte

HDL: High density lipoprotein

HFD : Régime hyperlipidique

TG : Triglycérides

TNF : Facteur de nécrose tumorale

TPP : Triphenylphosphine

VLDL: Very low density lipoprotein

4-HHE : 4-hydroxy hexenal

4-HNE : 4-hydroxy-nonéanal

Avant propos

Les travaux qui ont fait l'objet de cette présente thèse ont été réalisés dans le laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA), Faculté SNV-STU, Université Abou beker Belkaïd, Tlemcen- Algérie.

Ce mémoire porte sur la valorisation des plantes médicinales utilisées traditionnellement pour le traitement de l'obésité qui est désormais l'un des problèmes de santé les plus préoccupant dont les mécanismes physiopathologique est loin d'être pleinement compris jusqu'à l'heure actuelle, aussi que la recherche des nouvelles substances à activité antiadipogénique qui constituent aujourd'hui une des plus grandes préoccupations scientifiques, devant la complexité métabolique de la maladie et son importante prévalence mondiale.

Les huiles végétales issues de plantes médicinales ont reçu un grand intérêt pour la recherche des composés naturels bioactifs, ces huiles riches en acides gras polyinsaturés qui peuvent lutter contre l'obésité ou ces complications.

Le fruit de coloquinte « *citrullus colocynthis* » est bien connu par ses propriétés médicinales, ces grains contiennent presque 16 % d'huile fixe. Plusieurs recherches scientifiques déduites à partir des études expérimentales ont confirmé l'amplitude de l'activité thérapeutique de cette huile.

L'objectif de notre étude est de mettre en évidence l'effet protecteur et/ou correcteur des esters méthyliques d'acides gras d'huile de la coloquinte sur l'obésité, pour se faire des rats mâles de souche wistar rendus obèses par des régimes hypergras et recevant des suppléments en ester méthyliques, après deux mois de régime des dosages biochimiques on a réalisé afin de comparer les effets de ces extraits.

Introduction générale

Introduction

L'alimentation exerce une grande influence sur notre état de santé, une alimentation variée et équilibrée est la meilleure manière d'apporter à notre organisme la totalité des nutriments (vitamines, sels minéraux et macronutriments), un excès ou déficit de ces derniers contribuant à la survenue de diverses pathologies. **(Potier de Courcy et al., 2003)**. Les macronutriments alimentaires sont constitués par les glucides les protéides et les lipides, qui représentent les substrats énergétiques et structuraux nécessaires au fonctionnement de l'organisme. Ces composés, ingérés en quantités importantes, subissent diverses étapes métaboliques, qui nécessitent la présence des vitamines et minéraux intervenant comme cofacteurs dans des réactions chimiques **(Tomé, 1994)**.

Les équilibres métaboliques dépendent ainsi des conditions physiologiques et physiopathologiques des individus, la nature des macronutriments représente un élément intervenant, avec des facteurs génétiques et d'environnement, dans diverses déviations métaboliques pathologiques chroniques (diabète, athérosclérose, obésité) **(Tomé 1994)**.

Actuellement, l'industrialisation et l'urbanisation croissantes induit le mode de vie et le régime alimentaires qui se caractérise par une consommation d'aliments à forte densité énergétique, à teneur élevée en graisses, en particulier saturées. Ces dernières participent à la survenue des maladies chroniques comme l'obésité qui deviennent des causes de décès **(Destandau, 2015)**.

L'obésité, définie par un excès de masse grasse ayant des conséquences néfastes pour la santé, qui a progressé de manière conséquente ces dernières années, à tel point que l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a qualifié ce phénomène d'épidémie en 2003 **(WHO, 2015)**. **Twells et al., 2014** ont démontré que la prévalence de l'obésité a plus que doublé depuis 1980. En 2014, l'OMS recense 13% de la population mondiale déclarée obèse (Indice de Masse Corporelle -IMC- ≥ 30), tandis que 39% des adultes âgés d'au moins 18 ans affichaient un surpoids (IMC ≥ 25). En 2013, 42 millions d'enfants de moins de 5 ans étaient en surpoids ou obèses, avec un taux d'augmentation de 30% plus important dans les pays développés comparés aux pays en voie de développement **(WHO, 2015)**.

En France, l'obésité concernait 15 % des adultes en 2012, contre seulement 6,1 % en 1980, lors du Congrès européen sur l'obésité à Prague en 2015, l'OMS a rendu publics les chiffres prédictifs de l'obésité de l'adulte, en Europe, en 2030. Il est estimé que l'obésité concernera 28 % des femmes et 24 % des hommes en France. Ces chiffres sont la conséquence de l'épidémie d'obésité infantile observée entre 1980 et 2000. (**Faucher et al., 2015**)

L'ensemble des études menées à la fois dans les pays industrialisés et en voie de développement indiquent une augmentation rapide de la prévalence de l'obésité et du surpoids, cette pathologie a atteint le seuil épidémique et on estime aujourd'hui à près de 1,9 milliards d'adultes de plus de 18 ans sont en surpoids, et 600 millions sont obèses (**OMS, 2015**).

Les dernières estimations de L'IASO (International Association for the Study of Obesity) montre que la prévalence du surpoids et de l'obésité est de 61,7% chez les hommes et de 47,1% chez les femmes, soit, 17,2% des hommes et 16,7% des femmes sont obèses (L'IASO, 2007) (**IASO, 2007**)

L'épidémie d'obésité, dans les pays en voie de développement, touche environ 115 millions de leurs habitants. Au Maroc et en Tunisie, l'obésité touche 13 à 14% de la population et 37,7 % en Mauritanie (**Kemali, 2003**). Une étude plus récente faite au Maroc a conclu une prévalence de l'obésité qui a atteint 3,7% chez les hommes et 20,5% chez les femmes (**Ndiaye, 2007**). En Algérie. La prévalence de l'obésité était significativement élevée chez les femmes à $30,1 \pm 2$ % en comparaison aux hommes qui étaient de $13,3 \pm 2,0$ %. (**Atek et al, 2013**).

L'indice de masse corporelle (IMC) qui est une mesure simple du poids corporel par rapport à la taille est couramment utilisé. Il correspond au poids divisé par le carré de la taille, exprimé en kg/m². L'OMS définit le surpoids comme un IMC égal ou supérieur à 25 et l'obésité comme un IMC égal ou supérieur à 30. La classification de l'OMS distingue 4 types d'obésité selon l'IMC en termes de sévérité : obésité type I ou modérée, pour un IMC entre 30,0 et 34,9 kg/m², obésité type II ou sévère pour un IMC entre 35 et 39,9 kg/m², et obésité type III ou massive pour un IMC supérieur à 40 kg/m². Il est montré en effet que plus l'IMC augmente, plus le risque de mortalité s'élève. (**Valerie et al, 2007**)

L'obésité est caractérisée par un groupe de phénotypes pathologiques (stéatose hépatique, hypertension, hyperlipidémie) dont les deux principaux sont la résistance à l'insuline et l'accumulation excessive de tissu adipeux viscéral (**Tchernof et Després, 2013**) qui relèvent

du syndrome métabolique (**Hawkesworth , 2013**), accompagnés d'une inflammation systémique chronique de faible niveau. Même s'il convient de considérer tous les stades de l'obésité (**Flegal et al., 2013**), l'augmentation de la prévalence de l'obésité générale est un facteur de risque pour les maladies non transmissibles (**WHO, 2015**) telles que les maladies cardiovasculaires (principale cause de mortalité en 2012), le diabète, les désordres musculo squelettiques et certains cancers.

D'autres pathologies sont associées au développement de l'obésité et de l'insulinorésistance, l'infarctus du myocarde (**Kenchaiah et al., 2002**), les accidents vasculaires cérébraux (AVC), les artériopathies diffus et autres complications propres à ces états pathologiques (**Benfante et al., 1994**). Les dyslipidémies, associées au syndrome métabolique en lien avec un dysfonctionnement hépatique, renforcent le risque vasculaire. (**Despres, 1991 ; Pouliot et al., 1991**).

Les problèmes respiratoires liés à l'obésité sont avant tout les problèmes d'hypoventilation alvéolaire et les apnées du sommeil (**Young et al., 1990**).

Il existe également une relation entre excès de poids et certains cancers. Ainsi, chez l'homme, les incidences des cancers gastriques, prostatiques et rénaux sont majorées chez l'obèse tandis que chez la femme le même phénomène est observé pour les cancers mammaires et utérins. (**Baren-Engquist et al., 2011**)

Il existe une hérédité indéniable de l'obésité ,70 % des patients obèses ont un parent obèse. Si un des parents présente une obésité massive (IMC ≥ 40 kg/m²), le risque d'obésité dans la descendante est multiplié par 5 (**Drummond et al., 2013**). Cependant, cette transmission familiale ne suffit pas pour affirmer une transmission génétique car les membres d'une même famille partagent non seulement des gènes, mais aussi un type d'alimentation, un contexte socioculturel et un style de vie (**Drummond et al., 2013**).

Par ailleurs, des arguments épidémiologiques, d'études d'intervention et de biologie moléculaire suggèrent l'existence de « gènes d'épargne », qui favoriseraient le stockage des apports énergétiques en cas d'excès. (**Pauline et al., 2015**).

L'étiologie est complexe, et implique également des facteurs environnementaux et sociologiques comme la sédentarisation, le développement des techniques agroalimentaires ou l'évolution des comportements. Ces facteurs ont ainsi favorisé une plus grande consommation, tout en dépensant moins de calories, ce qui a engendré une balance énergétique positive (**Bergouignan , 2010**). En dépit du rôle récent attribué aux glucides

(Tappy *et al.*, 2010), les études ont depuis longtemps montré l'association avec un apport excessif en lipides (Bray *et al.*, 1998).

Le tissu adipeux (TA) est un facteur central de la régulation métabolique et ses principales fonctions sont régulées par l'action de nombreuses adipokines produites par les adipocytes. Les connaissances sur la physiologie et la physiopathologie du tissu adipeux se sont considérablement accrues ces dernières années. De par ses fonctions métaboliques et son rôle endocrine avéré, le tissu adipeux est apparu comme un organe central de l'homéostasie métabolique (Böhme *et al.*, 2015).

Les adipocytes s'hypertrophient (augmentent de volume) par accumulation des lipides. Lorsqu'ils ont atteint leur volume maximal, ils ont la capacité de recruter de nouvelles cellules et par conséquent l'augmentation de nombre (hyperplasie) (Böhme *et al.*, 2015).

Le tissu adipeux est un véritable organe endocrine qui joue un rôle crucial dans la régulation de la balance énergétique ainsi que dans la médiation des complications métaboliques et cardiovasculaires associées à l'obésité. Parmi les nombreuses substances sécrétées par les adipocytes, l'angiotensinogène et l'angiotensine II, l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1, l'adiponectine et la résistine semblent participer à la pathogenèse de l'hypertension, des accidents thrombotiques et de la résistance à l'insuline associée à l'excès de graisse viscérale (Gaillard, 2003).

De plus, l'activité augmentée de la 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 dans le tissu gras viscéral contribue très activement à la présence de hautes concentrations de cortisol dans ce tissu, participant ainsi à la distribution de la graisse de l'organisme et aux risques cardiovasculaires. Toutes ces observations devraient permettre le développement prochain de nouvelles stratégies dans le traitement de l'obésité et de ses comorbidités (Gaillard, 2003).

Depuis la découverte en 1994 que les adipocytes produisent de la leptine, un peptide qui joue un rôle essentiel dans la régulation hypothalamique du poids corporel (Zhang Y *et al.*, 1994 ; Campfield *et al.*, 1995 ; Flier *et al.*, 1995) le tissu adipeux n'est plus considéré comme un simple lieu de stockage de l'énergie sous forme de triglycérides, mais comme un véritable organe endocrine. En effet, le tissu adipeux produit non seulement de la leptine, mais il sécrète encore de nombreux autres peptides qui exercent des effets autocrines, paracrines et/ou endocrines. Parmi ces substances appelées aussi adipocytokines, nous mentionnerons l'angiotensinogène, l'angiotensine II, l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1), l'adiponectine, la résistine, l'interleukine 6 (IL-6), le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) et

les prostaglandines . La majorité de ces substances jouent un rôle dans la physiopathologie des comorbidités de l'obésité, telles que l'hypertension artérielle, les complications thrombotiques, métaboliques et cardiovasculaires, les réactions inflammatoires et les atteintes du système immunitaire. **(Gaillard, 2003)**

L'angiotensinogène et l'angiotensine II participent non seulement au développement du tissu adipeux **(Ailhaud et al., 2002)** mais y produits en excès par le tissu adipeux des patients obèses, ces peptides sont également présent dans la circulation sanguine et semblent intervenir dans la pathogenèse de l'hypertension artérielle liée à la surcharge pondérale, L'adiponectine II est d'une protéine de 247 acides aminés dont les concentrations plasmatiques sont très diminuées en cas d'excès de tissu adipeux **(Scherer et al., 1995)** Les concentrations plasmatiques sont plus élevées chez la femme que chez l'homme. D'une manière générale, les concentrations plasmatiques d'adiponectine sont inversement proportionnelles à l'importance de la masse grasse **(Berg et al., 2002 ; Stefan et al., 2002)** En cas d'obésité, la diminution des taux d'adiponectine induit une insulino-résistance, laquelle peut être corrigée par l'administration d'adiponectine. **(Yamuchi et al., 2001)**

La résistine, une adipocytokine de 114 acides aminés, qui a été identifiée en 2001, porte ce nom en raison de sa capacité d'induire une insulino-résistance sévère chez la souris **(Steppan et al., 2011; Steppan et al., 2002)**. Les taux circulants de résistine sont élevés chez les souris atteintes d'obésité génétique (ob/ob et db/db), ou induite par un régime riche en graisse. **(Steppan et al 2002)**.

La leptine est principalement exprimée dans le tissu adipeux bien qu'elle soit également produite en plus faible quantité dans d'autres organes comme le placenta, le muscle et le cerveau.

Les rôles physiologiques et physiopathologiques de la leptine étant relativement bien connus aujourd'hui **(Harris, 2000 ; Pralong et Gaillard, 2001)** et ses effets sur le contrôle de la prise alimentaire et sur celui de la reproduction.

En effet la complexité de la régulation du poids corporel présente un défi important pour comprendre l'étiologie de l'obésité et à l'élaboration des stratégies pour traiter et/ou prévenir. Si le traitement vise à terme à la perte pondérale, l'objectif primaire pourra être déjà la stabilisation du poids et la correction des erreurs, qu'elles soient alimentaires ou du style de vie ou encore la réduction du risque des complications **(De Bandt, 2004)**. Une approche

thérapeutique multidisciplinaire intégrant médecins nutritionnistes, psychiatres, endocrinologues, gastro-entérologues et chirurgiens afin d'établir des stratégies. La prise en charge médicale globale, les conseils concernant l'alimentation et l'activité physique sont des prescriptions qui nécessitent une surveillance et un soutien au long cours thérapeutiques adaptées à chaque patient (**Boirie, 2009**).

A l'heure actuelle, la recherche de nouveaux médicaments s'appuie encore largement sur la chimie de synthèse, mais aussi sur les ressources naturelles des plantes médicinales utilisées en médecines traditionnelles comme alternative (**Swantson- Flatt et al., 2004**). Aussi des efforts étaient intéressés au développement des nouvelles cultures oléagineuses qui pourrait être utilisées pour la nourriture, et pour des fines industrielles et médicinales. (**Schafferman et al., 1996**). Une enquête de l'Organisation mondiale de la santé a indiqué qu'environ 70 à 80% de la population mondiale dépend de la médecine non conventionnelle, principalement à base de plantes médicinales, pour leurs soins de santé primaire. C'est particulièrement le cas dans les pays en développement où le coût de la consultation d'un médecin de style occidental et le prix des médicaments dépassent les moyens de la plupart des gens (**Dyson, 1998 ; Chan, 2000**). Il existe des centaines de médicaments importants et de composés biologiquement actifs développés à partir des plantes médicinales traditionnelles. La plante a montré un large éventail d'activités pharmacologiques incluant les effets antimicrobiens, antioxydants, anticancéreux, anti-inflammatoire, antipyrétique analgésique et de nombreux autres effets pharmacologiques (**Al-Snafi, 2015 ; Al-Snafi 2016**).

L'une des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle en Algérie c'est la coloquinte *Citrullus colocynthis* L. schard appartient à la famille des cucurbitacées originaires de l'Asie tropicale et l'Afrique, elle est ainsi largement répandue dans la région saharo-arabique en Afrique et dans la région méditerranéenne (**El magoli et al., 1979**) elle est connue localement sous le nom de "Handhal" ou "Hdejj", elle est également appelée pastèque sauvage, pomme amère, courge amère et concombre amer (**Zamani et al., 2007**). Le fruit de cette espèce est largement répandu en médecines naturelles, la coloquinte possède diverses propriétés thérapeutiques. Elle utilisée dans le traitement des infections uro-génitales, comme anti inflammatoire contre les hémorroïdes, et comme plante hypoglycémiant. (**Schafferman et al., 1998 ; Adam et al., 2001**) hypolipidique et anti obésité (**Ali Esmail ,2016**). Les graines de cette plante sont riches en huiles (avec un rendement d'environ 17 %) et en protéines (**Al-khalifa, 1996**).

Par conséquent, *C. colocynthis* peut être placé en tant qu'une plante oléagineuse à des fins médicinale, alimentaire et non alimentaire, son huile contient l'acide oléique (14,78%), de l'acide palmitique (9,74%), de l'acide stéarique (7,37%), et l'acide linoléique (66,73%) qui est un acide gras essentiel, qui rend cette huile médicalement précieuse. Le profil des acides gras de l'huile de graines révèle qu'elle tombe dans la catégorie de l'acide linoléique-oléique huiles est ressemblé à plusieurs autres huiles végétales, L'analyse thermogravimétrique a montré que l'huile était thermiquement stable jusqu'à 286,57° C. (**Imededdine et al., 2012**)

L'huile de *Citrullus colocynthis*, comme d'autres huiles de graines de cucurbitacées, est susceptible d'avoir un potentiel d'utilisation comme huile de cuisson (**Schafferman et al., 1998**). Il faut signaler que la composition de l'huile de graines de cette plante était similaire à celle de l'huile de carthame, avec un total de 80-85% d'acides gras insaturés. Une étude rapportant la caractérisation physico-chimique et la composition en acides gras de l'huile fixe des graines a révélé que c'est une bonne source d'antioxydants naturels comme l' α -tocophérol, γ -tocophérol et β -carotène (**Kalhor et al., 2002**).

L'acide linoléique et l'acide linoléique sont des acides gras essentiels et ne peuvent être synthétisés par l'Homme ou l'Animal, nécessaires à certaines fonctions de l'organisme et qui doivent donc être apportés dans les lipides alimentaire. Il est important de noter qu'ils ne peuvent être remplacés l'un par l'autre, ils n'ont pas le même caractère d'essentialité (**Lemarchal, 1992**). Ces deux classes d'acides gras polyinsaturés (oméga-3 et oméga-6) se distinguent métaboliquement et physiologiquement. De plus, leurs propriétés différents. Les acides gras oméga-6 et leurs dérivés métaboliques tendent à être pro-inflammatoires et induisent la prolifération du tissu adipeux, les acides gras oméga-3 et leurs dérivés ont un effet protecteur (**Simopoulos, 2006**).

L'acide linoléique et les AGE en n-6 ont un effet hypocholestérolémiant. Plus précisément, ils tendent à abaisser la teneur du plasma sanguin en cholestérol transporté par les LDL du foie vers les tissus périphériques. Ils sont indispensables à l'agrégation plaquettaire à la différenciation des cellules épidermiques et à l'intégrité de la peau, qu'à la spermatogénèse et à la contraction des muscles lisses de l'utérus lors de la parturition. Ils modulent l'excrétion de l'eau et du sodium par les reins, le débit sanguin des coronaires et la puissance de la contraction cardiaque. Ils sont nécessaires aux phosphorylations oxydatives mitochondriales

(production d'énergie) et la réponse immunitaire (**Simopoulos, 2006**) L'acide linoléique et AGE en n-3 semblent jouer des rôles moins diversifiés que les précédents. Ils sont nécessaires à la réponse rétinienne (acuité visuelle) et, d'après des expériences sur le Rat, favorisent l'aptitude à l'apprentissage. En outre, les AGPI en n-3 ont un effet hypotriglycéridémiant et modérateur sur l'agrégabilité plaquettaire chez l'Homme et l'Animale (**Simopoulos, 2006**). Ainsi, la stabilité d'un ratio n-6 : n-3, est essentielle pour maintenir l'équilibre des fonctions métaboliques. Cependant, ce ratio a augmenté au fil de l'évolution dans les sociétés occidentales, passant de 1:1 à 16:1 quand l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments a fixé une recommandation de 5:1 pour ce ratio en 2002 (**AFSSA, 2002**). Ce déséquilibre est principalement dû à l'enrichissement de la diète en oméga-6 (maïs, huile de carthame etc.) et occasionne un certain nombre de désordres métaboliques, d'où l'importance de consommer des oméga-3 pour rétablir le ratio n-6 : n-3 (**Simopoulos, 2016**).

Les acides gras peuvent être administrés chez l'animale sous forme d'esters méthyliques d'acide gras (EMAG), qui sont des esters organiques aliphatiques préparés principalement par la réaction d'un acide carboxylique dérivé de graisses et d'huiles naturelles et de méthanol. Ils sont utilisés dans diverses applications d'additifs alimentaires directs et indirects, y compris la déshydratation des raisins pour produire des raisins secs, des agents aromatisants synthétiques et des lubrifiants métalliques pour des articles métalliques destinés au contact alimentaire. Les esters méthyliques d'acides gras sont également utilisés comme intermédiaires dans la fabrication de divers ingrédients alimentaire (**A Kenneth Lough et al., 1966**).

Les esters méthyliques d'acides gras supérieurs dérivés du suif, de l'huile de noix de coco, de l'huile de palme et de l'huile de palme, entre autres graisses et huiles, sont largement utilisés comme compléments lipidiques dans l'alimentation animale depuis de nombreuses années aux Etats-Unis et en Europe, Les esters méthyliques d'acides gras ont été administrés à des animaux de laboratoire sans effets toxiques (**Raymond Reiser et al., 1956**)

Les esters méthyliques d'acides gras sont métabolisés comme les autres graisses alimentaires. Les esters aliphatiques de plus haut poids moléculaire sont facilement hydrolysés en l'alcool et l'acide correspondant est généralement oxydé en dioxyde de carbone et en eau par métabolisme bien connu de la décomposition en fragments de carbone utilisés

par l'organisme pour l'énergie et les blocs de synthèse. Pendant la digestion, ils sont hydrolysés en acides gras libres pour être absorbés par l'intestin dans la circulation sanguine grâce aux enzymes lipases et aux sels biliaires, comme il a été démontré chez le rat (**Mattson FH et al.,1972**).

Une fois formés, les acides gras libres sont métabolisés par des processus oxydatifs connus ou ils sont reconstitués en esters de glycérides et stockés dans les dépôts de graisse dans le corps.

Nous nous sommes intéressées à la coloquinte qui peut offrir des nouvelles perspectives thérapeutiques contre l'obésité et de leurs complications.

De ce fait, le présent travail est consacré à l'étude des différentes conséquences métabolique et nutritionnels décroché par l'obésité induite chez le rat wistar par un régime hyperlipidique. Il a pour objectifs :

1. La détermination des effets des régimes hyperlipidiques sur l'évolution pondérale et les paramètres biochimiques sériques et aux niveaux des organes ainsi que le stress oxydatif.
2. L'étude de l'effet d'huile de la coloquinte et les esters méthyliques d'acide gras d'huile comme facteur régulateur et/ ou correcteur de syndrome métabolique lié à la consommation des régimes hypergras.

Matériels et méthodes

Notre protocole expérimental s'articule sur trois parties :

1. Extraction de l'huile de coloquinte;
2. Préparation des esters méthyliques à partir d'huile de la coloquinte
3. Expérimentation qui permet l'évaluation de l'effet de l'huile de coloquinte et esters méthyliques d'acide gras d'huile de la coloquinte chez des rates rendus obèses ayant reçu un régime hyper-gras.

I. Matériel végétal

I.1. Description de la plante

La plante étudiée est la coloquinte « *Citrullus colocynthis* »originaire des sols arides et très fréquente dans les régions tropicales humides ou modérément sèches, elle est peu présente dans les zones tempérées. C'est une plante herbacée, elle appartient à la famille des Cucurbitacées. C'est une espèce annuelle, à tiges angulaires rampantes ou migrantes, munies de fleurs jaune verdâtre à sexes séparés, pédonculées. Les feuilles sont larges de 5 à 7 lobes. Chaque plante produit 15 à 30 fruits appelés gourdes de 8 à 12 cm de diamètre, dont la couleur varie du jaune au roux, garnis de pulpe intérieure spongieuse dans laquelle se fixent des graines petites de 6 mm de longueur, brunes lisses, d'une amertume excessive (Savithramma et al., 2007).

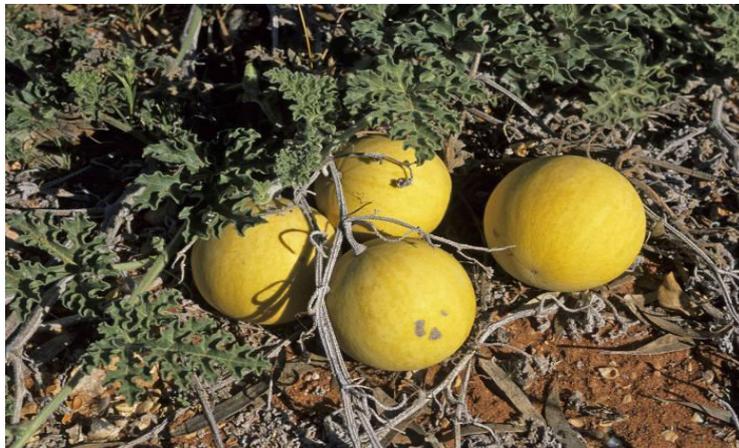


Photo de Leif & Anita Australie 1999

Figure 01: Fruits de *Citrullus colocynthis*

I.2 Extraction de l'huile de coloquinte

Les fruits utilisés au cours de notre étude sont collectées de la région de BECHAR (sud-ouest Algérien). Au laboratoire, les graines sont récupérées à partir des fruits séchés, et l'extraction de l'huile de coloquinte est réalisée comme suite :

- les graines entières sont séchées dans une étuve à l'abri de la lumière et broyées à l'aide d'un broyeur électrique (RETSCH RM 100); afin d'obtenir une poudre.
- à partir de cette poudre, on prépare des cartouches filtrant.
- L'extraction se fait par un appareil de Soxhlet en présence de l'hexane qui est le solvant le plus efficace, le temps d'extraction est 2 heures.
- La matière grasse est séparée du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif (Laborato 4000, Heichlph), l'huile est ainsi récupéré et conservée à 4°C à l'abri de la lumière afin d'éviter toute oxydation. Le rendement est d'environ 17%.

NB : L'huile de tournesol utilisée est ramenée du commerce (cevital : fleurial).

II. Préparation des esters méthylique d'acide gras (EMAG) d'huile de la coloquinte

II.1. Obtention des acides gras (saponification)

Dans un ballon de 250 ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, sont introduits 3.4 g d'huile, 15 ml d'éthanol et 3 g d'hydroxyde de sodium (NAOH). L'ensemble est porté à reflux pendant 1h 15 min. Après évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif. Récupérer la matière grasse et extraire la phase aqueuse avec l'éther diéthylique (15 ml) par décantation, ensuite en élimine l'éther diéthylique par évaporation pour obtenir les acides gras (**Gaston et al., 1996**).

II.2. Estérification des acides gras :

Dans un ballon de 250 ml surmonté d'un réfrigérant en introduit 3 g d'acides gras et 25 ml de méthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant 2 heures. Après refroidissement à température ambiante en transverse le mélange dans 300 ml de l'eau glacée. La phase aqueuse est extraire ensuite 4 fois avec 25 ml de chloroforme. En ajoute le Na₂SO₄ ou MgSO₄ qui permet d'absorber les molécules d'eau et après évaporation du chloroforme un liquide d'ester méthylique d'acides gras est obtenu. (**Angé et Bouget, 2008**).

II. Matériel Biologique

II.1. Choix des animaux

Les expériences *in vivo* de l'effet d'huile de la coloquinte et EMAG ont été réalisés sur des rats mâle de souche « Wistar » (provenant de l'institut pasteur d'Alger, Algérie) élevés à

l'animalerie du département de Biologie de l'université de Tlemcen. Les animaux ont été maintenus en conditions contrôlées de température ($22 \pm 1^\circ\text{C}$). Les rats sont nourri par un régime standard de type EI ALF et boivent l'eau de robinet ad libitum.

Trent (30) rats mâles ont été utilisés dans ce travail, d'un poids moyen au début de 85 ± 5 g et âgés de 21 jours après souvrage de leurs mamans, ont repartie ensuite en 6 groupes de 5 rats par cage, chacun des groupes recevant un régime spécifique (Tableau 1) pendant 8 semaines.

La quantité d'aliment ingérée ainsi que la quantité des fèces excrétées par les rats de différents régimes sont prises durant la première, quatrième, cinquième et huitième semaine de l'expérimentation.

L'obésité expérimentale chez les rates est provoquée par un régime hypergras à 32% d'huile de tournesol.

La composition des différents régimes ainsi que la composition des huiles en acides gras sont détaillées dans le Tableau 1 et le Tableau 2 respectivement.

Tableau 1 : Composition des régimes expérimentaux

Constituents (g/100g)	Régime1 4 % HT	Régime 2 32 % HT	Régime 3 4%HC	Régime4 4% HC+ 28% HT	Régime5 4% EMAG	Régime6 4% EMAG+ 28 % HT
Caséine	16	16	16	16	16	16
Méthionine	0.3	0.3	0.3	0.3	03	03
amidon	60.33	28.7	60.33	2.7	2.7	2.7
Saccharose	05	05	05	05	05	05
Cellulose	05	05	05	05	05	05
Sels minéraux	07.35	07.35	07.35	07.35	7.35	7.35
Vitamines	02	02	02	02	02	02
Huiles	04	32	04	32	4	4
Total	100	100	100	100	100	100
Valeurs énergétiques (Kcal/100g)	371.88	517.48	371.88	517.48	371.88	517.48

Tableau 2 : Composition des huiles an acides gras

% des acides gras		
	Huile de Tournesol	Huile de Coloquinte
Acide myristique	0	0.8
Acide palmitique	15.5	8.1
Acide stearique	5	6.1
Acide oleique	63	7.8
Acide linolenique	1.8	0.5
Acide linoleique	12.8	76.4
Acide arachidonique	1.9	0.3

II.2. Préparation des régimes et protocole expérimental

Les rats de 6 lots (**Figure 2**) recevant des régimes spécifiques pendant 2 mois dont la composition des régimes est comme suit :

Groupe 1: groupe contrôle, les rats reçoivent un régime à base de 4 % d'huile de tournesol;

Groupe 2: groupe obèse, les rats reçoivent un régime hypergras (HG) à base de 32 % d'huile de tournesol;

Groupe 3: les rats reçoivent un régime à base de 4 % d'huile de coloquinte;

Groupe 4: les rats reçoivent un régime hypergras (HG) à base de 28 % d'huile de tournesol et 4 % d'huile de coloquinte;

Groupe 5: les rats reçoivent un régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acides gras d'huile de la coloquinte.

Groupe 6: les rats reçoivent un régime hypergras (HG) à base de 28 % d'huile de tournesol et 4 % d'ester méthylique d'acides gras d'huile de la coloquinte.

