

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

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID DE TLEMCCEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE, SCIENCES DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire des Produits Naturels



THESE
En vue de l'obtention du diplôme

Doctorat en Biologie

Option: Physiopathologie Cellulaire

Par

Mme Amel Didi épouse Benkalfat

THEME

Effet préventif, correctif et régulateur de certaines huiles végétales (nigelle-olive) sur la mise en place des maladies métaboliques.

Présidente :	Professeur Merzouk Hafida	Université ABB-Tlemcen
Directeur de thèse :	Professeur Chabane Sari Daoudi	Université ABB-Tlemcen
Examinatrice :	Professeur Bendahmane Malika	Université de Sidi Bel Abbès
Examineur :	Professeur Lazouni Hamadi Abderrahim	Université ABB-Tlemcen
Examineur :	Docteur Benmahdi Hocine	Université de Béchar
Examineur :	Docteur Nemmiche Said.	Université de Mostaganem

Date de soutenance : 15- 12 - 2015

« Que ton aliment soit ton médicament »

Hippocrate

Remerciements

Tout d'abord je remercie Dieu le tout puissant pour m'avoir mené sur le chemin de la réussite.

En premier lieu, je tiens à remercier Monsieur Chabane Sari Daoudi, Professeur au Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen), pour m'avoir honoré et accepté de diriger et de suivre ce travail avec disponibilité, patience, indulgence et bienveillance. Je le remercie pour son aide si précieuse, ses conseils et ses encouragements. Qu'il trouve ici l'expression de ma considération respectueuse et ma profonde gratitude.

Mes sincères remerciements à Madame Merzouk Hafida, Professeur au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen) de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Mes sincères remerciements s'adressent à Madame Bendahmane Malika, Professeur au Département de Biologie, Université Djilali Liabes de Sidi Bel Abbès, d'avoir accepté d'examiner et discuter ce travail.

J'exprime également mes sincères remerciements à Monsieur Lazouni Hamadi Abderrahim, professeur au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen) d'avoir accepté d'évaluer et discuter ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à Monsieur Benmahdi Hocine Maître de conférences classe A au Département de Biologie, Université de Béchar, d'avoir accepté d'examiner et discuter ce travail.

J'exprime également ma profonde reconnaissance et mes respects à Monsieur Nemmiche Said, Maître de conférences classe A au Département de Biologie, Université de Mostaganem pour ses précieux conseils et ses encouragements et d'avoir accepté d'examiner et discuter ce travail et de l'intérêt qu'il lui a accordé.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Monsieur Didier Villemin, Professeur à l'ENSICAen-France de m'avoir accepté au sein de son laboratoire (LCMT) et pour toute l'aide qu'il ma donné.

Je tiens à remercier vivement Monsieur Didi Mohamed Amine, Professeur au département de Chimie, Faculté des sciences, Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen) d'avoir participé à ma thèse de très prêt, pour son précieuse aide qui m'a permis d'achever cette thèse, pour ses encouragements, pour ses conseils de père et de professeur à la fois, et enfin et surtout pour son soutien moral.

Je remercie vivement toute l'équipe et le personnel du laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA) et mes remerciements s'adresse tous particulièrement à mes collègues et membres du laboratoire LAPRONA qui ont partagé avec moi paillasse et débats scientifiques; Mme Amamou Fouzia, Mme Meziane Radjaa et Mr Yazit Mohamed pour leurs divers contributions à mon travail, leur aide dans les moments difficiles, leur disponibilité et surtout leur chaleureuse amitié.

Je remercie mes amis Fadéla, Latifa, Khadidja, Nassima, Asma, Nagib, Wafaâ, Nacéra, Nabila et tous ceux que je n'ai pas cité ici, de m'avoir aidé sans conditions et pour leur amitié.

Sans oublier que c'est grâce à ma famille, mes chers parents, mes sœurs, mon frère et mon mari, et par leur présence constante à mes cotés et leur aide sans limites, que j'ai pu faire aboutir ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements et le témoignage de ma profonde gratitude.

Je remercie également tous ceux qui mon aider de prêt ou de loin à la réalisation de cette thèse.

ملخص

الطاقوية تعرف على انها استمرارية التوازن بين التزود بالطاقة و استهلاكها .اختلال هذا التوازن يؤدي الى مشاكل وظيفية قد تنتج امراض مثل السمنة الزائدة .حديثا تحولت السمنة الى مشكل صحي عالمي و اساسي تعزز بالاستهلاك المفرط للأغذية المدعمة حراريا و الغنية بالدهن و الكربوهيدرات.الابحاث الحديثة بينت ان التغذية المتنوعة بالأحماض الدسمة غير كثيرة التشبع قد تمنع او تعالج السمنة .من هذا المنطلق,دراستنا هذه اهتمت بإدخال زيادة على نظام دسم علني , زيت بذور **Nigella Sativa** الجد غنية بالأحماض الدسمة غير التشبع بالمقارنة من زيت الزيتون الغني بالأحماض الدسمة احادية غير التشبع.

لدراسة تأثير هذه الاحماض تمت تغذية ثمانية مجموعات من الفئران في حالة نمو (سنهم شهر واحد) لمدة ثمانية اسابيع وفق عدة انظمة غذائية . تم تسمين الفئران الذي تم معالجتهم بزيت بذور **Nigella Sativa** , تجريبيا بواسطة تغذية جد غنية بالدهن.نسبة السكر و الانسولين بينت انخفاض محسوس مقارنة مع المجموعة السمينية و كذلك لوحظ انخفاض في نسبة الغليسيريد الثلاثي, الكلسترول الكلي,الليبوبروتين الغير متجانس في الدم لدى هذه الفئران.دراستنا بينت ان زيت **Nigella Sativa** يمكن ان تحمي او تمنع الجسم هاته الفئران من ظهور مقاومة ضد الانسولين.

نتائج دراستنا بينت كذلك تصحيح توازن مؤكسد/ضد مؤكسد عند الفئران المعالجة بتصحيح النشاط الانزيمي الكتلز,المؤكسد القوي دسميتاز و اعادة النسبة البلازمية,هيباتيت و المتوكوندرية الدفاعية ضد القلق المؤكسد المرتبط بالسمنة.هذا النشاط لهاته الزيت تم تأكيده لاحقا بدراسة خارجية و التي بينت ان الاسباب تعود لوجود متعدد الفينولا ,الفيلافينويد و الكيتون بكميات معتبرة.و عليه اضافة زيت **Nigella Sativa**بين تحسن تغيل الكليكوذ و العمل الهيباتيت و البنكرياس عند الفئران السمينية

كخاتمة يمكن القول ان النتائج تظهر علاقة وطيدة بين عدم السمنة و الزيت النباتي المختار.هذه العلاقة يجب دراستها اكثر لتحديد آلية العمل الجزيئي و الاثر البيولوجي لهذه الزيت على مستوى الخلية ,ثم لتبيان اهميتها كمصدر اضافي للأحماض الدسمة الضرورية في البيت و كاضافة غذائية علاجية لتصدي او علاج ظاهرة السمنة.

كلمات مفتاحية: السمنة , **Nigella Sativa** , زيت نباتي, نشاط ضد مؤكسد, مقاوم للانسولين, قلق تأكسدي.

Résumé

L'homéostasie 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 notamment de l'obésité. Cette pathologie est devenue un problème majeur de santé publique en ce 21^e siècle et la consommation d'aliments hypercaloriques riches en graisse et hydrate de carbone est considérée comme un facteur important, contribuant à l'excès de poids et à l'obésité. Des recherches récentes ont montré qu'une supplémentation en acides gras polyinsaturés (AGPI) tend à corriger et/ ou à prévenir l'obésité. De ce fait, notre étude a porté sur l'incorporation, à un régime hypergras, l'huile fixe des graines de Nigelle (*Nigella sativa* L.) très riche en AGPI en comparaison avec l'huile d'olive très riche en acides gras monoinsaturés (AGMI).

Pour étudier l'effet hypolipidémiant de cette huile (HN) et en comparaison de l'effet de l'huile d'olive sur l'obésité, huit lots de rats mâles de souche Wistar en croissance (agés d'un mois) ont été nourris pendant huit semaines par différents régimes. L'obésité a été induite expérimentalement par un régime hypergras chez les rats traités par la nigelle; l'évolution pondérale, le taux de glycémie et d'insulinémie montrent une baisse significative par rapport au groupe obèse. Les taux sanguins de triglycérides, de cholestérol total et des lipoprotéines athérogènes diminuent aussi significativement chez ces rats. Notre étude a montré que l'huile de nigelle a pu remédier et /ou protéger l'organisme de ses rats à une éventuelle installation d'insulino-résistance.

Nos résultats ont montré aussi une correction de la balance oxydante/antioxydante chez les rats recevant le régime à base d'HN en corrigeant l'activité enzymatique de la catalase, la superoxyde dismutase et en rétablissant les taux plasmatique, hépatique et mitochondrial des défenses contre le stress oxydatif lié à l'obésité. Cette activité de l'huile a été confirmée ultérieurement *in vitro* et elle est due à la présence des polyphénols, des flavonoïdes et des quinones en quantité considérable dans cette huile, en plus d'un rapport d'AGPI/AGS très favorable.

Ainsi, une supplémentation en huile fixe de graines de *N. sativa* a montré un effet bénéfique par l'amélioration de la tolérance au glucose ainsi que la fonction hépatique et pancréatique chez les rats obèses et le métabolisme énergétique.

En conclusion, ses résultats nous ont permis de mettre en évidence l'effet anti-obésité et de notre huile végétale, qui méritent des études plus approfondies afin de dévoiler les mécanismes moléculaires des actions biologiques de cette huile au niveau cellulaire, puis montrer son importance pour un usage domestique comme source supplémentaire d'acides gras essentiels et de nutriment à usage pharmaceutique pour prévenir ou corriger l'installation d'une obésité.

Mots clés : Obésité, *Nigella sativa*, huiles végétales, activité antioxydante, insulino-résistance, stress oxydatif.

Abstract

Energy homeostasis is defined as maintaining the balance between energy intake and energy expenditure. Upsetting this balance leads to the development of metabolic disorders including obesity. This disease has become a major public health problem in the 21st century and the consumption of high calorie foods rich in fat and carbohydrate is considered an important factor contributing to excess weight and obesity. Recent research has shown that supplementation with polyunsaturated fatty acids (PUFAs) tends to correct and / or prevent obesity. Therefore, our study focused on the incorporation, a hypergras regime the fixed oil of *Nigella* seeds (*Nigella sativa* L.) rich in PUFAs compared with olive oil rich in fatty acids monounsaturated (MUFA).

To study the effect hypolipidemic of this oil and by comparison with the effect of the olive oil, the eight groups of male growing rats "Wistar"(one-month-old) were fed during eight weeks by various diets. Obesity has been experimentally induced hyper fat diet in rats treated with nigella, the weight evolution, the rate of glycemia and insulinemia shows a significant reduction to the obese group. The blood rates of triglycerids, total cholesterol and atherogenous lipoproteins decrease significantly at these rats. Our study to show that the oil of nigelle was able to remedy and / or to protect the body of its rats in a possible installation of insulino-resistance.

Our results also have shown a correction of oxidative / antioxidant balance in rats receiving the HN based diet by correcting the enzymatic activity of catalase, superoxide dismutase and restoring plasma, liver and mitochondrial defense against oxidative stress associated with obesity. This activity of the oil was later confirmed in vitro and is due to the presence of polyphenols, flavonoids and quinones in considerable amount in this oil, in addition to a very favorable PUFA / SFA ratio. Thus, a fixed oil supplementation of *N. sativa* seeds showed a beneficial effect by improving the glucose tolerance as well as liver and pancreatic function in obese rats and the energy metabolism.

In conclusion, the results have enabled us to highlight the anti-obesity effect and our vegetable oil, that deserve further studies to reveal the molecular mechanisms of biological action of this oil at the cellular level and show its importance for home use as a supplementary source of essential fatty acids and pharmaceutical use nutrient to prevent or correct the installation of obesity.

Keywords: Obesity, *Nigella sativa*, vegetable oils, antioxidant activity, insulin resistance, oxidative stress.

Table des Matières

Introduction	1
Chapitre I : Etude phytochimique	35
<i>Matériel et Méthodes</i>	36
1. Description du matériel végétale	36
2. Screening phytochimique sur la graine de nigelle	37
2.1. Préparation des extraits	37
2.2. Les tests phytochimiques	38
2.3. Détermination des indices physicochimiques de l'huile	41
3. Dosage des polyphénols, des flavonoïdes	45
3.1. Dosage des polyphénols totaux	45
3.2. Dosage des flavonoïdes	46
4. Mesure de la teneur en Thymoquinone au niveau de l'huile fixe de <i>N. sativa</i>	47
5. Détermination des acides gras au niveau des huiles	47
6. Mesure de la teneur en α -tocophérol dans les huiles	48
7. Etude de l'activité antioxydante in vitro	48
7.1 Evaluation de l'activité antioxydante par le piégeage du radical libre DPPH	48
7.2. Détermination de l'activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta-carotène (β -carotene bleaching method)	50
<i>Résultats et Interprétations</i>	52
1. Screening phytochimique des extraits de Nigelle (<i>Nigella sativa</i>)	52
2. Indices physico-chimiques	53
3. Taux des polyphénols totaux et flavonoïdes	55
4. Teneurs en thymoquinone dans l'huile de nigelle	57
5. Teneurs en tocophérol et en rétinol dans les huiles	58
6. Teneurs en esters d'acides gras dans les différentes huiles	58
7. Etude de l'activité antioxydante.	59
7.1. Piégeage du radical DPPH	59
7.2. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du β -	64

carotène (β -carotene bleaching method)

Chapitre II : Etude in vivo de l'effet de l'huile de Nigelle sur l'obésité.	66
<i>Matériels et Méthodes</i>	67
1. Choix des animaux et régimes alimentaires	67
2. La prise de poids, glycémie et bilans énergétiques et lipidiques	68
3. Test de Tolérance au Glucose (OGTT)	69
4. Sacrifice des rats et prélèvements :	70
5. Extraction de la fraction mitochondriale hépatique	71
6. Dosages des paramètres sériques et tissulaires	72
6.1. Les paramètres biochimiques sériques	72
6.2. Détermination de la teneur en acides gras plasmatiques	73
6.3. Détermination des teneurs en protéines tissulaires et mitochondriales	73
6.4. Détermination des lipides tissulaire et mitochondriales	73
6.5. Détermination du taux de triglycérides et cholestérol	73
6.6. Détermination du taux de phospholipides	
7. Paramètres du stress oxydatif	73
7.1. Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC : Oxygen radical antioxydant capacity) :	74
7.2. Détermination de la teneur en vitamine C plasmatique	74
7.3. Détermination de la teneur en vitamines A et E plasmatiques	74
7.4. Détermination des protéines carbonylées	74
7.5. Détermination du taux d'hydroperoxydes	74
7.6. Dosage du malondialdéhyde	76
7.7. Dosage des diènes conjugués plasmatiques	76
7.8. Dosage du Glutathion réduit	76
7.9. Mesure du taux de glutathion tissulaire	76
7.10. Mesure de l'activité de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)	78
7.11. Mesure de l'activité de la Superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1)	78
8. Analyse statistique	78
<i>Résultats et interprétation</i>	79
1. Évolution de la masse pondérale moyenne et bilans lipidiques	79

1.1. Evaluation du poids corporel et gain de poids	79
1.2. Quantité moyenne d'aliment ingéré et valeur énergétique	82
1.3. Quantité moyenne des lipides et des acides gras ingérés	82
1.4. Quantité moyenne des fèces et des lipides excrétés	83
1.5. Coefficient d'utilisation digestive des lipides <i>CUDL</i>	83
2. Test de tolérance au glucose et insulino-résistance	87
3. Changement dans les poids des organes et des tissus adipeux	90
4. Paramètres biochimiques sériques	94
5. Teneurs en protéines et lipides tissulaires et membranaires	103
5.1. Teneurs en protéines hépatiques, pancréatique et mitochondriaux	103
5.2. Teneurs en lipides hépatiques, pancréatique et mitochondriaux	105
6. Paramètres de la balance oxydante/antioxydante au niveau sérique, hépatique et mitochondriale	109
6.1. Paramètres de la balance oxydante/antioxydante au niveau plasmatique	109
6.2. Paramètres de la balance oxydante/antioxydante au niveau hépatiques.	115
6.3. Paramètres de la balance oxydante/antioxydante au niveau mitochondriale.	119
Discussion	123
Conclusion	135
Références bibliographiques	139

Liste des tableaux

Tableau 01: Composition phytochimique des extraits de Nigelle (*N. sativa*) préparés dans différents solvants.

Tableau 02 : Indices physico-chimique des huiles de nigelle (HN), d'olive (HO) et de tournesol (HT).

Tableau 03 : Teneurs en polyphénols, flavonoides, TQ et vitamines liposolubles A et E au niveau des huiles

Tableau 04 : Teneurs en esters d'acides gras dans les différentes huiles utilisées dans notre étude.

Tableau 05: Composition des régimes expérimentaux.

Tableau 06: Quantités d'aliment ingéré, AET, fèces et lipides excrétés et CUDL des rats soumis aux régimes (1-8) durant deux mois d'expérimentation.

Tableau 07 : Composition en pourcentage d'acides gras dans les différents régimes (1-8)

Tableau 08: Quantités moyennes des lipides et celles des acides gras ingérés chez les rats soumis aux différents groupes expérimentaux.

Tableau 09: Effet des différents régimes sur la calcémie, la magnésémie et la phosphorémie

Tableau 10: Effet des différents régimes sur les paramètres biochimiques sériques.

Liste des figures

Figure 01: Graines de *Nigella sativa* L.

Figure 2 : *Nigella sativa* L. (fleur).

Figure 03 : Réaction de réduction du radical DPPH par un antioxydant (AH)

Figure 04 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Figure 05 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Figure 06 : Pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations en huile de nigelle.

Figure 07 : Pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations en huile d'olive.

Figure 08 : Pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations en huile de tournesol.

Figure 09 : Pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations en acide ascorbique.

Figure 10 : Activité anti-radicalaire des différentes huiles et de l'acide ascorbique.

Figure 11: Activité anti-oxydante des huiles végétales et du BHA par la méthode de décoloration du β -carotène.

Figure 12: Pourcentages d'inhibition de la décoloration de la β -carotène par les huiles et le standart.

Figure 13 : Changement dans le poids corporel des rats recevant les différents régimes.

Figure 14: Histogramme représentant la différence entre le poids final des rats recevant les différents régimes.

Figure 15 : Gain de poids des obèses par rapport aux témoins (ligne de base 0%) et des rats soumis aux différents régimes par rapport aux rats obèses.

Figure 16: Résultats du TTOG à 0 min et 120 min, (glycémie, insulïnémie).

Figure 17 : Valeurs moyennes du score d'HOMA-IR et de l'indice OGIS.

Figure 18 : Histogramme représentant le poids du foie, pancréas et des testicules.

IC50 de la décoloration de la β -carotène par HO et HN et Contrôle positif BHA.

Figure 19 : Histogramme représentant le poids des reins, du cerveau et du cœur.

Figure 20 : Histogramme représentant les poids des tissus adipeux (TA).

Figure 21 : Histogramme représentant la glycémie et l'insulinémie à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Figure 22 : Histogramme représentant le taux des triglycérides, du cholestérol total à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Figure 23 : Histogramme représentant les taux des HDL-C, LDL-C et VLDL-C à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Figure 24 : Histogramme représentant le taux des protéines totales, albumine et globuline à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Figure 25 : Histogramme représentant le taux des enzymes hépatiques (ALAT, ASAT, ALP et LDH).

Figure 26 : Histogramme représentant le taux de l'urée, l'acide urique et de la créatinine à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Figure 27 : Taux des protéines hépatique, pancréatique et mitochondriaux chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 28 : Histogrammes représentant le taux des lipides hépatiques chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 29 : Histogrammes représentant le taux des lipides pancréatiques chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 30 : Histogrammes représentant le taux des lipides mitochondriaux chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 31 : Histogrammes représentant le pouvoir antioxydant du plasma (ORAC) chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 32 : Histogrammes représentant des vitamines A, E et C chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 33 : Histogrammes représentant du Malondiadéhyde (MDA), des hydroperoxydes, diènes conjuguées plasmatiques chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 34 : Histogrammes représentant des protéines carbonylées et du glutathion réduit (GSH) plasmatiques chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 35 : Histogrammes représentant de la catalase et la superoxyde dismutase (SOD) plasmatiques chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 36 : Histogrammes représentant de la glutathion réduit (GSH) et les protéines carbonylés hépatiques chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 37 : Histogrammes représentant du Malondiadéhyde (MDA) et des hydroperoxydes hépatiques chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 38 : Histogrammes représentant de la catalase et la superoxyde dismutase (SOD) hépatiques chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 39 : Histogrammes représentant du glutathion réduit (GSH) et les protéines carbonylés mitochondriaux chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 40 : Histogrammes représentant du Malondialdéhyde (MDA), des hydroperoxydes, diènes conjuguées (DC) mitochondriaux chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Figure 41 : Histogrammes représentant de la catalase et la superoxyde dismutase (SOD) mitochondriaux chez les rats ayant reçus les différents régimes.