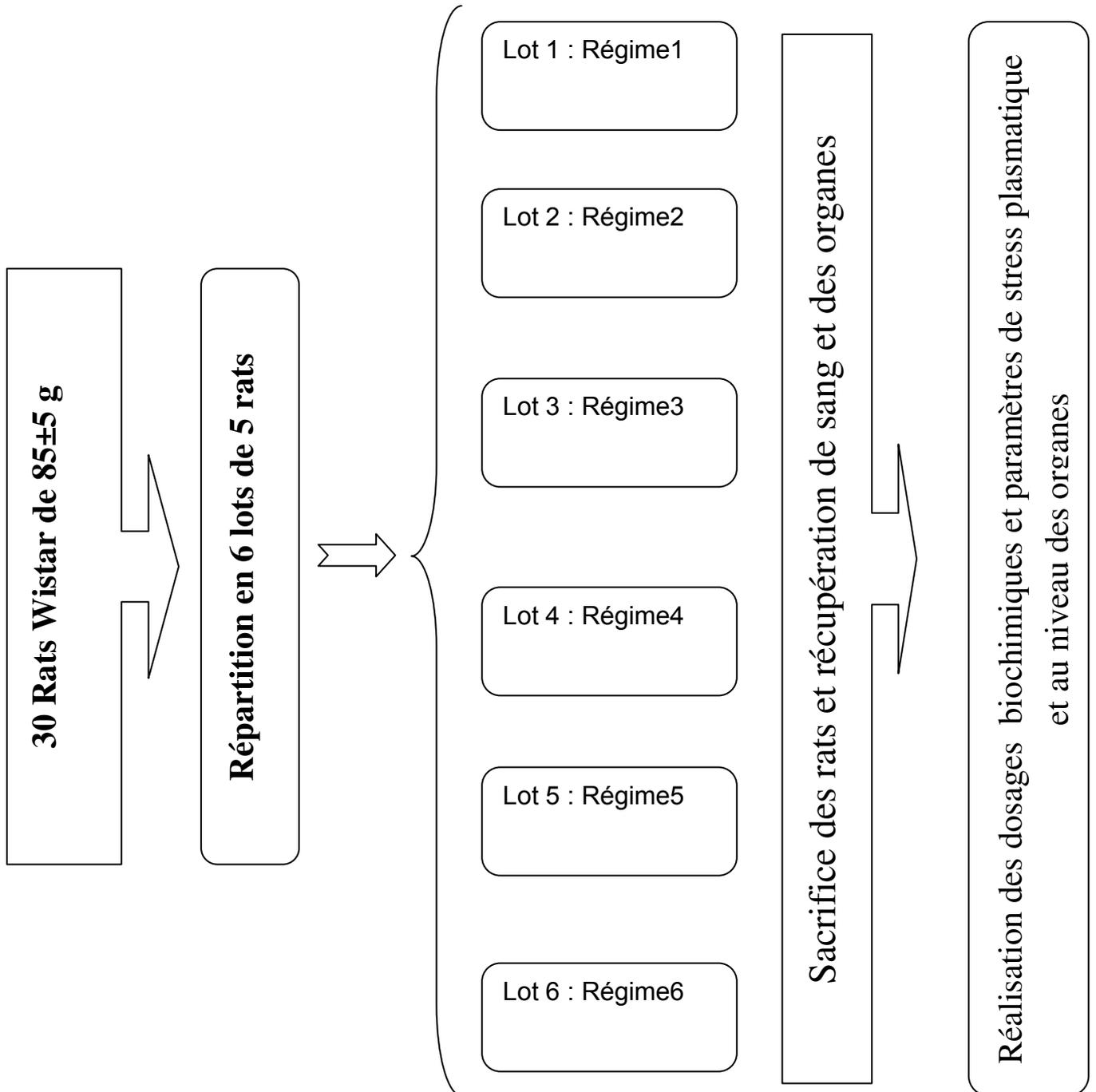


Figure 2 : Plan d'expérimentation

II.3. Sacrifice et prélèvements de sang et d'organes

A j 60, les rats de chaque lot sont anesthésiés par une injection intra-péritonéale de chloral hydraté (MERCK) à 10% puis sacrifiés après 12 heures de jeûne. Suite à une laparotomie latérale, le sang est prélevé à partir de l'artère abdominale à l'aide d'un cathéter (PE50) puis recueillie dans des tubes EDTA et centrifugé à 3000 tr/min pendant 15 min à 4°C (centrifugeuse réfrigérée type eppendorf 5702R). Le plasma est récupéré afin d'effectuer les différents dosages biochimiques (glucose, protéines totales, créatinine, urée, cholestérol total, des triglycérides, transaminases et magnésium) et les différents paramètres du stress oxydatif (vitamine C, protéines carbonylées, malondialdéhydes, le taux des enzymes antioxydants (hydroperoxydes et catalase). Les érythrocytes restants sont lavés 3 fois de suite à l'eau physiologique, puis sont lysés par addition de l'eau distillée glacée et incubation 15 minutes dans la glace. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 5000 t/min pendant 5 minutes. Le lysat est ensuite récupéré afin de doser les enzymes antioxydants érythrocytaires, malondialdéhydes, le taux des hydroperoxydes et les protéines carbonylées. Après prélèvement sanguin, les organes (foie, pancréas, reins, testicules, cerveau, cœur) sont immédiatement prélevés, rincés à l'eau physiologique (9g/l NaCl) ensuite pesés. Une partie aliquote des différents organes est immédiatement broyée dans le tampon Tris (20mM Tris-HCl, 0.14M NaCl, pH7.4). Les homogénats sont utilisés pour la détermination des différents paramètres du statut antioxydant. Le reste des organes sont conservés à -20°C, en vue des dosages biochimiques.

III. Bilans lipidiques

III.1. Détermination des lipides fécaux

Au cours des semaines des bilans (semaine 1, 4, 5 et 8), les fèces sont récoltées, pesées puis séchées dans l'étuve pendant 24 heures. Après les avoir broyées et placées dans des cartouches en papier filtre, l'extraction de la matière grasse fécale a été faite à l'aide d'un appareil Soxhlet pendant deux heures par le Chloroforme pur

Le taux des lipides fécaux est calculé selon la formule suivante :

$$T(\%) = \frac{p1-p2}{p1} \times 100$$

p1: poids du cartouche avant l'extraction

p2: poids du cartouche après l'extraction

III.2. Calcul de coefficient d'utilisation digestive des lipides

Le CUDL c'est la capacité de l'animal d'absorber et d'utiliser les lipides alimentaires ingérés. Il se calcule selon la formule suivante :

$$\text{CUDL}(\%) = \frac{\text{lipides ingérés} - \text{lipides fécaux}}{\text{lipides ingérés}} \times 100$$

IV. Analyses biochimiques

IV.1. Le dosage de glucose : est réalisé en déposant une goutte de sang sur une bandelette réactive (GOD, POD) et la lecture se fait à l'aide d'un glucomètre (ackuchek Active). Les valeurs moyennes de la glycémie sont exprimées en g/l.

IV-2. Le dosage des protéines totales : est réalisé par la méthode colorimétrique de Biuret (Kit Biosystems) et le taux de protéines totales est exprimé en g/l.

IV-3 Le dosage de la créatinine : est réalisé selon la méthode de **Jaffé (1886)** par le picrate alcalin, (Kit Biosystems). Les valeurs sont exprimées en mg/l

IV-4 Le dosage de l'urée : est déterminé par la méthode enzymatique de l'uréase-Berthelot (Kit Biosystems). Les résultats sont exprimés en g/l.

IV-5 Le dosage de cholestérol total et des triglycérides : est réalisé par des méthodes enzymatiques (Kit Biolabo). Les valeurs moyennes sont exprimées en g/l.

IV-6 Le dosage des transaminases (ASAT, ALAT): est réalisé au niveau de (CHUT), service de biochimie par un automate de type Beckman par une méthode enzymatique grâce au malate-déshydrogénase pour les ASAT et lactate-déshydrogénase pour les ALAT. Les valeurs sont exprimées en UI/l.

V. Paramètres du stress oxydatif :

V.1. Dosage plasmatique de la vitamine C :

Les concentrations en vitamine C plasmatique sont déterminées selon la méthode de (**Jacota et Dani, 1982**) utilisant le réactif de folin ciocalteau et une gamme étalon d'acide ascorbique. Après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (10 %) et centrifugation, le surnageant est incubé en présence du réactif de coloration folin ciocalteau dilué pendant quinze minutes à 37°C. La vitamine C présente dans le plasma réduit le réactif de Folin donnant une coloration jaune. La lecture de l'absorbance est réalisée à une longueur d'onde de 769 nm. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration

en vitamine C présente dans l'échantillon. La concentration exprimée en $\mu\text{g} / \text{ml}$ est déterminée à partir d'une courbe étalon obtenue grâce à une solution d'acide ascorbique.

V-2 Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC)

Le pouvoir antioxydant total du plasma, c'est à dire sa capacité à absorber les radicaux oxygénés libres (ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity) est estimé par la capacité des hématies à résister à l'hémolyse induite par les radicaux libres *in vitro* en présence du plasma, selon la méthode de (Blache, 1992). Cette méthode est basée en fonction du temps sur le suivi de l'hémolyse des globules rouges induite par un générateur de radicaux libres. Il s'agit de soumettre une suspension d'hématies à une agression radicalaire dans des conditions strictement contrôlées, et standardisées. Tous les systèmes enzymatiques et chimiques de l'échantillon se mobilisent pour protéger l'intégrité des cellules jusqu'à leur lyse. Ainsi, l'hémolyse se fait graduellement en fonction du temps. La mesure de l'augmentation de l'absorbance à 450 nm toutes les 5 minutes permet de suivre la cinétique de l'hémolyse. L'addition d'une quantité déterminée d'un antioxydant, vitamine E (Trolox) ou vitamine C (acide ascorbique) permet de neutraliser une quantité de radicaux libres dans le milieu d'incubation et permet ainsi la protection des globules rouges contre l'attaque des radicaux libres et l'hémolyse. La courbe de cinétique de lyse des globules rouges est déviée et un décalage de la courbe est observé en fonction du temps. Le plasma contient plusieurs systèmes de défenses antioxydantes et permet aussi la protection des globules rouges contre l'attaque radicalaire. En présence du plasma, un décalage de la courbe de la cinétique d'hémolyse des globules rouges est aussi observé.

Le pouvoir antioxydant total du plasma représente la capacité du plasma à neutraliser les radicaux libres générés *in vitro* (ORAC) et donc à freiner l'hémolyse des globules rouges attaqués, donc indirectement ralentir l'augmentation de la densité optique à 450 nm. Afin de permettre une quantification de ce pouvoir antioxydant total, l'utilisation des antioxydants purifiés (Trolox, Vitamine C) à concentrations connues permet l'étalonnage. Ainsi, une unité ORAC correspond à la surface de protection donnée par $1\mu\text{M}$ Trolox ou $2\mu\text{M}$ Vitamine C (concentration finale). L'ORAC de chaque échantillon de plasma est calculé en mesurant la surface S de protection nette sous la courbe cinétique de l'hémolyse.

Ainsi : $\text{ORAC échantillon} = (\text{S Blanc} - \text{S Echantillon}) / (\text{S Blanc} - \text{S Antioxydant})$, où S = Aire calculée sous la courbe cinétique de l'hémolyse ; Antiox = Trolox ($1\mu\text{M}$) ou Vitamine ($2\mu\text{M}$).

V.3. Détermination du taux d'hydroperoxydes

Les hydroperoxydes plasmatiques, érythrocytaires et d'homogénats d'organes sont mesurés par l'oxydation d'ions ferriques utilisant le xylénol orange (Rockford, IL, USA) en conjugaison avec le ROOH réducteur spécifique de la triphenylphosphine (TPP), selon la méthode de (NOUROOZ-ZADEH *et al.*, 1996). Cette méthode est basée sur une peroxydation rapide transformant le Fe^{2+} en Fe^{3+} en milieu acide. Les ions Fe^{3+} en présence du xylénol orange [(O-cresolsulfonphtalein-3',3''-bis (methyliminodiacetic acid sodium)], forment un complexe Fe^{3+} -xylénol orange. La mesure de l'absorbance de ce complexe coloré se fait à 560 nm. Le taux d'hydroperoxydes plasmatiques, érythrocytaires ou tissulaires correspond à la différence entre l'absorbance de l'échantillon et l'absorbance du blanc.

V.4. Détermination des protéines carbonylées

Les protéines carbonylées plasmatiques ou érythrocytaires ou tissulaires (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées par la réaction au 2,4- dinitrophénylhydrazine selon la méthode de (LEVINE *et al.*, 1990). Le plasma ou le lysat ou l'homogénat d'organes est incubé 1h à température ambiante en présence de la dinitrophénylhydrazine (DNPH). Les protéines sont par la suite précipitées avec l'acide trichloroacétique (TCA) et lavées par l'éthanol: ethylacetate 1:1 (v/v) et par le TCA. Le culot est solubilisé dans la guanidine 6M. L'absorbance de la solution est mesurée au spectrophotomètre à 370 nm. La concentration des groupements carbonylés est calculée selon un coefficient d'extinction $\epsilon = 21,5(\text{mmol/l cm}^{-1})$.

V-5 Dosage du malondialdehyde (MDA)

Le malondialdehyde (MDA) est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique. Ce dosage est réalisé selon la méthode de (NOUROOZ-ZADEH *et al.*, 1996), considérée comme étant une méthode simple, rapide et sensible permettant l'évaluation de la peroxydation des lipides des tissus animaux. Après traitement acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromo génique consistant en deux molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à 532 nm. La concentration en MDA plasmatique, érythrocytaire ou tissulaire donnée par $\mu\text{mol/l}$, est calculée en utilisant une courbe étalon de MDA ou le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm).

V.6. Détermination de l'activité de l'enzyme antioxydant catalase (CAT) :

Cette activité enzymatique est mesurée au niveau du lysat érythrocytaire et de l'homogénat du foie, par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (AEBI, 1974). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H₂O₂ en fonction du temps. Le milieu réactionnel contient le lysat érythrocytaire ou l'homogénat de foie (source catalase), H₂O₂ (le substrat), et le tampon phosphate (50mmol/l, pH 7,0). Après incubation de 5 min, le réactif titanium oxyde sulfate (TiOSO₄) est ajouté. La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du H₂O₂ restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon du H₂O₂ avec le tampon phosphate et le réactif TiOSO₄ de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0,5 à 2mmol/l.

Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :

$$A = \log A1 - \log A2.$$

A1 est la concentration de H₂O₂ de départ

A2 est la concentration de H₂O₂ après incubation (au bout de 5 min)

L'activité spécifique est exprimée en U/g Hb ou en U/ml.

VI- Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreurs standards. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre plusieurs groupes différents est réalisée par le analyse de variance Anova à un facteur. Cette analyse est complétée par le test du Turkey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Cette analyse est réalisée grâce à un logiciel Minitab version 16.

Résultats

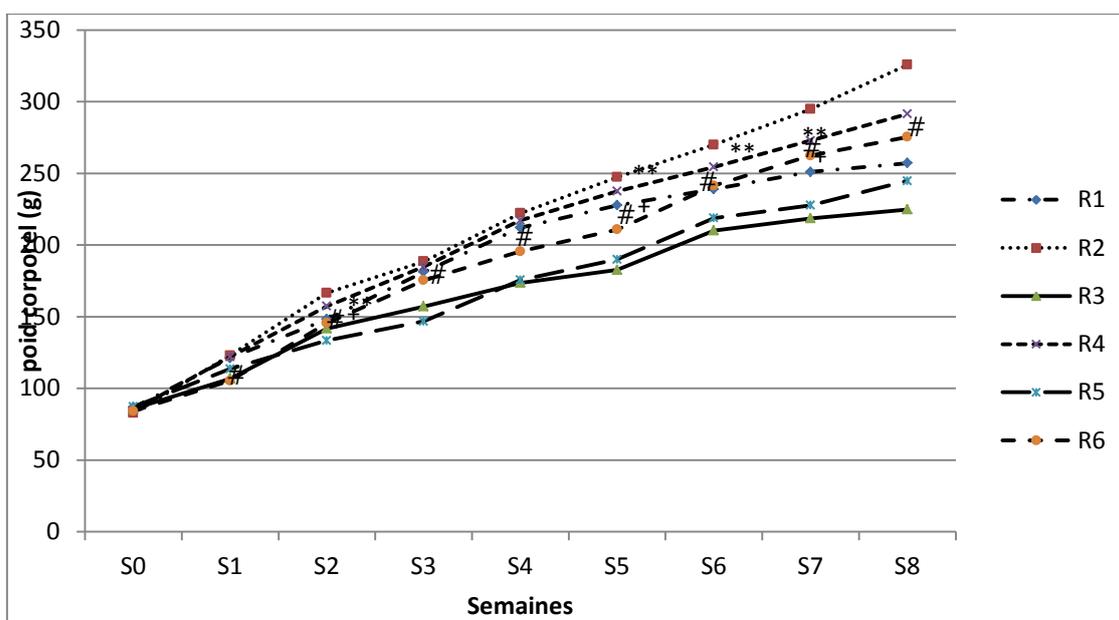
Résultats

1. Poids corporel et bilans lipidiques

1.1 Evolution du poids corporel moyen, quantité moyenne d'aliment ingéré apport énergétique :

L'évolution du poids corporel pendant les huit semaines d'expérimentation est représenté dans les **figures 03 et 04**. Tous les régimes hyperlipidique ont entraîné une prise de poids par rapport au régime témoin. Par contre, la supplémentation en HC et EMAG (**R4 et R6**) entraîne une diminution significative de poids par rapport au groupe (**R2**).

Le poids des rats recevant le régime **R6** à base de 4 % d'EMAG diminue significativement par rapport aux rats soumis aux régimes **R3** à base de 4 % HC et même par rapport aux rats témoins (**R1**). (**Figure 03**).



Les résultats sont exprimés en moyennes \pm ES.

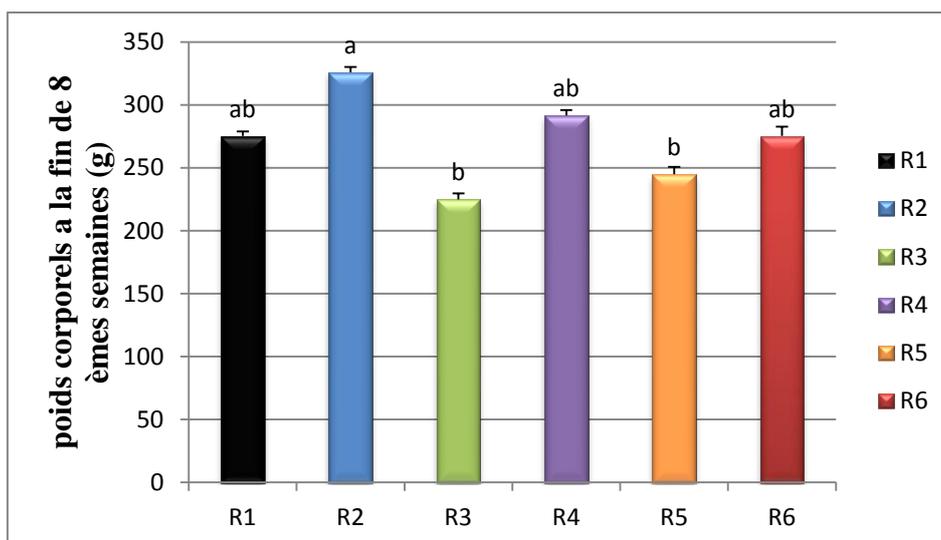
*, ($p < 0,05$): différence significative entre régime standard et obèses.

** ($p < 0,01$): différence significative entre régimes obèses et régimes supplémentés.

La comparaison des moyennes est effectuée par le test « t » de student après analyse des variances.

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 03: Changement dans le poids corporel des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 04: Histogramme représente le poids des rats reçoivent les différents régimes à la fin de huitième semaine de régime.

1.2 . Quantité moyenne d'aliment ingéré et valeur énergétique :

La quantité moyenne d'aliment ingéré par les rats est légèrement différente d'un régime à l'autre grâce à la densité énergétique de régime. Les rats reçoivent des régimes qui ont un apport énergétique élevé total AET (hypercalorique) (**R2, R4, R6**) consomment moins que ceux qui reçoivent des régimes à faible AET (isocalorique) (**R1, R3, R4**).

De plus, les rats ayant reçus un régime à base d'huile de la coloquinte et EMAG d'huile de la coloquinte ont ingéré une quantité significativement inférieure aux groupes de rats **R1, R2**. Par ailleurs, la prise alimentaire chez les rats soumis aux régimes isocaloriques (**R1, R3 et R5**) reste stable par rapport aux autres régimes, pendant toute l'expérimentation à l'exception de la première semaine (**Tableau 03**).

On remarque aussi que l'apport énergétique total (AET) chez les rats de (**R1**) significativement plus élevé par rapport aux autres régimes, même par rapport aux rats de (**R2**) recevant les régimes hypercalorique.

Tableau03: Bilan nutritionnel, poids corporel, quantité d'aliment et calories ingérées

	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Poids corporel des rats (g)						
Poids corporel initial	86,8±3,15	88±2,54	85,8±2,45	82,8±1,63	87,2±1,85	84,2±1,88
Poids corporel final	279,2±4,49	319,8±5,73	224,8±4,96	278,8±4,35	225,6±7,05	275,4±7,28
Gain de poids (S0-S8)	192,4	231,8	139	196	138,4	191,2
Quantité d'aliment ingéré g/rat/jour						
Semaine 1	21,42±1,34	13,57±1,7	10,78±1,98	15,85±0,99	12,85±1,62	10,33±0,2
Semaine 4	21±1,25	17,77±0,77	15,71±1,11	20,71±1,69	8,58±0,75	15,24±0,4
Semaine 5	26,14±1,75	19,52±0,42	20,51±0,53	12,36±0,18	9,56±0,99	13,51±0,53
Semaine8	29,57±0,85	17,37±0,1	18,5±0,37	9,81±0,17	10,89±0,36	9,62±0,29
Calories ingérées Kcal/rat/jour						
Semaine 1	79,65±4,98	70,22±8,79	40,08±7,36	82,02±5,12	47,78±6,02	53,45±1,03
Semaine 4	78,09±4,64	91,95±3,98	58,42±4,12	107,17±8,74	31,9±2,78	78,86±2,06
Semaine 5	97,2±6,50	101,01±2,17	76,27±1,97	63,96±0,93	35,55±3,68	69,91±2,74
Semaine 8	109,96±3,16	89,88±2,17	68,79±1,37	50,71±0,87	40,49±1,33	49,78±1,05

1.3 Quantité moyenne des lipides et des acides gras ingérés

La quantité moyenne des lipides ingérés chez l'ensemble des rats reçoivent le régime hypercalorique (**R2, R4 et R6**) est significativement supérieur à celle des rats reçoivent les régimes à base de 4 % HT, HC et EMAG d'HC, respectivement. Par ailleurs, la quantité ingérée par les rats nourris par les régimes hyperlipidiques à base d'huile de tournesol est plus importante que celle chez le groupe des rats reçoivent les régimes hypergras à base des huiles de coloquinte et EMAG d'huiles de coloquinte, (**Tableau 03**).

1.4 Quantité moyenne des fèces et des lipides excrétés

La quantité moyenne des fèces chez tous les groupes de rats suit une diminution en fonction de temps ainsi que des lipides éliminés par ces rats sauf pour le groupe R8 où la quantité de fèces augmente pendant la huitième semaine. Cependant, chez le groupe de rats reçoivent le régime hypercalorique, la quantité de lipides excrétés reste significativement la plus importante par rapport aux autres groupes. Par ailleurs, les quantités des fèces et des lipides excrétés par les rats reçoivent les régimes hyperlipidiques **R2, R4, R6** sont supérieures à celles des rats recevant les régimes isocaloriques **R1, R3, R5**, respectivement (**Tableau 04**).

1.5 Coefficient d'utilisation digestive des lipides CUDL

Les CUDL chez les rats recevant les régimes hypercaloriques à base des différentes huiles à savoir, tournesol, coloquinte et EMAG d'HC sont significativement supérieurs à ceux des rats reçoivent les régimes isocaloriques. Par ailleurs, aucune différence n'a été notée en comparant ces quatre régimes hypergras (**Tableau 4**).

Tableau 04: Quantité des feces, lipides fécal et coefficient digestive des lipides

Bilans		R1	R2	R3	R4	R5	R6
BI	Lipides fécal	0,41	0,1	0,2	0,21	0,12	0,08
	CUDL	51,76	97	53,48	95,85	76,74	97
BII	Lipides fécal	0,2	0,15	0,27	0,17	0,09	0,23
	CUDL	76,19	97	56,45	97	73	95
BIII	Lipides fécal	0,5	0,1	0,32	0,2	0,16	0,19
	CUDL	51,92	98	60,49	94	56	95,6
BVI	Lipides fécal	0,46	0,12	0,35	0,19	0,09	0,06
	CUDL	56,6	97,84	52,7	93,94	76	98

2. poids des organes et des tissus adipeux

Les changements dans les poids des organes (foie, rein et testicules,) sont représentés par les **figures 05, 06, et 07**, respectivement. On note que le poids du foie est significativement élevé chez les rats obèses *versus* les rats témoins qui sont positivement corrélé au poids corporel. On note aussi et seulement pour le foie une diminution significative dans le régime 4 et 6 ($p < 0,05$) en comparaison avec le groupe obèse.

Une augmentation significative a été notée pour les régimes **R5** et **R6** concernant le poids des testicules par rapport aux autres groupes.

Une augmentation significative a été notée pour les régimes isocaloriques en ce qui concerne le poids relatif des reins.

Dans les **figures 08, 09 et 10**, on note que les poids des tissus adipeux épидидymal, abdominal, et périrénal sont significativement élevés chez les rats obèses *versus* les rats témoins qui sont positivement corrélés au poids corporel.

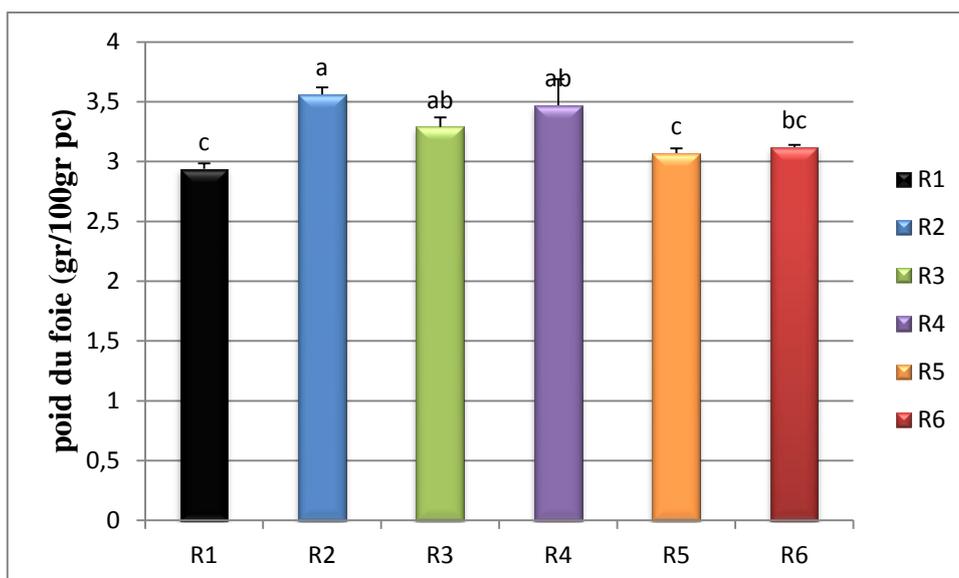
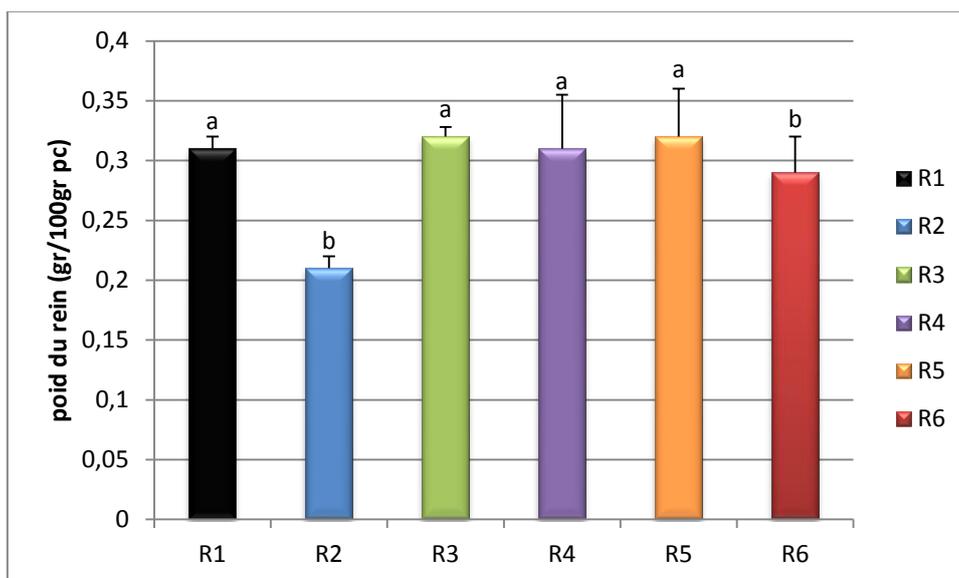


Figure 05: Histogramme représente le poids de foie des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 06: Histogramme représente le poids de reins des rats reçoivent les différents régimes.

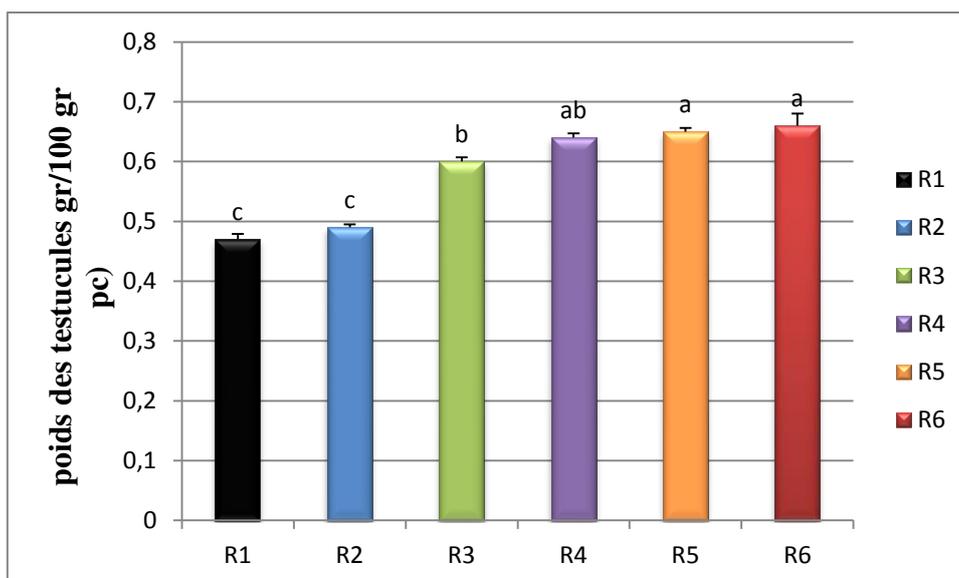
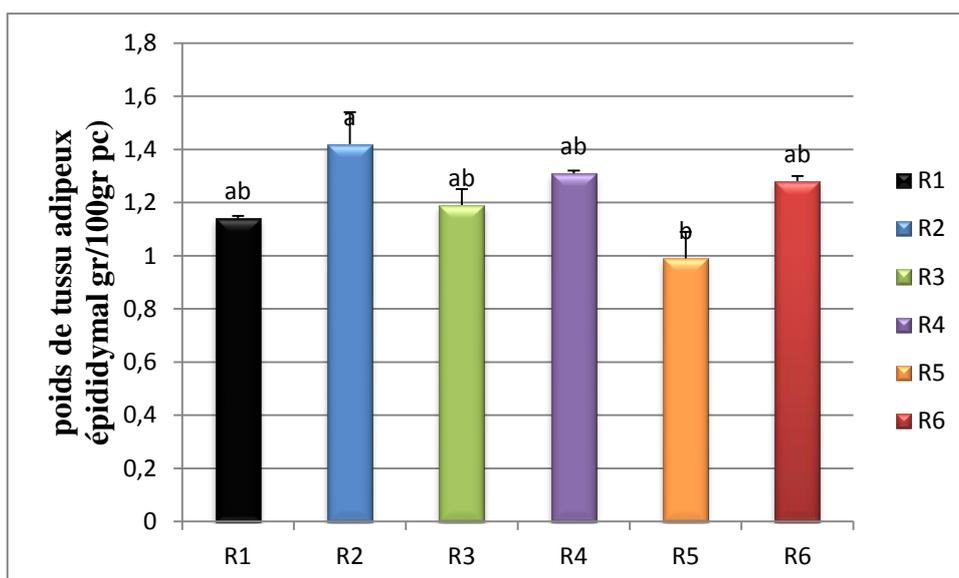


Figure 07: Histogramme représente le poids de testicules des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG); **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras.