Liste des abréviations

ACAT : AcylCoA Cholestérol Acyl Transférase
AG : Acides gras
AGL : Acides gras libres
AGMI : Acides gras mono-insaturés
AGPI : Acides gras polyinsaturés
AGS : Acides gras saturés
ALT : Alanine transaminase
AST : Aspartate transaminase
BHA : Butylated hydroxyanisole
CT : cholesterol total
DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
GSH-Px : glutathions peroxydases
HDL : high density lipoprotein
HG : hypergras
HN : huile de nigelle
HO : huile d'olive
HOMA : Homeostasis Model Assessment
HT : huile de tournesol
HTA : hypertension artérielle
IGF1 : Insulin-like growth factor 1
IL6 : Interleukine 6
IL 1 : Interleukine 1
IMC : indice de masse corporelle
LDL : low density lipoprotein
LDLox : low density lipoprotein oxydé
LPL : lipoprotéine lipase
NS : *Nigella sativa*
OGIS : Oral glucose insulin sensitivity
OGTT : Test de tolérance au glucose par voie orale
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAI-1 : Plasminogene Activator Inhibitor-1
R : régime.
ROS : reactive oxygen species
SOD : superoxydes dismutases
TA : Tissu adipeux
TG : triglycérides
TQ : Thymoquinone
TNF- α : Tumor Necrosis Factor Alpha
TTOG : Test de tolérance oral au glucose
UCP-1 : protéine de découplage
VLDL : very low density lipoprotein

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 Aboubakr Belkaïd, Tlemcen- Algérie et les analyses chromatographiques en collaboration avec le Laboratoire de Chimie Moléculaire et Thiorganique (LCMT) ENSICAen- France.

Notre problématique s'inscrit dans l'axe de recherche qui concerne l'étude des plantes médicinales et les huiles végétales utilisées dans le traitement des maladies métaboliques, dans notre cas, l'obésité.

L'épidémie de l'obésité devient un problème majeur de santé publique dans les pays développés et en développement. Plusieurs traitements sont développés pour remédier à cette maladie mortelle, y compris les régimes hypo caloriques amaigrissant, l'exercice physique, les médicaments ainsi que la chirurgie, même si souvent, les résultats à long terme sont décevants. D'autre part, divers médicaments anti-obésité ont été retirés du marché en raison de leurs effets secondaires intolérables sur le corps humain.

Pour y remédier à ce manque de traitement pour cette pathologie, beaucoup de chercheurs dans le domaine des sciences de l'alimentation, de la nutrition et même des diététiciens se sont penchés sur la recherche d'ingrédients alimentaires fonctionnels et / ou des extraits de plantes qui peuvent empêcher l'accumulation de la graisse du corps et ainsi atteindre la perte du poids corporel.

Les huiles végétales et surtout ceux issu de plantes médicinales sont un bon exemple qui illustre les actions de lipides alimentaires sur l'obésité.

Dans cet objectif nous avons voulu mettre en évidence l'effet protecteur et/ou correcteur d'une huile fixe sur l'obésité. Notre intérêt c'est porté sur l'étude de l'huile

fixe des graines de *Nigella sativa* L., (*Ranunculaceae*), en la comparant à l'huile d'olive.

Les huiles végétales sélectionnées sont étudiées pour leur faible toxicité et pour leur efficacité dans le traitement ou la prévention de l'installation de l'obésité induite expérimentalement chez le modèle animal par un régime hypercalorique (hyperlipidique) et ainsi les analyses phytochimiques, qui ont permis de déterminer les substances actives des huiles, sont bien corrélées pour élucider leur mécanisme d'action sur les auteurs de cette pathologie au sein de l'organisme.

Enfin, cette étude pourra constituer un bon moyen pour améliorer les stratégies de prévention d'installation de l'obésité et ces complications dès le jeune âge.

INTRODUCTION

Introduction

Un apport alimentaire équilibré en macronutriments (glucides, lipides et protéines), ainsi qu'en micronutriments (minéraux et vitamines) est indispensable en permanence pour maintenir les fonctions vitales de l'organisme (croissance, développement, reproduction...). Par contre, un déséquilibre alimentaire constitue un facteur de risque majeur de nombreuses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète et l'obésité.

Cette dernière, considérée autrefois comme un signe de prospérité, est regardée maintenant comme une maladie à part entière, dont la prévalence augmente à un rythme alarmant. L'obésité est devenue le problème nutritionnel majeur dans la plupart des pays, à tel point qu'on a pu parler d'épidémie mondiale (Shahzaya *et al*, 2010).

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 : Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 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). A l'Union européenne, 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).

Aux Etats-Unis, selon des données publiées par le « *National Health and Nutrition Examination Survey* » en 2008, 68 % des adultes entre 20 et 74 ans étaient en surpoids ou obèses. Une autre étude estime que si aucune évolution n'a lieu dans les années à venir, en 2030, près de 86 % de la population pourrait être en surpoids ou obèse dont près de 21,1 % d'adultes et 30 % d'enfants (Wang, 2008).

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).

Introduction

L'Algérie, comme de nombreux pays du Maghreb en plein essor économique, n'est pas épargnée par ce fléau des temps modernes. La situation en matière de surpoids et d'obésité s'avère préoccupante dans notre pays, près de la moitié de notre population présente une obésité. Le tiers accuse un surpoids, 15,1 % ont un excès pondéral franc et 1,2 % une obésité morbide (Kemali, 2003). En 2005, 55,9 % des personnes âgées de 35-70 ans étaient en surpoids et 21,24 % étaient obèses. Une autre étude de la prévalence de l'obésité dans la population algéroise a trouvé que sur 495 sujets 58 % ont une obésité androïde (Hatri, 2007).

Une étude sur la prévalence du surpoids et de l'obésité chez les enfants âgés de 5 à 8 ans scolarisés a été menée à Tébessa (Algérie) entre 1998 et 2005. La prévalence du surpoids et de l'obésité pour l'ensemble de l'échantillon (n = 3396) a été de 6,36 %: elle est passée de 7,44 % en 1998 à 5,81 % en 2005 (Taleb *et al.*, 2010).

Une étude récente a porté sur la prévalence de l'obésité chez des adultes de 35 à 70 ans en association avec leur région de résidence, le sexe et la situation socio-économique en Algérie. La prévalence de l'obésité était significativement élevée chez les femmes à $30,1 \pm 2$ % en comparaison aux hommes qui était de $9,1 \pm 2,0$ % et $13,3 \pm 2,0$ % (Atek *et al.* 2013).

Une enquête épidémiologique a été réalisée de 2004 à 2005, auprès d'un échantillon représentatif de la commune de Tlemcen de 805 personnes âgées de 20 ans et plus. La prévalence de l'obésité globale était de 38,4% (Boukli-Hacene *et Meguenni*, 2007).

L'obésité est caractérisée par une surcharge pondérale importante due à une quantité excessive de lipides stockés dans le tissu adipeux blanc.

En effet, notre poids est déterminé, en dehors de la masse musculaire, par la masse du tissu adipeux et qui dépend du nombre et du volume des cellules qui le constitue. Les réserves moyennes de lipides chez un adulte dans le tissu adipeux sont de 20 % du poids du corps, ce qui représente une valeur énergétique de 560 MJ soit 80 fois les réserves en glucides. Elles sont mobilisées en cas de déficit énergétique ou d'augmentation de la dépense (jeûne, exercice physique de longue durée, lactation, etc...). Le développement pondéral du tissu adipeux est le reflet direct de l'état des

Introduction

réserves d'énergie lipidique, vu qu'il peut subir des variations de quelques centaines de grammes chez un individu dénutri à plusieurs centaines de kilos dans un cas d'obésité morbide (Ferre, 2003).

En pratique clinique, un individu est considéré comme pré-obèse (ou en surpoids) si son IMC (Indice de Masse Corporelle) est compris entre 25 kg/m² et 30 kg/m² et comme obèse lorsque l'IMC est supérieur à 30 kg/m². Les sujets obèses montrent des différences non seulement dans les excédents de graisse qu'ils accumulent, mais aussi dans la répartition anatomique de cette graisse. Cette répartition joue un rôle dans les risques associés à l'obésité et le type de maladie qui en résulte (OMS, 2006).

Les sujets présentant une «répartition abdominale de la graisse», souvent connue sous le nom d'«obésité androïde», ont un risque accru de développer des pathologies telles que le diabète de type II, l'hypertension, les maladies cardiovasculaires et thromboemboliques, le syndrome des ovaires polykystiques, des atteintes hépatiques (stéatose) et de certains cancers par comparaison à ceux qui montrent une répartition «ganoïde » du tissu adipeux sous-cutané et qui correspond à sa concentration dans les parties inférieures du corps (au niveau glutéo-fémoral) (Lafontan *et* Berlan, 2003 ; Ribeiro *et al.*, 2006). Plusieurs facteurs génétiques et métaboliques des adipocytes sont proposés pour expliquer cette répartition du tissu adipeux (TA) (Zillikens *et al.*, 2008).

Des études récentes suggèrent que notre silhouette, résultat de la répartition et du volume des graisses sous-cutanées et intra-viscérales, est déterminée par des facteurs environnementaux (écologiques et événementiels) et des facteurs essentiellement génétiques et sous-dépendance hormonale. L'un des facteurs écologiques le plus important est le régime alimentaire, et qui aura comme conséquence l'apparition d'un tissu adipeux sous-cutané qui peut être éliminé par des régimes amaigrissants. La répartition de la graisse dite « écologique » est plutôt diffuse sur toute la surface corporelle, contrairement à la graisse dite « génétique » qui est répartie d'une façon localisée, d'où l'appellation du syndrome segmentaire (Dardour, 2012).

Introduction

Chez l'animal comme chez l'homme, l'acquisition de nouvelles adipocytes reste possible tout au long de la vie. Les adipocytes trouvent leurs origines dans des cellules précurseurs, les préadipocytes. Dans des conditions physiologiques, cette acquisition se révèle largement être un processus irréversible. L'augmentation de la masse du TA et ainsi une obésité, peut se produire soit par augmentation du nombre d'adipocytes (hyperplasie du tissu adipeux) soit par augmentation de la quantité de triglycérides accumulées dans celles-ci (hypertrophie adipocytaire) soit, dans le cas des obésités les plus sévères, par hyperplasie et hypertrophie combinées (Gustafson *et al.*, 2009).

Le recrutement de nouvelles cellules adipeuses est moins fréquent chez les adultes, mais quand il survient (chez 20 à 30 % de personnes obèses), ces obèses sont "métaboliquement normaux" ; suggérant la présence résiduelle de préadipocytes à l'âge adulte. De plus, en accord avec ces observations, chez des rats âgés, la plupart des dépôts adipeux répondent à un régime hyperlipidique ou hyperglucidique par un processus hypertrophique/hyperplasique combiné (Faust *et al.*, 1978). Ainsi, lors d'un apport lipidique accru sur le long terme, l'accumulation de lipides dans l'adipocyte ne pouvant excéder un certain volume (hypertrophie) et sous l'effet de l'activation de certains facteurs de transcription qui régulent la différenciation adipocytaire par quelques hormones (insuline, IGF1 et glucocorticoïdes) et acides gras, il y a recrutement de nouveaux adipocytes à partir de pré-adipocytes (Moreno-Navarrete *et* Fernández-Real, 2012).

Par ailleurs, le tissu adipeux serait plus sensible à l'effet lipolytique induit par les catécholamines. En effet, la réponse aux catécholamines est une illustration tout à fait caractéristique de cette hétérogénéité fonctionnelle qui fait intervenir une balance de fonctionnement des récepteurs α_2/β adrénergiques; les deux voies réceptrices étant respectivement anti-lipolytique et lipolytique. Les cellules adipeuses très riches en récepteurs α_2 adrénergiques (tissu fémoral) présentent une réponse anti-lipolytique à l'adrénaline. A l'opposé, les tissus répondant à celle-ci par une activité lipolytique (tissu adipeux abdominale) possèdent un rapport α_2/β relativement faible (Valet *et* Richard 1997 ; Barat *et al.*, 2008).

Introduction

En outre, l'axe corticosurrénal n'est pas à exclure. Lors d'un excès de sécrétion de cortisol, hormone surrénalienne (syndrome de Cushing), une obésité abdominale se développe (Barat *et al.* 2007).

Les adipocytes se révèlent être des cellules d'une grande complexité dont le rôle ne se limite pas qu'au stockage et à la mobilisation de l'énergie mais également de véritables cellules sécrétrices dotées de diverses activités endocrines et paracrines (Ailhaud, 1998 ; Fève *et al.*, 2006). Ces activités leurs permettent d'agir sur les métabolismes glucidique et lipidique et d'être capables de communiquer avec d'autres organes (cerveau, foie et muscle squelettique) par la production de différents médiateurs comme la leptine, le TNF- α (*Tumor Necrosis Factor Alpha*), l'interleukine-6, le PAI-1 (Plasminogene Activator Inhibitor-1), la résistine ou encore l'adiponectine (De Brandt, 2004). Ces médiateurs cellulaires connus sous le nom de cytokines jouent un rôle majeur dans les processus immunitaires et inflammatoires.

L'obésité est associée à un état inflammatoire chronique. En effet, de très nombreuses études ont rapporté une augmentation des concentrations circulantes de divers marqueurs de l'inflammation et de cytokines pro-inflammatoires chez les sujets obèses. Ainsi, les concentrations plasmatiques du TNF α et de l'IL6 sont 2 à 3 fois plus élevées chez les sujets obèses que chez les sujets normaux groupés selon l'âge et le sexe (Bastard *et al.*, 2006).

La leptine est un facteur préventif sur l'accumulation des lipides en agissant comme inhibiteur de la prise alimentaire et activateur de la dépense énergétique (Fonseca-Alaniz *et al.*, 2007). Cette protéine pourrait jouer un rôle pro-inflammatoire, en stimulant la production d'autres cytokines comme le TNF- α qui favorise l'activation des macrophages (Bastard *et Vidal*, 2004). Ce dernier agit sur l'homéostasie du métabolisme glucidique et lipidique au niveau des adipocytes de manière insulino-dépendante en stimulant la lipogenèse et en inhibant la lipolyse (Sethi *et Hotamisligil*, 1999 ; Fernandez-Sanchez *et al.*, 2011).

L'adiponectine est spécifique aux adipocytes différenciés et a des actions de régulation sur le métabolisme des lipides en activant l'oxydation des acide gras et en

Introduction

diminuant la triglycéridémie et sur l'homéostasie glucidique en stimulant la sensibilité à l'insuline (De Bandt, 2004 ; Kawano *et* Arora, 2009). Elle inhibe les effets d'oxydation des lipoprotéines (LDLox) durant la formation de la plaque d'athérome en supprimant la prolifération cellulaire et la génération des superoxydes (Hopkins *et al.*, 2007; Fonseca-Alaniz *et al.*, 2007). La résistine, est une hormone dont la sécrétion est induite par l'insuline, d'où son rôle dans l'insulino-résistance induite par l'obésité et le diabète de type 2 (Belowski, 2003 ; Fonseca-Alaniz *et al.*, 2007). La visfatine joue un rôle dans la régulation de l'homéostasie du glucose en se fixant au récepteur de l'insuline et mime son signal intracellulaire (Curat *et al.*, 2006 ; Sethi, 2007).

Sous le terme «obésité» sont regroupées des situations cliniques très variées qui n'ont en commun que l'excès de masse grasse. Les complications de l'obésité sont elles aussi diverses, allant de d'un risque accru de décès prématurés allant à plusieurs maladies non mortelles mais ayant des effets affligeants et indésirables sur la qualité de la vie (Basdevant, 1998). Lorsque l'IMC dépasse 40, le risque de mortalité est de 2,6 chez l'homme et de 2,0 chez la femme. La surmortalité liée à l'obésité est attribuée aux multiples complications chroniques; cardio-vasculaires (hypertension artérielle HTA, thromboses, insuffisance cardiaque, infarctus du myocarde), respiratoires (syndrome de l'apnée du sommeil), métaboliques, digestives (stéatose hépatique non alcoolique et lithiases), psycho-sociales, rénales, ostéo-articulaires et gynécologiques (augmentation du taux d'infertilité) (Kim *et al.*, 2004 ; Basdevant, 2008 ; Schlienger *et al.*, 2009).

De plus, le surpoids et l'obésité sont maintenant établies d'être des facteurs de risque de survenus et de mortalités liées à certains cancers (Van Kruijsdijk *et al.*, 2009). En effet, plusieurs études ont trouvé une association positive entre la survenue de certains cancers et l'IMC excessif. Le cancer est un processus multifactoriel qui dépend de l'expression et de la production des hormones stéroïdiens dont le rôle interagis aussi avec notre environnement dont le style alimentaire et l'activité physique ainsi que le poids qui en dépendent (Brawer *et al.*, 2009 obésité et cancer). Des données épidémiologiques concordantes à l'échelle mondiale suggèrent que l'obésité expliqueraient 25 % des cas de cancers du sein (Schlienger *et al.*, 2009).

Introduction

Une autre complication métabolique désignée sous le nom de « syndrome métabolique » est la plus marquante de l'obésité. Un groupe d'experts de l'OMS l'a défini par la présence d'un diabète non insulino-dépendant (une intolérance au glucose, et une sensibilité à l'insuline) associé à deux ou plus des complications supplémentaires suivantes: hypertension artérielle, dyslipidémie (triglycérides élevés, diminution de la cholestérol-HDL) et une micro-albuminurie (Keller, 2002). La manifestation de ce syndrome est favorisée par une surcharge en graisse abdominale. Il peut être aussi associé à la libération de cytokines pro-inflammatoires par le tissu adipeux (Das, 2001; Kim *et al.*, 2004; Emile, 2009).

La notion de sensibilité à l'insuline concerne plusieurs tissus dits insulino-sensibles dont le foie, le tissu adipeux et le muscle squelettique. L'insuline permet notamment la suppression de la production hépatique de glucose, l'inhibition de la lipolyse et l'utilisation musculaire du glucose. L'insulino-résistance correspond donc généralement à l'altération de ces différentes fonctions (Disse *et al.*, 2013).

Cependant, l'hyperinsulinisme est présent chez tout sujet obèse. Les relations entre l'insuline et l'obésité sont complexes. Reste à préciser si l'hyperinsulinisme est le phénomène primaire responsable de l'obésité ou seulement sa conséquence. Le niveau d'insulinémie reflète fidèlement l'importance des réserves adipeuses; il est corrélé à l'IMC chez un individu donné (Vergès, 2001).

En plus de divers complications précitées, associées à l'obésité, le stress oxydatif revêt une importance qui n'est plus à démontrer (Sonta *et al.*, 2004; Fernández-Sánchez *et al.*, 2011). Le stress oxydatif peut être le mécanisme sous-jacent du développement de l'inflammation et des maladies associées à l'obésité telles que la résistance à l'insuline, le diabète, l'hypertension et le syndrome métabolique. Différents facteurs peuvent contribuer au stress oxydatif dans l'obésité; à savoir, l'hyperglycémie, l'augmentation de l'activité musculaire en raison de la nécessité de procéder à un poids excessif, l'augmentation des taux de lipides tissulaires, les défenses anti-oxydantes inadéquates et aussi l'inflammation chronique (Vanessa *et al.*, 2011).

Introduction

Le stress oxydatif étant défini par un excès d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par rapport aux systèmes de défense anti-oxydantes, peut conduire à des dommages irréversibles des biomolécules telles que les lipides, les protéines et l'ADN nucléaire et mitochondriale. Les ERO peuvent avoir différentes sources cellulaires, dont la mitochondrie qui représente une source importante (Furukawa *et al.*, 2004; Mishra, 2004).

En effet, dans les conditions physiologiques, une très petite quantité d'oxygène consommée par les mitochondries génère la formation d'anion radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) au niveau des complexes I et III de la chaîne respiratoire mitochondriale, par réduction monovalente d'une petite proportion du dioxygène, parallèlement au processus de phosphorylation oxydative. Ces ERO, produites de façon physiologique, sont maintenues à des concentrations faibles grâce aux systèmes de défense de l'organisme. Ces systèmes peuvent être enzymatiques, tels que les superoxydes dismutases (SOD) qui convertissent $O_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 et O_2 , la catalase qui prend en charge H_2O_2 , les glutathions peroxydases (GSH-Px) qui réduisent les hydroperoxydes en alcools, ou des systèmes non enzymatiques constitués par des capteurs d'ERO (glutathion, vitamines E et C, β -carotène, acide urique...). Il faut noter que les ERO ne doivent pas être considérées comme des facteurs uniquement dommageables, la plupart des ROS sont détoxifiées par les défenses antioxydantes mitochondriaux ou servent de messagers secondaires en participant à de nombreux processus physiologiques tels que ceux liés à la signalisation de l'insuline (Bonfont-Rousselot, 2014).

Cependant, dans certaines circonstances physiopathologiques tel que l'obésité, ce processus de détoxification peut être submergé dans l'addition d'un déficit bioénergétique profond, l'ERO génère une formation d'hydroperoxydes lipidiques qui peuvent endommager les membranes mitochondriales, conduisant à la perte des différentes fonctions vitales et de l'intégrité structurelle (Nigam *et al.*, 1999; Begrich *et al.*, 2011).

L'obésité est une maladie chronique, évolutive et multifactorielle. Les déséquilibres qui touchent la régulation de la masse corporelle, la prolifération du tissu

Introduction

adipeux ou encore les dépenses énergétiques, en plus, de l'expression d'une susceptibilité génétique sous l'influence de facteurs environnementaux et hormonaux avec, au premier rang la diététique et le comportement alimentaire ainsi qu'un mode de vie sédentaire sont les acteurs les plus suspectés afin d'expliquer l'installation et le développement de l'obésité, que les chercheurs exploitent afin de trouver des pistes pour lutter contre l'obésité et les pathologies qui lui sont associées (Vance et Hanning, 2004 ; De Brandt, 2004 ; Basdevant, 2008 ; Schlienger et al., 2009).

La prise alimentaire et la dépense énergétique sont régulées et coordonnées par le système nerveux central, et plus particulièrement l'hypothalamus, alors que les tissus périphériques tels que les muscles et les tissus adipeux s'occupent du métabolisme et la production d'énergie. Un réseau complexe composé de signaux à long terme et à court terme a été rapporté pour réguler l'apport énergétique. Ces signaux sont intégrés par l'hypothalamus et impliquent neuropeptides anorexigènes (la leptine, le peptide Y et la cholécystokinine) et orexigènes (la ghréline) qui contrôlent appétit, satiété (comportement alimentaire) et métabolisme (Morton *et al.*, 2006 ; Guinard, 2013).