Figure 08: Histogramme représente le poids de tissus adipeux épидидymal des rats reçoivent les différents régimes.

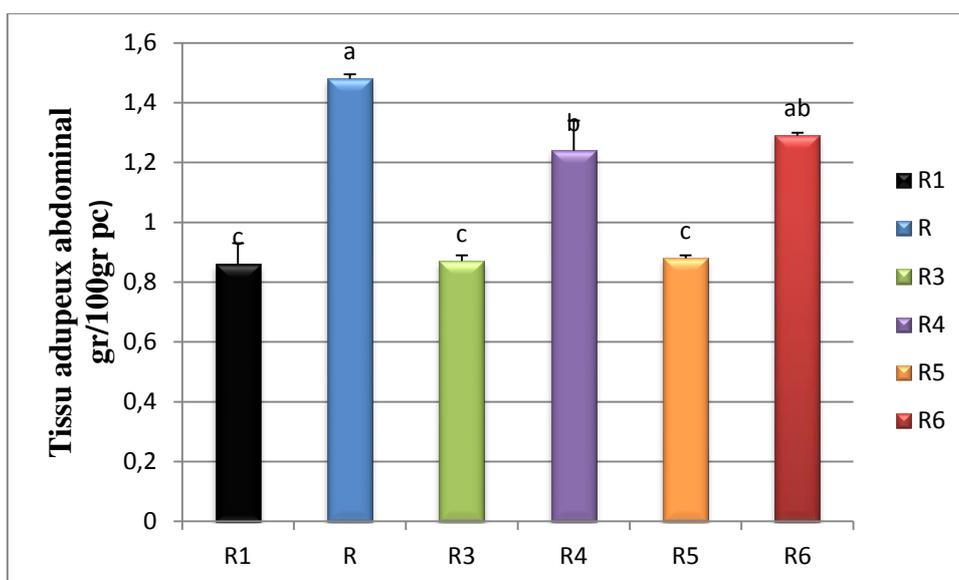
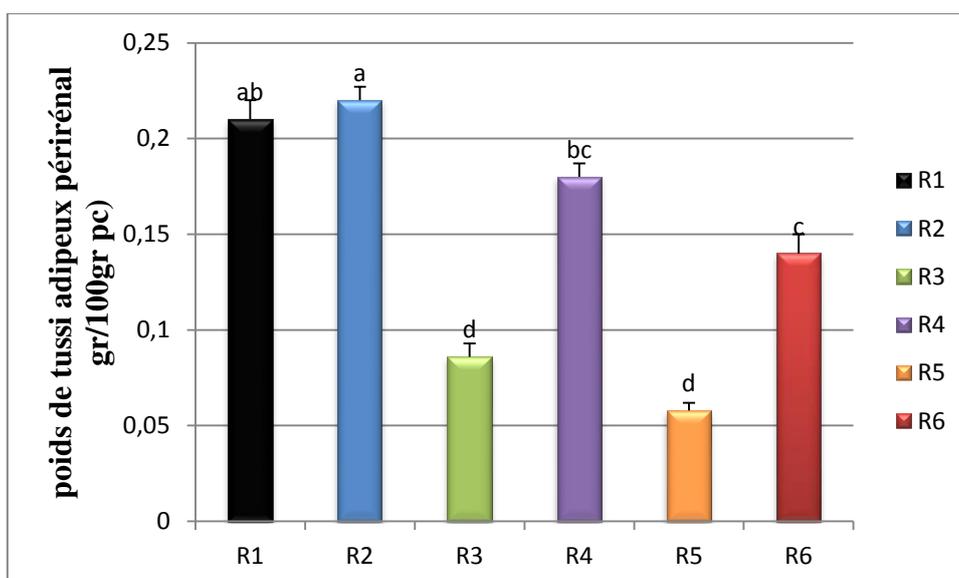


Figure 09: Histogramme représente le poids de tissus adipeux abdominal des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 10: Histogramme représente le poids de tissu adipeux périrénal des rats reçoivent les différents régimes.

3. Paramètres biochimiques sériques :

Au cours de notre étude nous avons évalué l'effet de la supplémentation quotidienne par l'huile de la coloquinte et EMAG d'HC pendant huit semaines, sur les variations des taux de certains paramètres biochimiques sanguins : glycémie, insulïnémie ; cholestérol total, triglycérides ; HDL-C, LDL-C et VLDL-C ; les protéines totales, l'albumine et la globuline ; l'urée, la créatinine et l'acide urique. Les résultats obtenus chez les différents groupes de rats de cette étude sont représentés dans les histogrammes des **Figures 11 à 22**, respectivement.

Pour la glycémie, les résultats sont significativement plus élevés dans le groupe du régime HG par rapport au groupe témoins ($p < 0,01$), mais il tendance à diminué de façon significative ($p < 0,05$) pour les rats consomment l'huile de coloquinte (**R3/R4**) et le groupe de rats ayant reçu les EMAG d'HC (**R5/R6**) par rapport au autres groupes. Aussi, le taux de l'insuline après huit semaines d'expérimentation, reste significativement élevé chez les rats reçoivent les régimes à HG par rapport aux rats reçoivent les régimes isocalorique d'une part, d'autre part le taux est diminué chez les rats reçoivent les régimes à base d'huile et EMAG d'HC.

Chez les rats obèses, les taux de cholestérolémie et de triglycéridémie ont significativement augmenté par rapport au groupe de rats témoins (**R1**). On observe que les deux huiles influencent ces deux paramètres en les diminuant par rapport au régime des rats obèses. Les concentrations de HDL-C ont tendance à augmenter dans les groupes traités (**R4** et **R6**), tandis que le C-LDL a diminué de manière significative.

Les protéines totales et le taux d'albumine diminue en comparaison avec des rats des autres groupes.

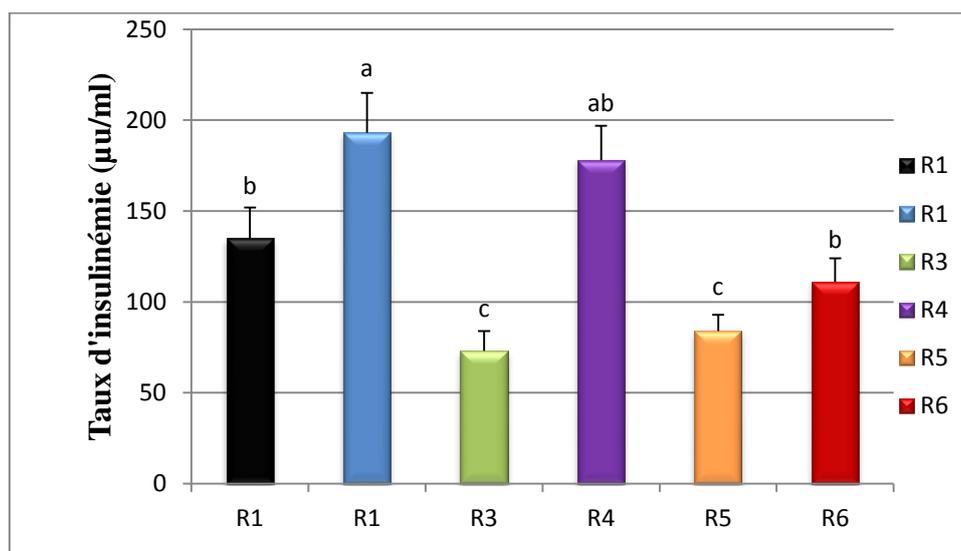


Figure 11: Histogrammes représente le taux d'insulinémie des rats reçoivent les différents régimes.

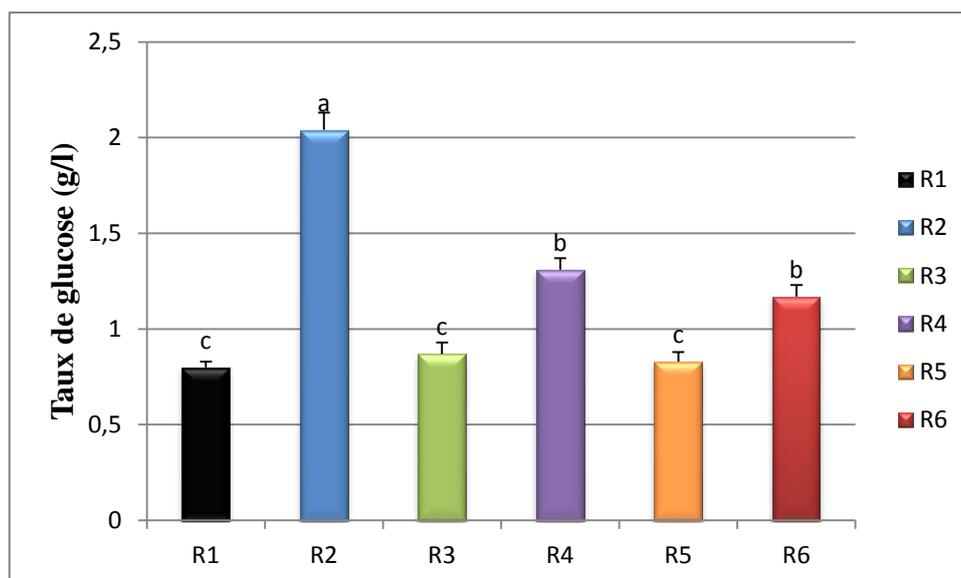
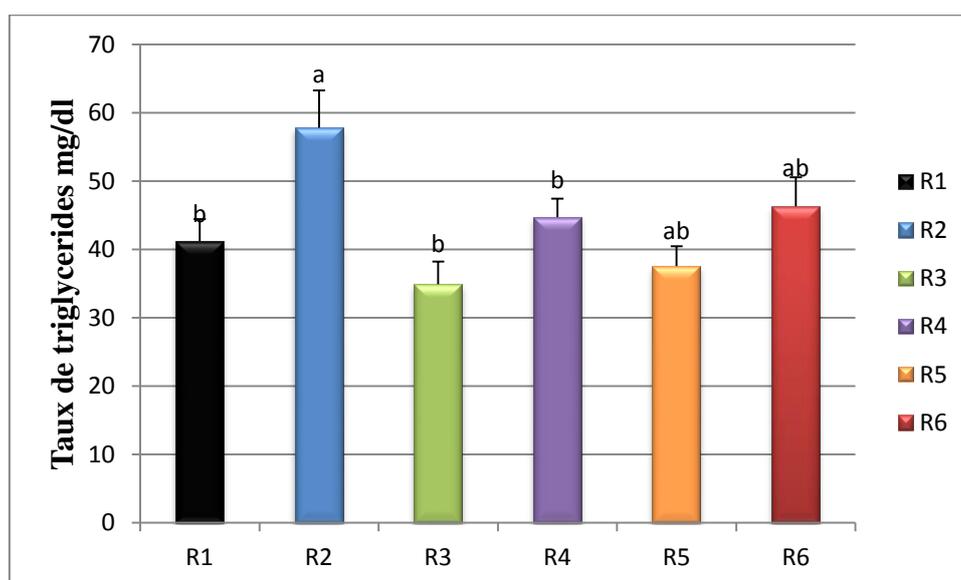


Figure 12: Histogramme représente le taux de glucose sanguins des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 13: Histogramme représente le taux de Triglycéride sanguins des rats reçoivent les différents régimes.

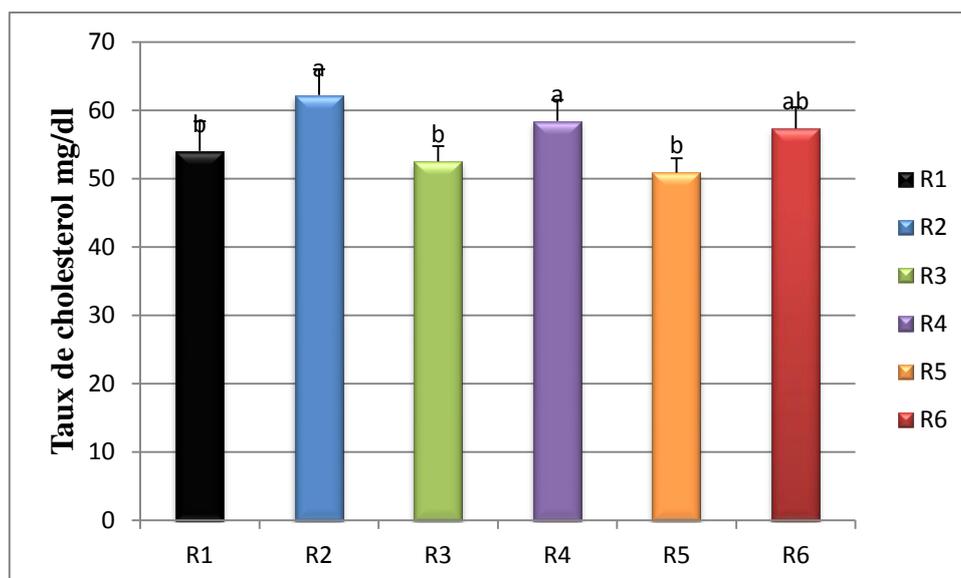
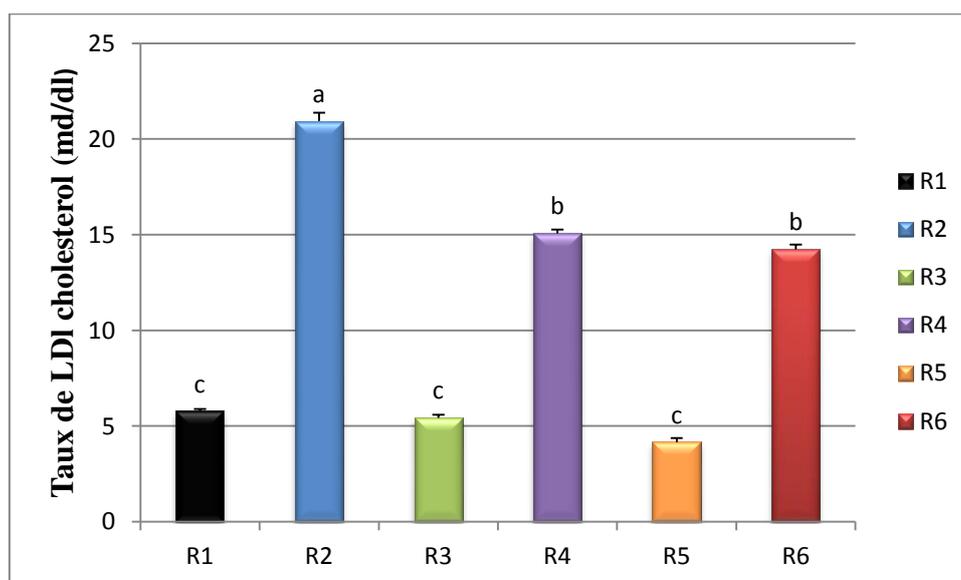


Figure 14: Histogramme représente le taux de cholestérol sanguin des rats reçoivent les différents régimes.

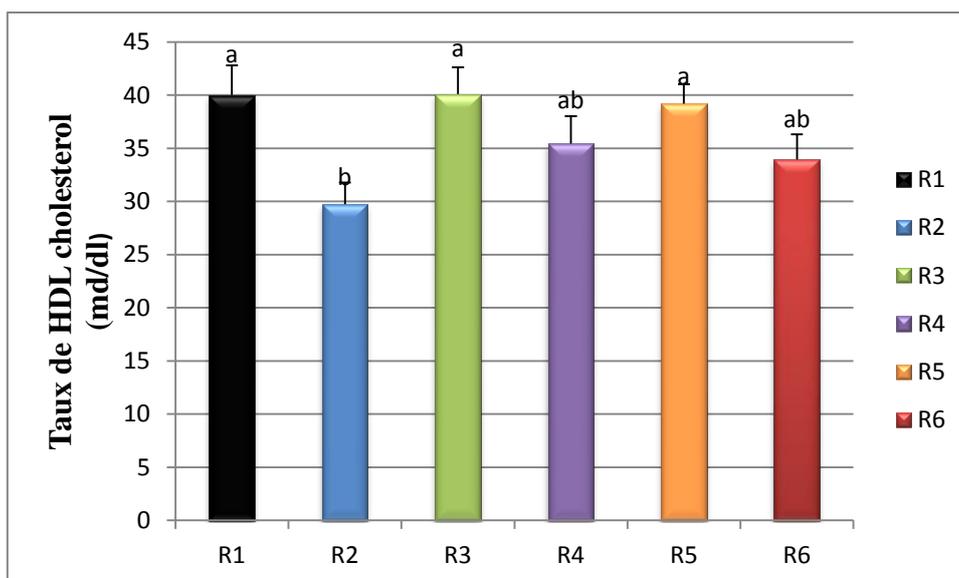


Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 15: Histogramme représente le taux de LDL cholestérol sanguin des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG); **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 16: Histogramme représente le taux de HDL cholestérol sanguins des rats reçoivent les différents régimes.

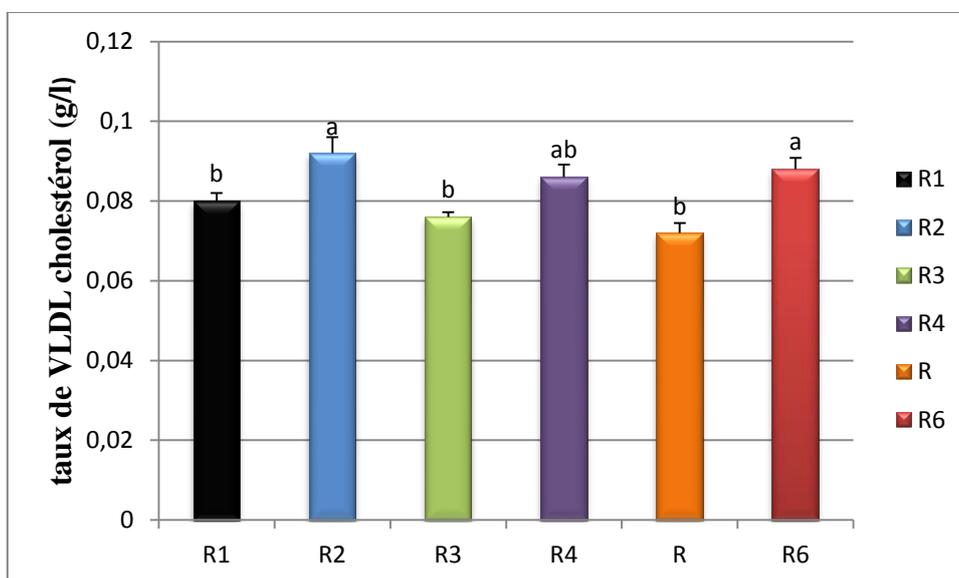
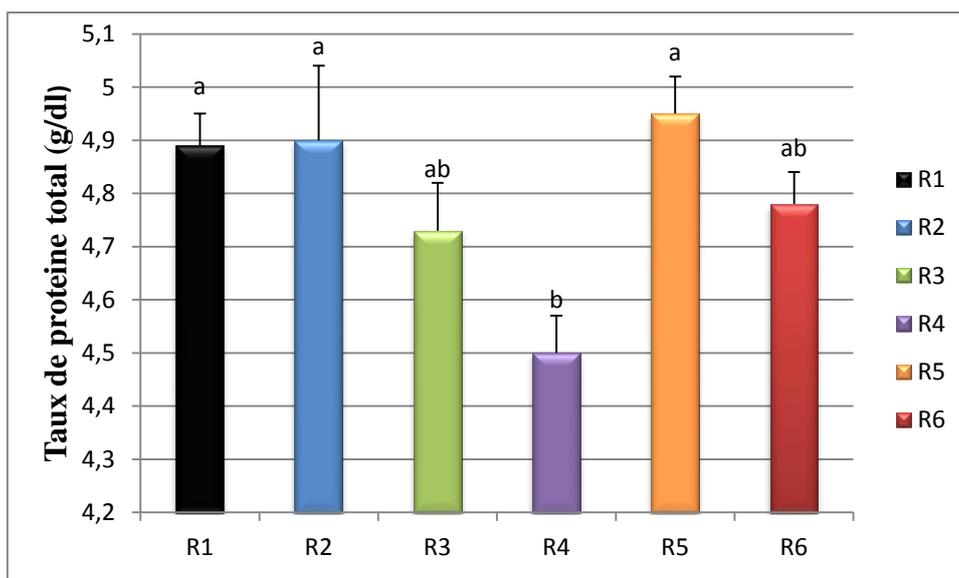


Figure 17: Histogramme représente le taux de VLDL cholestérol sanguins des rats reçoivent les différents régimes



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 18: Histogramme représente le taux des protéines total sanguins des rats reçoivent les différents régimes.

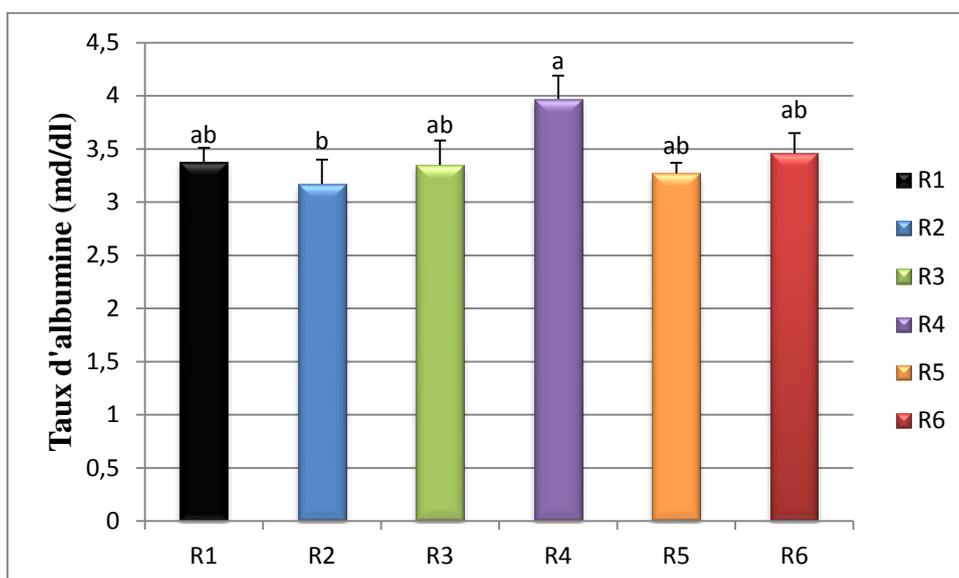
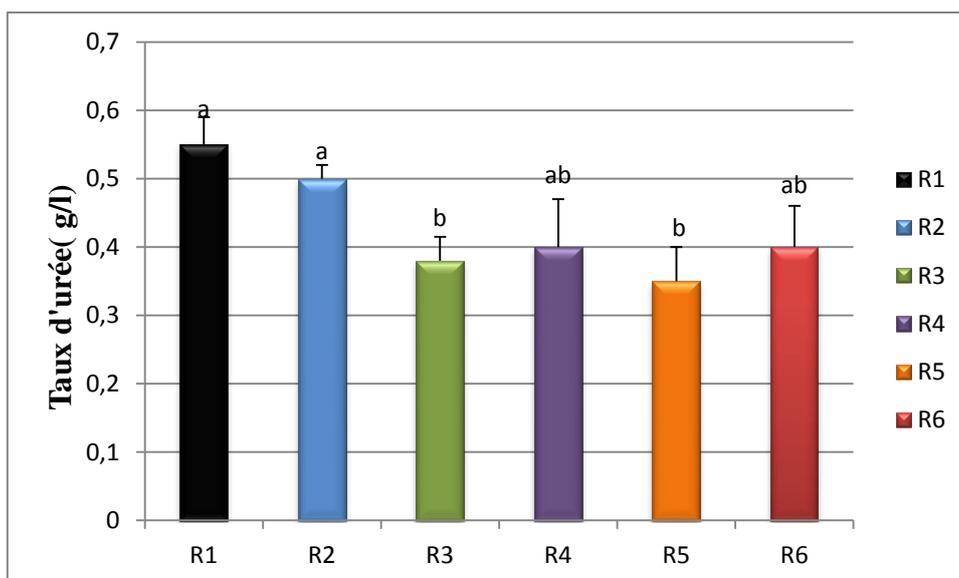


Figure 19: Histogramme représente le taux d'Albumine sanguins des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 20: Histogramme représente le de l'urée sanguins des rats reçoivent les différents régimes.

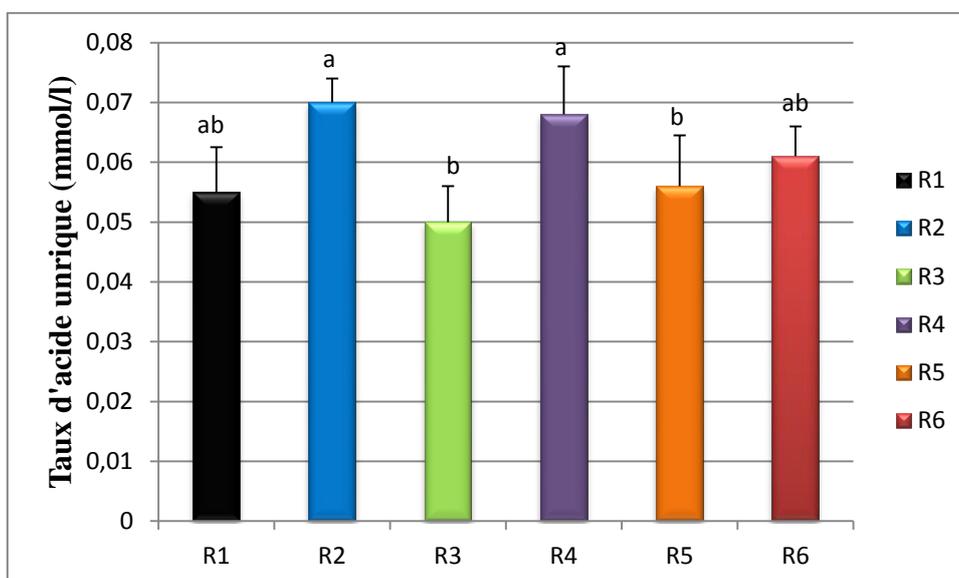
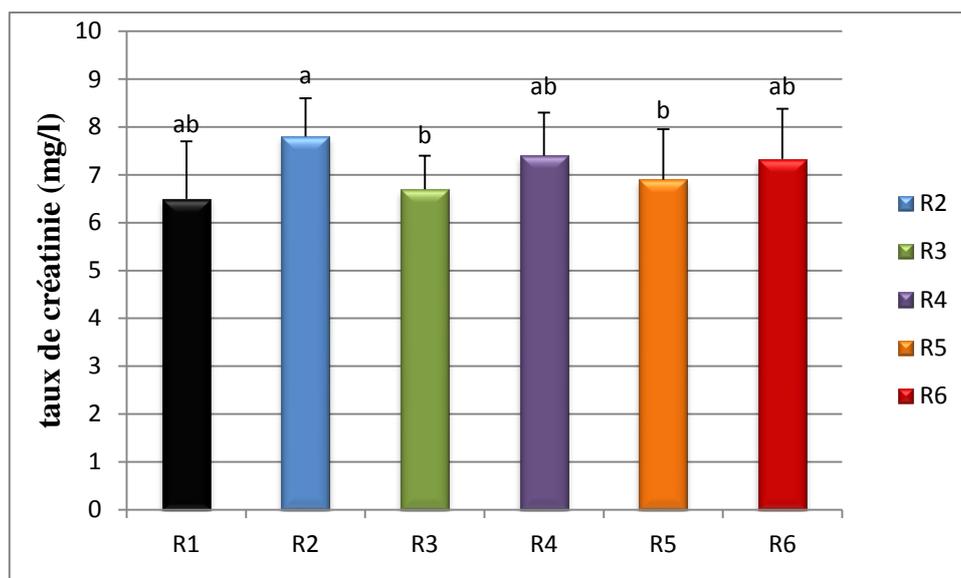


Figure 21: Histogramme représente le taux d'acide urique sanguins des rats reçoivent les différents régimes



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 22: Histogrammes représente le taux de créatinine sanguins des rats reçoivent les différents régimes.

4- Les enzymes hépatique

Le groupe HG (**R2**) souligne une augmentation significative de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT) (**Figure 26**) et de l'aspartate aminotransférase (ASAT) (**figure 25**) par rapport au groupe de témoin (**R1**). Au contraire, les activités des ALAT et ASAT diminuent ($p < 0,05$) de façon significative lorsque'on compare le groupe HG (groupes obèses traités) avec les groupes des régimes **R4** et **R6**. Une différence significative est également observée entre les deux groupes traités **R4** et **R6** qui présentent une différence sur leur composition en acides gras. Également des niveaux d'ALP (**Figure 23**) ont augmenté de façon significative après un traitement diététique avec huile et EMAG d'HC. En revanche, aucune différence statistiquement significative n'a été observée pour les taux de la LDH (**Figure 24**) entre les différents lots.

En outre, il y avait une diminution significative des taux d'urée et de la créatinine chez des rats obèses (**R2**) par rapport au groupe de contrôle (**R1**), en plus d'une diminution significative de ces deux paramètres chez les rats recevant les deux huiles (**R3**, **R4**, **R5** et **R6**), a été notée. Pour la concentration en acide urique, aucune différence statistiquement significative n'est observée entre les différents groupes.

Suivant ces résultats, on constate qu'un régime HG à base de 32 % d'huile de tournesol présente un effet hyperglycémiant et hypoinsulinémiant significatif, en plus d'une dyslipidémie marquée par l'augmentation des lipides athérogènes et une augmentation des activités des transaminases, ce qui induit à une perturbation de la fonction hépatique et une diminution de l'urée et de la créatinine. On conclut de ces résultats que ce régime HG a bien favorisé l'installation de l'obésité. A l'opposé, lors de la supplémentation en huile coloquinte et EMAG, on constate que presque tous ces paramètres ont été rétablis ou du moins protégés d'une éventuelle perturbation dû au régime HG. Concernant les rats ayant reçus un régime à base d'huile d'olive, qui est riche en AGMI et ne contenant pas de quinones actives, quelques uns de leurs paramètres biochimiques ont pu être arrangés à savoir les taux de glucose sanguin, des lipides, et celui des protéines.

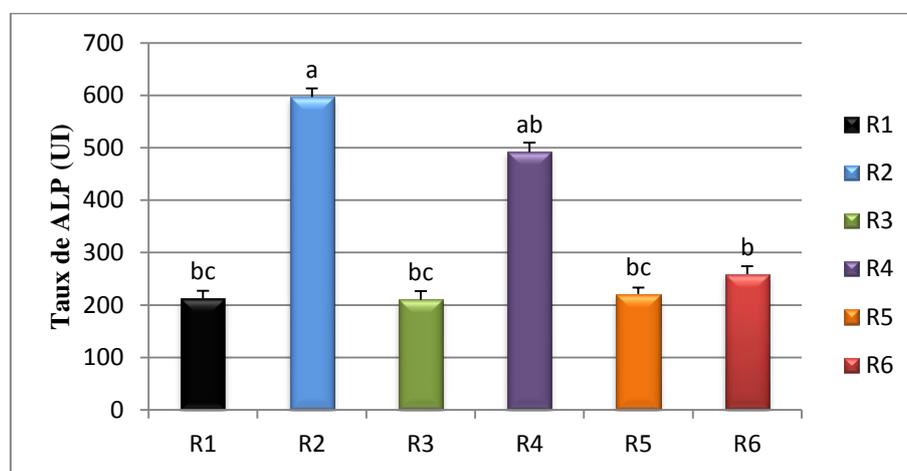
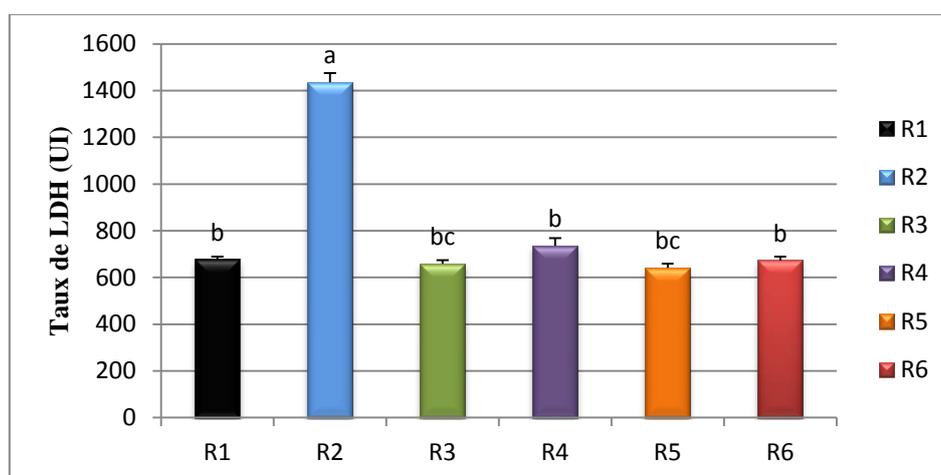


Figure 23: Histogramme représente l'enzyme hépatique (ALP) des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG); **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 24: Histogramme représente l'enzyme hépatique (LDH) des rats reçoivent les différents régimes.

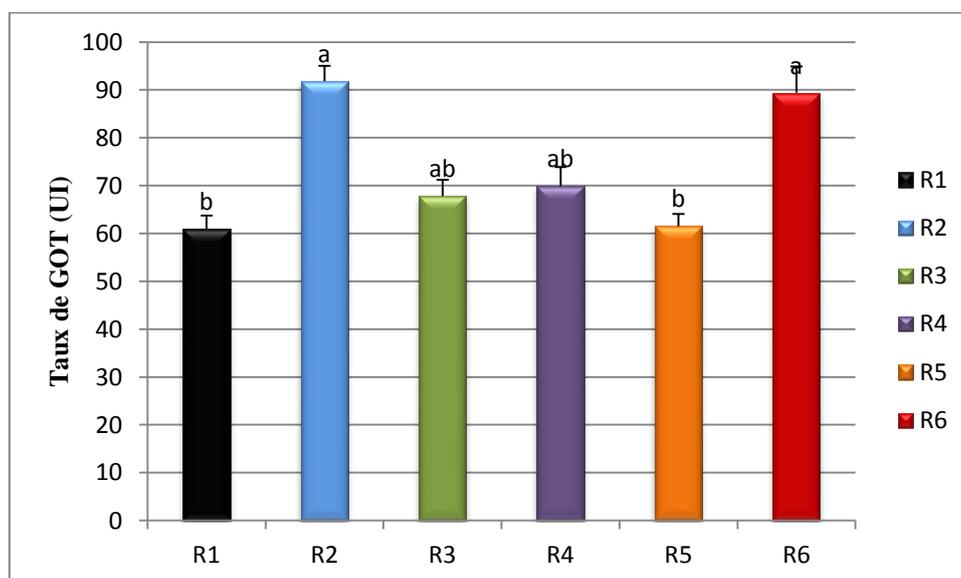
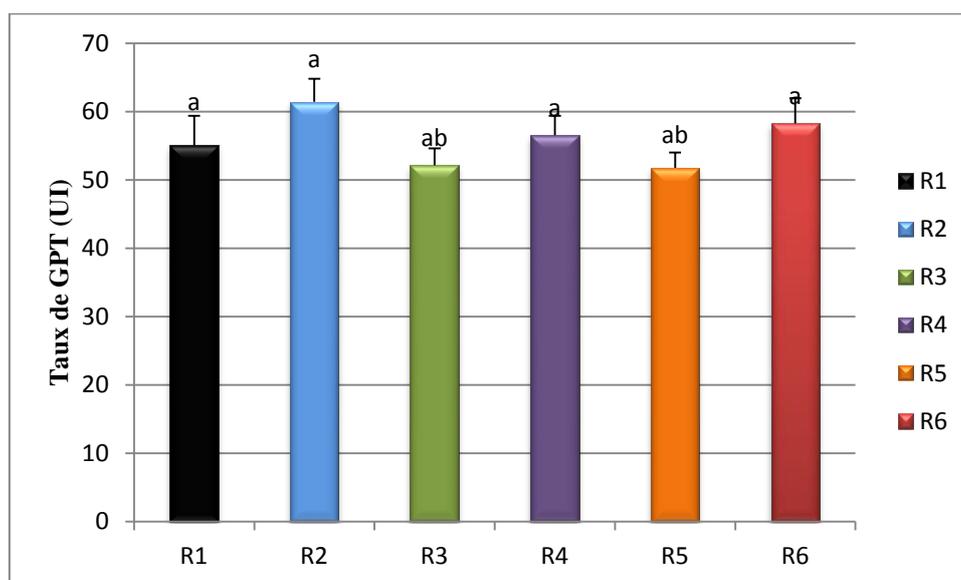


Figure 25: Histogramme représente l'enzyme hépatique (GOT) des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 26: Histogramme représente l'enzyme hépatique (GPT) des rats reçoivent les différents régimes.

5. Teneurs des lipides totaux, cholestérols et triglycérides hépatiques :

Les teneurs en lipides totaux cholestérols et triglycérides hépatiques sont représentés par les figures 27, 28 et 29, respectivement.

En remarque que la quantité des lipides totaux, cholestérols et triglycérides hépatiques sont significativement plus élevée chez les rats recevant des régimes HG par rapport au rats reçoivent un régime isocalorique.

Une baisse significative a été notée pour les teneurs en lipides totaux hépatiques chez les rats reçoivent un régime supplémenté par les EMAG et Huile de la coloquinte,

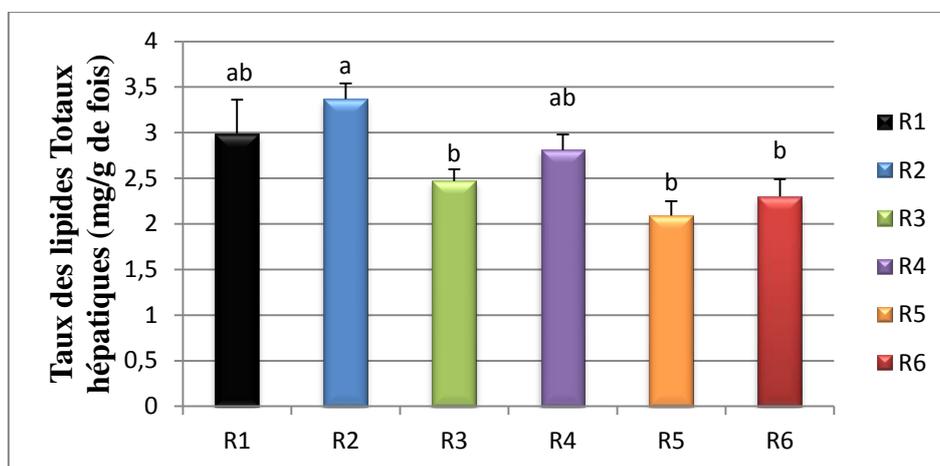
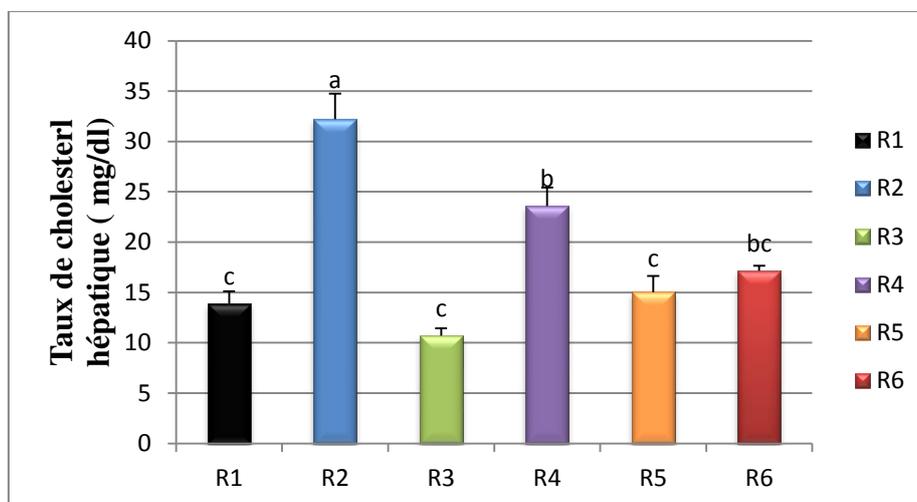


Figure 27: Histogramme représente le taux des lipides totaux hépatiques des rats reçoivent les différents régimes.

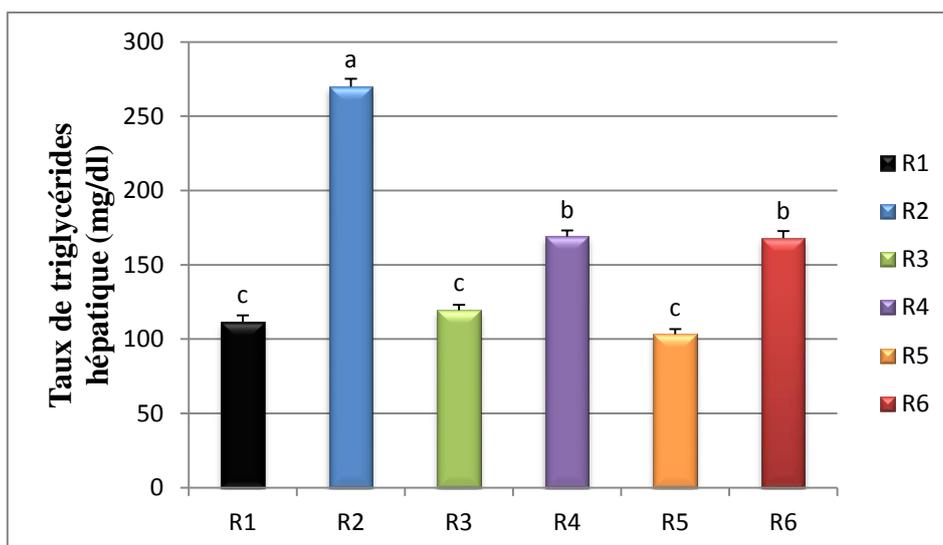


Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 28: Histogrammes représente le taux de cholestérols hépatiques des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 29: Histogramme représente le taux des triglycérides hépatiques des rats reçoivent les différents régimes.

6- Paramètres oxydant et antioxydant au niveau sérique, hépatique :

6.1. Paramètres oxydant/antioxydant au niveau plasmatique :

Les taux de vitamine C, du MDA, ORAC, des hydroperoxydes, des diènes conjugués, des protéines carbonylés et du glutathion réduit plasmatique, ainsi que les activités de la catalase et du superoxyde dismutase sont représentés dans les histogrammes des **Figures 30 à 38**, respectivement.

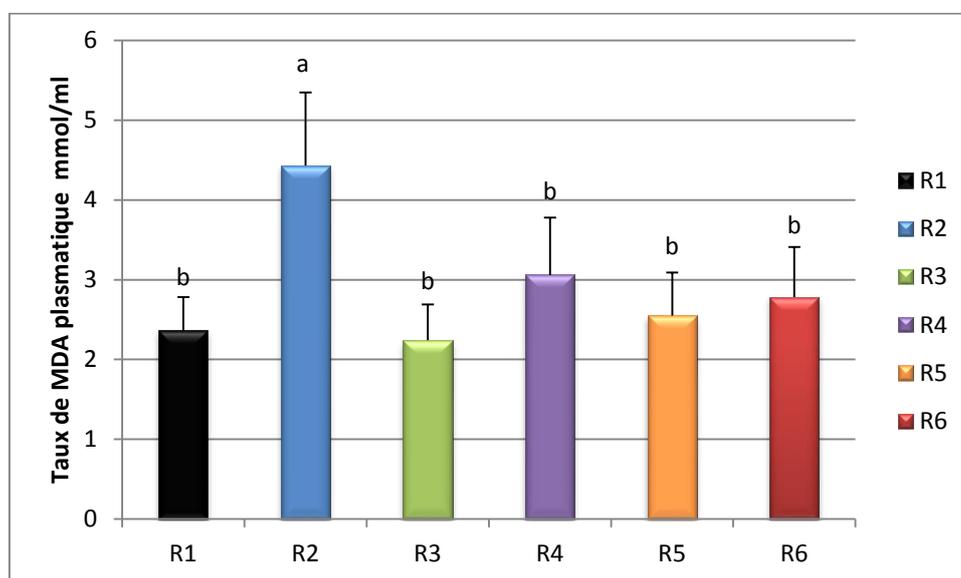
Une baisse significative des taux de MDA et protéines carbonylés chez les rats reçoivent des régimes Hg par rapport aux rats recevant les régimes isocaloriques. Ce taux taux augment chez Les rats traité par les EMAG et HC.

Nous avons constaté une réduction significative sur les concentrations de vitamine C chez les rats obèses comparativement au groupe de témoin et des groupes traités avec de l'huile EMAG d'HC. Une augmentation significative a été observée dans les niveaux des hydroperoxydes, des diènes conjugués dans le groupe HG (**R2**) par rapport au groupe témoin (**R1**) et les groupes de rats supplémentés avec les huiles et EMAG d'HC (**R4** et **R6**).

La capacité du plasma à capter les radicaux libres (ORAC) est diminuée de manière très significative ($p < 0,05$) chez les rats obèses (**R2**) ainsi que les rats obèses ayant reçu une supplémentation en huile et EMAG d'HC (**R6**).

L'activité de la SOD et CAT était significativement plus élevée ($p < 0,05$) chez les rats alimentés avec un régime HG. Le traitement avec l'huile *et* EMAG d'HC induit une correction significative des activités de la SOD chez les témoins (**R3**) et les rats obèses traités (**R4**). Aucune différence n'a été notée pour l'activité de la catalase.

En fonction de ces résultats, on constate que chez les rats rendus obèses, les défenses anti-oxydantes non enzymatiques comme la vitamine C ainsi que les défenses enzymatiques CAT et SOD sont significativement perturbées. En plus d'une augmentation significative du MDA, des hydroperoxydes, des diènes conjuguées comme marqueurs du stress oxydatif induit par l'obésité, d'une part. D'autre part, ces mêmes marqueurs ont été corrigés par l'ajout EMAG d'huile de coloquinte.

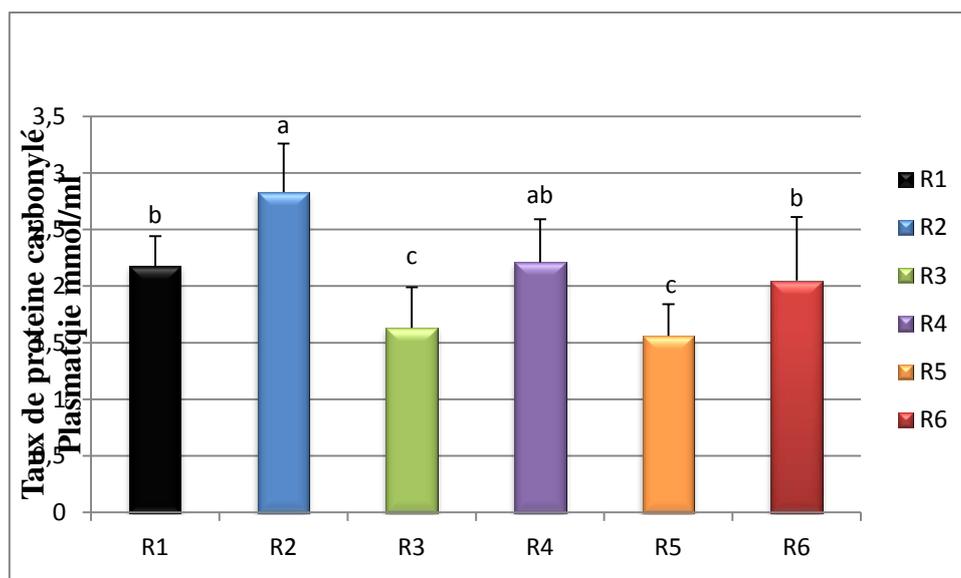


Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 30: Histogrammes représente le taux de MDA plasmatiques des rats reçoivent les différents régimes



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG); **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 31: Histogramme représente le taux de protéines carbonylés plasmatiques des rats reçoivent les différents régimes.

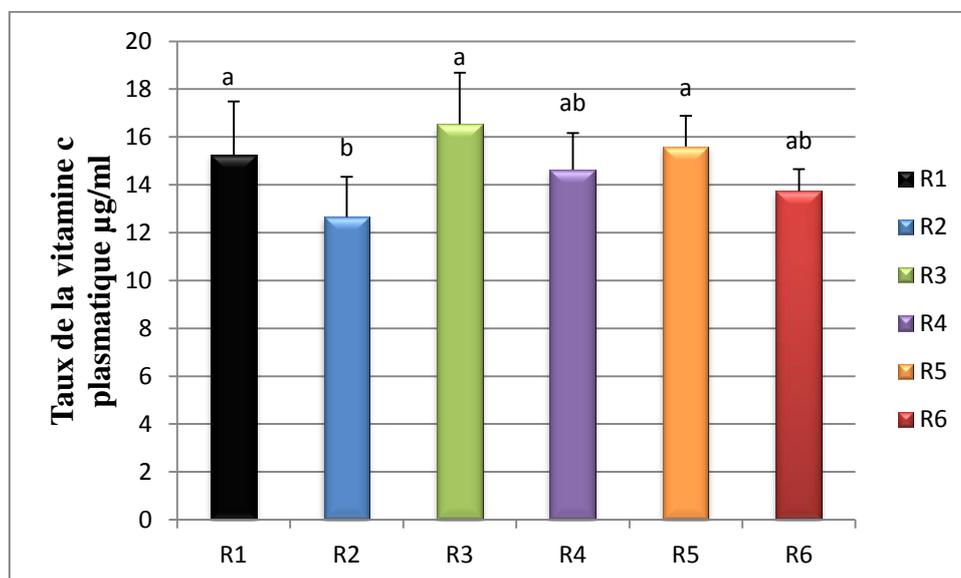
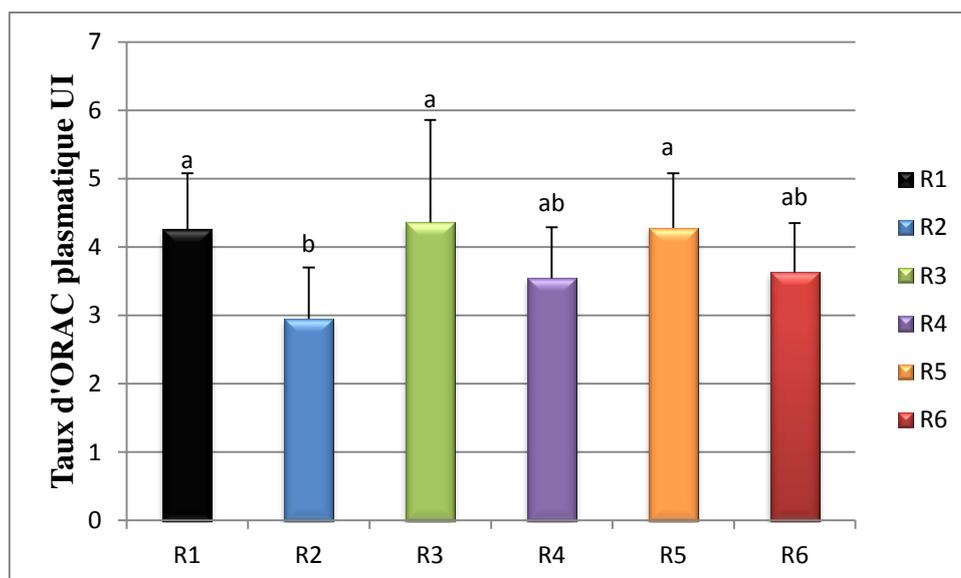


Figure 32: Histogramme représente le taux de la vitamine c plasmatiques des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 33: Histogramme représente le taux de l'ORAC plasmatiques des rats reçoivent les différents régimes.

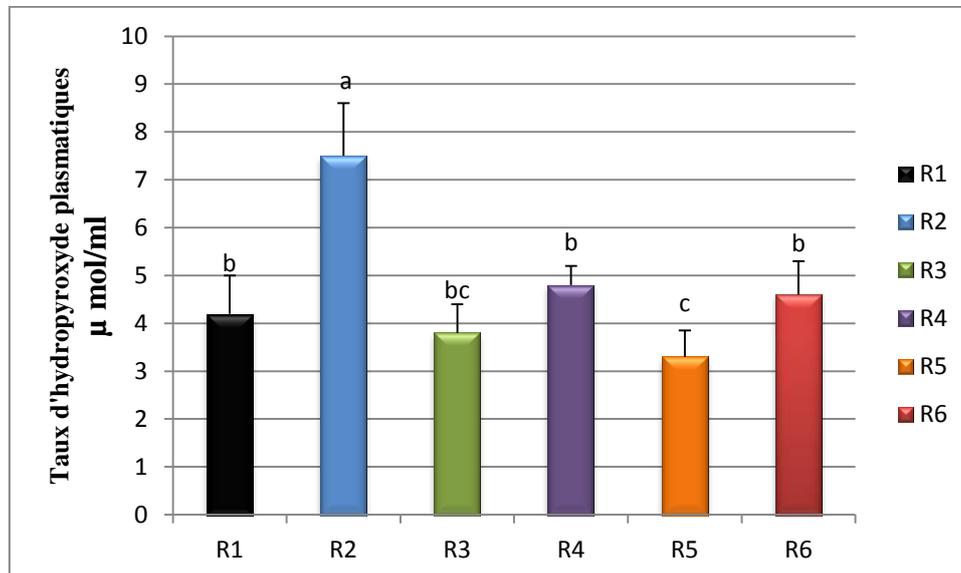
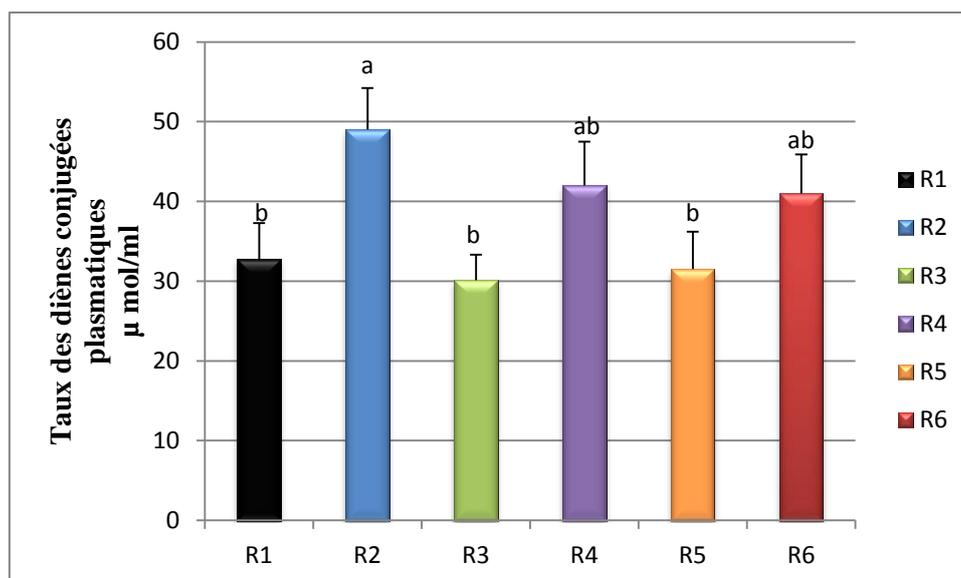


Figure 34: Histogramme représente le taux de l'hydroperoxyde plasmatique des rats reçoivent les différents régimes



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 35: Histogramme représente le taux des diènes conjuguées plasmatiques des rats reçoivent les différents régimes.

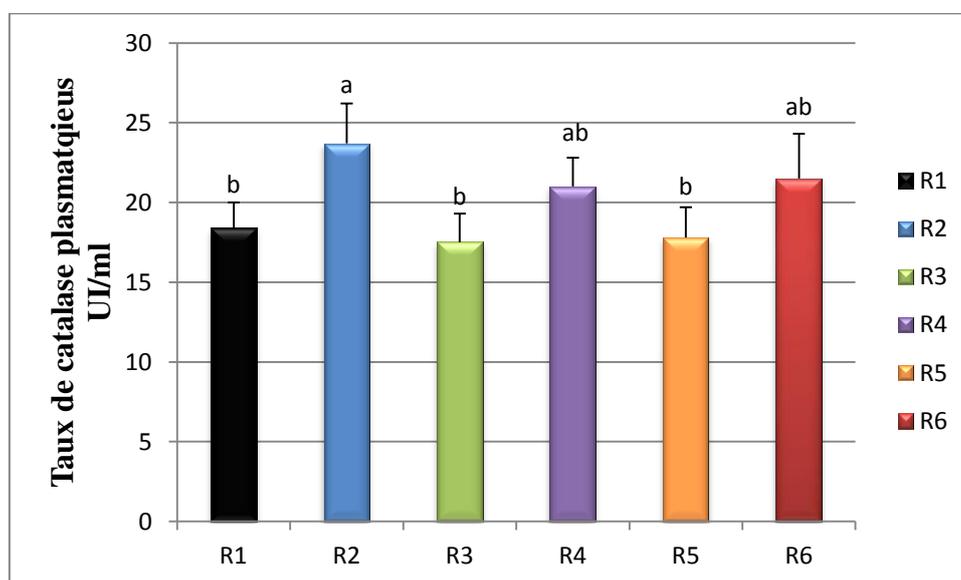
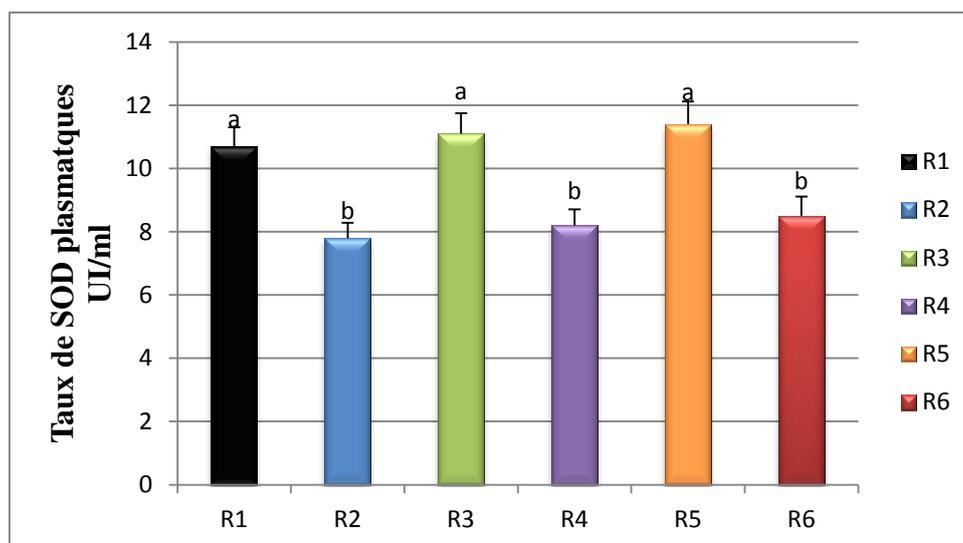


Figure 36: Histogrammes représente le taux de catalase plasmatique des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 37: Histogrammes représente le taux de SOD plasmatique des rats reçoivent les différents régimes.

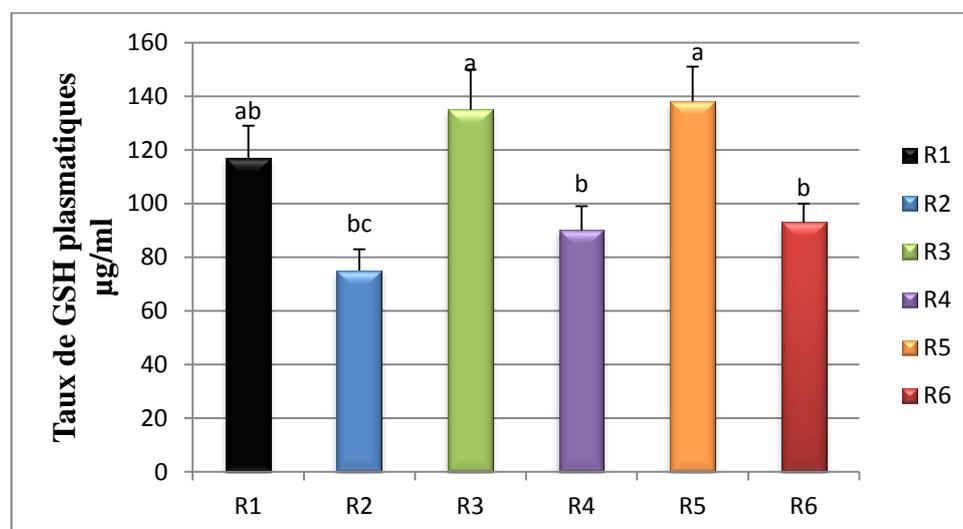


Figure 38: Histogramme représente le taux de Glutathion plasmatiques des rats reçoivent les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ;

Régime 4 : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG) ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

6.2. Paramètres de la balance oxydant/antioxydant au niveau hépatique

Le taux des hydroperoxydes, glutathion réduit (GSH), du MDA et des protéines carbonylées hépatiques, ainsi que les activités de la CAT et de la SOD sont présentées dans les histogrammes des **Figures 39 à 44**, respectivement.

Nous avons constaté une augmentation significative des teneurs en glutathion réduit chez les rats témoins et obèses reçoivent les EMAG et l'huile de coloquinte (**R3** et **R4**) ainsi qu'aux groupes **R5** et **R6** comparativement aux groupes témoins (**R1**) et obèses (**R2**) où le taux a diminué.

On note aussi que les taux du MDA, des protéines carbonylés ainsi que les hydroperoxydes sont accentués chez le groupe reçoivent le régime HG (**R2**) par rapport au groupe témoin (**R1**) et les groupes de rats supplémentés avec les EMAG et l'huile de coloquinte (**R4** et **R6**). Aucune différence n'est significative entre les groupes **R4** et **R6** concernant les protéines carbonylées.

L'activité de la catalase hépatique se révèle significativement plus élevée ($p < 0,01$) chez les rats alimentés avec un régime HG (**R2**). Les traitements avec EMAG et l'huile de coloquinte séparément (**R4** et **R6**) induisent une correction significative de l'activité de cette enzyme, et un effet moins accentué mais qui reste significatif ($p < 0,05$) dans les groupes reçoivent un mélange équivalent EMAG et d'huile de coloquinte (**R4** et **R6**).

Concernant l'activité de la SOD hépatique, on remarque qu'il n'y a aucune correction de celle-ci chez les différents groupes.