Un déséquilibre entre les apports d'énergie contenue dans les aliments et les mécanismes dissipateurs d'énergie, se traduit ainsi par un stockage excessif de graisse et une accumulation de masse adipeuse au sein de l'organisme, d'où la surcharge pondérale.

La consommation d'aliments à forte densité énergétique, riches en matières grasses et / ou hydrates de carbone, est considérée comme une des causes principales de cette maladie. En outre, une prise de poids accrue est observée lors d'un déséquilibre entre l'apport énergétique et la dépense (Kim *et al.*, 2013; Hong *et Friedman*, 2007; Kretschmer *et al.*, 2005).

En effet, les glucides et les lipides, en particulier les acides gras, sont à l'origine de l'obésité. Les glucides ne sont pratiquement pas stockés sous forme de graisses, mais l'élévation de l'insulinémie qu'ils entraînent peut faciliter la lipogenèse à partir des acides gras ingérés. En conséquence, l'association glucides simples (à fort index

Introduction

glycémique et insulinémique) et excès de graisse qui est susceptible de contribuer à l'augmentation du tissu adipeux (Goetz, 2006).

Plusieurs études ont rapporté que la composition de l'alimentation et notamment la qualité et la quantité de lipides favorisent la correction de l'hyperlipidémie (Platat, 2005).

En théorie, la qualité des acides gras peut interférer avec la balance énergétique en agissant à plusieurs niveaux: la prise alimentaire, l'orientation métabolique des acides gras (lipolyse ou lipogénèse), la composition corporelle, la thermogénèse ou encore au niveau adipocytaire. En effet, certains AG peuvent inhiber ou stimuler la différenciation et/ou la prolifération des adipocytes (Storlien *et al.*, 2001). Une étude montre qu'une alimentation riche en acides gras saturés, favorise une augmentation aiguë de l'adiposité et une résistance à l'insuline, à l'opposé des acides gras polyinsaturés (McAuley *et Mann*, 2006).

Parmi les AG naturels figurent deux AG essentiels; ils sont indispensables à l'organisme humain qui ne peut les produire lui-même et doit donc les trouver dans son alimentation; l'acide linoléique qui appartient à la famille n-6 (oméga 6) et manifeste une forte activité adipogénique et l'acide α -linoléique de la série n-3 (oméga 3) et qui se révèle anti-adipogénique. En effet, plusieurs études montrent l'effet des acides gras polyinsaturés n-3 (AGPI n-3) ainsi que les acides gras conjugués, phytostéroles, triglycérides à chaîne moyenne et des phospholipides en tant que modulateurs importants pouvant affecter l'atténuation de l'obésité (Periago *et al.* 1990; Cours *et al.*, 2000; Ramadan *et al.*, 2003; Koji *et Teruyoshi*, 2007) .

A cause de la complexité biochimique de chaque acide gras et leurs actions physiologiques et moléculaires uniques, on n'a pas encore abouti à une compréhension complète de la spécificité des acides gras alimentaires qui affectent la santé. Par exemple, alors que certaines études ont indiqué que l'huile de poisson riche en AGPI n-3 favorise la perte de poids chez les animaux et chez l'homme, d'autres ont signalé qu'aucune différence de poids n'a changé à la suite de la consommation des aliments riches en huile de poisson (Kim *et al.*, 2013).

Introduction

De plus, la longueur de chaîne des acides gras alimentaires, le degré d'insaturation et la configuration de la double liaison ont tous un important impact sur leur devenir métabolique.

D'autre part, des études ont montré les effets bénéfiques des acides gras polyinsaturés, en raison de la présence de doubles liaisons, ils donnent une faible énergie ultérieurement à leur oxydation (Kim *et al.*, 2013).

L'alimentation des pays industrialisés est marquée par une augmentation quantitative des calories ingérées (les lipides représentant 35 à 40 % des apports nutritionnels) et par un contenu élevé en n-6 et faible en n-3. En effet, la quantité de n-6 ingérée durant ces quatre dernières décennies a considérablement augmenté (+ 250 %) tandis que celle d'n-3 a baissé de 40 %, déséquilibrant ainsi le rapport n-6/n-3 par rapport aux apports recommandés. En effet, l'AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments) préconise un rapport de 5 n-6 pour 1 n-3, or nous consommons 15 n-6 pour 1 n-3. Aux Etats-Unis le rapport peut même atteindre 40 n-6 pour 1 n-3. Le CNRS a aussi publié qu'un excès chronique d'acide linoléique couplé à un déficit en acide α -linoléique dans l'alimentation favorise une augmentation transgénérationnelle de l'obésité (Massiera *et al.*, 2010).

La prise en charge de l'obésité est globale et adaptée à la situation de chaque patient: elle peut aller de simples recommandations diététiques (régimes hypocaloriques amaigrissant) pour favoriser la perte de poids, en passant par l'exercice physique, les médicaments, l'acupuncture, l'hypnose jusqu'à l'intervention chirurgicale (liposuccion, anneau gastrique, etc.) (Moro *et Basile*, 2000 ; Kretschmer BD *et al.*, 2005).

En première intention, la prise en charge de l'obésité associe régime alimentaire, activité physique et soutien psychologique. Elle s'avère efficace dans les obésités modérées et surtout chez les sujets jeunes, même si souvent, les résultats à long terme sont décevants.

Chez l'être humain, le poids peut être modifié toutefois par un régime approprié, mais de manière temporaire. L'arrêt du régime entraîne le plus souvent la reprise du poids d'origine. On sait maintenant que pour obtenir une chute de poids

Introduction

durable, le traitement amaigrissant doit entraîner une baisse régulière mais modeste du poids, pas plus de 2 kg par mois. Une perte rapide et massive de poids entraîne une adaptation du métabolisme qui rend plus difficile la conduite ultérieure du régime amaigrissant et s'accompagne, quand on abandonne ce régime drastique, d'un phénomène de rebond faisant regagner une grande partie du poids perdu (Hasani-Ranjbar *et al.*, 2013).

Lors d'un régime amaigrissant, le nombre des adipocytes ne diminue pas, ils se vident simplement de leur contenu. C'est ce qui explique l'inefficacité relative de la plupart de ces régimes. En outre, il a été démontré que toute diète prolongée provoque une baisse du métabolisme de base, ce qui diminue l'efficacité du régime. Cette adaptation de l'organisme se poursuit ensuite durant une période de temps limitée à un ou deux ans expliquant les reprises de poids dès l'arrêt du régime (Dardour, 2012). Des études montrent que seulement 5-10 % des sujets obèses peuvent maintenir leur perte de poids au cours des années (Hasani-Ranjbar *et al.*, 2013).

D'autre part, divers médicaments anti-obésité, y compris le rimonabant et la sibutramine ont été retirés du marché en raison de leurs effets secondaires intolérables comprenant des maux de tête, des vomissements, des problèmes cardiaques et psychiatriques. L'histoire du développement des médicaments anti-obésité est loin d'être glorieuse et seulement une poignée d'agents sont actuellement autorisés pour une utilisation clinique. L'orlistat (Xenical[®]) est le seul agent de la perte de poids approuvé pour une utilisation clinique à long terme en Europe. Il agirait en limitant la digestion et l'absorption intestinale des lipides (triglycérides) en inhibant la lipase pancréatique. D'après les études publiées, il faut au moins deux ans de traitement pour obtenir une réduction du poids statistiquement mesurable. Bien que cet inhibiteur de la lipase pancréatique soit cliniquement approuvé pour le traitement de l'obésité, l'Orlistat a certains effets secondaires gastro-intestinaux désagréables. Comme les corps gras ne sont pas digérés, on les retrouve dans les matières fécales, ce qui peut provoquer des diarrhées graisseuses plutôt désagréables, ou d'incontinence, des flatulences et des crampes abdominales (Hurtel, 2008 ; Rodgers *et al.*, 2012; You *et al.*, 2014).

Introduction

Pour y remédier à ce manque de traitement, beaucoup de chercheurs dans le domaine des sciences de la nutrition et de la diététique se sont penchés sur la médecine traditionnelle et la phytothérapie pour la recherche d'ingrédients alimentaires fonctionnels et / ou des extraits de végétaux, facilement accessibles et à moindre coût, qui peuvent empêcher l'accumulation de la graisse du corps et ainsi atteindre la perte du poids corporel (Yun *et al.*, 2008).

Pour se soigner, l'homme a longtemps eu recours à des remèdes traditionnels à base de plantes (tisanes, poudres, décoctions), administrées par inhalations, cataplasmes, massages ou encore par voie orale.

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), environ 65-80 % de la population mondiale dans les pays en développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire. Malgré les remarquables progrès en chimie organique de synthèse du vingtième siècle, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays industrialisés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes (Newman *et al.*, 2000).

Parmi les 250 000 espèces végétales sur terre, 80 000 présentent des propriétés médicinales, 15 % d'entre eux sont étudiées pour leurs constitutions phytochimiques et seulement 6 % pour leurs activités biologiques dont une fraction de ce pourcentage est consacrée à l'effet anti-obésité (Fabricant *et* Farnsworth, 2001).

La supplémentation à base de plantes et les thérapies à base d'alimentation pour la perte de poids sont parmi les plus communes des médecines et modalités complémentaire et alternative. Une vaste gamme de ces produits naturels et de plantes médicinales, y compris extraits bruts et composés isolés à partir de plantes, peuvent être utilisés pour induire une perte de poids et prévenir l'obésité induite par l'alimentation. En effet, plusieurs études portent sur l'utilisation de plantes médicinales comme une autre voie thérapeutique pour le traitement de l'obésité (Hasani-Ranjbar *et al.*, 2013; You *et al.*, 2014).

Au cours des dernières décennies, les plantes médicinales ont largement été utilisées dans la gestion de l'obésité à cause de leur contenu en une grande variété de

Introduction

composants (acides gras, vitamines et composés mineurs) avec différents effets anti-obésité et anti-oxydants sur le métabolisme et de l'oxydation des graisses. Ces extraits de plantes pourraient influencer la mobilisation de l'insuline, la métabolisation et le stockage des lipides et des glucides au niveau hépatobiliaire et augmenter leur élimination (Hasani-Ranjbar *et al.*, 2013).

Les propriétés anti-obésités des plantes peuvent s'exercer suivant différents modes d'action: par effet direct sur la prise alimentaire en supprimant l'appétit et induisant la sensation de satiété (Haaz *et al.*, 2006 ; Van Heerden *et Hoodia*, 2008); sur la dépense énergétique par l'augmentation du taux du métabolisme en activant la thermogénèse (Hansen *et al.*, 2010); sur l'inhibition de l'activité de la lipase pancréatique qui prévient l'absorption des lipides intestinales (Birari *et Bhutani*, 2007); par l'augmentation de la lipolyse par induction de la β -oxydation ou la sécrétion de la noradrénaline dans les cellules adipeuses (Okuda *et al.*, 2001) .

L'inhibition de la digestion et l'absorption des graisses alimentaires ont été utilisées comme cibles dans le traitement de l'obésité. Les chercheurs et les professionnels de la santé soutiennent que l'inhibition de cette lipase pancréatique peut réduire la digestion des graisses, donc leur assimilation et leur absorption. Cela peut mimer un apport calorique réduit chez les patients obèses et aider à prévenir une prise de poids supplémentaire (Mukherjee, 2003 ; Najla Gooda Sahib *et al.*, 2012). La lipoprotéine lipase (LPL) est également une cible thérapeutique contre l'obésité vu qu'il existe une augmentation du niveau de la LPL chez les sujets obèses. L'inhibition de la LPL devrait réduire l'assimilation des AGL et aider à contrôler l'obésité. Les inhibiteurs naturels de la lipase tels que les saponines, les polyphénols et les terpènes ont été décrits comme un potentiel inexploité dans la gestion de l'obésité et la découverte de nouveaux médicaments naturels. Certaines plantes peuvent agir sur ces enzymes clés du métabolisme des lipides, à titre d'exemple le fruit de *Morinda citrifolia* (Rubiaceae), *Momordica charantia* (Cucurbitaceae), *Centella asiatica* (Apiaceae) ainsi que *Camellia sinensis* (Theaceae) (Yuliana *et al.*, 2011 ; Najla Gooda Sahib *et al.*, 2012).

Introduction

Un autre point d'action des plantes à effet anti-obésité se résume sur la prévention de la différenciation adipocytaire par inhibition de l'adipogénèse et la formation des adipocytes. Récemment, a été montré l'effet de l'épigallocatechine gallate, catéchine du thé vert pour inhiber la prolifération et la différenciation des préadipocytes viscéraux humains primaires. L'étude a indiqué que la capacité de cette catéchine pour favoriser la perte de poids peut être due en partie à sa capacité à supprimer le nombre des adipocytes et également à supprimer l'absorption des triglycérides (Van Heerden *et Hoodia*, 2008 ; Najla Gooda Sahib *et al.*, 2012).

Un autre exemple est celui de l'huile de périlla (*Perilla frutescens* Lamiaceae), qui est très riche en acides gras polyinsaturés n-3. Il a été prouvé qu'elle prévenait la croissance excessive du tissu adipeux viscéral chez le rat, par une baisse de la régulation de la différenciation adipocytaire et aussi l'augmentation de la prévention de l'expression des lipoprotéines. Il a été suggéré donc que la consommation de cette huile, riche en acide α -linoléique, est bonne pour l'homme pour empêcher le développement du tissu adipeux viscéral chez les patients obèses (Okuno *et al.*, 1997).

En cette effet, l'utilisation des huiles végétales en tant qu'ingrédients par les industries agroalimentaires et pharmaceutiques ne doivent pas être occultées. Par leur teneur en différents AG, de vitamines (liposolubles) et de composés mineurs (polyphénols, caroténoïdes, etc), les huiles végétales représentent un intérêt nutritionnel et pharmaceutique très important.

Vu que l'alimentation actuelle présente un déséquilibre des apports lipidiques par un excès d'AGS, une insuffisance en AGPI n-3 et une valeur excessive du rapport AGPI n6/AGPI n3. Le consommateur détient, par l'utilisation d'huiles végétales et leur choix judicieux, un moyen simple d'agir positivement sur cet équilibre lipidique.

Les huiles végétales se distinguent en effet des matières grasses d'origine animale par leur faible teneur en AGS. Mais du fait de leur(s) acide(s) gras majoritaire(s) et de leur propre rapport n-6/n-3, elles n'ont pas toutes la même capacité à rééquilibrer nos apports lipidiques. En pratique, il convient d'éviter l'usage exclusif d'une seule famille d'huiles, en particulier les huiles linoléiques très consommées

Introduction

(tournesol, maïs) qui ont pour effet d'augmenter le rapport n-6/n-3. Il est plus favorable de leur associer quotidiennement des huiles α -linoléniques (colza, noix par exemple) et oléiques (olive). L'association d'une huile oléique (olive, colza, noisette, etc.) avec une huile α -linoléniq ue (colza ou noix) permet de renforcer les AGMI, d'augmenter les apports en n-3 et d'améliorer le rapport n-6/n-3 (Cahuzac-Picaud, 2010 ; Lecerf, 2011). Il est donc recommandé de varier les huiles végétales consommées parmi lesquelles l'huile de nigelle ou cumin noir (*Nigella sativa* L.), est d'un intérêt particulier puisqu'elle semble être une « plante miracle ».

Nigella sativa Linn., de la famille des Renonculacées (*Ranunculaceae*) est utilisée depuis des millénaires à des fins culinaires et médicinales dans le monde entier. Elle est native du Sud de l'Europe, Nord Afrique et le Sud de l'Asie, et elle est cultivée dans plusieurs pays dans le monde comme en Syrie, en Arabie Saoudite, en Iran, au Pakistan et en Inde (Ghedira *et* Le Jeune, 2010).

Chez les musulmans, elle est considérée comme l'une des meilleures formes de remède médicinal en raison d'être mentionné dans l'un des hadiths prophétiques que « la graine noire est le remède pour toutes les maladies sauf la mort ». Elle est également recommandée pour une utilisation sur une base régulière dans la médecine prophétique.

C'est un remède naturel pour de nombreuses pathologies. *N. sativa* a été considérablement étudiée pour ses activités biologiques et son potentiel thérapeutique, et a montré qu'elle possède un large spectre d'activités à savoir; l'activité diurétique, antihypertensive, antidiabétique, anticancer et immunomodulateur, antimicrobien, anthelminthiques, analgésique et anti-inflammatoire, spasmolytique, bronchodilatateur, gastroprotecteur, hépatoprotecteur et antioxydant. Ces actions ont été évaluées dans plusieurs études cliniques et animales en plus d'une série de recherches pharmacologiques au cours des dernières années (Mansour *et al.*, 2002; Kökdil *et al.*, 2005; Bhupendra *et al.*, 2008; Salih *et al.*, 2009; Gargari *et al.*, 2009 ; Ghedira *et* Le Jeune, 2010). Ses graines ont été utilisées depuis des siècles pour le traitement des bronchites, de l'asthme, de l'inflammation, de la toux, de l'eczéma et les états

Introduction

grippaux. Elles sont aussi utilisées comme tonique pour le foie, digestif, anti diarrhéique, stimulant de l'appétit et aussi augmente la quantité du lait chez les femmes allaitantes pour contrer les infections parasitaires et stimule et soutien le système immunitaire (Aftab *et al.*, 2013).

Selon la littérature, les graines de *N. sativa* peuvent contenir jusqu'à 38 % d'huile végétale fixe et de 0,4 à 2,5 % d'huile essentielle, 16 à 21 % de protéines totales, dont le taux en acides aminés essentiels est de 36,19 %. Les graines contiennent également des glucides et surtout des sucres réducteurs (34 %), des fibres alimentaires jusqu'à 6,5 % (Al-Jassir, 1992 ; Abdel-aal *et* Attia, 1993), des composés phénoliques et des flavonoïdes (l'acide gallique, l'acide *parahydroxybenzoïque*, l'acide chlorogénique, l'acide vanillique, l'acide hydroxycinnamique, l'épicatéchine, la catéchine, la quercétine, l'apigénine, l'amentoflavone et la flavone) (Morfort *et al.*, 1997), des alcaloïdes (la nigellicine et la nigellidine, ayant un noyau indazol et la nigellimine, une isoquinone) (Atta *et al.*, 1992), des saponines, des tanins et des résines. La composition en sels minéraux révèle la présence de potassium, de calcium, de phosphore, de magnésium, de sodium, de fer, de manganèse, de zinc et de cuivre (Ali *et* Blunden, 2003 ; Sultan *et al.*, 2009). La présence de sélénium a été également déterminée (Al-Saleh *et al.*, 2006).

Il a été considéré que la plupart des activités pharmacologiques attribuées à *N. sativa* provenaient de son huile essentielle. C'est pourquoi dès 1960 des études ont été entreprises sur les constituants de cette huile volatile (Mahfouz *et* El-Dakhkhny, 1960). C'est entre 1960 et 1963 que Mahfouz *et* El-Dakhkhny ont isolé le composé le plus abondant dans l'huile volatile de la nigelle, la thymoquinone (TQ) (2-isopropyl-5-méthyl-benzo1, 4-quinone) et son polymère, la nigellone en utilisant la chromatographie sur couche mince sur gel de silice. Burits *et* Bucar (2000), ont identifié par CG-SM (Chromatographie en phase gazeuse couplée à Spectroscopie de Mas) 32 constituants dont la majorité sont des monoterpènes.

L'huile végétale fixe de la nigelle représente 37,9 à 39,2 % du poids de la graine. Elle est constituée principalement de lipides neutres (97,2 %), de lipides

Introduction

polaires (3 %) et de phospholipides jusqu'à 1,05 % (Ramadan *et* Mörsel, 2002). L'analyse par HPLC (Chromatographie à haute performance) a permis d'identifier principalement sept constituants de phospholipides dont 46 % de phosphatidyl choline, 25 % de phosphatidyl éthanolamine et 9,56 % de phosphatidyl inositol (Ramadan *et* Mörsel, 2002). Une étude complémentaire sur les glycolipides de *N. sativa* a permis de séparer et d'identifier six composés dont le plus abondant est le digalactosyl diacyl glycérol qui représente 55,6 % des glycolipides totaux (Ramadan *et* Mörsel, 2003).

L'analyse phytochimique de deux variétés de graines de *N. sativa* provenant l'une d'Iran et l'autre de Tunisie a révélé la présence d'acides gras insaturés dont le principal est l'acide linoléique (1,96 %) suivi par l'acide oléique (1,03 %), et d'acides gras saturés dont le majoritaire est l'acide palmitique (0,18 %). La présence d'autres AG d'une variété d'Arabie Saoudite révèle la présence des l'acides myristique (0,08 %), myristoleique (0,03 %), palmitoléique (0,01 %), stéarique (0,11 %), margarique, eicosenoïque, l'acide lignocérique (0,012 %) et aussi les acides arachidonique (0,4 %) et gamma-linolénique (jusqu'à 1 %) (Al-Jassir, 1992 ; Nickavar *et al.*, 2003 ; Cheikh-Rouhou *et al.*, 2007). Une autre étude a confirmé aussi la présence particulière d'un AGPI non conventionnel qu'est l'acide eicosadiénoïque C20:2 (Ali *et* Blunden, 2003).

Ultérieurement, Cheikh-Rouhou *et al.*, (2008) ont mis en évidence la richesse de l'huile de nigelle en phytostérols (17,41 à 42,66 % de matière insaponifiable). Ainsi, la composition en vitamines a été déterminée et révèle la présence des vitamines A, B1, B2, B6, PP et de l'acide folique. Les teneurs en α - et β -tocophérols sont relativement élevées: de 5,65 à 11,39 mg/kg et de 2,26 à 6,95 mg/kg respectivement (Nergiz *et* Otles, 2003 ; Ghedira *et* Le Jeune, 2010).

Outre sa diversité en composés lipidiques et notamment en acides gras, il a été mis en évidence que l'huile fixe de *N. sativa* contenait aussi la thymoquinone (TQ) (Ali *et* Blunden, 2003). Elle renferme également de la dithymoquinone, de la thymohydroquinone et du thymol (Aftab *et al.*, 2013). Récemment, beaucoup d'attention a été accordée à cette quinone pharmacologiquement active. Il a été démontré que dans l'huile végétale, la TQ et son polymère possédaient plusieurs

Introduction

propriétés y compris des actions analgésiques, anti-inflammatoires et immunomodulatoires, anti-allergique, anti-histaminique, antioxydante, anticancéreuse, hépatoprotectrice, gastroprotectrice, néphroprotectrice, neuroprotectrice, anti-diabétique et hypoglycémiant, hypolipidimiant et anti-microbienne (Abdel-Fattah *et al.*, 2000 ; Parvardeh *et Fatehi*, 2003, Darakhshan *et al.*, 2015).

Hassan et El-Dakhakhny (1992) et Worthen *et al.*, (1998) ont observé que l'huile de nigelle riche en TQ possède un effet protecteur contre la carcinogenèse induite par des produits chimiques et retarde le processus carcinogénique. En plus, El-Dakhakhny *et al.*, (2002) ont démontré l'effet de la TQ et de son polymère la nigellone sur l'inhibition de la production des leukotriènes (médiateurs inflammatoires) par la 5-lipoxygénase par les leucocytes polynucléaires *in vitro*. Les auteurs suggèrent que cet effet est dû probablement à l'action antioxydante de la TQ. Houghton *et al.*, (1995) ont trouvé aussi que la TQ a un effet d'inhibition de la production d'eicosanoïdes et de la peroxydation lipidique membranaire. Un autre élément d'appuis est l'inhibition de la production du TNF- α , cytokine pro-inflammatoire, dans une péritonite septique chez les modèles murins (El-Dakhakhny *et al.*, 2000).

Chakravarty (1993) rapporte que la nigellone et à des concentrations relativement faibles est très active vis-à-vis de l'inhibition de la libération de l'histamine des cellules péritoniales chez les rats par différents secrétogogues. Il suggère que le mécanisme d'action est dû à la diminution du taux de calcium intracellulaire par l'inhibition de la protéine kinase C. Il a ajouté qu'il y avait aussi une indication pour une légère inhibition du métabolisme énergétique oxydatif.

En plus, d'autres travaux ont montré que l'huile fixe de nigelle a un pouvoir protecteur contre l'hépatotoxicité induite soit par des produits chimiques ou des maladies chroniques (Ilhan *et al.*, 2005). Le traitement par la TQ a présenté un effet protecteur contre l'hépatotoxicité et la nécrose hépatique induite par la cyperméthrine chez les souris comme le prouve la diminution de l'activité des transaminases sériques. En plus, la TQ induit la prolifération cellulaire qui entraîne une régénération renforcée après des lésions tissulaires. L'administration de la TQ pendant 8 semaines

Introduction

(3jours/semaine) atténue l'élévation des transaminases et de la phosphatase alcaline hépatique et par conséquent provoque une récupération progressive indiquant une stabilisation de la membrane plasmique ainsi que la réparation des tissus hépatiques (Jaswal *et al.*, 2013).

Beaucoup d'études toxicologiques ont été menées sur les graines de *N. sativa*. La toxicité aiguë de l'huile fixe de *N. sativa* a été évaluée chez la souris. Les valeurs de DL50, obtenues après administration de doses uniques par voies orale et intrapéritonéale (IP) sont de 28,8 mL/kg (26,2–31,6) de poids corporel *per os*, et de 2,06 mL/kg de poids corporel (1,86– 2,26) par voie IP. Par contre, il a été prouvé qu'aucun effet toxique n'a été noté quand cette huile fixe a été donnée à des souris par voie gastrique dans une autre étude de toxicité aiguë (Ghedira *et Le Jeune*, 2010).

La faible toxicité de l'huile de *N. sativa*, mise en évidence par de fortes valeurs de DL50, suggère une importante marge thérapeutique pour les doses d'huile fixe de *N. sativa* (Ghedira *et Le Jeune*, 2010).

En résumé, vu le nombre important de bienfaits de cette graine sur la santé en plus de sa faible toxicité et que peu d'études ont été menés sur l'effet protecteur de l'huile des graines *N. sativa* sur le métabolisme des lipides et leur effet correctif sur les modifications qui surviennent lors de l'obésité dans des modèles animaux (Tousson *et al.*, 2011).

C'est dans cette optique que la présente étude a été réalisée, pour examiner l'effet de cette huile fixe sur la prévention et éventuellement, le traitement de l'obésité en tenant compte de son effet régulateur ou correcteur sur la prise alimentaire, la prise du poids corporel, l'index métabolique, le maintien fonctionnel du pancréas endocrine, de l'activité hépatique et en dernier lieu son effet sur la balance oxydante/antioxydante.

Dans cette intention, la thématique de notre travail consiste à étudier l'effet d'une supplémentation en l'huile de nigelle en comparaison ou en association à l'huile d'olive sur la prévention et l'installation de l'obésité et ces complications ; et l'impact de ses acides gras et ses constituants mineurs (vitamines liposolubles, polyphénols, quinones) sur différentes fonctions cellulaires et paramètres physiologiques.

Chapitre I:

Etude phytochimique

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

Le travail qui fait l'objet de cette thèse de doctorat a été réalisé au laboratoire des produits naturels (LAPRONA) du département de biologie de l'Université de Tlemcen. Les analyses chromatographiques ont été faites au sein du laboratoire LCMT- ENSICAen- France et le laboratoire IRCOF-Sciences et Méthodes Séparatives de l'Université de Rouen.

1. Description du matériel végétale

Cette étude a été réalisée sur *Nigella sativa* L. Les graines ont été achetées en épicerie. Après rinçage, séchage à l'obscurité, les graines ont été réduites en poudre à l'aide d'un mortier électrique et conservées à l'abri de la lumière pour les tests phytochimiques et l'extraction de son huile fixe pour les analyses biologiques.

a. Description botanique de l'espèce végétale

Nigella sativa L. est une plante herbacée, annuelle, à tige dressée, côtelée, anguleuse et rameuse, de 60 cm de hauteur, portant des feuilles très découpées et plumeuses. Les fleurs sont solitaires, auxiliaires et terminales, bisexuées, radiales, très riches en nectars. Le calice comporte 5 sépales pétaloïdes, de couleur blanchâtre à bleu pâle (Benyoussef E. *et al*, 2001).

Le fruit est sous forme de capsules globuleuses, récoltées avant maturité complète pour conserver les graines dedans. Ces derniers sont aromatiques, triangulaires, anguleuses, d'un noir intense, de 2 à 3 mm de long (**figure 01**) (Ghedira, K., 2006).



Figure 01 : Graines de *Nigella sativa* L. (Wichtl M. *et* Anton R, 2003)

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

b- Classification botanique selon Bentham et Hooker (Spichiger R.E. et al., 2002).

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Dialypétales

Ordre : Ranales

Famille : Renonculacées

Genre : *Nigella*

Espèce : *Nigella sativa* L.



Figure 02 : *Nigella Sativa* L. (fleur)

2. Screening phytochimique sur la graine de Nigelle

Les tests phytochimiques (Screening) sont des tests qualitatifs qui permettent de caractériser les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques pouvant servir non seulement au développement de la phytothérapie mais aussi à la découverte de nouvelles ressources naturels de produits cosmétiques et nutritionnels tels que les tannins, les huiles, les gommes, etc.

2.1. Préparation des extraits :

- *Macération en milieu aqueux :*

- Macération sous agitation, à température ambiante, pendant 48 heures, de 10 g du matériel végétal dans 100 mL d'eau distillée;

- Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

- *Extraction avec solvant à chaud:*

Des extractions en milieu hydroalcoolique (méthanol-eau 70/30, éthanol 80/20), sont préparées comme suit :

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

- 10g de matériel végétal est épuisé avec 60 mL d'éthanol ou du méthanol aqueux dans un ballon surmonté d'un réfrigérant. L'ensemble est porté à reflux, sous agitation, pendant une heure.

- Les mélanges sont ensuite filtrés et l'extrait éthanolique est soumis aux tests, alors que l'extrait méthanolique est évaporé à sec à l'aide d'un rotavapeur (Laborato 4000, Heichlph) et le résidu est repris avec quelques millilitres de méthanol pour le dosage des polyphénols et la détermination de l'activité antioxydante.

- ***Extraction de l'huile fixe :***

Comme déjà cité auparavant, les graines de Nigelles utilisées pour notre étude proviennent du commerce; elles sont lavées, séchées puis broyées en fine poudre. L'extraction de l'huile se fait à chaud (40-60°C) par de l'hexane à l'aide d'un appareil de Soxhlet pendant 4 heures. Après évaporation de la solution obtenue (solvant + matière grasse) grâce à un rotavapeur (Laborato 4000, Heichlph), l'huile ainsi obtenue est pesée et conservée à l'abri de la lumière afin d'éviter toute oxydation. Le rendement obtenu est d'environ $24 \pm 0,4$ %.

L'huile ainsi obtenue a été utilisée pour la détermination des analyses phytochimiques, des indices physico-chimiques et des tests biologiques sur des rats Wistar normaux et obèses.

2.2. Les tests phytochimiques :

Les recherches ont porté sur la recherche des principaux groupes chimiques (alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponines, coumarines, stérols et triterpènes, composés réducteurs,...) par des réactions qualitatives en tubes. En utilisant les procédures standards telles que décrites par Trease *et* Evans (1989) et Harborne (1998).

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

Les résultats ont été évalués comme suit : +++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif ; ND : non déterminé.

2.2.1. Les alcaloïdes

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer et de Wagner. Pour 1mL de chaque extrait on ajoute 5mL d' HCl à 1%, l'ensemble est chauffé au bain marie, puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux ; un volume est traité par 5 gouttes du réactif de Mayer, l'autre aussi par 5 gouttes du réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (Majob *et al.*, 2003).

2.2.2. Les substances polyphénoliques

- Tannins:

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1mL de l'extrait aqueux, 1mL d'eau et 1 à 2 gouttes de FeCl₃ diluée (1%). Après un temps d'incubation, l'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-vert indique la présence des tannins catéchiques ou galliques, respectivement (Trease *et Evans*, 1989).

- Flavonoïdes:

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 2,5 mL de l'extrait alcoolique avec 0,5 mL d'HCl et 0,25g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose-orangé (flavones), rose-violacée (flavonones) ou rouge (flavonols) se développe après 3 min (Earnsworth, 1974).

2.2.3. Stérols et triterpènes: La réaction de Liebermann-Buchard.

On évapore à sec 10 mL de l'extrait alcoolique à analyser, le résidu est dissout dans 5mL d'anhydride acétique puis 5 mL de chloroforme. A l'aide d'une pipette on ajoute 1 mL de H₂SO₄ concentré au fond du tube sans agiter. On laisse reposer 30 minutes. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageante révèlent la présence de stérols et triterpènes (Trease *et Evans*, 1987).

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

2.2.4. Les saponines- indice de mousse :

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, on introduit respectivement 1 à 10mL de la solution à analyser. On ajuste le volume de chaque tube à 10 mL avec l'eau distillée. On agite ensuite chaque tube dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes à raison de deux agitations par seconde. On laisse reposer durant 15 minutes et on mesure la hauteur de la mousse produite dans chaque tube.

L'indice de mousse (I) est calculé par la formule suivante: $I = 1000 / N$

N est le numéro du tube où la hauteur de mousse est égale à 1 cm.

2.2.5. Les quinones libres : Réaction de Bornträger

Sur un volume de chacun de nos extraits, quelques gouttes de NaOH à 1% sont ajoutées. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyede, 2005).

2.2.6. Les coumarines : Fluorescence UV

Quelques milligrammes de chaque extrait sont solubilisés dans 2mL d'eau chaude, la solution obtenue est divisée en deux parties égales:

- La première représente le témoin.
- La deuxième est traitée avec 0,5 mL de NH₄OH à 10%.

L'examen réalisé sous la lumière UV à 366 nm et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence des coumarines (Benmahdi, 2000).

2.2.7. Les composés réducteurs :

Leur détection consiste à traiter 1 mL des extraits alcooliques et aqueux avec 2 mL d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis on chauffe dans un bain marie bouillant. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (Trease et Evans, 1987).

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

2.2.8. Les protéines :

2 mL de chaque extrait est solubilisé dans 2 mL de NaOH aqueux à 20% dans un tube à essai et sont ajoutées 3 gouttes d'une solution aqueuse de CuSO_4 à 2%. L'apparition d'une coloration violette, quelquefois avec une teinte rougeâtre, indique une réaction positive.

2.3. Détermination des indices physicochimiques de l'huile:

2.3.1. Indice de densité d_{20} (NF ISO 6883)

Elle consiste à déterminer le rapport de la masse d'un volume donné d'huile à 20°C et la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température, en utilisant un pycnomètre muni d'un thermomètre gradué et étalonner à 20°C (Lion, 1955).

La densité relative d_{20} est donnée par la formule suivante:

$$d_{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0).$$

2.3.2. Indice de réfraction N_d^t (ISO 6320)

Il consiste à déterminer le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile à la température constante (20°C), en utilisant le réfractomètre (Lion, 1955).

L'indice de réfraction est donné par la formule suivante : (Wolff, 1968)

$$N_d^{20} = n_d^t + 0,00035 (t-20)$$

N_d^t : valeur de lecture à température à laquelle a été effectuée la détermination.

N_d^{20} : indice de réfraction à la température 20°C.

t : la température à laquelle a été effectuée la détermination.

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

2.3.3. *Indice de saponification* I_S (NF ISO 3657)

Il consiste à déterminer le nombre de milligrammes de potasse pour former un gramme d'ester (Lion, 1955).

-Prendre 2 ballons à fond plat de 250mL.

-Dans l'un peser 0,5 à 1g d'huile. Ajouter 10mL de potasse alcoolique à 0,5 N.

-Dans l'autre, qui servira de témoin, placer seulement 10mL de la même solution de potasse mesurée exactement (à la pipette).

-Fermer chaque récipient avec un bouchon muni d'un long tube de verre et chauffer sur le même bain marie pendant 30 minutes.

-Laisser refroidir et ajouter dans chaque récipient 2mL d'eau. Si la solution qui contient l'ester se trouble, c'est qu'il reste de l'ester non saponifié (l'ester est en effet soluble dans l'eau).

-Ajouter exactement (avec la pipette) 10mL de potasse alcoolique à 0,5N dans chaque récipient et remettre une demi-heure à reflux.

-Laisser refroidir et ajouter à titre de sécurité 2mL d'eau distillée dans chaque récipient.

-Si le contenu du récipient ne se trouble plus par addition d'eau, ajouter 03 gouttes de phénolphthaléine.

-Titrer par HCl à 0,5N.

L'indice de saponification est donné par la formule suivante:

$$I_S = (V_0 - V_1) \cdot M \cdot N / m$$

V_0 : volume en mL de la solution d'acide chlorhydrique à 0,5N utilisée pour le témoin.

V_1 : volume en mL de la solution d'acide chlorhydrique à 0,5N utilisée pour la prise d'essai.

M : masse molaire de KOH 56,11g /mole.

N : normalité de la prise d'essai.

m : masse de la prise d'essai.

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

2.3.4. Indice d'acide (I_A) (NF EN ISO 660)

L'hydrolyse des corps gras, qu'elle soit d'origine chimique ou enzymatique (enzymes lipolytiques; de palme, de karité ou d'olive) entraîne la formation d'acides gras libres.

L'acidité d'une huile représente le pourcentage des acides gras libres (AGL) exprimée conventionnellement en acide oléique pour les huiles végétales (Ollé, 2002). Il est exprimé par le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser l'acidité présente dans 1 gramme de lipide (Adrian *et al.*, 1998).

Cet indice indique le degré d'altération des esters (essentiellement des triglycérides) présents dans le corps gras.

Après avoir pesé 0,5 g d'huile dans un erlenmeyer de 250 mL, on la dissout avec 100mL d'un mélange d'éthanol à 95% et d'éther diéthylique (50/50, v/v). On dose avec une solution de KOH éthanolique 0,5 N après avoir ajouté 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante.

L'indice d'acide (I_A) est calculé comme suit:

$$\text{Acidité (\%)} = V \times C \times M/10 \times M$$

$$I_A (\%) = 56,1 \times V \times C/m$$

56,1 : est la masse molaire du KOH ;

V : est le volume, en mL, de KOH utilisé ;

C : est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée de KOH utilisée ;

m : la masse en gramme, de la prise d'essai ;

M : la masse molaire de l'acide oléique (282,4 g/mole).

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

2.3.5. Indice de peroxyde (NF T 60-220 et ISO 3960)

L'indice de peroxyde encore appelé indice de *Léa* est recherché pour évaluer l'état de conservation d'une matière grasse au cours du stockage. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène ou d'autres facteurs favorisant (UV, eau, enzyme, trace de métaux...) (Cheftel *et al.*, 1984).

Les premiers composés formés au cours de l'oxydation sont les peroxydes ou les hydroperoxydes. Ceux-ci vont ensuite évoluer vers des composés plus stables : aldéhydes, cétones, acides. Cet indice permet d'apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative d'une huile (Ollé, 2002).

L'indice de peroxyde est le nombre de microgrammes d'oxygène actif contenus dans un gramme de corps gras et susceptibles d'oxyder l'iodure de potassium. Il est exprimé en microgramme par gramme ou plus souvent en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme.

Environ 5g de matière grasse sont dissoutes dans 10 mL de chloroforme, 15 mL d'acide acétique et 1 mL d'iodure de potassium saturé. L'Erlen contenant ce mélange est fermé avec un bouchon et laissé pendant exactement 5 minutes à l'abri de la lumière.

L'iode libéré est titré avec une solution de thiosulfate de sodium (0,02N) après avoir ajouté 75 mL d'eau distillée, en utilisant l'empois d'amidon comme indicateur coloré.

Un essai à blanc est préparé en suivant le même mode opératoire.

L'indice de peroxyde (IP) est donné par la formule suivante :

$$IP = ((V_I - V_0) \times C/m)$$

V_0 : volume de thiosulfate de sodium (mL) nécessaire pour l'essai à blanc ;

V_I : Volume de thiosulfate de sodium (mL) nécessaire pour la prise d'essai ;

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

C : Concentration, en moles par litre, de la solution titrée de thiosulfate de sodium utilisée ;

m : masse (g) de la prise d'essai.

3. Dosage des polyphénols, des flavonoïdes

3.1. Dosage des polyphénols totaux:

La méthode la plus utilisée pour l'évaluation quantitative des composés phénoliques dans les extraits végétaux est basée sur leurs capacités de réduire le mélange d'acides phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) et phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) du réactif de Folin-Ciocalteu, avec la formation d'un complexe bleu (Peri *et* Pompei, 1971), qui peut être déterminé par colorimétrie à 750 nm.

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode décrite par Herchi *et al.*, (2011) avec quelques modifications. Pour la préparation de l'extrait méthanoïque de l'huile, 1 g d'échantillon d'huile a été pesé, dissout dans 10mL d'hexane et transféré dans une ampoule à décanter. Ensuite, 20 mL d'un mélange méthanol-eau (80:10 v / v) a été ajouté. Après 3 min d'agitation, la phase méthanol-eau a été séparée. Le procédé d'extraction a été répété trois fois. L'extrait de méthanol-eau a été évaporé à vide à 40 ° C. Le résidu sec est ensuite dissout dans 1 mL de méthanol.

Brièvement, pour le dosage des polyphénols, 2 mL d'une solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparée est ajoutée à 0,1mL de l'extrait méthanoïque de l'huile (dilué si nécessaire), le mélange est agité par un vortex. Après 5 minutes, 100 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu à 1N sont ajoutés au mélange, le tout est laissé pendant 30 minutes à la température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture est effectuée contre un blanc au spectrophotomètre (Perkin Elmer, Lambda 800) à 750 nm.

L'absorbance maximale lue à 750 nm est proportionnelle à la quantité de composé phénolique présent dans nos huiles. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle

positif. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'huile.

3.2. Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes est réalisé en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

La quantification des flavonoïdes de nos extraits est réalisée par la méthode colorimétrique décrite par Zhishen *et al.*, (1999) et Ardestani *et Yazdanparast*, (2007). En bref, 500µL de l'extrait méthanoïque de nos huiles (voir procédure plus haut) sont mélangés avec 2 mL d'eau distillée suivi de 150 µL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 15%. Après 6 minutes, 150 µL de chlorure d'aluminium (AlCl₃, 6H₂O) à 10% sont ajoutés au mélange, le tout est laissé pendant 6 minutes, ensuite 2 mL d'hydroxyde de sodium à 4% sont ajoutés au tube et le volume final est complété immédiatement à 5 mL par de l'eau distillée. Après 15 minutes, la lecture est faite à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par gramme d'huile.

4. Mesure de la teneur en Thymoquinone au niveau de l'huile fixe de NS

La quantification de la TQ a été réalisée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) comme décrite par Al-Saleh *et al*, 2006, avec quelques modifications. A cet effet, l'échantillon d'huile a été dissout dans du méthanol (Sigma-Aldrich pour analyse HPLC) au vortex pendant 1 min et centrifugé durant 10 min à 3000 rpm. 20 µL de surnageant ont été injectés dans une colonne Waters à phase inverse (4,6 mm × 150mm × 3,5µm de taille des particules), en utilisant une phase

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

mobile isocratique d'eau: méthanol: 2-propanol (50/45/5 % v / v) à un débit de 1 mL / min. Les analyses ont été effectuées à température ambiante. La détection UV a été effectuée à 275 nm. La courbe d'étalonnage a été construite par un standard de TQ dans les mêmes conditions.