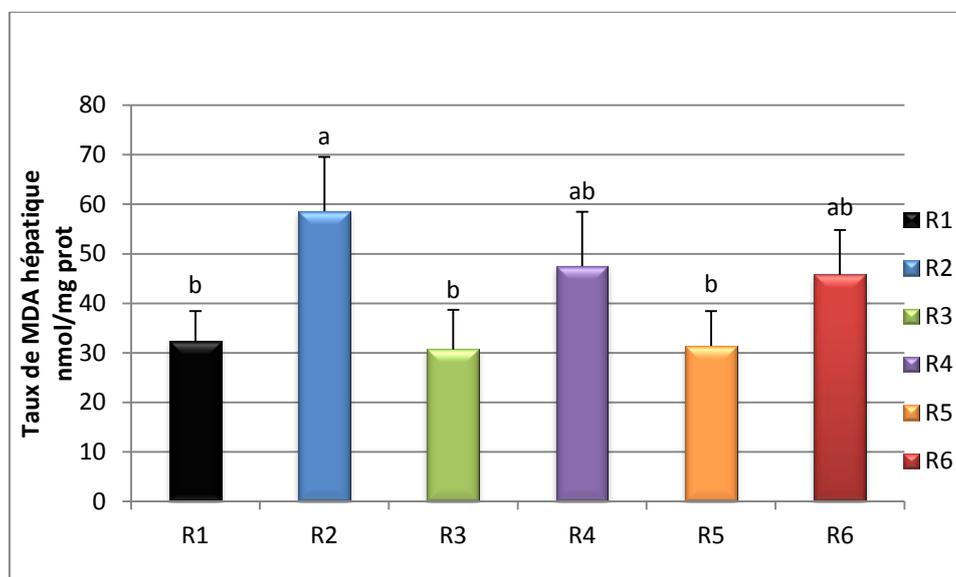
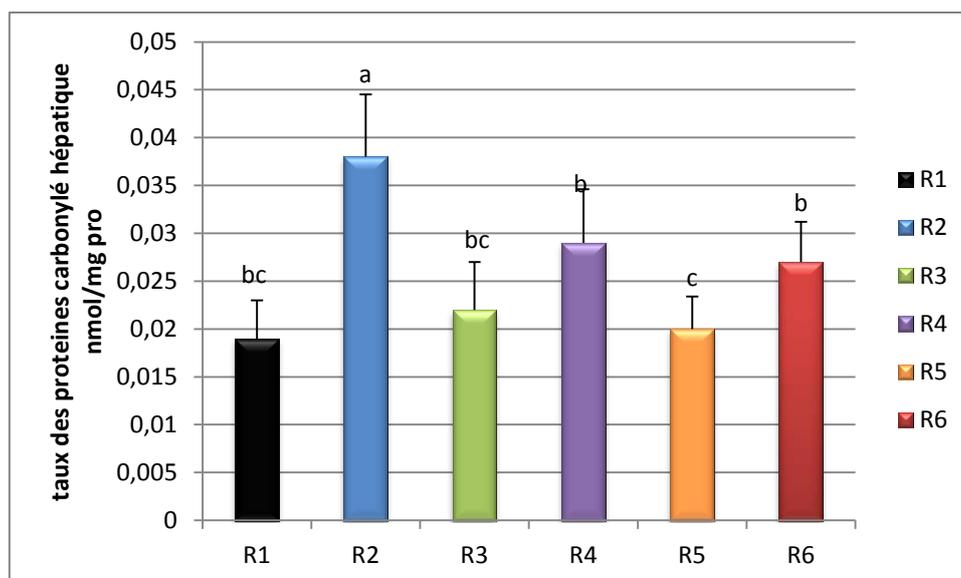


Figure 39: Histogramme représente le taux de MDA hépatiques des rats reçoivent les différents régimes



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG); **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 40: Histogramme représente le taux des protéines carbonylées hépatiques des rats reçoivent les différents régimes.

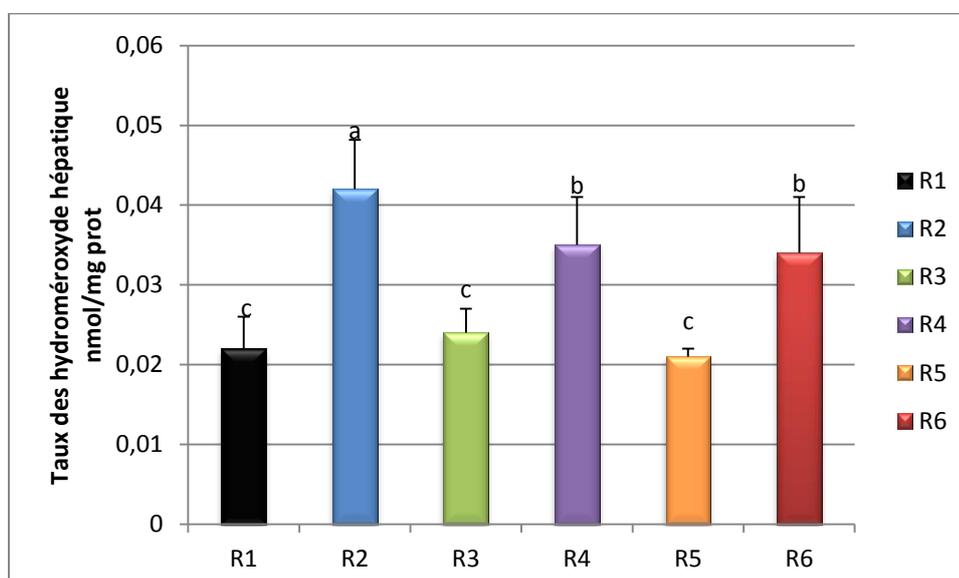
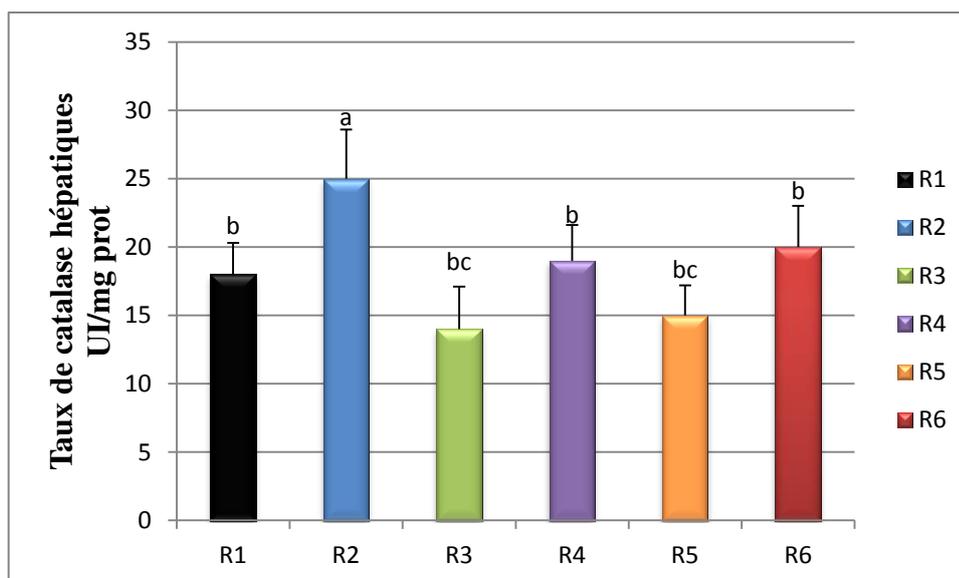


Figure 41 : Histogrammes représente le taux des hydroperoxydes hépatiques des rats reçoivent les différents régimes



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG); **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 42 : Histogrammes représente le taux de catalase hépatiques des rats reçoivent les différents régimes.

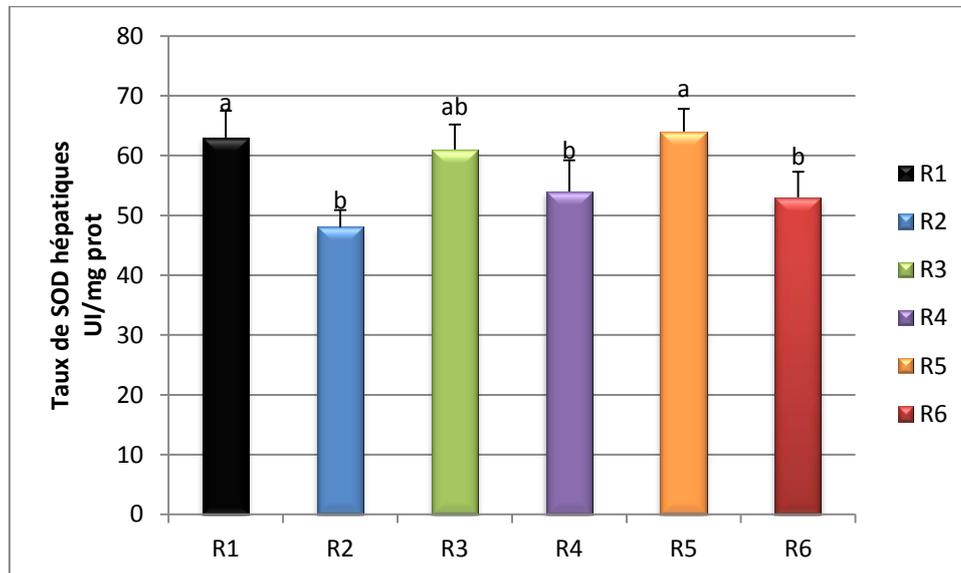
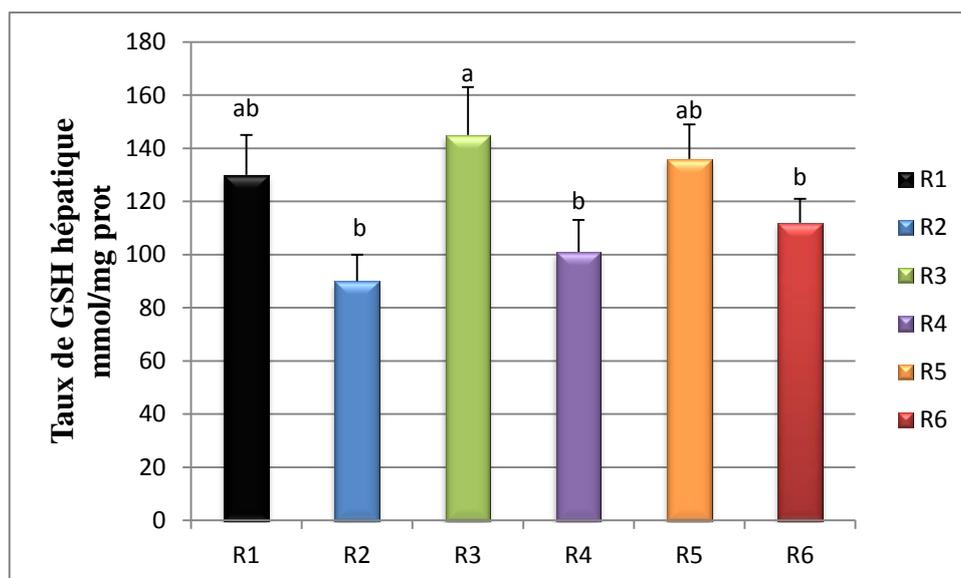


Figure 43 : Histogramme représente le taux de SOD hépatiques des rats reçoivent les différents régimes.



Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les valeurs avec les lettres différentes en exposant (a, b, c, d) sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime hypergras (HG) (32% huile de tournesol) ; **Régime 3** : Régime à base de 4% d'huile de coloquinte ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de coloquinte ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'ester méthylique d'acide gras (EMAG); **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % ester méthylique d'acide gras

Figure 44 : Histogramme représente le taux de Glutathion réduit hépatiques des rats reçoivent les différents régimes.

Discussion

Les lipides jouent un rôle central dans le fonctionnement de l'organisme, participant à diverses fonctions telles que le maintien de l'intégrité cellulaire, le stockage de l'énergie, la transmission et la transduction des signaux cellulaires et la synthèse hormonale. Parmi les composants majoritaires des lipides, les acides gras dont découlent la plus part de leurs propriétés nutritionnelles et métabolique. (**Delphanque et al., 2002**). Ces lipides apportés par l'alimentation vont fournir à l'Homme certains acides gras essentiels, qu'il ne peut synthétiser (l'acide linoléique et linoléique). Par contre, un excès de lipides dans l'alimentation peut entraîner des perturbations métaboliques (**Poirier et al., 2000**).

Il existe également des évidences très claires sur le fait que la nature des graisses alimentaires peut affecter le métabolisme lipidique et le dépôt de graisses corporelles. Ainsi, c'est non seulement la teneur mais également la composition en acides gras des lipides alimentaires qui doivent être considérées (**Hill et al. 1992**)

De ce fait, un apport alimentaire mal équilibré peut déplacer la constance métabolique créant ainsi certaines formes de dysfonctionnement physiologiques et par conséquent l'apparition de certaines formes de syndromes métaboliques telles l'obésité, l'hypertension artérielle et diabète sucré (**Comte et al. 2003**).

Il existe beaucoup d'arguments physiopathologiques et épidémiologiques pour mettre en cause la consommation élevée des lipides dans les phénomènes d'hypertrophie et le cas échéant d'hyperplasie du tissu adipeux. Le caractère hyperlipidique de l'alimentation est un facteur de risque de l'obésité, chez l'enfant comme chez l'adulte (**Golay et Bobbioni, 1997**).

Dans la majorité des cas, le développement du tissu adipeux est dû à une incapacité à faire face à un excès d'apport alimentaire et à une insuffisance des dépenses énergétiques. Ce déséquilibre, peut être accentué par une augmentation des capacités de stockage. Il y a donc quatre acteurs physiopathologiques: les dépenses énergétiques, le tissu adipeux, l'interaction entre les organes impliqués dans le contrôle du bilan d'énergie et plus particulièrement l'alimentation (**Basdevant, 2006**).

La place que tient l'alimentation dans le développement des maladies ischémiques fait l'objet depuis longtemps de nombreux travaux. Pour s'en tenir aux lipides alimentaires, l'influence de la quantité ingérée a été maintes fois soulignée, il suffit de comparer la

mortalité cardiovasculaire des pays riches et des pays en voie de développement, les études expérimentales faites sur de très nombreuses espèces animales, sont aussi des exemples qui montrent que la réduction des lipides alimentaires s'accompagne d'une diminution du cholestérol sanguin et d'une baisse des maladies cardiovasculaires. La nature des graisses alimentaires, leur qualité indépendamment de leur quantité, est également importante à considérer ; la réduction du pourcentage de graisses saturées de régime, qu'il s'agisse de graisses visibles (beurre notamment) ou des lipides constitution des aliments, et l'augmentation du pourcentage des graisses polyinsaturées du régime, entraînent une réduction du cholestérol sanguin, de l'athérosclérose et des thromboses chez plusieurs espèces animales (**Jacotot et Lasserre, 1988**).

Il a été conclu qu'un régime à base d'huiles végétales riches en acides gras insaturés est conseillé, car plusieurs travaux ont montré que l'ingestion des AGS augmente les risques des maladies cardiovasculaires (**Mensink et al., 1992; Jones et al., 1997**), favorisant le développement du tissu adipeux (**Pérez-Matute et al., 2007**).

L'acide α -linoléique de la série n-3 (oméga 3) est révélé anti-adipogénique. En effet, plusieurs études montrent l'effet des acides gras en tant que modulateurs importants pouvant affecter l'atténuation de l'obésité (**Koji et Teruyoshi, 2007**).

Les acides gras polyinsaturés oméga 6 (AGPI n-6) sont nécessaires pour de nombreuses fonctions physiologiques de l'organisme et sont bien connus pour leur rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires (MCV). Ces bénéfices pourraient être en partie contre-balançés par des effets pro-inflammatoires et obésogènes (**Harris et al., 2009**).

La première description d'un régime hyperlipidique (HFD) pour induire l'obésité avec une intervention nutritionnelle a été mise depuis 1959 (**Masek et Fabry, 1959**). Des régimes alimentaires enrichis en lipides ont été utilisés pour des modèles d'obésité, de dyslipidémie et à l'intolérance à l'insuline chez les rongeurs ; il a été observé que les troubles réalisés par l'alimentation riche en matières grasses ressemblent au syndrome métabolique humaine, et ce également peut étendre à les complications cardiovasculaires. (**Aguila et al., 2003, Woods et al., 2003**). En principe, toutes les espèces de rongeurs de laboratoire sont sujettes à développer les perturbations métaboliques dans le cadre de ces régimes alimentaire (**Sullivan et al., 1993**).

De nombreuses études ont montré une relation importante entre le diabète non insulino dépendant ou diabète type 2 et l'obésité principale facteurs des maladies cardiovasculaires (**Charbonel et al., 1997 Calles-Escandon et al., 2001**).

Dans notre travail prospectif, nous nous sommes intéressés aux huiles végétales dans le but de déterminer l'impact des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) d'huiles de la coloquinte sur la prévention de l'installation de l'obésité ou la réduction de ses complications.

Notre choix est porté sur les esters méthyliques d'acides gras puisque ces derniers sont métabolisés comme les autres graisses alimentaires, ils sont hydrolysés en acides gras libres pour être absorbés par l'intestin dans la circulation sanguine grâce aux enzymes lipases, comme l'ont démontré Mattison et al chez le rat. Les acides gras libres sont métabolisés par des processus oxydatifs connus ou ils sont reconstitués en esters de glycérides et stockés dans les dépôts de graisse dans le corps (**Mattson et Volpenhein, 1972**).

L'introduction des EMAG dans les régimes n'entraîne aucune toxicité chez les rats, selon des études portant sur les EMAG d'huiles végétales, La toxicité, la croissance et l'efficacité alimentaire ont été testées sur des poulets par Reiser et al et ont permis de conclure que les esters méthyliques ne sont pas toxiques pour les volailles lorsqu'ils sont inclus dans une proportion de 3 à 15% (**Reiser et al.; 1956**).

Nos résultats montrent que l'évolution pondérale chez les rats recevant les régimes à base HC et des EMAG est positive et la prise alimentaire parais importante comparable a la quantité d'aliment ingérée par les rats recevant les régimes à base HT, celle-ci indique d'une part l'acceptabilité de cette huile malgré sa légère amertume, d'autre part montrent l'effet d'huile de la coloquinte sur la régression de la prise de poids, qui est du probablement à la présence des composés hétérogènes (cire, hydrocarbure, polyphénols) (**Badifu et al., 1991, Duke et al., 2001**) qui peuvent modifier la cinétique du métabolisme des lipides et des protéines ainsi que la masse musculaire et le métabolisme hépatique .Ces données montrent d'une façon claire, que les réponses concernant la prise de poids des animaux différent selon la composition de régime en acides gras.

Cependant les lipides alimentaires peuvent avoir différents effets sur la physiologie de l'animal, et sur leur évolution pondérale. L'excès de poids est en général associé à une alimentation hyperlipidique (**Gazzaniga et al., 1993**), nos résultats montrent que tous les rats nourris à des régimes hyperlipidiques ont un excès de poids par rapport aux rats nourris par des régimes isocaloriques.

Un régime hypergras ou hypercalorique est associé à une accumulation du tissu adipeux chez l'homme comme chez le rat (**Golay, 1998**). Il a été rapporté que la consommation d'un régime HG peut prédisposer les individus à l'obésité, et il peut être expliqué qu'un apport élevé en matières grasses qui contribue à l'excès d'énergie et par conséquent promouvoir ou soutenir l'obésité (**Grundy, 1999**). L'augmentation du poids chez les rats nourris au régime HG est consécutive de l'augmentation du nombre des adipocytes. Les résultats du (**Petit et al, 2007**) ont montré que chez les rats nourris à un régime à forte teneur en graisses favorise l'obésité par hyperphagie.

D'autres études ont montré qu'une augmentation du rapport AGPI/AGS est associée à une augmentation des dépenses énergétiques de repos, de l'oxydation des lipides et la thermogénèse post prandiale, de ce fait les apports alimentaires d'acides gras polyinsaturés pourraient avoir un effet protecteur vis-à-vis de l'obésité androïde par rapport aux acides gras saturés ou aux acides gras monoinsaturés (**Couet et al, 1997, Van Marken et al., 1997**).

Le rapport AGPI/AGS dans HC est de (5.14), par contre ce rapport dans HT est de (0.8), donc l'huile de tournesol est caractérisée par une quantité AGS très élevée par rapport à HC, celle-ci explique la différence de l'évolution pondérale chez les rats recevant les régimes à base d'huile de la coloquinte comparée à l'évolution des rats soumis aux régimes à base d'huile de tournesol.

Les recommandations théoriques pour une alimentation saine est de réduire les apports lipidiques à moins de 30% des calories totales (**Coulsto, 1999**), au sein de l'apport lipidique, l'apport en graisses saturées (athérogène) devrait être < à 10% de l'apport calorique total. Les AGPI ne devraient présenter que 1/4 des apports lipidiques totaux, soit environ 10% de l'énergie totale. Leurs apports doivent être modulés en fonction de leur nature, les acides gras de la série n-6 (acide linoléique et ses dérivés supérieurs) ont un effet hypocholestérolémiant en respectant les doses (10 à 15g/j (**Grundy, 1997; Gibley, 1999**)).

Le métabolisme des nutriments (protéines, lipides) est influencée par les caractéristiques chimiques et physiques de l'aliment (**Le Goff et Noblet , 2001**), et aux facteurs liés aux animaux tels que le poids vif, le sexe, l'état physiologique et pathologique, et le niveau d'alimentation. La digestibilité des matières grasses étant influencée par le degré de saturation des acides gras et par la présence d'acides gras libres (**Noblet et Shi, 1994**).

Parmi les facteurs impliqués dans la régulation de la prise alimentaire, la densité énergétique semble jouer un rôle prépondérant (**Drewnoski, 1998**). En effet, plus un aliment est dense en énergie et plus faible son pouvoir de satiété, la digestion et l'absorption intestinale étant beaucoup plus lente pour les lipides que pour les glucides, leur utilisation métabolique l'est aussi (**WHO, 1998**).

Des bilans nutritionnels ont été établis chez les rats après le sevrage. La constitution de l'obésité dépend normalement de l'apport nutritionnel et du bilan énergétique, et elle nécessite un excès d'apport d'énergie par rapport aux besoins. Les rats obèses nourris au régime hyperlipidique présentent une augmentation du poids corporel comparée aux autres groupes. L'excès pondéral est dû à une augmentation de la masse grasse, ce qui explique l'effet obésogène du régime hyperlipidique à 32% HT. Ces rats montrent une augmentation de l'ingestion et de l'excrétas. Effectivement, la satiété, processus physiologique de cessation de repas, est médiée principalement par des signaux de rétroaction provenant de l'appareil gastrointestinal. Une possibilité est que le mécanisme de la satiété induite par les graisses pourrait être modifié en réponse à l'ingestion chronique de matières grasses de telle sorte que leur sensibilité ou leur action est diminuée. Les déficits dans les signaux de satiété sont fortement soupçonnés d'accompagner l'obésité, sinon de contribuer à sa pathogénèse chez les humains et chez les rats.

Nos résultats montrent aussi que les lipides ingérés sont significativement élevés chez les rats témoins nourris au régime hyperlipidique par rapport aux rats témoins nourris au régime standard, et l'excrétion fécale des lipides est diminuée chez les rats obèses par rapport aux témoins.

Cependant, malgré l'élimination digestive importante des lipides, le CUDL chez les rats sous régime hyperlipidique reste plus élevé que celui des rats sous régime standard. L'absorption intestinale des lipides est donc importante chez les rats sous régime hyperlipidique. Il apparaît clairement que ce régime induit chez les rats témoins une hyperphagie et une meilleure capacité de rétention des lipides, favorisant une croissance

pondérale importante. D'autre part, on note une diminution du poids corporel chez les rates obèses recevant le régime à base d'huile de coloquinte (4% HC). Ceci peut être due à la présence de quelques facteurs inhibiteurs de la digestibilité (**Badifu et Ogunsua, 1991 ; Duke, 2001 ; Sebbagh et al., 2007**)

L'huile de la coloquinte exerce un effet sur la diminution de la digestibilité des lipides et des protéines, avec une augmentation de la masse fécale et une élimination importante des lipides. L'épargne azotée et lipidique ainsi réalisée pourrait être conséquence d'une diminution de la vitesse de renouvellement des protéines ainsi que du catabolisme de certains acides aminés (**Doust_Blazy et Mendy, 1988**). Le gain de poids chez ces groupes de rats est réduit, ceci se reflète également dans la plus faible rétention énergétique, imputable à une limitation du dépôt lipidique et, secondairement de la rétention protéique.

Par ailleurs, les lipides sont des éléments structuraux, indispensables à l'édification et à l'entretien des tissus et des organes chez les mammifères. Des études ont montré que les acides gras peuvent modifier l'homéostasie, la morphologie, l'histologie des cellules et par conséquent les fonctions des organes voire de l'organisme (**Girard, 2003**). Lorsque l'environnement d'une cellule ou d'un tissu est modifié (exigences physiologiques plus importantes, circonstances pathologiques), il existe des possibilités d'adaptation cellulaire et tissulaire, avec un nouvel équilibre : atrophie, hypertrophie, hyperplasie. La diminution de la masse fonctionnelle d'une cellule est habituellement liée à une diminution de son activité, par contre, une augmentation réversible de la taille d'une cellule est en rapport avec une augmentation de la taille et de nombre de ses constituants; cette hypertrophie va habituellement de pair avec une augmentation des stimuli et de l'activité de la cellule (**Lavergne-Solve et Mosnier, 2005**). Ces définitions peuvent expliquer la différence entre les poids des organes des rats soumis aux différents régimes alimentaires, et une augmentation du volume du foie probablement revient à l'accumulation de triglycérides dans le cytoplasme des cellules qui normalement ne contiennent que des traces non observable en microscope optique. Ce déséquilibre peut résulter de d'un apport excessif en provenance de l'alimentation ou du tissu adipeux, ou d'une augmentation de la lipolyse et de l'entrée des acides gras dans l'hépatocyte (**Terris, 2004**).

En effet, le poids des organes ainsi que de leur composition nous révèle des altérations chez les rats obèses. Nos résultats montrent une augmentation significative du poids du foie et du tissu adipeux chez les rates obèses ayant reçu un régime hyperlipidique par rapport aux témoins. Cela correspond aux résultats de **Milargo et al., (2006)** qui montre

que le poids total du foie a augmenté de 36% chez les rats nourris au régime cafétéria en comparaison avec un groupe témoin.

L'obésité provoque une saturation de foie par les acides gras libres (AGL). Cela peut causer une inflammation dans les cellules du foie, qui libèrent alors d'autres cytokines pro-inflammatoires, ce qui conduit à des blessures au niveau des hépatocytes provoquant ainsi une stéatose ou des anomalies mitochondriales telles que les lésions ultrastructurales (**Bianca et al., 2013**). Cependant, l'administration d'huile coloquinte diminue l'ASAT, un résultat en accord avec **Sebagh et al., (2009)**. Le contenu glycosidique des extraits aqueux comme un possible médiateur de la *C. colocynthis* a été rapporté ailleurs (**Yoshikawa et al., 2007 ; Sebbagh et al., 2009**).

Nos résultats montrent également une augmentation du poids des testicules chez les rats obèses et qui revient probablement de l'hypertrophie des cellules de Leydig. Une étude sur des rats Zucker obèses (présentant une mutation de récepteur de la leptine) a montré que les cellules de Leydig s'hypertrophient grâce à l'accumulation intra cellulaire des lipides gênant ainsi la synthèse de testostérone (**Young et al., 1982 ; Mah et Wittert, 2010**). Parallèlement à l'hypertrophie de ces organes chez les rats obèses, on constate une atrophie du pancréas. Ceci peut être expliqué par la destruction des cellules bêta-pancréatiques surstimulées par l'hyperglycémie observée chez ces rats (**Mouraux et Dorchy, 2005**). En effet, une hyperglycémie permanente entraîne une gluco-toxicité en rapport avec une «désensibilisation» et plus tard une apoptose des cellules bêta-pancréatiques (**Gravena et al., 2002 ; Rodriguez et Armand , 2004 , Cerf , 2013**) . D'autre part, un régime à haute teneur en acides gras saturés altère le potentiel insulino-sécréteur. Cette altération porte à la fois sur la fonction (avec une réversibilité possible) et sur le stock de cellule bêta (étape non-retour) (**Gravena et al., 2002 ; Migrenne et al., 2007**). Une étude a montré que l'ingestion d'un régime hypercalorique à base de 40% d'huile de tournesol chez des souris femelles pendant 19 semaines provoque une hyperglycémie (**Shinji et al., 1996**), d'où un bilan énergétique positif entraîne une hypersécrétion d'insuline qui s'accompagne d'une insulino-résistance (IR) (**Lee et al., 2006 ; Yaspelkis et al., 2007**). L'augmentation de l'insulinémie correspond à une réaction d'adaptation de la cellule bêta pancréatique pour maintenir l'homéostasie glucidique face à un état de diminution de la sensibilité de l'organisme à l'action de l'insuline (**Burrows et al., 2001 ; Viner, 2005**).

La surcharge pondérale de l'obésité chez les rats, constitueraient des facteurs plus fortement associés à la macrosomie que les anomalies de la tolérance au glucose (**Kabiru et Raynor, 2004**). L'hyperglycémie entraîne une augmentation progressive des besoins en insuline. Le pancréas augmente de taille chez les rats obèse, donc sa production d'insuline pour maintenir une glycémie normale.. Les modèles animaux ont aussi démontré que le transfert excessif de nutriments favorise la production d'insuline, la croissance, la prolifération et l'hypertrophie des adipocytes ainsi que la résistance à la leptine et à l'insuline chez le rat (**Rkhzay-Jaf et al., 2012**). Dans notre étude, le régime hyperlipidique induit une augmentation de l'insulinorésistance chez les rates obèses montrant un hyperinsulinisme et une hyperglycémie comparée aux rates témoins nourries au régime standard cela accompagner d'une résistance à la leptine des rats obèses nourris au régime hyperlipidique. Ces deux hormones jouent un rôle important dans la régulation de la prise alimentaire. Elles ont un rôle anorexigène sur l'hypothalamus et permettent d'inhiber l'appétit et réduire la prise alimentaire (**Schwartz et al., 2000 ; Lacroix et al., 2013**).

Par ailleurs, nos résultats montrent que les valeurs moyennes de la glycémie restent dans les normes physiologiques chez les rats ayant reçu les régimes à base de l'huile de coloquinte malgré que le régime est hypergras. Ces observations, ont permis d'établir un lien entre sensibilité à l'insuline et la qualité des lipides alimentaires. Ces derniers, peuvent moduler le potentiel insulino-sécréteur étant donné qu'ils sont les constituants majeurs des membranes cellulaires, donc ils peuvent influencer la fluidité membranaire, la perméabilité aux ions, l'affinité du récepteur d'insuline, la translocation du transporteur de glucose et même l'interaction au second messager (**Risérus et al., 2009**), ce qui prouve que l'huile de la coloquinte à un effet correcteur de l'obésité. En **2009, Sebbagh et al** ont montré que l'utilisation de l'huile de coloquinte extraite à partir des graines et incorporée dans des régimes alimentaires a un effet régulateur de la glycémie et/ou préventif des cellules bêta-pancréatiques chez des rats mâles Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine (STZ).

L'exposition des rats à un régime hyperlipidique, ne modifie pas seulement l'homéostasie du glucose, mais conduit également au développement d'autres anomalies comme profil lipidique (**Armitage et al., 2005**). La dyslipidémie est une autre caractéristique importante de la pathogenèse de l'obésité caractérisée par une hypertriglycéridémie avec diminution des taux de LDL et de VLDL (**Klop J et al. 2013**). Ceci confirme nos résultats, qui marquent des altérations lipidiques chez les rats obèses. En effet, les rats obèses présentent une augmentation des teneurs sériques en triglycérides (TG) et en cholestérol total (CT).

L'hypertriglycéridémie correspond à une surproduction hépatique des TG-VLDL suite à une augmentation du flux de glucose et d'acides gras libres au foie, ainsi qu'une résistance hépatique à l'effet inhibiteur de l'insuline sur la sécrétion des VLDL (**Mayer et al., 2013**). Les variations de la cholestérolémie résultent de l'augmentation, d'une part des taux de VLDL, et d'autre part, concentration sanguine des lipoprotéines à basse densité LDL, qui en sont les sous-produits (**Thorp et al., 2013**).