5. Détermination des acides gras au niveau des huiles

Le profil d'acides gras de nos huiles a été déterminé par chromatographie en phase gazeuse (CG). Les acides gras sont trans-estérifiés en esters méthyliques (FAME : Fatty acids methyl esters) suivant le mode opératoire de Bligh et Dyer en utilisant du trifluorure de bore à 14% dans du méthanol, avec quelques modifications (Liu *et al.*, 2004). Les FAMES ont été identifiés par une CG Varian CP-3380 en utilisant une colonne capillaire (EC-Wax Alltech) de 30 m x 0,53 mm x 1,2 µm d'épaisseur de film, et équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). L'hélium a été utilisé comme phase mobile. La température du four a été maintenue constante à 250 °C et le volume injecté était de 1 µL. La température a été maintenue à 180 °C pendant deux minutes et ensuite augmentée jusqu'à 220 °C avec un débit de 6°C /min. Après cette période, la température a été maintenue à 220 °C pendant 10 min. Les FAMES ont été identifiés à l'aide d'un standard authentique de FAMES (Grace AOCS Mix 3A) injecté dans les mêmes conditions que nos échantillons d'huile.

6. Mesure de la teneur en α -tocophérol dans les huiles

La quantification de la teneur en tocophérols a été réalisée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) comme décrit par Zaman *et al.* (1993). En bref, l'échantillon d'huile a été dissout dans du méthanol (Sigma-Aldrich pour analyse HPLC) à l'aide d'un vortex pendant 1 min et centrifugé durant 10 min à 3000 rpm. 20 µL de surnageant a été injecté sur les eaux de colonne en phase inverse (4,6 mm × 150 × 3,5µm de taille des particules), en utilisant une phase mobile isocratique d'eau/méthanol/2-propanol (50/45/5 % v / v) à un débit de 1 mL / min. Les analyses ont été effectuées à température ambiante. La détection UV a été effectuée à 292 nm.

7. Etude de l'activité antioxydante *in vitro*

7.1. Evaluation de l'activité antioxydante par le piégeage du radical libre DPPH :

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) qui est un radical libre stable, en acceptant un électron ou un radical hydrogène, devient une molécule stable. L'effet des antioxydants sur ce radical se traduit par leurs capacités à lui donner un radical hydrogène.

Cette capacité de réduction (sur le radical DPPH) est déterminée par la diminution de son absorbance à son absorption maximale à 515 nm, qui est induite par l'antioxydant. Ceci est visualisé par le changement de couleur du violet au jaune (Majhenić *et al.*, 2007).

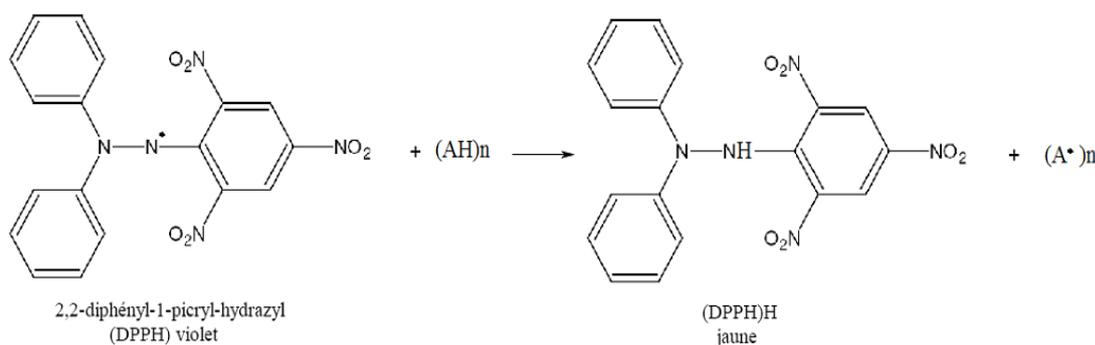


Figure 03: Réaction de réduction du radical DPPH par un antioxydant (AH) (Kouamé *et al.*, 2009).

Mode opératoire :

200 μ L d'huile toluénique (100 mg d'huile + 100 μ L de toluène) sont ajoutés à 390 μ L d'une solution toluénique de DPPH à 10^{-4} M. Un blanc est préparé (100 μ L d'huile à tester + 390 μ L de toluène) pour chaque test effectué. Le contrôle est préparé en parallèle, en mélangeant 100 μ L du toluène avec 390 μ L de DPPH toluénique.

La lecture des absorbances est effectuée à 515 nm au spectrophotomètre après 1, 30 et 60 minutes dans l'obscurité et à température ambiante (Ramadan *et al.*, 2003).

Expression des résultats

► Pourcentages d'inhibition :

Nous déterminons ainsi les pourcentages d'inhibition grâce à la formule suivante:

$$I\% = [(AC - AT) / AC] \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle,

AT : Absorbance du test effectué.

Les résultats peuvent aussi être exprimés par le calcul de l'IC50 ou concentration inhibitrice 50 (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50). Elle permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Ces dernières sont calculées graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations (Scherer *et* Godoy, 2009; Fabri *et al.*, 2009).

Ainsi, nous pouvons déduire l'activité anti-radicalaire (les pourcentages de piégeage « *Scavenging activity* ») de nos extraits en calculant l'inverse des valeurs des IC50 trouvées.

$$A_{AR} = 1/IC50 \text{ (Maisuthisakul } et al., 2007).$$

L'activité anti-radicalaire est comparée à celle de l'acide ascorbique.

7.2. Détermination de l'activité antioxydante par la méthode de décoloration du béta-carotène (β -carotene bleaching method)

Cette technique de spectrophotométrie dans l'ultraviolet consiste à mesurer, à 470 nm, la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique.

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50°C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de la cinétique de décoloration du β -carotène. Cette méthode est sensible, rapide et simple s'agissant d'une mesure spectrophotométrique dans le visible. Elle présente également l'avantage de pouvoir être couplée à la chromatographie sur couche mince.

Cependant, l'oxydation induite par voie thermique est non contrôlée et donc non spécifique, ce qui conduit bien souvent à une variabilité des résultats (Laguerre *et al.*, 2007).

Mise en œuvre pratique :

Pour étudier l'activité antioxydante par la méthode de décoloration du β -carotène, nous avons choisi de travailler avec le protocole expérimental décrit par Sun *et Ho* (2005) in Ozsoy *et al.*, 2008, avec quelques modifications apportées à la méthode.

Pour préparer l'émulsion du β -carotène, 2 mg de ce dernier sont dissous dans 10 mL de chloroforme, puis un volume de 1 mL de cette solution est mélangé avec 20 mg d'acide linoléique purifié et 200 mg du Tween 40 (tous ces produits sont fournis par Fluka). Le chloroforme est évaporé par un Rotavapor (BUCHI Rotavapor R-200) et le résidu obtenu est repris par 50 mL de peroxyde d'hydrogène à 30 %.

5 mL de cette émulsion sont préparés, pour lesquelles 200 μ L d'huiles ou d'antioxydant de référence (BHA) à la concentration 2,5 mg/mL sont ajoutés. Le mélange est bien agité et la lecture de l'absorbance à 470 nm se fait immédiatement à t_0 contre un blanc qui contient l'émulsion sans la β -carotène.

Les tubes couverts sont placés dans un bain-marie réglé à 50°C et la lecture de l'absorbance est faite toute les 10 minutes durant 60 minutes.

Chapitre I : Etude Phytochimique

Matériels et Méthodes

Un contrôle négatif est réalisé en parallèle, comprenant 5 mL de l'émulsion du β -carotène et 200 μ L de méthanol.

Expression des résultats

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la décoloration du β -carotène en employant la formule suivante :

Pourcentage d'inhibition (%) = $[1 - (A_0 - A_t / A_{00} - A_{0t})] \times 100$ (Ozsoy *et al.*, 2008).

A_0 : Absorbance de l'échantillon à t_0 .

A_t : Absorbance de l'échantillon après incubation de 60 minutes.

A_{00} : Absorbance du contrôle négatif à t_0 .

A_{0t} : Absorbance du contrôle négatif après incubation de 60 minutes.

Résultats et Discussion

1. Screening phytochimique des extraits de Nigelle (*Nigella sativa*)

Pour avoir une idée sur l'activité de la plante, il faut déterminer et identifier ses composants chimiques, précisément ses métabolites secondaires. L'apparition d'une coloration, précipitation ou encore une floculation par l'intermédiaire de certains réactifs spécifiques présente une réaction positive et affirment la présence de certaines familles de composés chimiques.

Les résultats de l'analyse phytochimique de différentes préparations d'extraits de Nigelle par screening phytochimique sont indiqués dans le **tableau 01**.

Les résultats du screening phytochimique de la nigelle ont mis en évidence la présence accrue en *composés réducteurs* dans les deux modes de préparation aqueuse. De même, on a enregistré la présence des *flavonoïdes* dans les différentes préparations aqueuse, alcoolique et chloroformique, des *stérols* et des *triterpènes* dans les préparations alcooliques et chloroformique, des *saponines* dans les macérâts aqueux et hydroalcoolique, avec un indice de mousse égal à 125, des *alcaloïdes* surtout dans la préparation alcoolique ainsi que les *quinones libres* et aussi la présence des *protéines* dans les préparations aqueuses et alcooliques.

Par contre, on a noté une absence de tanins et de coumarines dans les différentes préparations.

Les tests phytochimiques effectués sur les différents extraits des graines de nigelle ont révélé la présence d'alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, stérols et triterpènes, quinones libres, de composés réducteurs et de protéines à différentes proportions selon le mode et le solvant d'extraction.

L'usage de solvants ou mélange de solvants de polarité différente semble influencer sur la quantité et la qualité du composé extrait. Ainsi, le méthanol, un solvant polaire, permet l'extraction de la plupart des métabolites secondaires présents dans les graines de nigelle à l'exception des tanins et des coumarines, dont ces derniers ont été extraits par le chloroforme, un solvant apolaire.

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

Tableau 01: Composition phytochimique des extraits de Nigelle (*N. sativa*) préparés dans différents solvants.

Composés chimiques	Réactifs	Extrait aqueux	Extrait MeOH/eau (70/30)(V/V)	Extrait éthanolique	Extrait chloroformique
Sucres réducteurs	Liqueur de Fehling	+++	+++	ND	ND
Flavonoïdes	Mg ²⁺	++	+++	+++	+
Stérols et triterpènes	Réaction Liebermann Buchard	-	+	++	+++
Saponines	Indice de Mousse	+	+	ND	ND
Alcaloïdes	Mayer	-	-	+++	+
	Wagner	-	-	++	+
	Dragendorff	-	-		+
Tannins	FeCl ₃	-	-	-	-
Les quinones libres	Réaction de Bornträger	ND	ND	+++	ND
Les coumarines	Fluorescence UV	-	-	-	+
Les protéines	CuSO ₄	++	+	+++	-

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif ; ND : non déterminé.

2. Indices physico-chimiques

Les résultats des indices physico-chimiques des trois huiles choisies dans notre étude sont représentés dans le **tableau 02**.

L'indice de densité est considéré comme un critère physique qui permet le contrôle de la pureté de l'huile extraite. Nous avons constaté que l'huile de *N. Sativa* se rapproche par sa densité à celle de l'huile d'olive, ce qui montre que l'huile de *N. Sativa* concorde avec ceux de la norme.

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

L'indice de réfraction est un critère important de la pureté de l'huile, est proportionnel au poids moléculaire des acides gras.

L'analyse de l'huile de nigelle a donné un indice de l'ordre de 1,684 pour *N. Sativa*, de 1,512 et de 1,711 pour l'huile d'olive et l'huile de tournesol, respectivement.

On remarque que nos résultats sont légèrement supérieurs à l'indice de réfraction de l'huile d'argan fixé par la norme marocaine NM.080.5.090, qui a un indice de 1,463-1,472. On peut ainsi déduire que nos huiles sont pures.

L'indice d'acide d'un corps gras est considéré comme un excellent moyen pour déterminer son degré d'altération. Il s'agit d'un critère chimique de fraîcheur et de pureté de l'huile. Les résultats donnés par nos huiles sont estimés à 2,11 pour HN, 3,3 pour HO et 3.2 pour HT. On remarque que l'acidité de nos échantillons est élevée par rapport à l'acidité de l'huile d'argan 1.468-1.472 (INCI, 2002), cela peut être due à la récolte tardive des graines de nigelle et le stockage pendant une longue durée, ceci provoque des échauffements des graines et déclenche le processus de fermentation en augmentant le taux de l'acidité.

L'indice de saponification renseigne sur la longueur de la chaîne carbonée des acides gras qui constituent les triglycérides (fraction majoritaire d'un corps gras).

La détermination de l'indice de saponification des huiles de Nigelle a donné des valeurs égales à 291,77 pour *N. Sativa* et 175,88 pour l'huile d'olive.

On remarque que la valeur de l'indice de saponification de *N. sativa* est deux fois plus grandes que HO, ce qui montre que *N. sativa* contient beaucoup plus d'acides gras à longues chaînes.

On peut déduire que l'huile de *N. sativa* est une huile pure riche en acides gras à longues chaînes et insaturés, ce qui va être confirmé plus tard par l'analyse chromatographique des acides gras constitutifs de cette huile.

La détermination de l'indice de peroxyde est la méthode la plus appropriée pour la mesure des composés peroxydés. L'analyse des résultats a donné des valeurs de l'ordre de 7 meq d'O₂/Kg pour *N Sativa*. On remarque que l'indice de peroxyde de

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

cette dernière est plus élevée que celui obtenu pour l'huile d'olive mais beaucoup plus bas que celui de HT, alors on peut dire que HO est moins peroxydé que HN.

Cette peroxydation peut commencer après que les graines soient mûres, et continue pendant leur stockage et la conservation de l'huile. On peut déduire que l'huile d'olive a un pouvoir antioxydant important que celui de *N Sativa*, qui est peut-être dû à une présence importante de polyphénols et de vitamines liposolubles.

Tableau 02 : Indices physico-chimique des huiles de nigelle (HN), d'olive (HO) et de tournesol (HT).

Indices physico-chimiques	HN	HO	HT
Indice de densité à 20°C (g/Kg)	0,913 ± 0,04	0,912 ± 0,06	0,920 ± 0,02
Indice de peroxyde (meq O ₂ /Kg)	7,00 ± 0,12	5,78 ± 0,19	11,86 ± 1,15
Indice de saponification	223,57 ± 17,8	175,88 ± 13,2	198,27 ± 15,0
Indice d'acide (%)	2,11 ± 0,3	3,30 ± 0,5	3,2 ± 0,2
Indice d'iode (g/100g)	119,63 ± 10,2	119,63 ± 10,2	119,63 ± 10,2
Indice de réfraction N _D ²⁰	1,684 ± 0,2	1,512 ± 0,07	1,711 ± 0,1

Les résultats sont exprimés en moyennes ± ES.

Meq O₂/Kg : milliéquivalent d'oxygène par Kg de matière grasse ; HN : huile de nigelle, HO : huile d'olive, HT : huile de tournesol.

3. Taux des polyphénols totaux et flavonoïdes

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu et chlorure d'aluminium, respectivement. Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 03** et déterminés à partir des courbes d'étalonnages linéaires de l'acide gallique pour les polyphénols et la catéchine pour les flavonoïdes (**figures 04 et 05**).

La teneur en polyphénols totaux a été exprimée en mg équivalent d'acide gallique (AcG) par gramme de matière sèche (mg EAcG/g) et celle des flavonoïdes en mg équivalent catéchine par g de matière sèche (mg ECat/g).

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

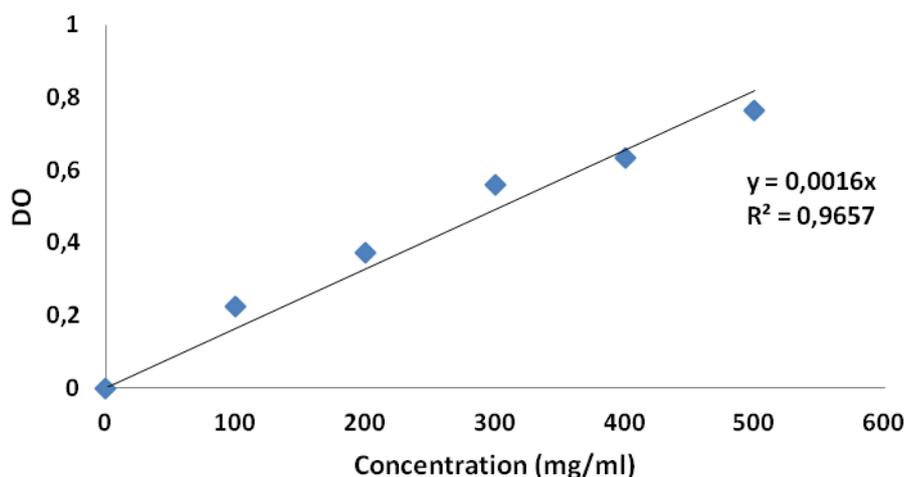


Figure 04 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

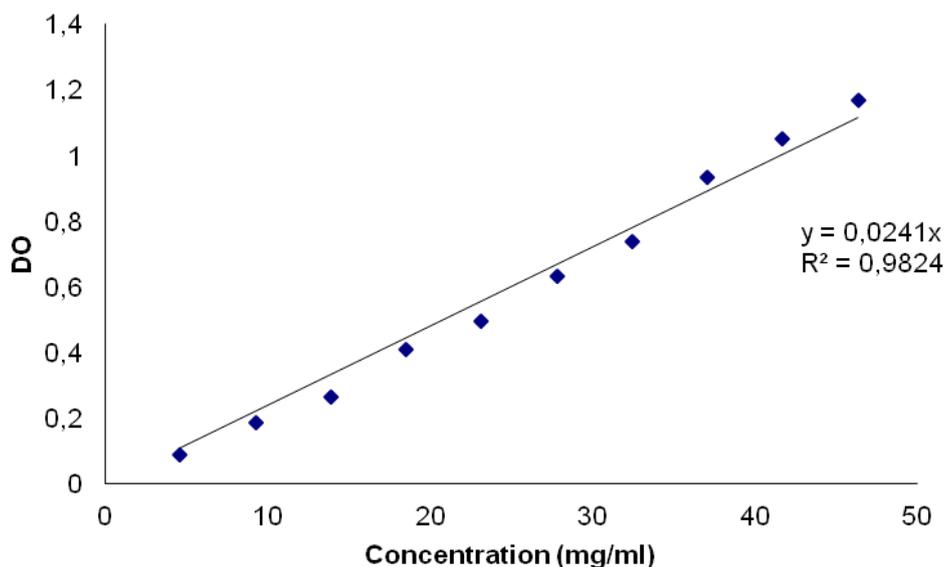


Figure 05 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Les taux relatifs des polyphénols totaux et flavonoïdes dans l'extrait hydroalcoolique de la nigelle ainsi que son huile fixe et celle de l'olive et tournesol ; sont représentés dans le **tableau 03**.

Les résultats montrent que les différents extraits renferment des concentrations variables de polyphénols et de flavonoïdes.

L'extrait hydroalcoolique des graines de nigelle montre un taux élevé en polyphénols et en flavonoïdes contrairement à l'huile fixe de celle-ci. Un taux

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

remarquable a été noté en polyphénols concernant l'huile d'olive et qui reste supérieur à celui de HN et HT.

Tableau 03 : Teneurs en polyphénols de l'extrait brute et huiles, flavonoïdes extrait brute TQ et α -tocophérol huiles.

Composés	<i>Nigella sativa</i> L.		HO	HT
	Extrait MeOH/eau	Huile fixe		
Polyphénols totaux (mg EAcG/g)	221,44 ± 12,36	74,38 ± 14,12	83,75 ± 15,20	65,58 ± 11,45
Flavonoïdes (mg ECat/g)	97,58 ± 11,32	ND	ND	ND
Thymoquinone (mg/g)	ND	6,01 ± 0,54	ND	ND
Tocophérols (Vit E) (μ g/mL)	ND	17,4 ± 2,45	25,99 ± 0,17	12,7 ± 0,15
Rétinol (Vit A) (μ g/mL)	ND	28,32 ± 0,50	24,35 ± 1,15	19,75 ± 1,89

Les résultats sont exprimés en moyennes \pm ES.

ND: non déterminé. EAcG : équivalent acide gallique ; ECat : équivalent catéchine. HN : huile de nigelle, HO : huile d'olive, HT : huile de tournesol.

4. Teneurs en thymoquinone dans l'huile de nigelle:

Dans le but de mesurer la quantité du composé le plus actif pharmacologiquement: la thymoquinone (TQ) dans l'huile des graines de nigelle (*N. sativa*), une HPLC a été mise en œuvre.

Le chromatogramme de la HPLC (voir annexe) a montré des pics de bonnes résolutions et sans interférences. Le temps d'exécution total exigé de l'analyse était inférieur à 15 minutes. Les autres composés mineurs détectés sont selon leur temps respectif de rétention : la thymohydroquinone (THQ) à 2,8 min, la dithymoquinone (DTQ) à 8,9 min et enfin le thymol à 10,5 min. La TQ a été détectée à 294 nm avec un temps de rétention de 6,8 min et à une longueur d'onde de 254 nm.

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

La teneur en TQ a été déterminée par HPLC d'après une courbe d'étalonnage d'une TQ standard du commerce. Après calcul, une concentration de $6,01 \pm 0,54$ mg/g d'huile a été notée (**Tableau 03**).

5. Teneurs en tocophérol et en rétinol dans les huiles:

D'après les chromatogrammes de la HPLC, et grâce à l'étalon interne, le tocol, nous avons pu déterminer les taux des vitamines liposolubles dans nos huiles.

Le calcul nous a permis d'avoir les résultats représentés dans le **tableau 03**. On note d'après le tableau une présence importante de tocophérols et de rétinol dans les huiles d'olive et de nigelle par rapport à l'huile de tournesol.

6. Teneurs en esters d'acides gras dans les différentes huiles:

La teneur en acides gras à été déterminée par chromatographie en phase gazeuse. On a pu déterminé les différents acides gras estérifiés et méthylés, d'après un standard du commerce et en comparant les temps de rétention dans les mêmes conditions opératoires.

D'après l'analyse des chromatogrammes et calculs des teneurs en pourcentage d'acide gras dans nos huiles, les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau 04**.

D'après le **tableau 04**, on remarque la présence de l'acide myristique C14:0, l'acide arachidique C20:0 et l'acide gondoïque C20:1 dans l'huile de nigelle alors qu'elles sont non détectables dans les autres huiles.

On remarque aussi que l'huile de tournesol contient la quantité la plus importante en AGS et l'huile d'olive contient la quantité la plus importante en AGMI en comparant les trois huiles.

On note aussi la richesse de l'huile de nigelle en comparaison avec les deux autres huiles en acides gras polyinsaturés avec un rapport AGPI/AGS égal à 2,92. Ce résultat confirme l'analyse de notre huile par les indices physicochimiques.

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

Tableau 04 : Teneurs en esters d'acides gras dans les différentes huiles utilisées dans notre étude.

	HT	HO	HN
C14:0	nd ^a	nd	0,33 ± 0,03
C16:0	17,2 ± 1,5	14 ± 1,2	16,36 ± 1,6
C18:0	5 ± 0,4	4,32 ± 0,5	2,01 ± 0,5
C18:1	60,02 ± 1,8	64,8 ± 2,5	20,65 ± 1,7
C18:2	11,98 ± 1,1	12,23 ± 1,3	51,44 ± 1,0
C18:3	1,9 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,2 ± 0,08
C20:0	nd	nd	0,31 ± 0,03
C20:1	nd	nd	0,2 ± 0,02
C20:4	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,8	2,78 ± 1,1
ΣSFA^b	22,2 ± 0,9	18,32 ± 0,8	19,01 ± 0,7
ΣMUFA^c	60,02 ± 1,8	64,8 ± 2,5	20,85 ± 1,9
ΣPUFA^d	15,78 ± 0,4	15,53 ± 0,7	55,42 ± 0,7
AGPI/AGS	0,71	0,85	2,92

Les résultats sont exprimés en moyennes ± ES.

a: non déterminé ; b: la somme des acides gras saturés ; c: la somme des acides gras monoinsaturés; d: la somme des acides gras polyinsaturés. HN : huile de nigelle, HO : huile d'olive, HT : huile de tournesol.

7. Etude de l'activité antioxydante

7.1 Piégeage du radical DPPH

Puisque le principal mécanisme d'action antioxydant des polyphénols des végétaux est le piégeage des radicaux libres, plusieurs méthodes ont été développées pour évaluer l'activité antioxydante des végétaux par le piégeage de radicaux libres synthétiques en solution dans des solvants polaires comme le méthanol à température ambiante. Les radicaux les plus fréquemment utilisés sont le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et l'acide 2,2-O-azino-bis (3-ethylbenzoline-6-sulphonique) (ABTS).

Dans cette étude, la méthode par le DPPH a été choisie pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de nos plantes parce qu'elle est l'une des méthodes la plus simple, rapide et efficace à cause de la grande stabilité du radical (Bozin, et al., 2008).

L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH à 515 nm, qui est due à sa réduction à une forme non

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

radicalaire DPPH-H, par les antioxydants (AH) donneurs d'hydrogènes présents dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire comme le montre les équations suivantes (Paixão et al., 2007 ; Maisuthisakul et al., 2007 ; Da Silva Pinto, 2008)



La capacité de réduction du radical libre DPPH[•] pendant le temps de 30 min par l'extrait toluénique de la nigelle est représentée dans les **figures 06, 07 et 08** et celle de l'acide ascorbique en tant qu'antioxydant standard dans la **figure 09**.

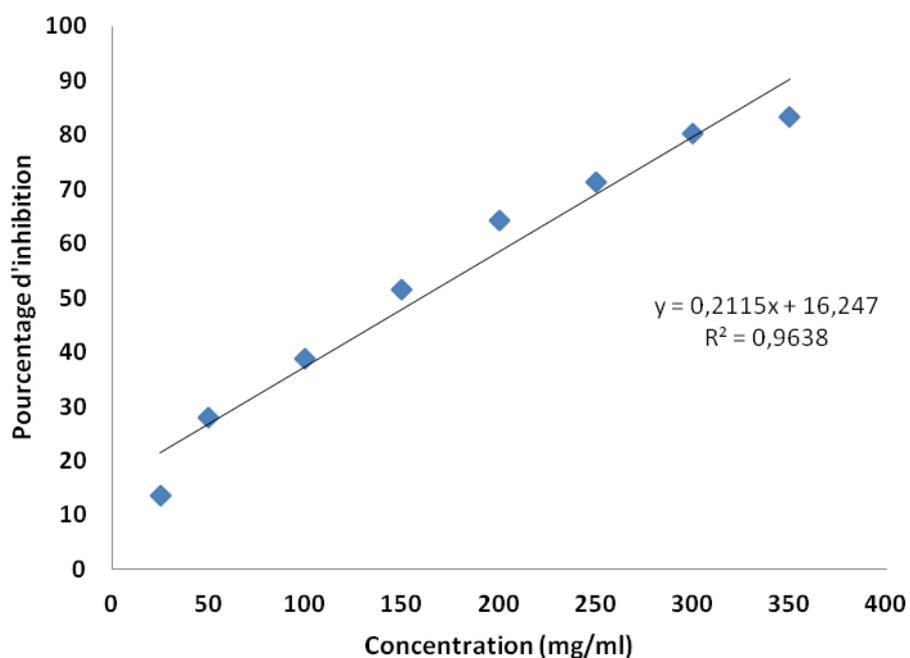


Figure 06 : pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations en huile de nigelle.

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

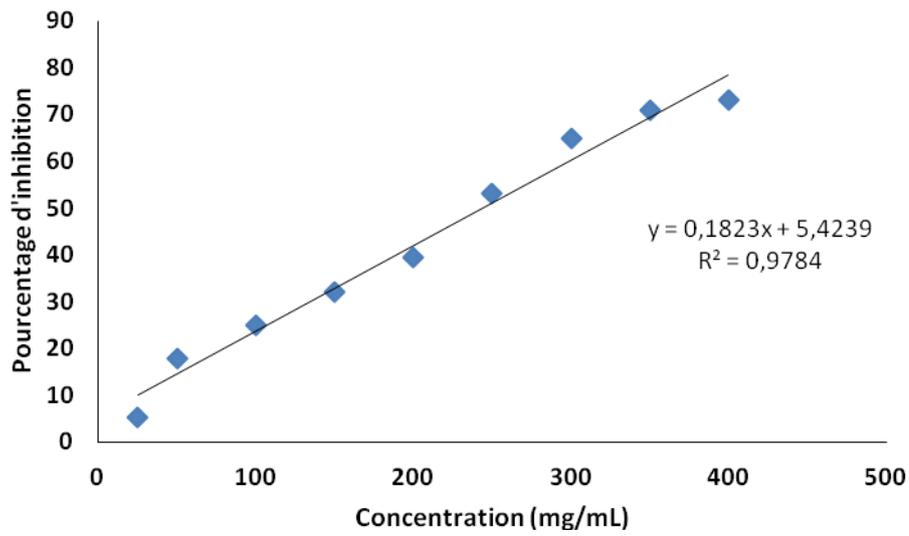


Figure 07 : pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations en huile d'olive.

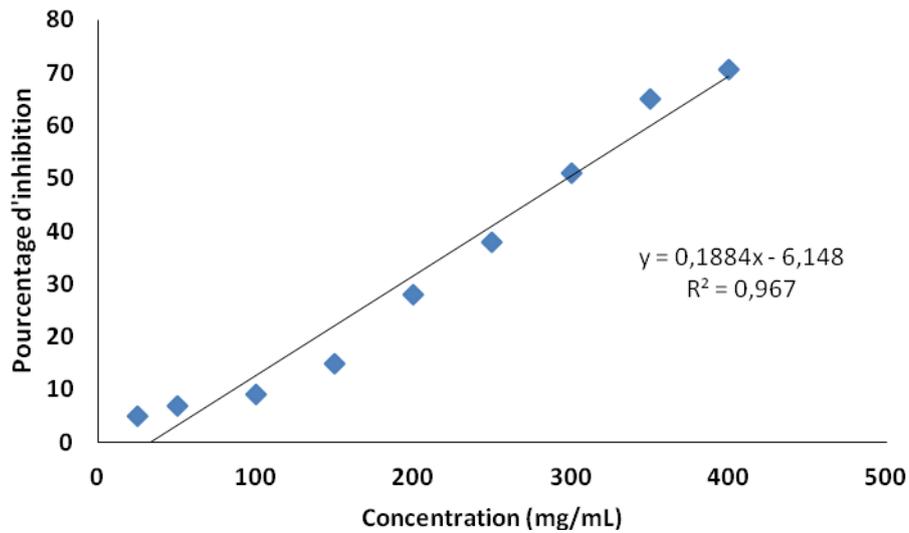
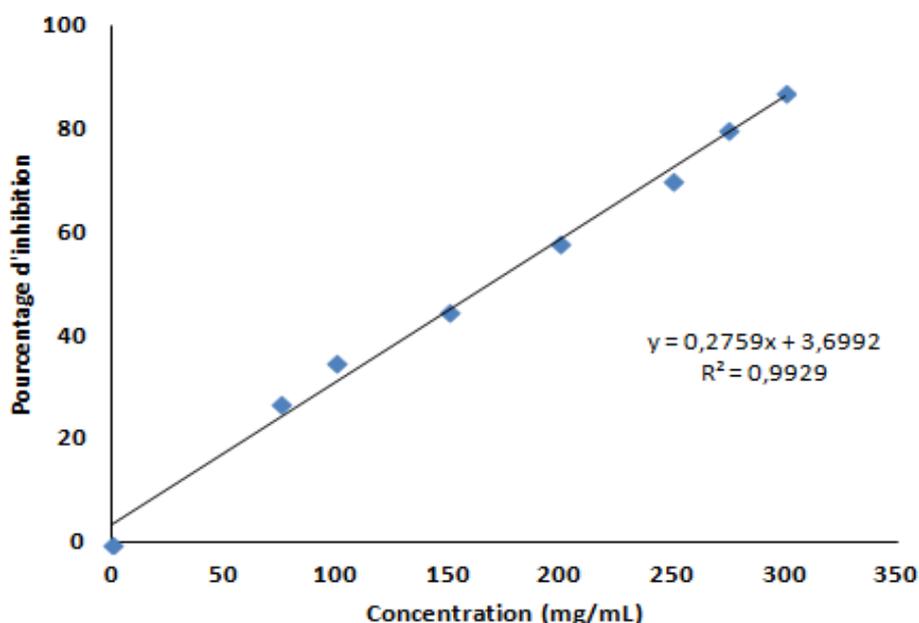


Figure 08 : pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations en huile de tournesol.

Résultats et Discussion



L'IC₅₀, paramètre couramment employé pour mesurer l'activité antioxydante, est pour chaque extrait la concentration nécessaire pour la réduction de 50 % du radical DPPH dans une période de temps définie, une valeur faible d'IC₅₀ correspond à une activité antioxydante plus élevée de l'extrait. Les IC₅₀ sont donc calculés à partir de ces graphes (**figures 06, 07, 08 et 09**).

L'activité anti-radicalaire qui est définie comme l'inverse de l'IC₅₀ (1/IC₅₀) des différents extraits, est représentée par les histogrammes, **figure 10**. Elle est utilisée pour mieux différencier et classer les antioxydants, les histogrammes représenteront donc une comparaison entre les activités anti-radicalaires des différents huiles et celui de l'acide ascorbique (Maisuthisakul *et al.*, 2007).

Nos résultats montrent qu'il y a une différence significative entre les activités anti-radicalaires de l'acide ascorbique et de l'huile de nigelle en les comparant à celles des autres huiles (olive et tournesol). En comparant l'activité des trois huiles, celle de la nigelle reste de loin la meilleure en termes de piégeage des radicaux libres DPPH.

Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. L'activité des flavonoïdes pour le piégeage

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

de ce radical dépend de la présence des groupements hydroxyles, et plus particulièrement du 3-OH.

Aussi les flavonoïdes les plus puissants sont ceux qui comportent le groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3. La présence de la double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo est aussi connue comme responsable de la délocalisation des électrons du cycle B et augmenterait ainsi la capacité du piégeage d'un radical.

Figure 09 : pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations en acide ascorbique.

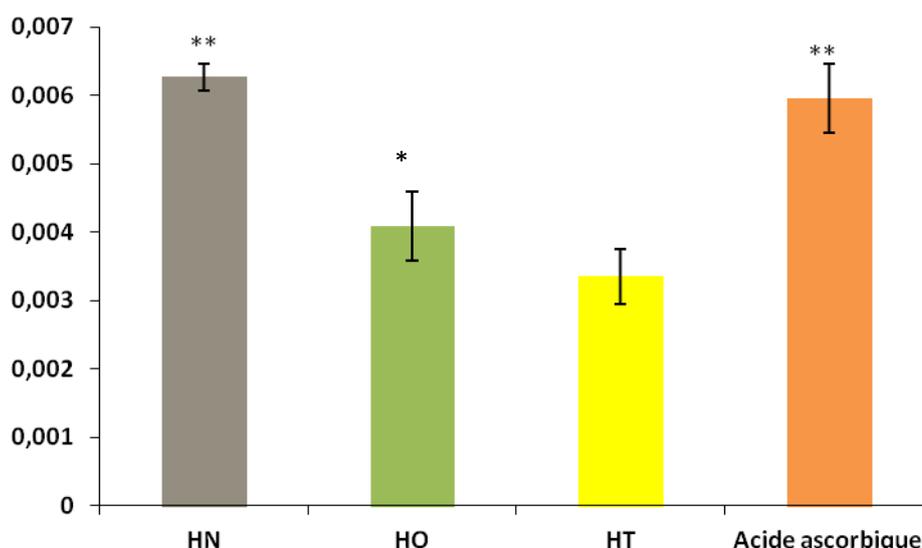


Figure 10 : Activité anti-radicalaire des différentes huiles et de l'acide ascorbique.

Abréviations : BHA : hydroxyanisole butylé; HT : huile de tournesol ; HO : huile d'olive; HN : huile de nigelle. A_{AR} : Activité anti-radicalaire.

* indique différence significative entre les différentes huiles et le standard (* p<0,05 ; ** p< 0,01).

7.2 Activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta-carotène (β -carotene bleaching method)

Dans cette étude nous avons évalué l'activité antioxydante de nos huiles végétales par la méthode de décoloration du β -carotène. La β -carotène présente une

Résultats et Discussion

forte activité biologique et est importante comme composé physiologique puisqu'elle est le précurseur du rétinol. Ainsi le taux de dégradation ou de décoloration du β -carotène dépend de la capacité antioxydante de nos huiles.

L'acide linoléique présent dans le mélange réactionnel, produit des hydroperoxydes comme radicaux libres durant l'incubation à 50 °C. Ces radicaux libres sont formés lors de l'élimination d'un atome d'hydrogène d'un de ses groupes méthylène diallyliques et attaquent les molécules de β -carotène hautement insaturées.

Les hydroperoxydes de l'acide linoléique attaquant la molécule de β -carotène et par conséquent, subit une décoloration rapide en l'absence d'antioxydants. Cette diminution de la coloration orange caractéristique de la β -carotène, correspondant à une diminution de l'absorbance suivie par spectrophotométrie (Jayaprakasha *et al.*, 2001 ; Kubola *et Siriamornpun*, 2008).

La présence d'antioxydants dans le milieu comme ceux présents dans nos huiles réduit l'oxydation du β -carotène par les hydroperoxydes. Ces derniers qui sont formés dans le système seront donc neutralisés par les antioxydants.

Les diminutions de l'absorbance de la β -carotène en présence des différentes huiles et l'antioxydant standard le BHA, sur l'oxydation de l'acide linoléique sont représentées dans la **figure 11**.

L'histogramme de la **figure 12** représente les pourcentages d'inhibition pour chaque huile par rapport à celui du BHA à la même concentration de 2,5 mg/mL.

Tous les huiles ont eu des activités antioxydantes inférieure à celle du standard, le BHA, mais elle reste toutefois modérée en les comparant avec le contrôle.

Les deux huiles HN et HO ont montré relativement une même activité.

Cette activité pourrait être dû à la présence des antioxydants à savoir : les vitamines liposolubles A et E, des polyphénols en plus de la thymoquinone contenant dans l'huile de nigelle. La réaction en chaîne des radicaux libres est bien connue qu'elle est le mécanisme commun pour la peroxydation lipidique, de ce fait, la capacité des antioxydants à l'inhiber est due à leurs propriétés de piègeurs de radicaux libres. Ceci caractérise aussi les produits alimentaires contenant des antioxydants qui par piégeage et neutralisation des radicaux libres maintiennent la bonne qualité du produit.

Résultats et Discussion

Comme le confirme l'histogramme (**figure 12**) nos huiles végétales ont une activité modérée par rapport au BHA ($94,83 \pm 5,6 \%$) et qui est de l'ordre de $19,35 \pm 4,7 \%$; $25,80 \pm 2,7 \%$; $30,51 \pm 3,5 \%$ pour les huiles de tournesol, de nigelle et d'olive, respectivement.

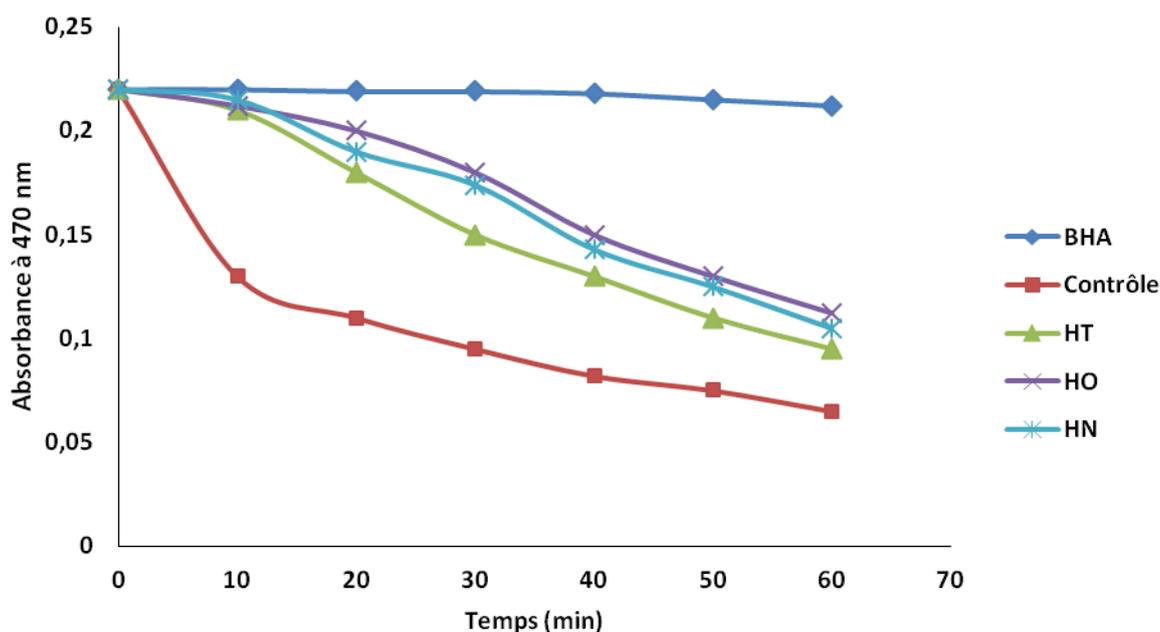


Figure 11 : Activité antioxydante des huiles végétales et du BHA par la méthode de décoloration du β -carotène.

Il est clair que la présence d'antioxydant dans les huiles végétales de notre étude réduit l'oxydation de la β -carotène induite par les hydroperoxydes. Le contrôle qui ne contient aucune de nos huiles, s'oxyde rapidement.

Vu nos résultats, nos trois huiles ont une activité antioxydante très élevée par rapport à celle du BHA à la même concentration de 2,5 mg/mL. Il y a une différence significative entre les huiles ($p < 0,05$), le BHA ($p < 0,01$) et le contrôle. Ainsi, la vitesse de dégradation de la β -carotène dépend des antioxydants présents dans les huiles. Les polyphénols et les tocophérols présents dans les huiles en plus des quinones dans l'huile de nigelle manifestent une importante activité antioxydante dans le système de la β -carotène-linoléate.

Chapitre 1 : Etude Phytochimiques

Résultats et Discussion

L'activité des constituants de l'huile d'olive montre un meilleur pourcentage d'inhibition (**Figure 12**) ($p < 0,05$) par rapport à l'huile de nigelle et l'huile de tournesol d'une différence de 4,71 % et de 11,16 %, respectivement.