On établit que l'accumulation des triglycérides dans le muscle et le foie est liée à l'insulino-résistance, provenant d'une perturbation de la signalisation insulinique dans ces tissus. La synthèse du cholestérol hépatique peut être élevée chez le rat obèse, en raison d'un excès d'acétyl-CoA provenant de l'hyperglycémie (**Gauvreau et al., 2011 ; Kim et al., 2000**). L'obésité s'accompagne fréquemment d'une accumulation excessive de TG (stéatose) dans le foie. Ces lipides proviennent d'une part des AG issus de la lipolyse dans le tissu adipeux ou de la lipogénèse hépatique (à partir du glucose) et d'autre part des lipoprotéines riches en triglycérides provenant de l'intestin, suite à la digestion des lipides d'origine alimentaire ou des VLDL circulants. Le niveau circulant élevé de VLDL observé chez les sujets obèses et/ou diabétiques de type 2 est en partie dû à un défaut d'inhibition de la libération de VLDL par l'insuline (état de résistance à l'insuline) (**Adiels et al., 2008**).

Nos résultats montrent une augmentation des C-LDL et une diminution des C-HDL chez les rates obèses par rapport aux témoins. Les taux plasmatiques élevés du C-LDL sont dus à une sécrétion hépatique excessive de lipoprotéines ou à un défaut d'élimination du LDL (**Lougheed et Steinbrecher, 1996**). Par ailleurs, les rats obèses ont des teneurs sériques élevés en TG. Le glucose en excès dans le sang est transformé en acides gras et en triglycérides ce qui explique que l'hypertriglycéridémie est liée à de l'hyperglycémie. Ces modifications peuvent être le résultat de l'insulinorésistance associée à l'obésité. En effet, de nombreux travaux rapportent que l'excès de masse grasse s'accompagne d'une insulinorésistance responsable des anomalies lipidiques (**Verges, 2001**). L'insulinorésistance augmente l'hydrolyse des TG du tissu adipeux ainsi que la libération des AGL du foie, une altération de la signalisation de l'insuline dans les hépatocytes, menant à une augmentation de la sécrétion des VLDL. De plus, les VLDL stimulent le transfert d'esters de cholestérol des HDL vers les VLDL et favorisent l'enrichissement en TG des HDL (**Ginsberg et al., 2009**).

Toutefois, nos résultats montrent une amélioration de quelques paramètres lipidiques chez les rats recevant les régimes à base de HC et EMAG. Cette dernière est riche en composants mineurs comme les hydrocarbures, principalement les squalènes et les phytostérols, connus par leurs effets bénéfiques. En outre, notre huile contient aussi plusieurs agents antioxydants naturels comme la vitamine E, en proportion favorable pour prévenir le vieillissement et les maladies cardiovasculaires (**Delplanque et al., 2002 ; Sebbagh et al., 2007; Sebbagh et al., 2009**). Une diminution significative de la cholestérolémie est notée chez les rats ayant reçu les régimes à base de HC et EMAG. Ces résultats confirment ceux obtenus par **Chan et al., (1996)**. D'après ces auteurs; un apport alimentaire de quantité raisonnable de squalènes a un effet bénéfique sur la concentration sérique de cholestérol. On pense que la quantité de squalène contenue dans HC, peut entraîner une diminution de la cholestérolémie, comme il est probable que cette baisse est dû à l'inhibition de l'absorption intestinale de cholestérol. Par ailleurs, l'acide linoléique exerce un effet bénéfique sur la cholestérolémie à condition qu'il ne dépasse pas 4 à 10% de l'apport énergétique (**Ruiz-Rodriguez et al., 2010**). D'autre part, il faut noter que l'acide myristique que l'on trouve dans HC (0,8%) et pas dans HT (**Sebbagh et al., 2007 ; Sebbagh et al., 2009**) occupe une place particulière, pouvant même exercer un rôle hypocholestérolémiant à dose alimentaire ; sachant qu'il se fixe sur plusieurs dizaines de protéines, leur conférant leurs fonctions métaboliques (**Walrand et al., 2010**).

Par ailleurs, les causes de ces troubles métaboliques sont souvent des anomalies de régulations endocriniennes ou des déficiences qui touchent des enzymes (**Philips et al., 1996**). Parmi ces derniers, on trouve les transaminases qui sont des enzymes indispensables à l'organisme participant à la néoglucogenèse en catalysant le transfert d'un groupe amine afin de produire de l'acide oxaloacétique et de l'acide pyruvique. Les organes les plus riches sont le foie pour les ALAT (Alanine Amino Transférase ou Glutamate Pyruvate transaminase) et les muscles, y compris le coeur, pour les ASAT (Aspartate Amino Transférase ou Glutamate Oxaloacétique Transaminase). Toute altération de ces organes va libérer des transaminases. Le rapport ASAT/ALAT peut aider à déterminer une probabilité d'une atteinte hépatique (**Buswell et Stalder. 2001**).

Nos résultats révèlent que ce rapport est plus élevé chez les rats obèses par rapport aux rats témoins. En effet, une surcharge alimentaire suffit pour entraîner une augmentation importante des transaminases hépatiques. La démonstration est faite expérimentalement

par Béatrice **Vuaille (2008)** chez des volontaires qui ont accepté de se soumettre pendant un mois à un régime hypercalorique à base de fast-food, ou l'effet est apparu dès la première semaine. De plus, les élévations des ASAT sont fortement associées aux traits du syndrome métabolique et ils sont corrélées à un risque de diabète de type 2 et de stéatose hépatique non alcoolique (**Vuaille, 2008**).

Des études épidémiologiques, cliniques et animales ont montré que l'obésité est associée à une altération du stress oxydatif (**Warolin et al., 2013; Karaouzene et al., 2011**). Ce stress oxydatif peut être déclenché par l'obésité, hypernutrition chronique, repas riches en glucides, ainsi qu'une forte consommation des acides gras saturés (AGS) et les acides gras trans. La culture cellulaire et les études animales montrent que le stress oxydatif entraîne la différenciation des adipocytes et augmente la taille des adipocytes matures (**Furukawa et al., 2004; Higuchi et al., 2013**) et des espèces réactives de l'oxygène (ROS) semble être impliqué dans le contrôle du poids corporel, en influençant la satiété et de faim (**Horvath et al. 2009**). Autres facteurs qui contribuent au stress oxydatif dans l'obésité sont une génération anormale de ROS post-prandiales [**Patel et al., 2007**], hyperleptinémie [**Beltowski, 2012**], inflammation chronique (**Bondia-Pons; Ryan, 2012**), et dysfonctionnement tissulaire (**Serra et Mera, 2012**).

Quelques paramètres du statut oxydant/antioxydant plasmatique, hépatique et mitochondriaux ont été réalisés afin de pouvoir en déduire s'il y a installation d'un stress oxydatif lié à une obésité induite par un régime hypergras chez les rats et d'examiner l'effet antioxydant de d'EMAG et de l'huile de coloquinte.

Nos résultats montrent que le pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC) est diminué chez les rats obèses. Ces données sont aussi confirmées par nos résultats sur le taux des diènes conjugués, un autre marqueur de l'oxydation des lipides qui est élevé chez les rats obèses.

En outre, des concentrations plus faibles de vitamines reflètent l'installation d'un stress oxydatif chez les rats exposés, au cours de la période d'expérimentation. Ces résultats confirment le fait que l'obésité est associée à l'augmentation du stress oxydatif.

Les faibles taux plasmatiques de vitamines pourraient refléter leur taux d'utilisation élevé, ce qui suggère que ces vitamines sont utilisées pour réduire le stress oxydatif chez les rats obèses.

Les systèmes de défenses antioxydants sont assurés par la SOD, dont la Cu/Zn-SOD présente dans le cytoplasme, la matrice mitochondriale et dans le milieu extracellulaire et la Mn-SOD, uniquement mitochondriale, la Glutathion peroxydase (GPx-Se) et la catalase dont le rôle consiste à empêcher l'accumulation dans la cellule de protéines ou d'ADN oxydés et à dégrader leurs fragments toxiques. Les apports alimentaires en antioxydants sont essentiels pour l'équilibre de ce système de défense. Parmi ces principaux antioxydants dépendant des apports alimentaires, la vitamine E protège les membranes de l'attaque des radicaux libres. L' α -tocophérol est régénéré principalement grâce à l'action de l'acide ascorbique (vitamine C) qui est un réducteur susceptible d'influencer la peroxydation lipidique. La vitamine C, hydrophile, joue un rôle antioxydant essentiel dans le plasma. La vitamine A a un effet antioxydant lié principalement à une réaction avec les radicaux peroxy (Soltys *et al.*, 2001 ; Aasheim *et al.*, 2008). Aussi, une diminution en glutathion réduit plasmatique, hépatique et mitochondrial a été noté dans nos résultats chez les rats ayant reçu un régime hyperlipidique en comparaison avec ceux ayant reçu une supplémentation en HC.

Le glutathion joue un rôle important dans la conversion de déshydroascorbate, produite pendant le recyclage des tocophérols, à l'ascorbate (Soltys *et al.*, 2001).

Le stress oxydatif avec une déficience totale en GSH et une augmentation des peroxydes lipidiques a bien été étudié dans le modèle de rats CMDD (régime déficient en choline et en méthionine) avec un foie gras. Les mécanismes exacts du stress oxydatif dans le foie gras ne sont pas connus, mais une augmentation de la production pro-oxydant et / ou une augmentation de la quantité de substrat sensible à l'attaque oxydatif peut épuiser les défenses antioxydantes et induire un stress oxydatif lipidique (Soltys *et al.* 2001).

Une augmentation des dépôts de graisses et les lésions des cellules provoquent une augmentation du taux de radicaux libres et la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) tel que le H_2O_2 (Begrache *et al.*, 2011). Un autre mécanisme par lequel l'obésité peut causer indépendamment l'augmentation de la peroxydation lipidique est par des dommages cellulaires progressifs et cumulatifs résultant de la pression de la grande masse corporelle. Les dommages cellulaires provoquent la libération de cytokines notamment facteur de nécrose tumorale alpha ($TNF\alpha$), ce qui génère des espèces réactives de

l'oxygène dans les tissus qui, à son tour provoque la peroxydation lipidique. Un troisième mécanisme est possible par l'alimentation. L'obésité nutritionnelle qui est la forme traitée dans notre étude, implique la consommation de régimes hyperlipidémiant qui peuvent être impliquées dans le métabolisme de l'oxygène. Les doubles liaisons dans les molécules d'acides gras sont sensibles à l'oxydation et, par conséquent ces réactions peuvent provoquer la peroxydation lipidique (**Olusi 2002; Lee et al., 2011**) ont rapporté que l'augmentation de la masse du tissu adipeux (TA), résultante surtout de la consommation d'un régime hyperlipidémiant rend ce TA vulnérable au métabolisme de l'oxygène qui peut causer une peroxydation lipidique et par conséquent la formation du malondialdéhyde (MDA).

L'activité de la catalase (CAT) hépatique augmente chez les rats obèses. En revanche, l'activité de la SOD plasmatique diminue contrairement à celle du foie. La supplémentation par HC a bien rétablie la balance du statut oxydant/antioxydant en ce qui concerne ces enzymes. En effet, l'obésité induit une réduction de l'activité de la SOD au niveau plasmatique et mitochondriale. De plus, la formation des radicaux libres stimule et active la défense antioxydante, ce qui peut expliquer l'augmentation de l'activité de la CAT au niveau du foie chez les rats obèses. Il est bien connu que face au stress oxydant, la défense antioxydante réagit de deux façons différentes. Elle est soit stimulée et son activité augmente, ou alors elle est inhibée avec réduction de son activité lors d'une production massive de radicaux libres (**Bouanane et al., 2009**).

Dans notre travail, la supplémentation en EMAG d'huile de la coloquinte et HC chez les rats obèses montre un effet correctif des paramètres marquants du stress oxydatif de l'organisme. Ces résultats expliquent les effets antioxydants d'HC et des EMAG.

De nombreuses études ont rapporté que la supplémentation alimentaire en nutriments antioxydants tels que les vitamines, les polyphénols, les phytostérols et les AGPI préviennent ou au moins atténuent les dommages dus aux ERO dans le cas d'un stress oxydatif (**Yu et al., 2008**). Des études ont été réalisées chez des personnes obèses démontrent d'une supplémentation d'huile de lin riche en ω -3 (acide α -linoléique) entraîne une baisse de taux de TBARs (**Rhee; Brunt, 2011 ; Kusunoki et al., 2001**)

Conclusion

Conclusion

L'obésité est devenue un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale à cause de ces complications. Les progrès dans la compréhension des mécanismes impliqués dans la régulation du poids s'avèrent très importants dans la détermination de cible(s) thérapeutique(s) éventuelle(s) pour le traitement de l'obésité, et nous aide à mieux comprendre leur extrême complexité. Diverses stratégies semblent pointer leur nez contre l'obésité : régulateur de la prise alimentaire, inhibiteurs de l'adipogenèse et de la lipogenèse, activateur de la thermogenèse et lipolyse. De même, les essais impliquant des antagonistes ou des agonistes de différents facteurs identifiés comme intéressants n'ont pas abouti pour le moment, aussi de prise en charge renforcée par la commercialisation de nouveaux traitements pharmacologiques. Tous les ingrédients sont donc réunis pour nous faire entrevoir les prémices de la victoire dans la lutte contre ce mal contemporain, à condition bien entendu de s'y impliquer sérieusement.

La bataille contre l'obésité sera probablement plus difficile, étant donné la nature et la complexité de cette pathologie. Un nombre très important de recherches scientifiques consacrés à l'obésité, et de comprendre leurs étiologies et leurs facteurs de risque. La plupart des résultats suggèrent que la prédisposition génétique est un facteur prédominant avec le rôle de l'alimentation et de la sédentarité.

En effet, plusieurs études portent sur l'utilisation de plantes médicinales comme une autre voie thérapeutique pour le traitement de l'obésité. Les huiles végétales et surtout ceux issus des plantes médicinales sont un bon exemple qui illustre les actions de lipides alimentaires sur l'obésité. Elles représentent une vaste famille de corps gras dont les usages culinaires sont multiples, mais leurs utilisations en tant qu'ingrédients par les industries agroalimentaire et pharmaceutique ne doit pas être occultée. De ce fait, la recherche de nouvelles stratégies de prévention et de lutte contre cette maladie est devenue une première nécessité. Les cibles potentielles sont nombreuses. Pour cela, nous avons choisi dans notre travail d'étudier l'impact de ces lipides végétales au cours l'installation de l'obésité chez un modèle animal (rat Wistar); surtout après l'échec de l'intervention pharmacologique par des molécules connues.

Les résultats de notre étude montre que l'huile des graines de coloquinte et EMAG atténue les complications de l'obésité et permet la prévention en raison de sa composition en acides gras

polyinsaturés (AGPI), ainsi qu'en acides gras essentielles ; les acides linoléique (76.4%) et linoléinique (0.5%) et de son rapport favorable AGS/AGMI/AGPI (15%/ 7.8%/77.2%).

Nos résultats montrent que la masse pondérale moyenne, chez les rats obèses ayant reçus les esters acides gras de l'huile de coloquinte diminue (à 15%) témoignant de l'effet l'huile de la coloquinte sur plasticité du tissu adipeux. En parallèle on note aussi que les valeurs de coefficient d'utilisation digestif des lipides (CUDI) (55%) peuvent expliquer cet effet hypolipidimiant des composantes de notre huile expérimentale par une teneur élevée des lipides fécaux (0.28 g/rat/jr), réduisant ainsi les risques athérogènes.

Une diminution bien prononcée de la glycémie (42%), insulinémie (40%), cholestérolémie (7.87%), triglycéridémie est observée chez les rats obèses traités aux Esters d'acides gras d'huile de coloquinte.

Par ailleurs, Nos résultats ont aussi mis en évidence l'effet correctif sur l'installation d'un stress oxydatif lié à une obésité induite par un régime hyper lipidique. En effet, son action c'est résumé à l'amélioration de l'activité des enzymes antioxydants hépatiques SOD et catalase (25%) et ainsi que l'augmentation des taux des antioxydants non enzymatiques, tels que la vitamine C (5%) et le glutathion réduit.

L'utilisation des EMAG nous permet d'utilisé l'ensemble des acides gras contenant dans l'huile qui semble avoir les effets protecteur et /ou correcteur. Espérons qu'en peut à l'avenir utilisé les esters méthyliques d'un seul acide gras, ou tester l'effet in vitro sur les cultures cellulaires pour mieux comprendre les mécanismes impliqués.

Au terme de cette étude expérimentale, nous avons obtenus des résultats très probants et encourageants chez les rats ayant reçu des régimes hyper lipidiques à base de l'huile de coloquinte; ces résultats ont montré réellement l'aspect positif de cette huile et EMGA sur la régulation de la prise de poids et d'autres paramètres endogènes.

Cependant, les moyens disponibles, tels le contrôle de notre alimentation, la pratique de l'exercice physique, la détoxification individuelle et certains stimulants naturels de la lipolyse comportent peu d'effet secondaire, sont efficaces pour 90% de la population mondiale. Le but ultime pour freiner l'épidémie mondiale d'obésité serait non pas de chercher le remède miracle mais d'éradiquer les causes.

En perspectives du futur pour cette étude et à partir de ces résultats , il semble intéressant de faire des études complémentaires en passant par le dosage des hormones spécifiques de l'obésité et aussi voir le profil de certains paramètres inflammatoires chez le rat en utilisant des

techniques nouvelles et essayer de décrypter les messages des interactions cellulaires engendrer par l'introduction des molécules huileuses et /ou métabolites extraits au niveau de l'huile de graines de coloquinte.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

1. **Aasheim ET1, Hofsø D, Hjelmesaeth J, Birkeland KI, Bøhmer T (2008).** Vitamin status in morbidly obese patients: a cross-sectional study. *Am J Clin Nutr* 87(2):362-9.
2. **Adam SEI, Al-Yahia M.A& Al-Farhan A (2001).** Combined Toxicity of Cassia sanna and citrullus colocynthis in rats. *Vet. Humman. Toxicol.* 43: 70-72.1
3. **Adiels M, Olofsson SO, Taskinen MR, Borén J (2008).** Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 28(7):1225-1236.
4. **Aebi H (1974).** Catalase: In methods of enzymatic analysis. Verlag Chimie Gmbh Weinheim. 2: 673 - 684.
5. **Aguila MB & Mandarim-de-Lacerda CA (2003)** Heart and blood pressure adaptations in Wistar rats fed with different high-fat diets for 18 months. *Nutrition* **19** 347–352.
6. **Ali Esmail A (2016).** Chemical constituents an pharmacological effects of *Citrullus colocynthis* - A review. *IOSR Jou Of Pharmacy.* 2319-4219
7. **Al-khalifa, A, S. (1996).** Physicochemical characteristics, fatty acid composition, and lipoxygenase activity of crude pumpkin and melon seed oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44, 964-966.
8. **Al-Snafi AE (2015).** Therapeutic properties of medicinal plants: a review of their detoxification capacity and protective effects (part 1). *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*; 5(4): 257-270.
9. **Al-Snafi AE (2016).** Chemical constituents and pharmacological effects of *Clerodendrum inerme*- A review. *SMU Medical Journal*; 3(1): 129-153.
10. **Angé C, Bouget F (2008).** Purification and analysis of organic compound. 4 th ed. Ellipes : laboratory Technique page 156.
11. **Armitage JA, Taylor PD, Poston L (2005).** Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *Physiol.* 565(Pt 1):3-8.
12. **Atek M., Traissac M.P., El Ati J., Laid Y., Aounallah-Skhiri H., Eymard Duvernay S., Mézimèche N., Bougateg S., Béji C., Boutekdjiret L., Martin-Prével Y., Lebcir H., Gartner A., Maire B., Delpeuch F., Ben Romdhane H., Maire B (2013).** Obesity and association with area of residence, gender and socio-economic factors in Algerian and Tunisian adults. *PLOS one journal* 8(10): e75640.

13. **Badifu G, Ogunsua (1991)**. Chemical composition of kernels from some species of cucurbitaceae grown in Nigeriz. *Plant foods Human Nutr.* 41: 34-44.
14. **Baren-Engquist K, Chang M (2011)**. obesity and cancer risk: recent review and evidence. *curr oncol resp.* 13(1): 71-76.
15. **Basdevant A. 2006**. Origines et conséquences d'une épidémie. *C.R . Biologies* 329 : 562-569.
16. **Begrliche K., Massart J., Robin M.A., Borgne-Sanchez A., Fromenty B (2011)**. Drug-induced toxicity on mitochondria and lipid metabolism : Mechanistic diversity and deleterious consequences for the liver. *Journal of Hepatology* 54: 773-794.
17. **Beltowski, J (2012)**. Leptin and the regulation of endothelial function in physiological and pathological conditions. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2012**, 39, 168–178.
18. **Benfante R, Yano K, Hwang LJ, Curb JD, Kagan A, Ross W (1994)**. Elevated serum cholesterol is a risk factor for both coronary heart disease and thromboembolic stroke in Hawaiian Japanese men: implications of shared risk. *Stroke.* 25: 814–820.
19. **Berg AH, Combs TP, Scherer PE (2002)**. ACRP30/adiponectin : An adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism* ; 13 : 84-9.
20. **Bergouignan (2010)**. “Calories” and obesity: Quantity or quality ? : Cahiers de nutrition et de diététique.
21. **Bianca M, Arendt, Ma D, Simons B, Therapondos N, Guindi GM, Sherman M, Allard JP (2013)**. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with lower hepatic and erythrocyte ratios of phosphatidylcholine to phosphatidylethanolamine. *Appl Physiol Nutr Metabolism.* 38(3): 334-40.
22. **Blache D, Prost M (1992)**. Free radical attack: biological test for human resistance capability. In: *Proceedings of the IX College Park Colloquium on Chemical Evolution*, NASA, Washington, DC. 39: 2229-2234.
23. **Böhme P ; Corbonnois P ; Duchesne L ; Quilliot D ; Ziegler O (2015)**. Adiposité, hypoxie et apnées du sommeil : de l'obésité au syndrome métabolique. *Obésité* (2015) 10:204-212.
24. **Boirie Y (2009)**. Obésité : physiopathologie et conséquences. Chapitre 16, SAMU de France.
25. **Bondia-Pons, I.; Ryan, L.; Martinez, J.A (2012)**. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. *J. Physiol. Biochem.* 68, 701–711.

26. **Bouanane S, Benkalfat NB, Baba ahmed FZ, Merzouk H, Mokhtari NS, Merzouk SA, Gresti J, Tessier C, Narcet M (2009).** Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in overfed obese rats and their offspring. *Clinical Science*. 116: 669–680.
27. **Bray, G. A., and B. M. Popkin (1998).** "Dietary fat intake does affect obesity!" *Am J Clin Nutr* 68 (6):1157-73.
28. **Burrows R, Gattas V, Leiva L, Barrera G, Burgueno M (2001).** Biological, familial and metabolic characteristics of infantile and juvenile obesity. *Rev Med Chil*.129 (10):1155-1162.
29. **Buswell L, Stalder H (2001).** Elevation des transaminases (Amino-peptidases). *Postgrad Med* 107:1266-71.
30. **Calles-Escandon J. & Cipolla M (2001)** Diabète and endothelial dysfunction : A clinical perspective. *Endocrine reviews*. 22:36-52.
31. **Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P (1995).** Recombinant mouse OB protein : Evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neuronal networks. *Science* ; 269 : 546-9.
32. **Cerf ME (2013).** Beta cell dysfunction and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 4: 37.
33. **Chan K (2000).** Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. *Chemosphere*; 52:1361-71.
34. **Chan P, Tomlinson B, Lee CB, Lee YS (1996).** Effectiveness and safety of low-dose pravastatin and squalène, alone and in combination, in elderly patients with hypercholesterolemia. *Clin Pharmacol* 36: 422-427.
35. **Charbonel B. & Cariou B. (1997).** Diabète non insulinodépendant: indication thérapeutiques. *Médecine thérapeutique* 3: 103-11.
36. **Comte C., Bellenger S., Bellenger J., Merlin J. F, Tessier C, Poisson J. P. & Narce M (2003).** Régulation de la biosynthèse des acides gras polyinsaturés lors de l'hypertension artérielle associée aux diabètes de type 1 et 2. *Oléagineux corps gras, lipides*. 1: 321-7.
37. **Couet C, Delarue J, Ritz P, Antoine J. M, Lamisse F (1997)** Effet of dietary fish oil on body fat mass and basal fat oxydation in healthy adults. *Int J Obes*. 21: 637-643.
38. **Coulsto A. M (1999).** The role of dietary fats plant based diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 512-515

39. **Delphanque B., Le ROY B., Mendy F., Fenart E., Syeda F., Combe N., Ruelland A., Borel P., Tangy S. & Vandepute. B (2002).** Définition des limites de flexibilité des apports en acides oléique. Linoléique et alphalinoléique sur la lipidémie et les paramètres d'athérombose chez l'homme: Intérêt des huiles végétales combinées. *Oléagineux, corps gras, lipides. 9 : 237-243.*
40. **Delplanque B, Leroy B, Mendy F (2002).** Equilibre entre acides gras saturés : contribution à l'étude de la prévention des maladies cardio-vasculaires. *Oléag Corps Gras Lipides. 9: 237-243.*
41. **Despres JP. (1991).** Obesity and lipid metabolism: relevance of body fat distribution *Curr Opin Lipidol, 2: 5–15*
42. **Doust_Blazy L, F. Mendy (1988).** Biologie des lipides chez l'homme de la physiologie à la physiopathologie. *Éditions Médicales Internationales (Lavoisier)(p 17).*
43. **Drewnoski I A. (1998)** Energy density, palatability, and satiety : implications for weight control. *Nutr Rev, 56 : 347-353*
44. **Drummond EM, Gibney ER (2013).** Epigenetic regulation in obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2013;16:392–7.*
45. **Duke JA (2001).** Chemicals in: *Citrullus colocynthis (cucurbitaceae). Colocynth. In phytochemical database. USDA-ARS-NGRL, Beltsville Agricultural research. 7(12): 40-51.*
46. **Dyson A (1999).** Discovering indigenous healing plants of the herb and fragrance gardens at Kirstenbosch national botanical garden. Cape Town: National Botanical Institute Printing Press: 268.
47. **El magoli, S. B., Morad, M. M., et El- Farh, A. A (1979).** Evaluation of some Egyptian melon seed oils. *Fette deifen Anstrichmittel, 81, 201-205.*
48. **Flegal, K. M., B. K. Kit, H. Orpana, and B. I. Graubard (2013).** "Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis." *JAMA 309 (1):71-82.* doi: 10.1001/jama.2012.113905.
49. **Flier JS (1995).** The adipocyte : Storage depot or node on the energy information superhighway ? *Cell 1995 ; 80 : 15-8.*
50. **Gaillard R C (2003).** Le tissu adipeux : un véritable organe endocrine. *Rev Med Suisse; volume -1.22822*

51. **Gaston J Beaudoin, Eddy F, Charles T (1996)**. Chimie organique expérimentale. Chap 31 p 599.
52. **Gauvreau D, Villeneuve N, Deshaies Y, Cianflone K (2011)**. Novel adipokines: Links between obesity and atherosclerosis. *Annales d'Endocrinologie*. 72: 224–231.
53. **Gazzaniga Jm, Burns TL (1993)**. Relationship between diet composition and body fatness, with adjustment for resting energy expenditure and physical activity, in preadolescent children. *Am J Clin Nutr*, **58** : 21-8
54. **Gholay A (1998)**. Rôle des graisses alimentaires dans le développement de l'obésité : Obésité et lipides. *Oléagineux, corps gras, lipides* 5: 205-207.
55. **Gibley M. J. (1999)**. Optimal macronutrimant balance. *Proceeding of the nutrient society*. 58: 421-425.
56. **Ginsberg, HN, MacCallum PR (2009)**. The obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus pandemic: Part I. Increased cardiovascular disease risk and the importance of atherogenic dyslipidemia in persons with the metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *J Cardiometab Syndr*. 4 : 113-119 .
57. **Girard J (2003)**. Rôle des acides gras libres dans la sécrétion et l'action de l'insuline : mécanismes de la lipotoxicité. *Mécanismes de la lipotoxicité, Med Sci*. 19 (8-9): 827-833.
58. **Golay A, Bobbioni E (1997)**. The role of dietary in obesity. *Int J Obes*, 21: S2-S11
59. **Gravena C, Mathias PC, Ashcroft S JH (2002)**. Acute effects of fatty acids on insulin secretion from rat and human islet of Langerans. *J of Endocrino*. 173: 73-78.
60. **Grundy M. S (1999)**. The optimal ratio of fat-to-carbohydrate in the diet, *Ann Rev Nutr*, 19:325-41.
61. **Grundy S. M (1997)**. What is the desirable ratio of saturated polyunsaturated and monounsaturated fatty acids in the diet, *Am J Clin Nutr*. 66: 988-90.
62. **Harris RBS (2000)**. Leptin much more than a satiety signal. *Ann Rev Nutr* ; 20 : 45-75.
63. **Harris WS, Mozaffarian D, Rimm E, Kris-Etherton P, Rudel LL, Appel LJ (2009)**. Omega-6 fatty acids and risk for cardiovascular disease: a science advisory from the American Heart Association Nutrition Subcommittee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*;119(6):902-7.