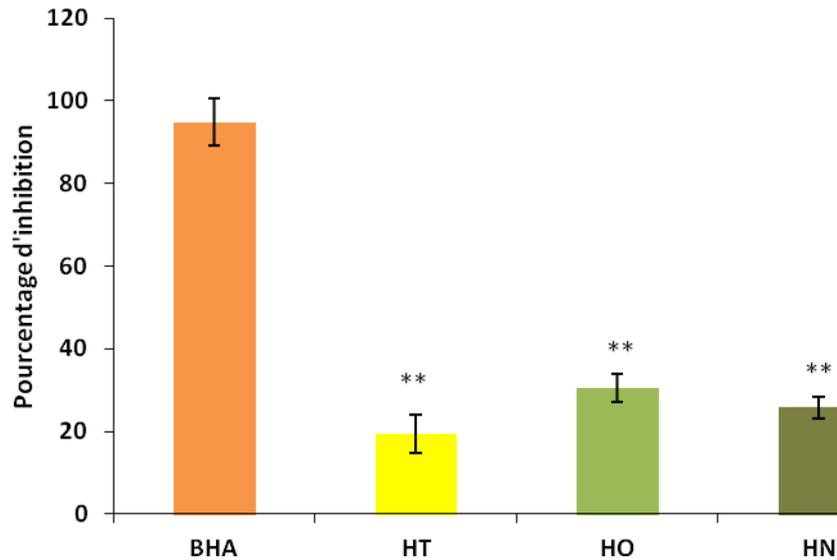


Figure 12 : Pourcentage d'inhibition de la décoloration de la bêta-carotène par les huiles et le standard.

Abréviations : BHA : hydroxyanisole butylé; HT : huile de tournesol ; HO : huile d'olive; HN : huile de nigelle.

* indique différence significative entre les différentes huiles et le standard (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

Chapitre II :
Etude in vivo de l'effet de
l'huile de Nigelle sur l'obésité.

1. Choix des animaux et régimes alimentaires

L'élevage des animaux s'est déroulé au sein de l'animalerie du département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen). Les expériences portées sur ses animaux de cette étude ont été approuvées par le Comité d'éthique en matière d'expérimentation d'animaux de l'université de Tlemcen.

Quatre vingt rats mâles albinos, de souche Wistar (Institut Pasteur, Alger, Algérie) ont été considérés au début de l'expérience avec un poids moyen de $86,7 \pm 1,3$ g. Après 21 jours de leur naissance, les rats mâles sont sevrés. Mis dans de nouvelles cages, ils continuent à être nourris comme leurs mères porteuses du même régime standard de type EL ALEF et boivent de l'eau du robinet *ad libitum*, et sont soumis à des cycles jour/nuit de 12h/12h. La température ambiante a été maintenue à 24 °C et l'humidité maintenue constante à 60 %.

Agés d'un mois, ils ont été divisés au hasard en huit groupes, logés à raison de cinq rats par cage, chacun des groupes recevant un régime spécifique (**Tableau 05**) pendant une durée de huit semaines, les différents régimes sont les suivants :

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

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

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

Groupe 4: les rats recevaient un régime hypergras (RHG) à base de 28 % d'huile de tournesol et 4 % d'huile de Nigelle;

Groupe 5: les rats recevaient un régime à base de 4 % d'huile d'olive;

Groupe 6: les rats recevaient un régime hypergras (RHG) à base de 28 % d'huile de tournesol et 4 % d'huile d'olive.

Groupe 7: les rats recevaient un régime à base de 2 % d'huile de Nigelle et 2 % d'huile d'olive;

Groupe 8: les rats recevaient un régime hypergras (RHG) à base de 28 % d'huile de tournesol et un mélange de 2 % d'huile de Nigelle et 2 % d'huile d'olive;

Chapitre II : Etude in vivo de l'effet de l'huile de Nigelle sur l'obésité

Matériels et Méthodes

L'huile de tournesol utilisée dans l'étude a été ramenée du commerce (Cevital®) et l'huile d'olive ramenée de l'usine de Sabra (Tlemcen) et extraite par broyage à froid.

Tableau 05: Composition des régimes expérimentaux.

Constituents (g/100 g)	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7	D 8
Caseine	16							
Methionine	0,3							
Saccharose	5							
Cellulose	5							
Minéraux*	7,37							
Vitamines**	2							
Amidon	60,3	32,3	60,3	32,3	60,3	32,3	60,3	32,3
Huile	4,0	32,0	4,0	32,0	4,0	32,0	4,0	32,0
Valeurs Energétiques (kcal)	371,9	517,5	371,9	517,5	371,9	517,5	371,9	517,5

* Composition en minéraux (g/100 g poids sec): Ca²⁺,4; K⁺, 2,4; Na⁺, 1,6; Mg²⁺, 0,4 ; Fe²⁺, 0,12; éléments traces: manganèse, 0,032; cuivre, 0,05; zinc, 0,018.

**composition en Vitamine (mg/kg poids sec): rétinol, 1,8; cholicalciférol, 0,019; thiamine, 6; riboflavine, 4,5; acide pantothénique, 21; inositol, 5; acide ascorbique, 240; L-tocophérol, 51; acide nicotinique, 30; acide folique, 1,5; biotine, 0,09.

2. La prise de poids, glycémie et bilans énergétiques et lipidiques

Chaque jour et jusqu'à la fin de l'expérimentation (8 semaines), le poids des rats, ainsi que la prise alimentaire ont été notées. La glycémie a été mesurée pendant chaque semaine.

a. Détermination des lipides fécaux :

Au cours des semaines de bilans (semaine 1, 4, 5 et 8), les fèces sont récoltées, pesées puis séchées à 40°C 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 du Chloroforme.

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

Matériels et Méthodes

$$T(\%) = \frac{p_1 - p_2}{p_1} \times 100$$

p_1 : poids de la cartouche avant l'extraction,

p_2 : poids de la cartouche après l'extraction.

b. Calcul du coefficient d'utilisation digestive des lipides:

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

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

3. Test de Tolérance au Glucose (OGTT)

L'OGTT (Oral Glucose Tolerance Test ou Hyperglycémie provoquée par voie Orale, en français) est un test simple, utilisé en routine clinique. Ce test permet d'évaluer la capacité de l'organisme à faire diminuer la glycémie après une charge en glucose. En pratique, le test consiste à suivre pendant 120 minutes les concentrations plasmatiques en glucose et en insuline après une charge orale en glucose. L'OGTT fournit des informations sur la tolérance au glucose, mais pas sur la sensibilité à l'insuline, qui sont deux concepts distincts. Plusieurs index, basés sur la méthode de l'OGTT, ont été développés. Deux index, assez bien corrélés avec le clamp euglycémique hyper insulinémique, sont utilisés en routine clinique. Le premier repose sur l'utilisation des valeurs moyennes de glycémie et d'insulinémie à jeun et au cours du test (Matsuda, 1999). Le second nécessite moins de valeurs de glycémie et d'insulinémie mais tient compte de l'IMC (Stumvoll, 2000).

Après une période de quatre semaines d'expérimentation et une nuit à jeun, les rats ont été soumis à un test de tolérance au glucose par voie orale (OGTT) par l'ingestion intra-gastrique d'une solution de glucose (2 g / kg pc). L'OGTT a été effectuée pendant une durée de 2 heures. Des échantillons de sang ont été prélevés dans la veine de la queue à 0, 30, 60, 90 et 120 minutes après l'administration du glucose. En tenant compte du stress engendré, seulement deux des échantillons de sang

ont été prélevés au niveau du sinus rétro-orbital, et ceci étant pour déterminer les concentrations d'insuline à jeun (I_0) et après 120 min de test (I_{120}).

La glycémie a été déterminée à l'aide d'un glucomètre Accu- Chek Active (Roche®, Allemagne). La concentration de l'insuline plasmatique a été mesurée par dosage radio-immunologique utilisant le kit Insuline Ultrasensible Rat ELISA (ALPCO Diagnostics, NH).

L'évaluation de la résistance à l'insuline par l'index d'HOMA a été calculée à partir de la glycémie à jeun et la concentration de l'insuline en utilisant la formule standard comme décrit par Matthews *et al.* (1985):

$$\text{HOMA-IR} = (I_0 \times I_{120}) / 22,5$$

La sensibilité à l'insuline a été déterminée en utilisant l'indice quantitative de sensibilité à l'insuline de glucose par voie orale (Oral glucose insulin sensitivity : OGIS) calculé à partir d'une feuille de calcul qui peut être téléchargée *via* ce lien: <http://webmet.pd.cnr.it/ogis/download.php>, qui était basé sur la dose orale de glucose administrée, l'insulinémie et l'IMC. Une modification a été apportée à cette étude où l'unité de la dose orale de glucose a été changée de g/m^2 en g/Kg de poids corporel (Thien *et al.*, 2003; Papandreou *et al.*, 2008).

4. Sacrifice des rats et prélèvements

A la fin de la huitième (8^{ième}) semaine, le groupe contrôle, le groupe obèse et les groupes traités ont été sacrifiés après anesthésie par injection intra-péritonéal de 3 mL / kg pc de chloral hydraté à 10 %. Ces animaux ont été traités, manipulés et tués selon les règles de la protection des animaux de laboratoire de l'Université de Tlemcen-Algérie. Le sang a été immédiatement recueilli à partir de l'aorte abdominale dans des tubes héparines. Après centrifugation, le plasma a été utilisé pour la détermination de marqueurs biochimiques et du statu oxydant/antioxydant.

Foie, pancréas, testicules, cœur, cerveau et les tissus adipeux viscéraux (graisses abdominale, péri-rénal et péri-testiculaire) ont été excisés et pesés.

Un partie du foie a été soigneusement lavée est découpée en morceaux de un gramme et conservée à -80°C pour les dosages biochimiques et marqueurs de stress oxydatif. Une deuxième partie de ce foie frais a servi à l'extraction des mitochondries.

Concernant le pancréas, il a servis pour les dosages biochimiques et le statut oxydant/antioxydant.

5. Extraction de la fraction mitochondriale hépatique

La procédure d'isolement des mitochondries hépatiques est basée sur une technique de fractionnement cellulaire par centrifugation différentielle décrite par Frezza C *et al.*, 2007. Brièvement, 2 g de foie est découpé en petits morceaux et homogénéisé dans une solution de tampon Tris froide (10 mM, pH 7,4) contenant du sucrose (environ 10 volumes/gramme de foie) en utilisant un potter verre-téflon à 1000 trs/min. Une première centrifugation (Beekman, rotor JA17) à 600 g permet de se débarrasser des débris cellulaires (noyaux, microsomes, ...). Le surnageant est re-centrifugé à 7000 g pendant 15 minutes à 4°C pour récupérer les mitochondries sous forme d'un culot brun. La couche rosée de microsomes flottant sur le culot est éliminée afin d'obtenir des mitochondries purifiées. Le culot est ensuite remis en suspension dans une solution tampon à base de saccharose par gramme de foie. La suspension finale représente un rendement d'environ 80% de mitochondries purs.

6. Dosages des paramètres sériques et tissulaires

6.1. Les paramètres biochimiques sériques

Le plasma obtenu à partir de tubes héparines a été utilisé pour la détermination de marqueurs biochimiques ainsi que les homogénats tissulaires et les lysats érythrocytaires.

L'alanine aminotransférase EC 2.6.1.2 (ALAT), l'aspartate aminotransférase EC 2.6.1.1 (ASAT), le lactate déshydrogénase EC 1.1.1.27 (LDH), la phosphatase alcaline EC 3.1.3.1 (ALP), ont été déterminées sur du plasma en utilisant des kits enzymatiques (Spinreact, Espagne) et leurs activités sont exprimées en UI/L.

L'albuminémie, la globulinémie, les protéines totaux (méthode de Biuret), l'urémie, la créatininémie, ont été mesurées en utilisant des kits enzymatiques (Biomérieux, Lyon, France).

Les triacylglycérols (TG) et le cholestérol total (TC) au niveau sanguin et tissulaire (après broyage d'une partie aliquote dans un tampon phosphate/EDTA pH 7,2, en plus de l'ajout de Triton X-100 à 0,1% et après centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min), ont été mesurés en utilisant des kits enzymatiques (Biomérieux, Lyon, France).

Le taux du cholestérol-HDL (C-HDL) a été mesuré en utilisant la méthode enzymatique (Spinreact, Espagne) après avoir précipité les HDL par du sodium phosphotungstate-magnésium (Grove, 1979). Le cholestérol-VLDL (C-VLDL) a été calculé en divisant la concentration de triglycérides par cinq (Wilson *et al.*, 1981). La concentration en cholestérol-LDL (C-LDL) a été calculée en utilisant la formule de Friedewald-Levy-Fredrickson (1972):

$$\text{C-LDL} = \text{TC} - (\text{C-HDL} + \text{TG}/5)$$

Le glucose sérique est déterminé par la méthode enzymatique et colorimétrique en présence de la glucose-oxydase (GOD) en utilisant un Kit pour dosage au point final (Spinreact, Espagne). Le taux d'insulinémie après le sacrifice a été mesuré en utilisant le même kit cité précédemment.

6.2. Détermination de la teneur en acides gras plasmatiques

Le profil d'acides gras du plasma a été déterminé par chromatographie en phase gazeuse (CG). Les acides gras sont trans-estérifiés en esters méthyliques (FAMEs : Fatty acids methyl esters) suivant le même mode opératoire que celui de nos huiles (voir chapitre I-6)

6.3. Détermination des teneurs en protéines tissulaires et mitochondriales

La quantité de protéines dans les homogénats est dosée selon la méthode colorimétrique de Bradford (Bradford M. M., 1976), basée sur le changement

d'absorbance lié au changement de la couleur du bleu de Coomassie après liaison avec les acides aminés basiques et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines. La quantité de protéines (mg/mL) est déterminée contre une gamme de BSA (Bovin Serum Albumin).

6.4. Détermination des lipides tissulaires et mitochondriaux

L'extraction des lipides se fait à partir des organes (foie, muscle, pancréas et tissu adipeux) et des membranes (mitochondriaux) par la méthode de Folch *et al.* (1957), après broyage d'une partie aliquote de l'organe (300 mg) et extraction par un mélange chloroforme/méthanol (2/1, v/v). Après évaporation totale du solvant, les lipides totaux sont pesés.

6.5. Détermination du taux de triglycérides et cholestérol

Les homogénats tissulaires et membranaires ont été préparés comme suit: un aliquote d'échantillon est mélangé à 2 mL de Triton X-100/NaCl à 0,1%, à l'aide d'un Ultraturax. Après centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min pour éliminer les débris membranaires et les protéines, le surnageant contenant les triglycérides (TG) et le cholestérol (C) a été récupéré pour leurs dosages respectifs par méthodes enzymatiques au point final par des kits commerciaux (Spinreact, Espagne).

7. Paramètres du stress oxydatif

7.1 Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma

(ORAC : *Oxygen radical antioxydant capacity*) :

Le pouvoir antioxydant total du plasma, c'est à dire sa capacité à absorber les radicaux oxygènes libres, 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 et Prost (1992). Cette méthode est basée sur le suivi en fonction du temps 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, toutes les 5 minutes, de l'augmentation de l'absorbance à 450 nm permet de suivre la cinétique de l'hémolyse.

Le pouvoir antioxydant total du plasma représente donc la capacité du plasma à neutraliser les radicaux libres générés *in vitro* et donc à freiner l'hémolyse des globules rouges attaquées, 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 μ M Trolox ou 2 μ M vitamine C (concentration finale).

7.2. Détermination de la teneur en vitamine C plasmatique

La vitamine C plasmatique a été dosée selon la méthode de Jagota et Dani (1982) utilisant le réactif de Folin. Brièvement, après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (10%) et centrifugation, le réactif de Folin dilué au 1/10^e est ajouté au surnageant. La vitamine C présente dans le surnageant réduit le réactif de Folin donnant une coloration jaune. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en vitamine C présente dans l'échantillon, à une longueur d'onde de 769 nm. La concentration est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage obtenue grâce à une gamme de solutions d'acide ascorbique.

7.3 Détermination de la teneur en vitamines A et E plasmatiques

La quantification du taux plasmatique de l' α -tocophérol (vit E) et du rétinol (vit A) a été déterminée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) par la méthode mise au point par Zaman *et al.* (1993). Après précipitation des protéines par de l'éthanol et addition de l'étalon interne (5 μ g de tocol (*Alfa Aesar*) pour 200 μ L de plasma), les vitamines A et E sont extraites du plasma par 2 mL d'hexane. La phase

hexanique est reprise soigneusement et est évaporée sous vide. Le résidu est repris dans 50 μL d'éther diéthylique et 150 μL de la phase mobile méthanol/ eau (98/2 v/v). Les échantillons sont injectés (20 μL) dans une colonne C18 type ODS hypersil (200mm \times 4.6mm) à un débit de 1mL/min. Les pics d'absorbance des vitamines A et E sont réalisés par un détecteur UV dont la longueur d'onde de 292 nm correspondait à la vitamine E et celle à 325 nm au rétinol.

7.4. Détermination des protéines carbonylées

Les protéines carbonylées du plasma, tissulaires et mitochondriaux (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 l'homogénat d'organes est incubé 1 heure à température ambiante en présence de la dinitrophénylhydrazine (DNPH ; préparée dans HCl à 2mM) ou avec seulement du HCl à 2mM pour le blanc. Ensuite, les protéines sont précipitées avec l'acide trichloroacétique (TCA) à 500 g/L et lavées 3 fois par l'éthanol: éthylacétate 1:1 (v/v) et 3 fois par le TCA. Le culot est solubilisé dans une solution de guanidine à 6M.

Les lectures d'absorbances se font à 350 et 375 nm. La concentration des groupements carbonylés est calculée selon un coefficient d'extinction ($\epsilon = 21,5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

7.5. Détermination du taux d'hydroperoxydes

Les hydroperoxydes plasmatiques sont mesurés, selon la méthode de Nourooz-Zadeh *et al.*, (1996), par l'oxydation d'ions ferriques utilisant le xylénol orange (Sigma-Aldrich) en conjugaison avec le ROOH réducteur spécifique du triphenylphosphine (TPP). 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, forment un complexe Fe^{3+} -xylénol orange. Pour cela, 90 μL de plasma sont incubés à température ambiante pendant 30 min avec 10 μL de méthanol (pour l'essai) ou 10 μL de TPP pour le blanc. A ce mélange, sont ajoutés 900 μL de réactif Fox (contenant du sulfate d'ammonium ferrique à 250mM, H_2SO_4 à 25mM, BHT à 4mM et du xylénol orange à 100 μM). Après incubation pendant 30 minutes et centrifugation à 6000 rpm pendant 10 minutes, la lecture des DO se fait à 560 nm contre le blanc. Le

taux en hydroperoxydes est calculé à l'aide d'un coefficient d'extinction ($\epsilon = 4,4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

7.6. Dosage du malondialdéhyde

Le malondialdéhyde (MDA) est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique. Ce dosage est réalisé selon la méthode de Ohkawa (1979), par un traitement acide à chaud, grâce à l'utilisation d'un réactif à TBA contenant de l'acide thiobarbiturique (TBA), l'acide trichloroacétique (TCA), du HCl et du BHT à concentration finale de 0,03 %. Le plasma ou la suspension lipidique (tissulaire ou membranaire) est incubé avec le réactif à TBA pendant 15 minutes à 100 °C avec un rapport réactif/échantillon de 2:1 (V/V). Après refroidissement à température ambiante et centrifugation pendant 10 min à 1000 rpm, la lecture est réalisée sur le surnageant qui contient le MDA. Le TBA réagit avec les aldéhydes pour former un produit de condensation chromogénique rosâtre consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA dont l'absorption se fait à 535 nm. La concentration en MDA plasmatique est calculée à l'aide du coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 535 nm).

7.7. Dosage des diènes conjugués plasmatiques

Les diènes conjugués sont considérés comme les produits primaires de l'oxydation lipidique. Les diènes conjugués plasmatiques sont dosés selon la méthode d'Esterbauer *et al.* (1989). La lecture de l'absorbance du plasma frais à 234 nm marque la présence des diènes conjugués dont la concentration est estimée en utilisant le coefficient d'extinction $\epsilon = 29,50 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; à 234 nm.

7.8. Mesure du taux de glutathion tissulaire

L'analyse du taux de glutathion hépatique et mitochondriale a été réalisée en utilisant la méthode de Sedlak *et* Lindsay (1968) avec quelques modifications. 0,5 mL d'homogénat de foie a été mélangé avec le mélange de réaction, qui contenait 1,5 mL de tampon Tris 0,2 M, pH 8,2, 0,1 mL d'acide 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) dans du méthanol. La solution a été maintenue à température ambiante pendant 15 minutes puis centrifugée pendant 30 minutes à 3000 trs/min. L'absorbance des surnageants clairs a été mesurée à 412 nm en utilisant un spectrophotomètre pour microplaques ELx800 (Biotek® Instruments Inc., USA). Le contenu de GSH a été exprimé en nmol/mg de protéines.

7.9. Mesure de l'activité de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)

Cette activité enzymatique est mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène selon la méthode d'Aebi (1974).

Le principe de dosage est basé sur la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en H_2O et O_2 par la catalase contenue dans l'échantillon mesuré. L'activité de la catalase est directement proportionnelle à la concentration en H_2O_2 et à la vitesse de sa décomposition mesurée au spectrophotomètre à 240 nm. Une unité d'activité de catalase correspond à 1 μ mole de peroxyde d'hydrogène décomposé par minute.

7.10. Mesure de l'activité de la Superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1)

L'activité de la SOD a été déterminée selon la méthode décrite par Sun *et al.*, (1988). Le taux de nitrobleu de tétrazolium (NBT), la réduction de formazan bleu par l'anion superoxyde généré par la réaction de la xanthine oxydase sont suivies par spectrophotométrie à 560 nm. Une unité d'activité de SOD est définie comme la quantité d'enzyme qui inhibera la réduction du NBT de 50 %.