64. **Hawkesworth (2013)**. Obesity : Definition, Etiology, and Assessment. Human Nutrition. , Pages 350-353.
65. **Higuchi, M.; Disting, G.J.; Peshavariya, H.; Jiang, F.; Hsiao, S.T.; Chan, E.C.; Liu, G.S (2013)**. Differentiation of human adipose-derived stem cells into fat involves reactive oxygen species and forkhead box o1 mediated upregulation of antioxidant enzymes. *Stem. Cells Dev.*, 22, 878–888.
66. **HILL JO, LIN D, YAKUBU F, PETERS JC3 (1992)**. Development of dietary obesity in rats, influence of amount and composition of dietary.
67. **Horvath, T.L.; Andrews, Z.B.; Diano, S (2009)**. Fuel utilization by hypothalamic neurons: Roles for ROS. *Trends Endocrinol. Metab.*, 20, 78–87.
68. **IASO (International Association for the Study of Obesity) (2007)**. Prévalence du surpoids et de l'obésité en Europe - Données récentes de l'IASO. *Obesity 2*: 152-153.
69. **Imededdine A N, Hassen S, Chin P T, Saud I A (2012)**. Evaluation and characterisation of Citrullus colocynthis (L.) Schrad seed oil: Comparison with Helianthus annuus (sunflower) seed oil. *Food Chemistry 136 (2013)* 348–353.
70. **J ones P. J., Mac Dougall D. E., Ntanios F. & Vanstone C. A (1997)**. Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans. *Can. J. physiol pharmacol.* 75: 217-27.
71. **Jacota SK., Dani HM (1982)**. A new colorimetric technique for estimation of vitamine C using folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry.* 127(1):178-182.
72. **Jacotot B et Lasserre. (1988)**. Manipulation des lipides alimentaires: leur conséquences sur les marqueurs biologiques d'athérosclérose. Livre: Biologie des Lipides chez L'homme de la physiologie à la pathologie Ed Lavoisier 1988. Par L. Douste-Blazy & F. Mendy
73. **Jean-Pascal De Bandt (2004)**. Nutrition and Obésisty. *Jn. Nutr Clin et métabolisme* 18(2004) 147-155
74. **Kabiru W, Raynor BD (2004)**. Obstetric outcomes associated with increase in BMI category during pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology.* 191: 928-932.
75. **Kalhor, M.A., Afza, N., Saleem, M., Malik, A (2002)**. Pharmacochémical studies of the oil, aerial parts, pulp and peel of Citrullus colocynthis. *Journal of Chemical Society of Pakistan* 24, 274–276.
76. **Karaouzene, N.; Merzouk, H.; Aribi, M.; Merzouk, S.A.; Berrouiguet, A.Y.; Tessier, C.; Narce, M (2011)**. Effects of the association of aging and obesity on lipids,

- lipoproteins and oxidative stress biomarkers: A comparison of older with young men. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 21, 792–799.
77. **Katz I, Stradling J, Slutsky AS, Zamel N, Hoffstein V (1990).** Do patients with obstructive sleep apnea have thick necks? *Am Rev Respir Dis* 141:1228–31.
78. **Kemali Z. 2003.** L'obésité au Magreb. *Santé Magreb* p1.
79. **Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PW, Benjamin EJ, Larson MG (2002).** Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med* 347:305–13.
80. **Kenneth Lough Juan M. Navia Robert S. Harris (1966).** Improved procedure for extracting food fatty acids. *Journal of the American oil Chemiste Society.* 627-631
81. **Kim JY et al (2000).** High-fat diet-induced muscle insulin resistance: relationship to visceral fat mass. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol* 279: 2057-2065.
82. **Klop J, Elte WF, and Cabezas MC (2013)** Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients* 5(4):1218–1240.
83. **Koji N., Teruyoshi Y. 2007.** Bioactive lipids in metabolic syndrome. *Progression in Lipid Research* 47: 127-46.
84. **Kusunoki, C.; Yang, L.; Yoshizaki, T.; Nakagawa, F.; Ishikado, A.; Kondo, M.; Morino, K.; Sekine, O.; Ugi, S.; Nishio, Y (2013).** Omega-3 polyunsaturated fatty acid has an anti oxidant effect via the Nrf-2/HO-1 pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 430, 225–230.
85. **Lacroix M, Kina E, Hivert MF (2013).** Maternal/fetal determinants of insulin resistance in women during pregnancy and in offspring over life. *Curr Diab Rep.* 13 (2): 238-244.
86. **Lavergne-Solve A, Mosnier JF (2005).** Lésions élémentaires des cellules, tissus et organes. Copyright AFECAP. P 5.
87. **Le Goff G. ,Noblet J (2001).** Comparative digestibility of dietary energy and nutrients in growing pigs and adult sows. *J. Anim. Sci.*, 79, 2418-2427.
88. **Lee Hae-In, Kim Mi-Su, Lee Kyung-Mi, Park Seok-Kyu, Seo Kwon-II, Kim Hye-Jin, Kim Myung-Joo, Choi Myung-Sook Lee, Mi-Kyung (2011).** Anti-visceral obesity and antioxidant effects of powdered sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf tea in diet-induced obese mice. *Food Cheml Toxicol* 49: 2370–2376.
89. **Lee JS, Pinnamaneni SK, Eo SJ, Cho IH, Pyo JH, Kim CK, Sinclair AJ, Febbraio MA, Watt MJ (2006).** Saturated, but not n-6 polyunsaturated, fatty acids induce insulin resistance: role of intramuscular accumulation of lipid metabolites. *J Appl Physiol.* 100 (5): 1467-1474.

90. **Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S., Stadtman E.R (1990).** Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, *Methods in enzymology* 186: 464-478.
91. **Lougheed M, Steinbrecher UP (1996).** Mechanism of uptake of copper-oxidized low density lipoprotein in macrophages is dependent on its extent of oxidation. *J. Biol. Chem.* 271: 11798-11805.
92. **Mah PM ; Wittert GA (2010).** Obesity and testicular function. *Molecr and Cell Endocrinol.* 316:180–86.
93. **Masek J; Fabry P. (1959).** High-fat diet and the development of obesity in albino rats. *Experientia* 15 444–445.
94. **Mattson FH, Nolen GA. (1972).** Absorbability by rats of compounds containing from one to eight ester groups. *Send to J Nutr.* 102(9):1171-5.
95. **Mattson, F. H., and R. A. Volpenhein (1972).** Hydrolysis of fully esterified alcohols containing from one to eight hydroxyl groups by the lipolytic enzymes of rat pancreatic juice. *J. Lipid Res.* 13: 325-328. 2.
96. **Mayer N, Schweiger M, Romauch M, Grabner GF, Eichmann TO, Fuchs E, Ivkovic J, Heier C, Mrak I, Lass A, Höfler G, Fledelius C, Zechner R, Zimmermann R, Breinbauer R (2013).** Development of small-molecule inhibitors targeting adipose triglyceride lipase. *Nat Chem Biol.* 9(12):785-787.
97. **Mensink R. P& Katan M. B (1992).** Effet of dietary fatty acids on serum lipids and lipoprotéin- A.mata- Analysis of 27 trials. *Arterioscler thromb* 12: 991-9.
98. **Migrenne S, Cruciani-Guglielmacci C, Magnan C (2007).** Les acides gras : molécules informatives du contrôle nerveux de l'homéostasie énergétique. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* 42(3): 139-45.
99. **Milagro FI, Campion J, Martinez JA (2006).** Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity.* 14: 1118–1123.
100. **Mouraux T, Dorchy H (2005).** Le poids de l'obésité dans le (pré)diabète de type 2 chez les enfants et adolescents : quand et comment le rechercher ? *Archiv de pédiatrie.* 12:1779-1784.
101. **Ndiaye MF (2007).** Obésité en Afrique : définitions et épidémiologie. *J Afr Hepato Gastroenterol.* 1: 71-75.
102. **Noblet J., Shi X.S. (1994).** Effet of body weight on digestive utilization of energy and nutrients of ingredients and diets in pigs. *Livest. Prod. Sci.,* 37, 323-338.

103. **Nourooz-Zadeh J, Ling Kle, Wolef SP (1996).** Low density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxydes in plasma. *Biochem J.* 313: 781 - 786.
104. **Olusi S.O (2002).** Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans, *International journal of Obesity.* 26 (9): 1159-1164.
105. **Patel, C.; Ghanim, H.; Ravishankar, S.; Sia, C.L.; Viswanathan, P.; Mohanty, P.; Dandona, P (2007).** Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor-kappaB activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *J. Clin. Endocrinol. Metab.,* 92, 4476–4479.
106. **Pauline F, Christine Poitou (2015).** Physiopathologie de l'obésité. *Revue du rhumatisme monographies* 83 (2016) 6–12.
107. **Pérez-Matute P., Pérez-Echarri N., Martinez J.A., Marti A., Moreno-Aliaga M.J. (2007).** Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor-alpha. *Brit J Nutr,* 97(2): 389-9.
108. **Petit V, Arnould L, Martin P, Monnot MC, Pineau T, Besnard P, Niot I (2007).** Chronic highfat diet affects intestinal fat absorption and postprandial triglyceride levels in the rat. *Journal of Lipid Research* 48: 278–287.
109. **Philippe L (1992).** place des lipides dans les apports conseilles en nutrition Humaine. Dossier Scientifique de l'IFN N° 1 (Les lipides).
110. **Philips MS, Liu Q, Hammond HA, Dugan V, Hey PJ, Caskey CJ, Hess JF. 1996.** Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat. *Nat Genet* 13: 18-19.
111. **Poirier P, Eckel RH, Fuster V, Alexander RW, King S, O'Rourke RA, Roberts R, Wellens HJJ (2000).** The heart and obesity. eds. *Hurst's the heart*, 10e ed. New York: McGraw-Hill Companies 2000: 2289-303.
112. **Potier de Courcy G, Frelut ML, Fricker J, Martin A et Dupin H (2003).** Besoins nutritionnels et apports conseillés pour la satisfaction de ces besoins. *Encycl Med Chir, Endocrinologie-Nutrition.* 308 (10) : 32
113. **Pouliot MC, Despres JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C (1991).** Regional variation in adipose tissue lipoprotein lipase activity: association with plasma high density lipoprotein levels *Eur J Clin Invest,* 21: 398–405.
114. **Pralong FP, Gaillard RC (2001).** Neuroendocrine effects of leptin. *Pituitary.* 4 : 25-32.

115. **Raymond Reiser, J. W. Dieckert, and J. G. Hamilton(1956)**. Fat Products in Feeds, Methyl Esters of Tallow Fatty Acids in Poultry Ration. *J. Agric. Food Chem.*4 (9), pp 798–799.
116. **Raymond Reiser, J. W. Dieckert, J. G. Hamilton(1956)** Mites, Soil Pests Dominate Fields for New Chemicals in West; Sales Rise Continues Ag and Food Interprets. pp 737–746. DOI: 10.1021/jf60067a006. ACS.
117. **Rhee, Y.; Brunt, A 2011**. Flaxseed supplementation improved insulin resistance in obese glucose intolerant people: A randomized crossover design. *Nutr. J.*, 10, 44.
118. **Risérus U, Willett CC, Frank BH (2009)**. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Prog in Lip Res.* 48: 44-51.
119. **Rkhozay-Jaf J, O'dowd JF, Stocker CJ (2012)**. Maternal Obesity and the Fetal Origins of the Metabolic Syndrome. *Curr Cardiovasc Risk Rep.* 6 (5): 487-495.
120. **Rodriguez Y, Armand BC (2004)**. Effect of diabete mellitus and differnt treatments on plasma erythrocyte phospholipid fatty acid composition in type 2 diabete. *Annals of Nutr & metab.* 48: 335-342.
121. **Ruiz-Rodriguez A, Reglero G, Ibanez E (2010)**. Recent trends in the Advanced analysis of bioactive fatty acids. *J Pharm Biomed Anal.* 51(2): 305-326.
122. **Savithamma N, Sulochana C, Rao KN (2007)**. Ethnobotanical survey of plants used to treat asthma in Andhra Pradesh, India. *Journal of Ethnopharmacology.* 113: 54–61.
123. **Schafferman D., Beharav A, Shabelshy E. & Yaniv Z (1998)**. Evaluation of Citullus colocynthis, a desert plant native in israel, as pototial source of edible oil. *Journal of arid of environnements.* 40: 431: 439.
124. **Schafferman, D., Beharav, A., Shabelsky, E., Yaniv, Z (1998)**. Evaluation of Citrullus colocynthis, a desert plant native in Israel, as a potential source of edible oil. *Journal of Arid Environments* 40, 431–439.
125. **Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF (1995)**. A novel serum protein similar to C1q. produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* ; 270 : 26746-9.
126. **Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG (2000)**. Central nervous system control of food intake. *Nature.* 404(6778):661-671.
127. **Sébastien Destandau (2015)**. Les pathologies liées à l'alimentation. Rapport hypertexte. Laboratoire Poche Bordeaux.
128. **Sebbagh N, Chabane Sari D, Taleb SA, Benyoucef M, Lahouel M, Ktorza A, Magnan C (2007)**. Effect of dietary colocynthis and sun flower fatty acids containing

- oils on lipids metabolism and on antioxidant stress parameters in streptozotocine-induced diabetics rats. *Res J applied Sci.* 2: 832-838.
129. **Sebbagh N, Cruciani-Guglielmacci C, Ouali F, Berthault MF, Rouch C, Chabane Sari D, Magnan C (2009).** Comparative effects of *Citrullus colocynthis*, sunflower and olive oil-enriched diet in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Diabetes & Metab.* (35): 178-184.
 130. **Shinji L, Mayumi T, Nobuyo T, Kayo M, Hiroshige L, Osamo E (1996).** High-Fat-Diet-Induced Hyperglycemia and Obesity in Mice: Differential Effects of Dietary Oils. *Metab.* 45(12): 1539-1546.
 131. **Simopoulos AP(2006).** Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Journal of Biomed Phamacother.* 60(9):502-7.
 132. **Simopoulos Artemis P, James J Dinicolantonio (2016).** The importance of a balanced ω -6 to ω -3 ratios in the prevention and management of obesity. *Journal of open heart.* 3(2) :e000385.
 133. **Soltys K1, Dikdan G, Koneru B (2001).** Oxidative stress in fatty livers of obese Zucker rats: rapid amelioration and improved tolerance to warm ischemia with tocopherol. 34(1):13-8.
 134. **Stefan N ;Vozarova B ; Funahashi T (2002).** Plasma adiponectin concentration is associated with skeletal muscle insulin receptor tyrosine phosphorylation, and low plasma concentration precedes a decrease in whole-body insulin sensitivity in humans. *Diabetes ;* 51 : 1884-8.
 135. **Steppan CM, Bailay ST, Bhat S (2001).** The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001 ; 409 : 307-12
 136. **Steppan CM, Lazar MA (2002).** Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2002 ; 13 : 18-23.
 137. **Sullivan MP, Cerda JJ, Robbins FL, Burgin CW & Beatty RJ (1993)** The gerbil, hamster, and guinea pig as rodent models for hyperlipidemia. *Laboratory Animal Science* 43 575–578.
 138. **Swantson- Flatt S. K., Day C., Bailey C.J. Flatt p.r (2004).** Traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. *Diabitolgia.* 33: 462-464.
 139. **Tappy L, K A Lê. (2010).** "Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity." *Physiol Rev* 90 (1):23-46. doi: 10.1152/physrev.00019.2009.

140. **Tchernof, A., and J. P. Després (2013)**. "Pathophysiology of human visceral obesity: an update." *Physiol Rev* 93 (1):359-404. doi: 10.1152/physrev.00033.2011.
141. **Terris B (2004)**. Pathologie métabolique (tronc commun p2, anatomie pathologie cours n° 7, Faculté paris 5)
142. **Thorp JM, Rice MM, Harper DM, Klebanoff M, Sorokin Y, Michael W, Varner MW, Ronald J, Wapner J, Caritis SN, Jay D, Rouse DJ, Susan M, Ramin M, Garland MD, Anderson B (2013)**. Advanced lipoprotein measures and recurrent preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 209(4): 342.
143. **Tomé Daniel (1994)**. Des macro-nutriments alimentaires à la santé de l'homme. Institut national agronomique Paris-Crignon (INA-PG).
144. **Twells, L. K., D. M. Gregory, J. Reddigan, and W. K. Midodzi (2014)**. "Current and predicted prevalence of obesity in Canada: a trend analysis." *CMAJ Open* 2 (1):E18-26. doi: 10.9778/cmajo.20130016.
145. **Valerie P, Laurent A, Pascal M,§ Marie-Claude M, Thierry P,§ Philippe B, and Isabelle N (2007)**. Chronic high-fat diet affects intestinal fat absorption and postprandial triglyceride levels in the mouse. *DOI 10.1194/jlr.M600283-JLR200*.
146. **Van Marken Leichtenbelt Wd, Mensinkrp, Westerterp Kr (1997)** The effect of fat composition of the diet on energy metabolism. *Z Ernährungswiss*, 36 : 303-305
147. **Vergès B (2001)**. Insulin sensitivity and lipids. *Diabetes Metab*. 27: 223-227.
148. **Viner RM, Segal TY, Lichtarowicz KE, Hindmarsh P (2005)**. Prevalence of the insulin resistance syndrome in obesity. *Arch Dis Child*. 90: 10-14.
149. **Vuaille Béatrice (2008)**. Une expérience de provocation de surpoids. *Le quotidien du Medecine*5: 4-6.
150. **Walrand S, Fisch F, Bourre JM (2010)**. Tous les acides gras saturés ont-ils le même effet métabolique ? *Nutr Clin Metab*. 24: 63-75.
151. **Warolin, J.; Coenen, K.R.; Kantor, J.L.; Whitaker, L.E.; Wang, L.; Acra, S.A.; Roberts, L.J., 2nd; Buchowski, M.S (2013)**. The relationship of oxidative stress, adiposity and metabolic risk factors in healthy Black and White American youth. *Pediatr. Obes*, doi:10.1111/j.2047-6310.2012.00135.
152. **WHO (2015)**. Epidemic of obesity and overweight linked to increased food energy supply – study. Bulletin of the World Health Organization.
153. **WHO, World Health Organization (1998)**. Obesity : preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on Obesity. Geneva, 1998

154. **Woods SC, Seeley RJ, Rushing PA, D'Alessio D & Tso P (2003)** A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *Journal of Nutrition* **133** 1081–1087.
155. **Yamuchi T, Kamon J, Waki H, et al 2001.** The fat derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nature Med* ; 7 : 941-6.
156. **Yaniv, schafferman, D.; Zur, M., & Shanir, I (1996).** Mathida incona: source of omega-3- linoléic acide. In J. Janick 5ed), *progress in vews crops* (pp. 368-372). Alexandria, VA: ASHS press.
157. **Yaspelkis BB, Lessard SJ, Reeder DW, Limon JJ, Saito M, Rivas DA, Kvasha I, Hawley JA (2007).** Exercise reverses high-fat diet-induced impairments on compartmentalization and activation of components of the insulin-signaling cascade in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 293(4): 941-949.
158. **Yoshikawa M, Morikawa T, Kobayashi H, Nakamura A, Matsuhira K, Nakamura S, Matsuda H (2007).** Bioactive saponins and glycosides. XXVII. Structures of new cucurbitane-type triterpene glycosides and antiallergic constituents from *Citrullus colocynthis*. *Chem Pharm Bull.* 55: 428-434.
159. **Young RA, Frink R, Longcope C (1982).** Serum testosterone and gonadotropins in the genetically obese male Zucker rat. *Endocrinology.* 111: 977–981.
160. **Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J, Weber S, Badr S (1993).** The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N Engl J Med* 328:1230–5.
161. **Yu L.L., Wang R.L., Zhang Y.Z., Kleemann D.O., Zhu X.P., Jia Z.H (2008).** Effects of selenium supplementation on polyunsaturated fatty acid concentrations and antioxidant status in plasma and liver of lambs fed linseed oil or sunflower oil diets. *Animal Feed Sci Technol* 140: 39–51.
162. **Zamani, M., A.O. Rahimi, R. Mahdavi, M. Nikbakhsh and M.V (2007).** Jabbari, Assessment of anti-hyperlipidemic effect of *Citrullus colocynthis*. *Braz. J. Pharma.*; 17: 492-496. Zbinden G. Flury-Roversi.
163. **Zhang Y, Proenca R, Maffei M, 1994.** Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* ; 372 : 425-32.

Résumé

Chez l'homme, la constance énergétique se définit comme le maintien de l'équilibre entre les apports et les dépenses d'énergie. La rupture de cet équilibre conduit au développement de désordres métaboliques et l'installation notamment de l'obésité. Dans notre travail l'utilisation d'un régime hyper lipidique a favorisé l'installation d'une obésité chez les jeunes rats wistar. Des recherches récentes ont montré que la consommation de des huiles végétales riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) a des effets correcteurs et/ou préventifs de l'obésité. L'objectif de notre travail est de valoriser l'effet des esters méthyliques (EMAG) d'huile de coloquinte « *Cirtullus colocynthis* » sur le métabolisme lipidique chez des rats mâles de souche Wistar rendu obèse par des régimes hyper lipidiques. Les résultats de notre étude, montrent une correction significative du poids corporel, des paramètres sanguins et en particulier du cholestérol total, des triglycérides, du HDL-C et de la glycémie. Il y a également eu une amélioration de l'état redox par une augmentation significative des taux de vitamines anti oxydantes et de la diminution des teneurs en malondialdéhyde ainsi qu'une augmentation des activités enzymatiques hépatiques par rapport aux rats obèses. En conclusion, ces résultats nous ont permis de déduire le pouvoir régulateur et correctif de notre huile végétale et celles des esters méthyliques d'AG lors de l'installation des maladies métaboliques chez le rat wistar.

Mots clés : Obésité, *Cirtullus Colocynthis*, Huiles végétales, Esters méthyliques, Rats.

Abstract

In humans, energy consistency is defined as maintaining the balance between energy inputs and expenditures. The breakdown of this balance leads to the development of metabolic disorders and the installation of obesity. In our work the use of a high lipid diet has favored the installation of obesity in young wistar rats. Recent research has shown that the consumption of vegetable oils rich in polyunsaturated fatty acids (PUFAs) has corrective and / or preventive effects of obesity. The objective of our work is to valorize the effect of the methyl esters (FAME) of colocynth oil "*Cirtullus colocynthis*" on the lipid metabolism in male rats of Wistar strain made obese by hyper lipid diets. The results of our study show a significant correction of body weight, blood parameters and in particular total cholesterol, triglycerides, HDL-C and blood glucose. There was also an improvement in the redox state by a significant increase in antioxidant vitamin levels and decreased levels of malondialdehyde as well as an increase in hepatic enzymatic activities compared to obese rats. In conclusion, these results enabled us to deduce the regulating and corrective power of our vegetable oil and those of the methyl esters of FA during the installation of metabolic diseases in wistar rats.

Key words: Obesity, *Cirtullus Colocynthis*, Vegetable Oils, Methyl Esters, Rats.

ملخص

يعتبر استهلاك الأطعمة ذات السرعات الحرارية العالية التي تحتوي على الدهون المشبعة والكربوهيدرات عاملاً مهماً ، حيث يساهم في زيادة الوزن والسمنة ، والتي أصبحت مضاعفاتها مشكلة صحية عامة كبرى في القرن الحادي والعشرين. أظهرت الأبحاث الحديثة أن استهلاك الزيوت النباتية الغنية بالأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة له آثار تصحيحية و / أو وقائية من السمنة. الهدف من عملنا هو تقييم تأثير استرات ميثيل الزيت الحنظل "*Cirtullus colocynthis*" على استقلاب الدهون عند ذكور فئران سلالة ويستار المصابة بالسمنة التي تسببها حميات غذائية تحتوي على نسبة عالية من الدهون . أظهرت النتائج عند الفئران التي تناولت لاسترات ان وزنها و مستويات السكر في الدم والأنسولين تنخفض بشكل ملحوظ بالمقارنة مع مجموعة الفئران السمنة. كما انخفضت مستويات الدم في الدهون الثلاثية والكوليسترول الكلي والبروتينات الدهنية منخفضة الكثافة بشكل كبير في هذه الفئران ، في حين أن البروتينات الدهنية عالية الكثافة (HDL) كانت مرتفعة بشكل ملحوظ. وأظهرت نتائجنا أيضاً تصحيح توازن الأكسدة / مضادات الأكسدة عند الفئران التي تتلقى الحماية الغذائية التي تحتوي على إسترات زيت الحنظل، والتي من أجلها تستعيد مستويات البلازما الكبدية لبعض عوامل الإجهاد التأكسدي (SOD ، الكاتالاز). في الختام ، سمحت لنا هذه النتائج باستنتاج التأثير المضاد للسمنة لزيتنا النباتي واسترات الميثيل زيت الحنظل ، والتي تؤثر على استقلاب الدهون. يجب إجراء دراسات أكثر دقة لشرح الآليات المعنية على المستوى الخلوي.

الكلمات المفتاحية: السمنة ، استرات الميثيل ، زيت الحنظل ، الزيوت النباتية

Anti-hyperlipidemic Effect of Fatty Acids Methyl Esters (FAMES) of *Citrullus colocynthis* in High-Fat Diet Induced Obesity in Rats

Effets antihyperlipidémiques des esters méthyliques d'acides gras de *Citrullus colocynthis* dans des régimes riches en graisses induisant l'obésité chez les rats

S.M. Yazit · S. Nemmiche · F. Amamou · R.K. Meziane · D. Chabane-Sari

© Lavoisier SAS 2018

Abstract Obesity is a major public health problem. Weight loss or weight gain needs an imbalance between energy intake and energy expenditure. The present study examined the possible protective effects of colocynth oil and fatty acids methyl esters (FAMES) of *Citrullus colocynthis* seed oil consumption against obesity in rats. Male albino Wistar rats were randomly divided into six groups. The rats were treated orally with sunflower oil (4%), colocynth oil (4%), and FAMES (4%) alone or in combination with 28% sunflower oil (high-fat diet) for 8 weeks. The colocynth oil and FAMES decreased the levels of plasma total cholesterol, low density lipoprotein (LDL) and triglycerides while high-density lipoprotein (HDL) and body weight were significantly decreased. FAMES and colocynth oil intake significantly prevented high-fat diet induced increases in body weight and visceral fat mass. Rats fed with FAMES showed anti-obesity effects, as marked by a significant decrease in body and adipose tissue weights. These results indicated that the oral administration of FAMES for 60 days significantly reduced abdominal fat index, LDL cholesterol, triglycerides and hepatic lipids, a result that may support the use of FAMES as a hypolipidemic agent in obesity related disorders.

Keywords *Citrullus colocynthis* · Fatty acids methyl esters · Obesity · Vegetable oil · Rats

Résumé L'obésité est un problème majeur de santé publique. La perte de poids ou le gain de poids nécessite un désé-

quilibre entre l'apport énergétique et la dépense énergétique. La présente étude examine les effets protecteurs possibles de la consommation de l'huile de colocynthe et des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) de *Citrullus colocynthis* contre l'obésité chez les rats. Les rats Wistar mâles albinos ont été divisés au hasard en six groupes. Nous avons traité les rats par voie orale avec de l'huile de tournesol (4 %), l'huile de colocynthe (4 %) et des EMAG (4 %) seuls ou en combinaison avec 28 % d'huile de tournesol (régime riche en graisses) pendant huit semaines. L'huile de colocynthe et les EMAG ont diminué les niveaux de cholestérol total plasmatique, de lipoprotéines de basse densité (LDL) et de triglycérides tandis que les lipoprotéines de haute densité (HDL) et le poids corporel ont diminué de façon significative. EMAG et la consommation d'huile de colocynthe empêchent significativement les augmentations de poids corporel et la masse grasse viscérale induite par l'alimentation riche en graisses. Les rats nourris avec les EMAG ont montré des effets anti-obésité, comme le montre une diminution significative des poids corporels et adipeux. Ces résultats indiquent que l'administration orale des EMAG pendant 60 jours réduit significativement l'indice de graisse abdominale, le cholestérol LDL, les triglycérides et les lipides hépatiques ; un résultat qui pourrait soutenir l'utilisation des EMAG comme agent hypolipidémiant dans les troubles liés à l'obésité.

Mots clés *Citrullus colocynthis* · Esters méthyliques d'acides gras · Obésité · Huile végétale · Rats

S.M. Yazit (✉) · F. Amamou · R.K. Meziane · D. Chabane-Sari
Laboratory of Natural Products, Department of Biology,
Faculty of SNV-STU, University of Tlemcen,
BP 119 Imama, Tlemcen 13000, Algeria
e-mail : snemiche@hotmail.com

S. Nemmiche · F. Amamou · R.K. Meziane
Department of biology, Faculty of SNV,
University of Mostaganem, Mostaganem 27000, Algeria

Introduction

Obesity is a major worldwide public health problem that significantly increases the morbidity and mortality of a variety of acute and chronic diseases [1]. It is a major independent risk factor in the development of hypertension, type 2 diabetes mellitus, and dyslipidemia. Adipocytes

play significant roles in the regulation of energy homeostasis and the secretion of various adipokines such as adiponectin to enhance insulin sensitivity. One of the genetic factors for the development of insulin resistance and type 2 diabetes mellitus may be the polymorphism of adiponectin and its receptor [2]. Excess weight and obesity are defined as abnormal or excessive fat accumulation triggered by a disproportion in energy intake and expenditure. The principal body mass index (BMI) cut-offs defined by the World Health Organization (WHO) is that an individual with a BMI of 25.00–29.99 kg/m² is deemed overweight and an individual with a BMI of 30.00 kg/m² or more is deemed obese [3]. The etiology of obesity is complex. A dietary factor, particularly the excessive intake of energy-dense foods and drinks, is a major factor that leads to the development of obesity. The resultant energy imbalance leads to hypertrophy and hyperplasia of adipocytes. Recently, many strategies involving change of diet, physical activity and medical interventions such as surgery or pharmacotherapy have been recommended to treat obesity. However, lifestyle changes are the recommended preliminary approach to weight loss. But these interventions alone are difficult to maintain [4]. An unhealthy weight is often seen as a result of individual choices with regard to diet, physical activity and lifestyle [3]. Some medicinal herbs, bioactive plants, and plant compounds have been suggested to play a preventive role against the incidence of some common diseases like cancer, cardiovascular disorders, and neurodegenerative disorders. *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad is a member of the family Cucurbitaceae and is widely distributed in hot arid areas of the world. The fruits of *Citrullus colocynthis*, commonly named bitter apple, egusi melon, ground melon, Handhal or Dellaa El-Wad, are traditionally used as an antidiabetic, purgative, carminative, anti-rheumatic, and antipyretic [5]. This medicinal plant is widely used in Algerian folk medicine for treating many diseases such as hypertension and diabetes [6]. The seeds contain approximately 17–19% oil [7], and consist mainly of unsaturated fatty acids (85%) [6]. The seed fat of *Citrullus colocynthis* consists of palmitic 10.40%, stearic 6.52%, arachidic 1.70%, oleic 11.7–20.92%, linoleic 58.81–70%, and linolenic 1.65% [8,9]. The fatty acid profile of the seed oil reveals that it falls in the category of linoleic–oleic acid oils and is analogous to several other vegetable oils [7,10]. Therefore, *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad oil, similar to many other cucurbit seed oils, is likely to have potential uses as cooking oil [11].

In our laboratory, it has been shown that colocynth oil preserves pancreatic function and improves peripheral glucose in streptozotocin-induced diabetic rats [7]. Moreover, it protects the rat liver against cadmium induced injury by increasing the activities of antioxidant enzymes and reducing oxidative stress [6]. The current study was therefore designed to investigate the potential anti-hyperlipidemic

effect of fatty acids methyl esters of *Citrullus colocynthis* seed oil in Wistar rats.

Materials and methods

Chemicals and reagents

Sunflower oil was commercially available (Fleurial plus, Cevital, Algeria). All other chemicals and reagents used in the present study were purchased from Sigma–Aldrich Company.

Seed material and lipid extraction

Mature fruits of *Citrullus colocynthis* were collected from Bechar (south-west Algeria). Damaged seeds were removed, and the remaining seeds were oven-dried at 60 °C for 24 h. The dried seeds oil was extracted with hexane in a Soxhlet apparatus for two hours.

Fatty acids analysis

Fatty acids were identified by gas chromatography (CG) (Varian CP-3380) using a capillary column (Alltech EC-Wax) (30 m × 0.53 mm × 1.2 µm film thickness) equipped with a flame ionization detector (FID). Helium was used as the mobile phase. The oven temperature was kept constant at 250 °C and the injected volume was 1 µL. The temperature was kept at 180 °C for two minutes and then increased to 220 °C at a heating rate of 6 °C/min. After this period, the temperature was kept at 220 °C for 10 min.

Fatty acids methyl ester preparation

The oil was stirred and heated at 60 °C. Sodium hydroxide (2%, w/w) dissolved in 16, 20, and 24% (v/v) of methanol was added. The reaction was continued for 90 minutes. The first sample was extracted after 45 minutes and then, thereafter, at 15 minute intervals.

Animals and diets

The experimental protocol was approved by the Local Ethics Committee for Animal Experiments in Tlemcen (Algeria). All institutional and national guidelines for the care and use of laboratory animals were followed. One-month-old male Wistar rats (Pasteur Institute, Algiers) were housed in stainless-steel cages under controlled conditions (22 ± 2 °C, 12-h light/dark cycle, relative humidity of 55 ± 5%) and had access to food and water *ad libitum*. Animals were divided into six groups, each containing 10 rats. Control rats (group 1) received normal water, and were fed a diet with

sunflower oil (4% fat, diet 1). Group 2 rats were maintained on normal water, and fed a diet with sunflower oil (32% fat, diet 2). Group 3 rats were maintained on normal water, and fed a diet with 4% colocynth oil (diet 3). Group 4 rats received 28% sunflower oil and 4% colocynth oil (diet 4). Group 5 rats received 4% fatty acids methyl ester (diet 5). Group 6 rats received 28% sunflower oil and 4% fatty acids methyl ester. Body weight gain of rats was monitored for the two months of the experiment. The experimental diets were prepared in the laboratory and their ingredient composition is shown in table 1.

Sample preparation

Blood specimens were collected in a heparin-containing tube. The plasma was separated by centrifugation ($1600 \times g$) for 10 min and kept in small aliquots at -20°C until analysis. The organs were quickly removed, rinsed in ice-cold saline buffer (20 mM Tris-HCl, 0.14 M NaCl buffer, pH 7.4) and weighed. The liver was finely minced in the same solution and homogenized (10%, w/v) in a Potter Elvehjem homogenizer.

Plasma lipid analysis

Plasma cholesterol, triglycerides and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) content was assessed by using commercially available kits, according to the manufacturer's instructions (Spinreact kit, Spain).

Lipids liver extraction and analysis

Total lipids were extracted from liver with chloroform: methanol (2/1) using the method followed by Folch et al. [12]. An aliquot of liver lipid extracts was taken to determine total cholesterol and triglycerides by using commercially available kits.

Fecal lipids

Feces were collected at weeks one, four, five, and eight. Fecal lipids were extracted using hexane for 2 hours in a Soxhlet apparatus. The digestibility coefficient of lipids (DCL) was determined based on the ratio between lipid intakes and lipids excreted in the feces.

Table 1 Ingredient composition of experimental diet groups (SO, sunflower oil; CO, colocynth oil; FAME, fatty acids methyl ester). Experimental groups: **diet 1** (4% sunflower oil (SO), standard (STD)); **diet 2** (32% SO, obese); **diet 3** (4% colocynth oil (CO)); **diet 4** (4% CO + 28% SO, obese-CO); **diet 5** (4% fatty acids methyl ester (FAME)); and **diet 6** (28% SO + 4% FAME, FAME-obese)

Constituents (g/100 g diet)	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5	Diet 6
Casein	16	16	16	16	16	16
Methionin	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Starch	60.33	28.7	60.33	2.7	2.7	2.7
Sucrose	05	05	05	05	05	05
Cellulose	05	05	05	05	05	05
Mineral mix	07.35	07.35	07.35	07.35	7.35	7.35
Vitamins mix	02	02	02	02	0.2	02
Oil fatty acids (%)	04	32	04	32	04	04
Myristic acid	0	0	0.03	0.03	0.03	0.03
Palmitic acid	0.62	4.96	0.32	4.66	0.32	4.66
Stearic acid	0.2	1.6	0.24	1.64	0.24	1.64
Oleic acid	0.51	4.09	0.31	3.89	0.31	3.89
Linolenic acid	0.07	0.57	0.02	0.52	0.02	0.52
Linoleic acid	2.52	20.1	3.02	20.66	3.02	20.66
Arachdinic acid	0.07	0.60	0.01	0.05	0.01	0.05
Total	100	100	100	100	100	100
Energetic values (kcal/100 g)	371.88	517.48	371.88	517.48	371.88	517.48

Mineral mix composition (g/100 g of dry diet): Ca^{2+} : 4; K^+ : 2.4; Na^+ : 1.6; Mg^{2+} : 0.4; Fe^{2+} : 0.12

Trace elements: Manganese: 0.032; copper: 0.05; zinc: 0.018

Vitamin mix composition (mg/kg of dry diet): Retinol: 1.8; cholicalciferol: 0.019; thiamine: 6; riboflavin: 4.5; pantothenic acid: 21; inositol: 5; ascorbic acid: 240; α -tocopherol: 51; nicotinic acid: 30; folic acid: 1.5; biotin: 0.09

Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

The total plasma antioxidant capacity was estimated by assessing the ability of red blood cell (RBCs) to resist hemolysis induced by free radicals in vitro in the presence of plasma, according to the method described by Blache and Prost [13].

Determination of plasma levels of vitamin C

Ascorbic acid content was measured using the Jacota and Dana [14] method. The concentration was determined from the calibration curve obtained by a range of solutions of ascorbic acid.

Measurement of malondialdehyde (MDA)

Lipid peroxidation was estimated by measuring thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and expressed in terms of malondialdehyde content, according to the method described by Yagi [15] and Ohkawa et al. [16].

Measurement of protein carbonyls

The oxidative damage to proteins was measured by the quantification of carbonyl groups based on the reaction with dinitrophenylhydrazine (DNPH) [17].

Statistical analysis

Results were expressed as the mean value \pm standard deviation. All data were analyzed employing two-way analysis of variance (Anova), followed by Tukey's test. Values of $P < 0.05$ were considered of statistical significance.

Results

Animals feed with high-fat diet showed significant increase in body weight compared to the control group (group 1) (Table 2). Weight loss or weight gain requires an imbalance between energy intake and energy expenditure. However, the composition of the diet plays an important role in the composition of the weight lost and in providing the energy necessary for the organism (Table 2). The oral administration of colocynt oil and FAMES alone led to a significant decrease in body weight, about 28% and 19% respectively. A significant increase was observed in the adipose tissue weights of epididymal and abdominal in the untreated obese group compared to the control group ($P < 0.05$) (Table 3) when FAMES treatment induced a significant decrease in the adipose tissue weights. A significant increase in liver weight of the obese group, and a decrease of liver

Parameters	Experimental groups					
	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5	Diet 6
Body weight (g)						
Initial body weight	86.8 \pm 3.15	88 \pm 2.54	85.8 \pm 2.45	82.8 \pm 1.63	87.2 \pm 1.85	84.2 \pm 1.88
Final body weight	279.2 \pm 4.49	325.8 \pm 8.34	244.8 \pm 7.05	291.5 \pm 4.35	224.8 \pm 4.96	275.4 \pm 7.28
Weight gain (w0 – w8)	192.4 \pm 6.84	237.8 \pm 11.25	159 \pm 10.77	208.7 \pm 8.06	137.6 \pm 13.01	191.2 \pm 16.85
Food intake (g/rat/day)						
Week1	21.42 \pm 1.34 ^a	13.57 \pm 1.7 ^{bc}	12.85 \pm 1.62 ^{bc}	15.85 \pm 0.99 ^b	10.78 \pm 1.98 ^c	10.33 \pm 0.2 ^c
Week4	21 \pm 1.25 ^a	17.77 \pm 0.77 ^{ab}	15.71 \pm 1.11 ^b	20.71 \pm 1.69 ^a	8.58 \pm 0.75 ^c	15.24 \pm 0.4 ^b
Week5	26.14 \pm 1.75 ^a	19.52 \pm 0.42 ^b	20.51 \pm 0.53 ^b	12.36 \pm 0.18 ^{cd}	9.56 \pm 0.99 ^d	13.51 \pm 0.53 ^c
Week8	29.57 \pm 0.85 ^a	17.37 \pm 0.1 ^b	18.5 \pm 0.37 ^b	9.81 \pm 0.17 ^c	10.89 \pm 0.36 ^c	9.62 \pm 0.29 ^c
Energy intake (kcal/rat/day)						
Week1	79.65 \pm 4.98 ^a	70.22 \pm 8.79 ^{ab}	40.08 \pm 7.36 ^c	82.02 \pm 5.12 ^a	47.78 \pm 6.02 ^b	53.45 \pm 1.03 ^b
Week4	78.09 \pm 4.64 ^c	91.95 \pm 3.98 ^b	58.42 \pm 4.12 ^d	107.17 \pm 8.74 ^a	31.9 \pm 2.78 ^f	78.86 \pm 2.06 ^c
Week5	97.2 \pm 6.50 ^a	101.01 \pm 2.17 ^a	76.27 \pm 1.97 ^b	63.96 \pm 0.93 ^c	35.55 \pm 3.68 ^d	69.91 \pm 2.74 ^c
Week8	109.96 \pm 3.16 ^a	89.88 \pm 2.17 ^b	68.79 \pm 1.37 ^c	50.71 \pm 0.87 ^d	40.49 \pm 1.33 ^f	49.78 \pm 1.05 ^d
Energy efficiency	0.07 \pm 0.001 ^{bc}	0.09 \pm 0.0013 ^b	0.09 \pm 0.0017 ^b	0.09 \pm 0.0014 ^b	0.12 \pm 0.0043 ^a	0.01 \pm 0.0051 ^{ab}

Experimental groups: **diet 1** (4% sunflower oil (SO), standard (STD)); **diet 2** (32% SO, obese); **diet 3** (4% colocynt oil (CO)); **diet 4** (4% CO + 28 % SO, obese-CO); **diet 5** (4% fatty acids methyl ester (FAME)); and **diet 6** (28% SO + 4% FAME, FAME-obese). Values represent the mean \pm standard error of the mean (SEM) of seven rats per group. Values for a given parameter in a row that do not share a common superscript are significantly different at $P < 0.05$
Energy efficiency = Body weight gain/total kcal intake

weight in the group treated with FAMES was also observed. It has been observed that when rats were fed with a high-fat diet consecutively for 8 weeks, it resulted in a marked increase in the level of lipids, characterized by elevated levels of total cholesterol, triglycerides, LDL, and reduced levels of HDL when compared to the control group (Table 4). In contrast, the treatment of obese groups with FAME and CO resulted in a significant decrease in the concentration of plasma total cholesterol and LDL cholesterol compared to the obese group ($P < 0.05$). The reduced plasma LDL level was accompanied by an elevation in the plasma HDL level in all the FAME and CO-treated groups.

The results of liver and fecal lipids are shown in table 5. Groups treated with high-fat diet for 8 weeks demonstrated a remarkable elevation of total liver lipids, liver cholesterol,

and triglycerides compared to the control group ($P < 0.05$). In contrast, the treatment of obese groups with FAME resulted in a significant decrease in the total liver lipids, cholesterol, and triglycerides. The digestibility coefficients were significantly higher in the obese group compared to the groups supplemented with FAME, as well as the control group. Additionally, the FAME supplemented groups showed a remarkable reduction in digestibility coefficient compared with the untreated obese group. Results of vitamin C, malondialdehyde (MDA), and protein carbonyl are shown in table 6. The level of MDA in the plasma of the obese group was significantly increased compared to the control diet group. In contrast, fatty acids methyl ester exhibits antioxidative properties, indicated by a reduction of the MDA levels in fatty acids methyl ester-supplemented

Table 3 Organs and tissue weights of obesity-induced rats subjected to weeks of colocynth oil (CO) and fatty acids methyl ester (FAME) treatment. Experimental groups: **diet 1** (4% sunflower oil (SO), standard (STD)); **diet 2** (32% SO, obese); **diet 3** (4% colocynth oil (CO)); **diet 4** (4% CO + 28% SO, obese-CO); **diet 5** (4% fatty acids methyl ester (FAME)); and **diet 6** (28% SO + 4% FAME, FAME-obese)

Relative organs and tissue to body weight (g/100 g of body weight)	Experimental groups					
	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5	Diet 6
Liver	2.94 ± 0.045 ^c	3.56 ± 0.06 ^a	3.29 ± 0.08 ^{abc}	3.47 ± 0.22 ^{ab}	3.07 ± 0.04 ^c	3.12 ± 0.02 ^{bc}
Kidney	0.31 ± 0.01 ^a	0.21 ± 0.01 ^b	0.32 ± 0.008 ^a	0.31 ± 0.075 ^a	0.32 ± 0.07 ^a	0.29 ± 0.05 ^a
Testis	0.47 ± 0.009 ^c	0.49 ± 0.005 ^c	0.6 ± 0.007 ^b	0.64 ± 0.007 ^{ab}	0.65 ± 0.006 ^a	0.66 ± 0.02 ^a
Epididymal adipose tissue	1.14 ± 0.01 ^{ab}	1.42 ± 0.12 ^a	1.19 ± 0.06 ^{ab}	1.31 ± 0.01 ^{ab}	0.99 ± 0.1 ^b	1.28 ± 0.02 ^{ab}
Abdominal adipose tissue	0.86 ± 0.07 ^c	1.48 ± 0.015 ^a	0.87 ± 0.02 ^c	1.24 ± 0.1 ^b	0.88 ± 0.01 ^c	1.29 ± 0.01 ^{ab}
Kidney adipose tissue	0.21 ± 0.01 ^{ab}	0.22 ± 0.007 ^a	0.086 ± 0.007 ^d	0.18 ± 0.007 ^{bc}	0.058 ± 0.004 ^d	0.14 ± 0.01 ^c

Values represent the mean ± standard error of the mean (SEM) of seven rats per group
Values for a given parameter in a row that do not share a common superscript are significantly different at $P < 0.05$

Table 4 Plasma measures of obesity-induced rats subjected to 08 weeks of FAME (fatty acids methyl ester) and CO (colocynth oil) treatment. Diet groups: **diet 1** (4% sunflower oil (SO), standard (STD)); **diet 2** (32% SO, obese); **diet 3** (4% colocynth oil (CO)); **diet 4** (4% CO + 28% SO, obese-CO); **diet 5** (4% fatty acids methyl ester (FAME)); and **diet 6** (28% SO + 4% FAME, FAME-obese)

Parameters	Experimental groups					
	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5	Diet 6
Glucose (g/L)	0.80 ± 0.03 ^c	2.04 ± 0.09 ^a	0.87 ± 0.06 ^c	1.31 ± 0.06 ^b	0.83 ± 0.05 ^c	1.17 ± 0.06 ^b
Total cholesterol (mg/dL)	54.04 ± 4.35	62.23 ± 3.76	52.52 ± 2.22	58.46 ± 3.05	50.89 ± 2.1	57.34 ± 3.09
Triglycerides (mg/dL)	41.22 ± 3.22 ^b	57.78 ± 5.46 ^a	34.91 ± 3.31 ^b	44.71 ± 2.71 ^b	37.56 ± 2.89 ^{ab}	46.32 ± 4.22 ^{ab}
HDL (mg/dL)	40.01 ± 2.78 ^a	29.73 ± 2.05 ^b	40.10 ± 2.5 ^a	35.44 ± 2.59 ^{ab}	39.2 ± 1.81 ^a	33.93 ± 2.37 ^{ab}
LDL (mg/dL)	5.78 ± 0.11 ^c	20.94 ± 0.43 ^a	5.43 ± 0.16 ^{cd}	15.07 ± 0.19 ^b	4.16 ± 0.21 ^d	14.14 ± 0.24 ^b
Total protein (g/dL)	4.89 ± 0.06	4.90 ± 0.24	4.73 ± 0.09	4.5 ± 0.07	4.95 ± 0.07	4.78 ± 0.06
Albumin (g/dL)	3.38 ± 0.13 ^{ab}	3.17 ± 0.23 ^b	3.35 ± 0.23 ^{ab}	3.97 ± 0.22 ^a	3.27 ± 0.1 ^{ab}	3.46 ± 0.19 ^{ab}

Values represent the mean ± standard error of the mean (SEM) of seven rats per group
Values for a given parameter in a row that do not share a common superscript are significantly different at $P < 0.05$

Table 5 Liver and fecal lipid measures of obesity-induced rats subjected to 08 weeks of FAME (fatty acids methyl ester) and CO (colocynth oil) treatment. Diet groups: **diet 1**(4% sunflower oil (SO), standard (STD)); **diet 2** (32% SO, obese); **diet 3** (4% colocynth oil (CO)); **diet 4** (4% CO + 28% SO, obese-CO); **diet 5** (4% fatty acids methyl ester (FAME)); and **diet 6** (28% SO + 4% FAME, FAME-obese). DCL: Digestibility coefficient of lipids

Parameters	Experimental groups					
	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5	Diet 6
Liver lipids (mg/Lg of liver)	2.99 ± 0.37 ^{ab}	3.37 ± 0.17 ^a	2.47 ± 0.13 ^{ab}	2.81 ± 0.17 ^{ab}	2.09 ± 0.16 ^b	3.3 ± 0.19 ^a
Liver cholesterol (mg/dL)	13.93 ± 1.19 ^c	32.23 ± 2.53 ^a	10.72 ± 0.73 ^c	23.6 ± 1.83 ^b	15.03 ± 1.61 ^c	17.14 ± 0.52 ^{bc}
Liver triglycerides (mg/dL)	111.63 ± 4.34 ^d	269.89 ± 5.23 ^a	119.42 ± 3.59 ^c	169.05 ± 4.1 ^b	103.19 ± 3.59 ^d	168.67 ± 4.59 ^a
DCL (%)						
Week 1	76.74 ± 5.92 ^b	97 ± 9.63 ^a	53.48 ± 3.25 ^c	85.85 ± 4.53 ^{ab}	51.71 ± 3.26 ^c	87 ± 8.5 ^{ab}
Week 4	73 ± 2.6 ^b	97 ± 6.2 ^a	56.45 ± 6.52 ^c	90 ± 7.69 ^{ab}	59.19 ± 5.56 ^c	81 ± 7.28 ^{ab}
Week 5	69 ± 5.45 ^c	98 ± 5.3 ^a	60.49 ± 7.24 ^b	91 ± 5.6 ^a	51.92 ± 6.12 ^c	75.6 ± 3.62 ^b
Week 8	76 ± 4.19 ^b	97.84 ± 7.15 ^a	52.7 ± 3.52 ^c	83.94 ± 9.36 ^{ab}	56.6 ± 6.42 ^c	78 ± 5.36 ^b

Values represent the mean ± standard error of the mean (SEM) of seven rats per group
 Values for a given parameter in a row that do not share a common superscript are significantly different at $P < 0.05$

Table 6 Oxidative stress biomarkers of obesity-induced rats subjected to 08 weeks of FAME (fatty acids methyl ester) and CO (colocynth oil) treatment. Diet groups: **diet 1**(4% sunflower oil (SO), standard (STD)); **diet 2** (32% SO, obese); **diet 3** (4% colocynth oil (CO)); **diet 4** (4% CO + 28% SO, obese-CO); **diet 5** (4% fatty acids methyl ester (FAME)); and **diet 6** (28% SO + 4% FAME, FAME-obese)

Parameters	Experimental groups					
	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5	Diet 6
MDA (nmol/mL)	2.36 ± 0.42 ^b	4.43 ± 0.92 ^a	2.24 ± 0.45 ^b	3.06 ± 0.72 ^b	2.15 ± 0.54 ^b	2.78 ± 0.63 ^b
Protein carbonyl (mmol/ mL)	2.18 ± 0.26 ^b	2.83 ± 0.43 ^a	1.63 ± 0.36 ^c	2.21 ± 0.38 ^b	1.36 ± 0.28 ^c	1.42 ± 0.56 ^c
Vitamin C (µg/mL)	15.26 ± 5.23 ^a	12.65 ± 3.69 ^b	16.54 ± 4.15 ^a	14.63 ± 3.54 ^{ab}	15.6 ± 3.28 ^a	13.74 ± 2.92 ^{ab}
ORAC (UI)	4.16 ± 0.82 ^a	2.95 ± 0.75 ^b	4.36 ± 1.05 ^a	3.54 ± 0.75 ^{ab}	4.28 ± 0.8 ^a	3.63 ± 0.72 ^{ab}

Values represent the mean ± standard error of the mean (SEM) of seven rats per group
 Values for a given parameter in a row that do not share a common superscript are significantly different at $P < 0.05$

groups. However, we noted a significant reduction in vitamin C concentrations in obese rats compared to control group and treated groups. The results of ORAC test suggest that FAME and colocynth oil supplementation protects against erythrocyte hemolysis.

Discussion

High-fat diet induced obesity in rats has been considered as the most popular model among researchers to research obesity due to its high similarity to obesity in humans and the fact that it mimics the usual route of obesity episodes in humans [18]. Human studies have revealed that increased fat intake is associated with body weight gain, which can lead to obesity and other related metabolic diseases. The failure to oxidize dietary fat in response to increased fat

intake results in the excess energy consumed as dietary fat being converted to fat for storage in the adipose tissue. Current studies show that rats exposed to high-fat diet (HFD) for 2 months had a significant increase in body weight, with no significant difference observed in the daily food intake by animals.

Controversial data were reported on *Citrullus colocynthis*, including either medical or toxic studies [19]. Shafaei et al. [20] demonstrates that the seed extract of *Citrullus colocynthis* has no major toxic effects on the intestine, liver or kidney and animals treated with 100 or 200 mg/kg/day of seed extract displayed only minor intestinal insult. Huseini et al. [21] observed the absence of significant gastrointestinal disturbances following *Citrullus colocynthis* administration, indicating that *Citrullus colocynthis* is safe at a dose of 300 mg/day treatment to diabetic patients for 2 months. The toxicity of large doses of *Citrullus colocynthis* has

been reported in several studies [22–24]. The seed extract is safe, with only minor intestinal side effects [20]. Nehdi et al [25] reported that *Citrullus colocynthis* seed oil possessed physicochemical properties, antioxidant properties, fatty acids and tocopherol compositions that may be of interest for food and non-food applications. The introduction of FAMES into diets did not induce any toxicological effect on rats. Fatty acid methyl esters are metabolized as were other dietary fats. Higher molecular weight aliphatic esters were readily hydrolyzed to the corresponding alcohol and acid and then generally oxidized to carbon dioxide and water via the well-known metabolism route of breakdown into two-carbon fragments which are used by the body for energy and as building blocks for synthesis. Methyl esters in the range of C8 to C18 are practically non-toxic. Treatment of HFD rats with FAMES causes a remarkable reduction of body weights when compared to the high-fat diet group (group 2). These results suggest that FAMES supplementation could prevent body weight gain, concomitantly helping in maintaining the current body weight.

This result is in accordance with Sebbagh et al. [7] who have shown that colocynth oil-enriched diet caused weight loss in comparison to sunflower or olive oil-enriched diet. Further, FAMES and colocynth oil significantly decreased the weights of epididymal and retroperitoneal adipose tissue and ultimately, the total adipose tissue weight. The ability to lose or gain body weight and change body composition is influenced not only by alterations in energy intake and total daily energy expenditure, but also by the oxidation rates of the macronutrients consumed. Linoleic, oleic, palmitic, and stearic acids were the most abundant fatty acids in the *Citrullus colocynthis* oils. Furthermore, linoleic and oleic acids represented about 81% of the total fatty acids in the oils. However, *Citrullus colocynthis* seed oil showed the highest content of linoleic acid (w-6 polyunsaturated fatty acid, PUFA). It has been found that PUFAs decrease plasma lipid levels particularly total cholesterol and low density lipoproteins which are associated with cardiovascular disease and increase insulin sensitivity [26]. There is evidence to show that a high content of n-6 PUFAs in the diet, comparative to n-3 PUFAs, is a predisposing factor for obesity [27]. The ratio of omega-three and omega-six fatty acids has been of concern due to their roles as precursors for different types of prostaglandins in the body. Today, the recommended intake of essential n-3 and n-6 PUFAs ratio is 1:4–1:5 [28]. Further, dyslipidemia is another important hallmark in the pathogenesis of obesity characterized by hypertriglyceridemia with decreased levels of LDL and VLDL [29]. Obesity is an energy balance disorder associated with dyslipidemia, insulin resistance, and metabolic syndrome or syndrome X. In the present study, colocynth oil and FAMES led to an increase of the serum HDL level and decrease of total cholesterol, LDL, and triglycerides (TG). The plasma TG

level reflects the steady state of TG turnover. When studied for its lipid lowering effect on hyperlipidemic non-diabetic patients, a daily intake of 300 mg of powdered seeds of *Citrullus colocynthis* lowered the triglycerides and cholesterol concentration [30]. Our results also demonstrate that treatment with CO and FAMES induces a reduction of blood glucose level. Moreover, FAMES supplementation may attenuate lipids accumulation in the liver and it is potentially effective in ameliorating fatty liver in diet-induced obese rats. These effects can be explained by the presence of some inhibitory factors of digestibility in colocynth oil decreasing intestinal absorption of lipids and promoting their elimination in feces. The mean levels of plasma lipids remained relatively low in rats fed diets with colocynth oil, which is rich in minor components such as hydrocarbons, mainly squalenes, α -tocopherol, and phytosterols.

The tocopherols content of *Citrullus colocynthis* (121.84 mg/100 g) was higher than that of sunflower seed oil (95.02 mg/100 g). The major tocopherol isomer in *Citrullus colocynthis* oil was γ -tocopherol followed by δ -, α -, and β -tocopherols (95.49%, 3.44%, 0.58%, and 0.47%, respectively). However, the major tocopherol in sunflower oil was α -tocopherol followed by γ - and β -tocopherol (97.75%, 1.57%, and 0.27%, respectively). The α -isomer is the most active biologically, whereas the γ -tocopherol is perceived as the best antioxidant. This antioxidant inhibits lipid oxidation in foods by stabilizing hydroperoxy and other free radicals and its presence has a major effect on oil flavor quality. Because of the high γ -tocopherol content in *Citrullus colocynthis* seed oil, the oil can be used to prepare commercial natural antioxidant formulations, such as those of soybean oil which consist > 80% of γ -tocopherol and δ -tocopherol.

Furthermore, in order to investigate the antioxidant effect of CO and FAMES oil, the plasmatic stress parameters were analyzed. A higher plasmatic MDA and protein carbonyls content were found in obese rats compared with the control group. These results confirm the fact that obesity is associated with oxidant stress increase. Possible mechanisms contributing to the obesity-associated oxidant stress include increased oxygen consumption via mitochondrial respiratory chain, increased fat deposition, and cell injury causing increased rates of radicals and reactive oxygen species (ROS) formation. Hyperglycemia and obesity led to activation of primary ROS sources such as mitochondria (mtROS, due to metabolic dysregulation) and NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) oxidases (Nox-derived ROS, due to low-grade inflammation) [31]. Lee et al. [32] reported that increased fat deposition results mainly from consumption of a hyperlipidemic diet; the body becomes vulnerable to oxygen metabolism that can cause lipid peroxidation and consequently malondialdehyde formation. The low plasma levels of vitamin C could reflect their high utilization rate, suggesting that vitamins may be used to reduce

oxidative stress in obese rats. Our data show that obesity promotes increased plasma lipid peroxidation. A major protective mechanism against oxidative damage is membrane integrity. Oxidation induces change in the membrane permeability resulting in hemolysis that relate to the degree of intravascular red blood cell (RBC) destruction. Lipid peroxidation causes polymerization of membrane components and decreases cell deformability. In our study, we observed that FAMEs improved the protective effect against lipid peroxidation of RBC and increase their resistance. The reduced MDA concentrations, despite the high oxidative stress from a fat-concentrated diet, suggest a protective effect of FAMEs against free radicals in the biological system. In contrast, the increased MDA level in the untreated obese group clearly demonstrated that high fat consumption attributes to increased oxidative stress.

Conclusion

The present study established that high-fat diet causes an elevation in body weight and reduces lipid metabolism as clearly seen by the marked elevation of liver enzymes and lipid level. However, this investigation proves that CO and FAMEs possess at best hypolipidemic and antiobesity effects that protect the body against the adverse effects of high-fat diet induced obesity. FAMEs result in lipid lowering and antioxidative effects in obesity-induced rats; they also have weight-reducing ability. Due to the promising effects of FAMEs in diet-induced obesity, further studies are sought in order to determine the active principle from this plant, followed by identifying the probable mechanism of action of FAMEs in reducing plasma lipid and its weight-maintenance properties. Further research is needed as human disorders and nutrient responses represent complex features that involve interactions among genes and between genes and the environment, and also among genetic, genomic, proteomic, metabolomic, and signaling networks.

Conflicts of interests: the authors declare that there are no conflicts of interests.

References

- Hossain P, Kawar B, El Nahas M (2007) Obesity and diabetes in the developing world — a growing challenge. *New Engl J Med* 356:213–5
- Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, et al (2006) Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 116:1784–92
- Anderson S, Timothy JK, Teresa N, et al (2015) European code against cancer 4th edition: Obesity, body fatness and cancer. *Cancer Epidemiol* 39:S34–S45
- Henry R, Chilton R, Garvey TW (2013) New options for the treatment of obesity and type 2 diabetes mellitus (narrative review). *J. Diabet Complication* 27:508–18
- Hussain AI, Anwar A, Hussain Sherazi ST, et al (2013) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem* 108:986–95
- Amamou F, Nemliche S, Meziane RK, et al (2015) Protective effect of olive oil and colocynt oil against cadmium-induced oxidative stress in the liver of Wistar rats. *Food Chem Toxicol* 78:177–84
- Sebbagh N, Cruciani-Guglielmacci C, Ouali F, et al (2009) Comparative effects of *Citrullus colocyntis*, sunflower and olive oil-enriched diet in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Diabetes Metab* 35:178–84
- Giwa S, Abdullah LC, Adam NM (2010) Investigating “Egusi” (*Citrullus colocyntis* L.) seed oil as potential biodiesel feedstock. *Energies* 3:607–18
- Riaz H, Chatha SAS, Hussain AI, et al (2015) Physico-chemical characterization of bitter apple (*Citrullus colosynthis*) seed oil and seed residue. *Int J Biosci* 6:283–92
- Sadou H, Sabo H, Alma MM, Saadou M, et al (2007) Chemical content of the seeds and physico-chemical characteristic of the seed oils from *Citrullus colocyntis*, *Coccini agrandis*, *Cucumis metuliferus* and *Cucumis prophetarum* of Niger. *Bull Chem Soc Ethiop* 21:323–30
- Dhakad PK, Sharma PK, Kumar S (2017) A review on phytochemical studies and biological potential of *Citrullus colocyntis* (L.) Schrad (Cucurbitaceae). *J Bioeng Biosci* 5:55–64
- Folch J, Lee M, Sloane-Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497–509
- Blache D, Prost M (1989) Free radical attack: biological test for human resistance capability. In: Ponnampuruma C, Gehrke CW (eds) *Proceedings of the IX College Park Colloquium on Chemical Evolution: a Lunar-Based Chemical Analysis Laboratory (LBCAL)*. NASA, Washington DC, pp 82–98
- Jacota SK, Dana HM (1982) A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Anal Biochem* 127:178–82
- Yagi K (1976) A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med* 15:212–6
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95:351–8
- Levine RL, Garland D, Oliver CN, et al (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 186:464–78
- Buettner R., Scholmerich J, Bollheimer LC (2007) High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity* 15:798–808
- Elgerwi A, Benzekri Z, Awaidat S, et al (2013) Subchronic aemototoxicity and histotoxicity of *Citrullus colocyntis*. *J Am Sci* 9:79–87
- Shafaei H, Esmaeili A, Soleimani Rad J, et al (2012) *Citrullus colocyntis* as a medicinal or poisonous plant: a revised fact. *J Med Plants Res* 6:4922–7
- Huseini HF, Darvishzadeh F, Heshmat R, et al (2009) The clinical investigation of *Citrullus colocyntis* (L.) Schrad fruit in treatment of type II diabetic patients: a randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytother Res* 23:1186–9
- Al-Yahya MA, Al-Farhan AH, Adam SE (2000) Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of *Citrullus colocyntis* and *Nerium oleander* in rats. *Fitoterapia* 71:385–91

23. Diwan FH, Abdel-Hassan IA, Mohammed ST (2000) Effect of saponin on mortality and histopathological changes in mice. *East Mediterr Health J* 6:345–51
24. Elawad AA, Abdel Bari EM, Mahmoud OM, et al (1984) The effect of *Citrullus colocynthis* on sheep. *Vet Hum Toxicol* 26:481–5
25. Nehdi IA, Sbihi H, Tan CP, et al (2013) Evaluation and characterisation of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad seed oil: comparison with *Helianthus annuus* (sunflower) seed oil. *Food Chem* 136:348–53
26. Russo GL (2009) Dietary n6 and n3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochem Pharmacol* 77:937–46
27. Muhlhausler BS, Ailhaud GP (2013) Omega-6 polyunsaturated fatty acids and the early origins of obesity. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 20:56–61
28. Gomez CC, Bermejo Lopez LM, et al (2011) Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health: nutritional recommendations. *Nutr Hosp* 26:323–9
29. Klop J, Elte WF, Cabezas MC (2013) Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients* 5:1218–40
30. Rahbar AR, Nabipour I (2010) The hypolipidemic effect of *Citrullus colocynthis* on patients with hyperlipidemia. *Pak J Biol Sci* 13:1202–7
31. Jankovic A, Korac A, Buzadzic B, et al (2015) Redox implications in adipose tissue (dys)function — a new look at old acquaintances. *Redox Biol* 6:19–32
32. Lee HJ, Kim MS, Lee KM, et al (2011) Anti-visceral obesity and antioxidant effects of powdered sea buckthorn (*Hippophae hamnoides* L.) leaf tea in diet-induced obese mice. *Food Chem Toxicol* 49:2370–6