8- Analyse Statistique

Les résultats ont été exprimés en tant que la valeur moyenne \pm erreur standard. La comparaison entre les valeurs moyennes de chaque deux groupes a été établie par le test "t" de *Student*. La signification a été fixé à $p < 0,05$.

Matériels et Méthodes

La comparaison des moyennes entre plusieurs groupes différents est réalisée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test de *Turkey* afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

L'analyse de régression multiple a été utilisée pour estimer la relation entre le poids corporel final, la glycémie, l'insulinémie, la prise alimentaire, l'apport en AGPI, l'HDL-C, les TG, le score d'HOMA et l'OGIS, tandis que toutes les limites de confiance représentent des intervalles de 95%. Une corrélation de *Pearson* a également été établie pour tous les paramètres.

1. Évolution de la masse pondérale moyenne et bilans lipidiques

1.1 Evaluation du poids corporel et gain de poids :

La **figure 13** montre l'évolution du poids pendant les huit semaines d'expérimentation et la **figure 14** est un histogramme représentant le poids final. Dès la première semaine d'expérimentation, le profil des rats recevant le régime hyperlipidique (HG : *hypergras*) à base de 32 % de HT (**R2**) augmente significativement de manière plus accentuée par rapport aux rats recevant les régimes isocaloriques (**R1, R3, R5 et R7**), ce qui suggère en premier temps, une installation de l'obésité. Par contre, la masse pondérale des rats recevant le régime hyperlipidique à base de 4 % de HN, HO (**R4 et R6**) et 2 % des deux huiles (**R8**) diminue significativement à celle des rats du groupe HG (**R2**).

Par ailleurs, le profil pondéral des rats recevant le régime **R7** à base de 2 % de HN et de 2 % de HO diminue significativement par rapport aux rats soumis aux régimes **R3 et R7** recevant respectivement 4 % HN et 4 % HO et même par rapport aux rats témoins (**R1**) (**Figure 13**).

Cependant, le changement du gain de poids corporel moyen des rats soumis au régime **R2** augmente de **32,02 %** à celui du groupe témoin (**R1**) durant les deux mois d'expérimentation. Par contre, le gain pondéral des rats à régime HG traités par HN ou HO (**R4, R6 et R8**) diminue de **36,29 % ; 33,34 % et 28,38 %** respectivement à celui des rats du groupe **R2** (**Figures 15**).

Résultats et Interprétation

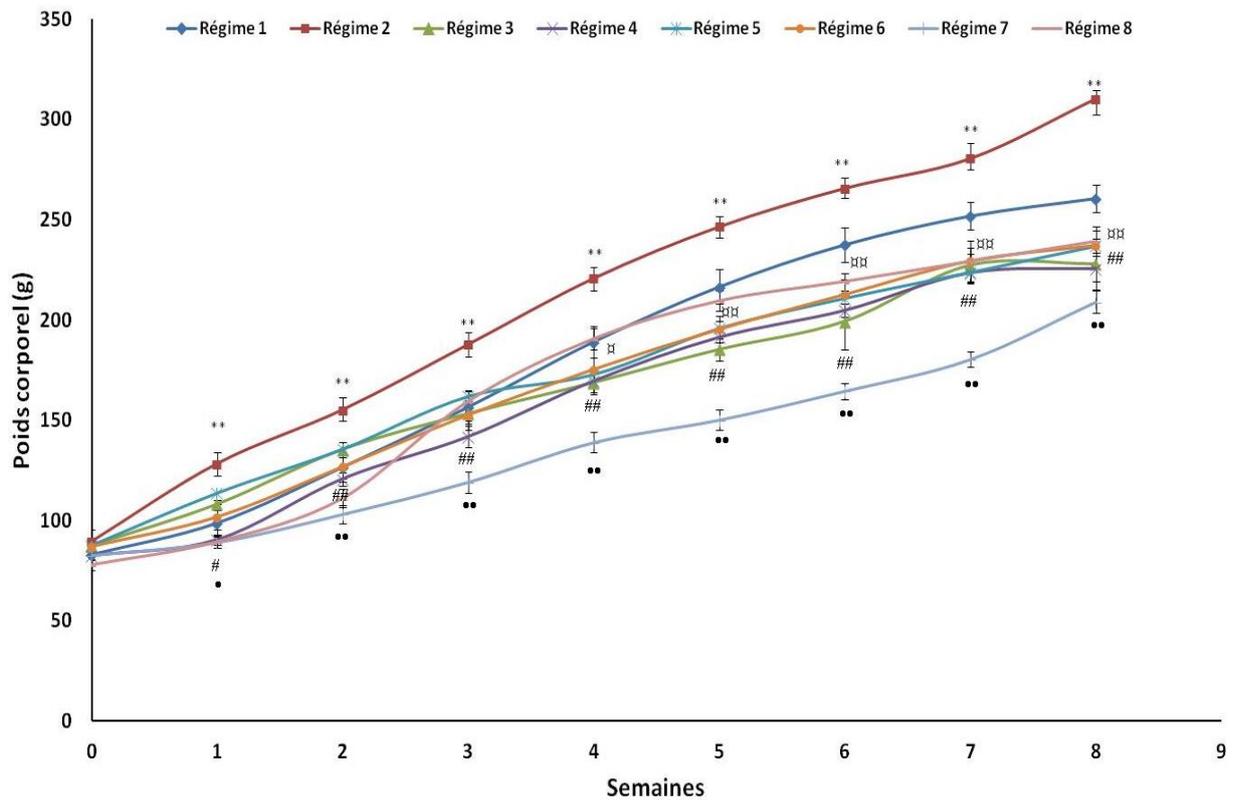


Figure 13: Changement dans le poids corporel des rats recevant les différents régimes.

Les résultats sont exprimés en moyennes \pm ES.

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

** , ••, ##, $\square\square$ ($p < 0,01$): 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 HG ; **Régime 3 :** Régime à base de 4% d'huile de nigelle ;

Régime 4 : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **Régime 6 :** Régime HG supplémentés par 4 % d'huile d'olive ; **Régime 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2% d'huile d'olive ; **Régime 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

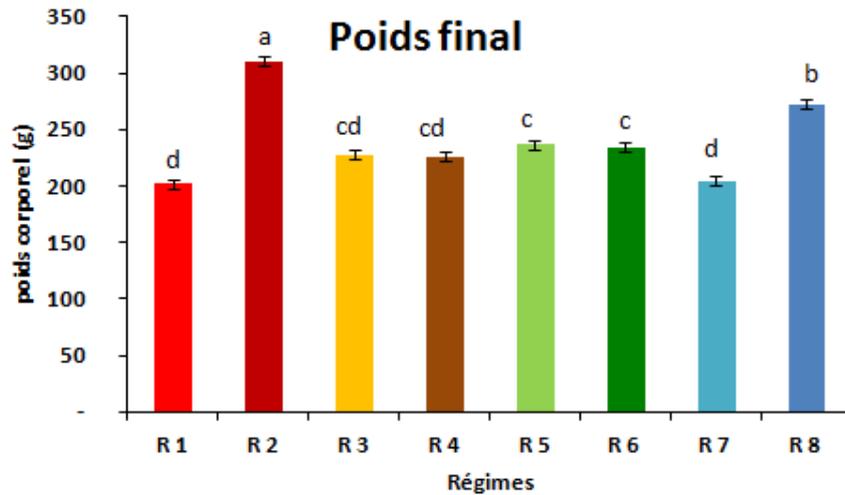


Figure 14: Histogramme représentant la différence entre le poids final des rats recevant les différents régimes.

Les résultats sont exprimés en moyennes ± 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 HG ; **Régime 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 5 :** Régime à base de 4% d'huile d'olive ; **Régime 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **Régime 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **Régime 8 :** Régime HG supplémentés par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Gain du poids Pourcentage en Pourcentage

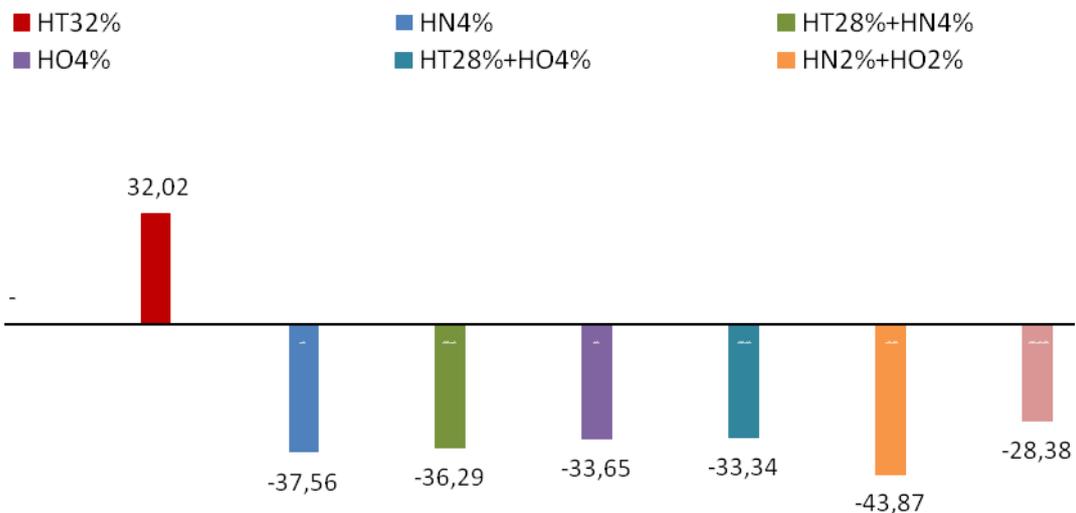


Figure 15: Gain de poids des obèses par rapport aux témoins (ligne de base 0%) et des rats soumis aux différents régimes par rapport aux rats obèses.

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2 :** Régime HG ; **Régime 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 4 :** Régime HG supplémentés par 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **Régime 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **Régime 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **Régime 8 :** Régime HG supplémentés par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

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

La quantité moyenne d'aliment ingéré par les rats recevant le régime hypergras **R4** à base de 4 % de l'huile de nigelle est significativement inférieure à celle ingérée par les rats recevant les régimes à base de l'huile de tournesol à 4 % et à 32 % (**R1, R2**) ($p < 0,05$) et ceci pendant toute l'expérimentation. De plus, les rats ayant reçus un régime à base d'huile d'olive (**R6**) ont ingéré une quantité significativement inférieure aux groupes de rats **R1, R2** ainsi que **R4** ($p < 0,01$). Par ailleurs, la prise alimentaire chez les rats soumis aux régimes isocaloriques (**R1, R3 et R5**) reste stable par rapport au régime **R7**, pendant toute l'expérimentation à l'exception de la première semaine (**Tableau 06**). On remarque aussi que les rats recevant le régime **R8** à base de 28 % de HT, 2 % de HN et 2 % de HO suivent le même schéma que le groupe **R2** pendant toute la durée du bilan.

Par conséquent, l'apport énergétique total (AET) a tendance à être significativement plus élevé chez les rats nourris par les régimes hyperlipidiques à base de HN et HO (**R4 et R6**) par rapport aux autres groupes de rats recevant les mêmes huiles dans des régimes isocaloriques. Par contre, l'AET du groupe **R2** reste le plus élevé par rapport aux groupes **R4 et R6** mais presque égale au groupe **R8** (**voir Tableau 06**).

1.3 *Quantité moyenne des lipides et des acides gras ingérés*

La quantité moyenne des lipides ingérés chez l'ensemble des rats recevant le régime hypercalorique (**R2, R4 et R6**) est significativement supérieure à celle des rats recevant les régimes à base de 4 % HT, HN et HO, respectivement.

Aucune différence n'a été notée entre les groupes de rats recevant des régimes isocaloriques. 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 ayant reçu les régimes hypergras à base des huiles de nigelle et d'olive, à l'exception du groupe **R8** qui montre le même comportement que le groupe de rats obèses (**R2**) (**Tableau 06**).

Pour les acides gras ingérés (**Tableau 08**), on remarque que le taux des AGS est plus élevé chez les rats recevant le régime isocalorique à base de l'huile de tournesol (groupe témoin) par rapport aux autres régimes isocaloriques ($p < 0,05$) ; et que le taux des AGPI est plus élevé chez les rats recevant les régimes à base d'huile de nigelle ($p < 0,05$) par rapport à l'huile de tournesol ; d'où un rapport AGPI/AGS relativement faible a été retrouvé dans cette huile (0,7) par rapport à l'huile de nigelle (2,9) et l'huile d'olive (0,85). Le taux des acides gras polyinsaturés a tendance à être plus élevé avec l'addition de l'huile de nigelle dans les régimes hyperlipidiques.

Concernant les AGMI, on constate que le taux ingéré par les rats recevant les régimes hyperlipidiques à base de HN (**R4**) est moins important que celui ingéré par les rats des groupes **R2 et R6**. Par ailleurs, il reste faible chez les rats recevant le régime isocalorique à base de 4 % de HN (**R3**) par rapport aux témoins et aux rats recevant le régime isocalorique à base d'huile d'olive (**R5**) (**Tableau 08**).

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 du 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 ayant reçu le régime hypercalorique à base de nigelle (**R4**), 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 recevant les régimes hyperlipidiques **R2, R4, R6 et R8** sont supérieures à celles des rats recevant les régimes isocaloriques **R1, R3, R5 et R7**, respectivement (**Tableau 06**).

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, nigelle et olive sont significativement supérieurs à ceux des rats recevant les régimes isocaloriques. Par ailleurs, aucune différence n'a été notée en comparant ces quatre régimes hypergras (**Tableau 6**).

Chapitre II: Etude in vivo de l'effet de l'huile de Nigelle sur l'obésité

Résultats et Interprétation

Tableau 06: Quantité d'aliment ingéré, AET, fèces et lipides excrétés et CUDL des rats soumis aux régimes (1-8) durant deux mois d'expérimentation.

Semaines	Régimes	Qte d'aliment ingérée (g/j/100g pc)	AET (Kj/d)	Qte des fèces excrétée (g/j/100g pc)	Lipides fécaux (g/j/100g pc)	CUDL (%)
BI	Régime 1	11,00 ± 1,86 ^{ab}	40,91 ± 10,03 ^b	2,95 ± 0,28 ^b	0,10 ± 0,02 ^c	77,27 ± 5,02 ^c
	Régime 2	11,54 ± 0,66 ^{ab}	59,72 ± 08,45 ^a	2,99 ± 0,07 ^{ab}	0,22 ± 0,34 ^{ab}	94,04 ± 6,5 ^{ab}
	Régime 3	11,15 ± 1,47 ^{ab}	41,47 ± 06,34 ^b	2,45 ± 0,06 ^c	0,18 ± 0,04 ^b	59,64 ± 4,5 ^d
	Régime 4	11,22 ± 1,64 ^{ab}	58,06 ± 05,40 ^a	3,05 ± 0,25 ^{ab}	0,24 ± 0,08 ^a	93,32 ± 6,41 ^{ab}
	Régime 5	11,60 ± 0,67 ^b	43,14 ± 12,32 ^{ab}	3,25 ± 0,13 ^a	0,20 ± 0,06 ^{ab}	56,90 ± 8,62 ^e
	Régime 6	10,82 ± 0,95 ^c	55,99 ± 10,30 ^{ab}	3,07 ± 0,15 ^{ab}	0,21 ± 0,07 ^{ab}	93,93 ± 4,32 ^{ab}
	Régime 7	11,87 ± 0,68 ^a	44,14 ± 9,30 ^{ab}	2,98 ± 0,08 ^b	0,09 ± 0,05 ^c	81,04 ± 12,6 ^b
	Régime 8	11,28 ± 0,72 ^{ab}	58,37 ± 9,60 ^a	3,15 ± 0,12 ^{ab}	0,15 ± 0,01 ^{bc}	95,84 ± 15,2 ^a
BII	Régime 1	11,60 ± 0,24 ^b	43,14 ± 8,45 ^c	2,13 ± 0,10 ^c	0,07 ± 0,04 ^c	84,91 ± 12,3 ^b
	Régime 2	13,58 ± 1,63 ^{ab}	70,28 ± 10,09 ^a	2,25 ± 0,05 ^{ab}	0,13 ± 0,04 ^b	97,01 ± 8,07 ^a
	Régime 3	13,18 ± 0,86 ^{ab}	49,02 ± 1,01 ^{bc}	2,32 ± 0,04 ^{ab}	0,18 ± 0,04 ^{ab}	71,55 ± 5,9 ^c
	Régime 4	10,61 ± 0,22 ^b	54,91 ± 7,50 ^b	2,45 ± 0,12 ^{ab}	0,24 ± 0,02 ^a	94,11 ± 12,4 ^{ab}
	Régime 5	11,56 ± 0,24 ^b	42,99 ± 7,12 ^c	2,97 ± 0,03 ^a	0,18 ± 0,03 ^{ab}	61,07 ± 10,2 ^d
	Régime 6	9,12 ± 0,54 ^c	47,20 ± 5,21 ^{bc}	2,75 ± 0,08 ^b	0,19 ± 0,03 ^{ab}	93,49 ± 12,8 ^{ab}
	Régime 7	14,14 ± 0,40 ^a	52,59 ± 15,6 ^b	2,75 ± 0,05 ^b	0,10 ± 0,06 ^{bc}	82,32 ± 10,4 ^b
	Régime 8	13,49 ± 0,83 ^a	69,81 ± 7,6 ^a	2,98 ± 0,17 ^a	0,11 ± 0,08 ^{bc}	79,61 ± 12,6 ^{bc}
BIII	Régime 1	11,88 ± 1,06 ^c	44,18 ± 15,67 ^{bc}	1,99 ± 0,09 ^c	0,05 ± 0,08 ^c	89,48 ± 15,6 ^b
	Régime 2	12,85 ± 0,47 ^b	66,50 ± 21,05 ^a	2,12 ± 0,11 ^{bc}	0,11 ± 0,06 ^{ab}	97,32 ± 14,9 ^a
	Régime 3	12,79 ± 0,19 ^b	47,57 ± 10,54 ^{bc}	2,35 ± 0,12 ^b	0,10 ± 0,05 ^{ab}	80,45 ± 13,6 ^c
	Régime 4	10,62 ± 0,29 ^{bc}	54,96 ± 10,76 ^b	2,15 ± 0,12 ^{bc}	0,18 ± 0,08 ^a	94,70 ± 14,3 ^{ab}
	Régime 5	10,71 ± 0,34 ^{bc}	39,83 ± 09,3 ^d	2,60 ± 0,10 ^a	0,12 ± 0,04 ^{ab}	71,99 ± 12,8 ^d
	Régime 6	8,28 ± 1,8 ^d	42,85 ± 15,70 ^c	2,16 ± 0,08 ^{bc}	0,13 ± 0,09 ^{ab}	95,09 ± 12,9 ^{ab}
	Régime 7	13,98 ± 2,01 ^a	51,99 ± 23,50 ^b	2,17 ± 0,11 ^{bc}	0,07 ± 0,05 ^{bc}	87,48 ± 14,2 ^{bc}
	Régime 8	12,48 ± 1,7 ^b	64,58 ± 14,60 ^{ab}	2,05 ± 0,13 ^c	0,09 ± 0,17 ^b	81,97 ± 14,3 ^c
BIV	Régime 1	12,14 ± 0,16 ^{ab}	45,15 ± 0,56 ^b	1,75 ± 0,17 ^d	0,03 ± 0,03 ^c	93,82 ± 12,7 ^{ab}
	Régime 2	10,64 ± 1,06 ^b	55,06 ± 0,32 ^a	1,95 ± 0,20 ^{cd}	0,11 ± 0,01 ^{ab}	96,77 ± 15,2 ^a
	Régime 3	12,99 ± 0,86 ^a	48,31 ± 0,76 ^{ab}	2,00 ± 0,12 ^c	0,09 ± 0,03 ^b	82,68 ± 12,9 ^b
	Régime 4	9,40 ± 1,63 ^{bc}	48,65 ± 0,43 ^{ab}	2,25 ± 0,08 ^b	0,15 ± 0,03 ^a	95,01 ± 14,7 ^{ab}
	Régime 5	10,54 ± 0,89 ^b	39,20 ± 0,11 ^c	2,49 ± 0,06 ^a	0,12 ± 0,11 ^{ab}	71,54 ± 14,3 ^c
	Régime 6	8,53 ± 0,92 ^c	44,14 ± 10,02 ^b	2,11 ± 0,110 ^{bc}	0,12 ± 0,05 ^{ab}	95,60 ± 14,8 ^{ab}
	Régime 7	12,96 ± 0,99 ^a	48,20 ± 11,50 ^{ab}	2,09 ± 0,12 ^{bc}	0,09 ± 0,06 ^b	82,64 ± 13,8 ^b
	Régime 8	9,64 ± 1,33 ^{bc}	49,89 ± 10,8 ^{ab}	2,01 ± 0,09 ^c	0,12 ± 0,21 ^{ab}	68,88 ± 15,8 ^d

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ES.

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

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2 :** Régime HG ; **Régime 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **Régime 6 :** Régime HG supplémentés par 4 % d'huile d'olive ; **Régime 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **Régime 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle+ 2% d'huile d'olive. **BI :** bilan nutritionnel de la première semaine, **BII :** bilan nutritionnel de la quatrième semaine ; **BIII :** bilan nutritionnel de la cinquième semaine ; **BIV :** bilan nutritionnel de la huitième semaine.

Chapitre II: Etude in vivo de l'effet de l'huile de Nigelle sur l'obésité

Résultats et Interprétation

Tableau 07: Composition en pourcentage d'acides gras dans les différents régimes (1-8)

	Régime 1	Régime 2	Régime 3	Régime 4	Régime 5	Régime 6	Régime 7	Régime 8
C14:0	-	-	0,01 ± 0,00	0,01± 0,00	-	-	0,01 ± 0,00	0,00 ± 0,00
C16:0	0,69± 0,06	5,50 ± 0,11	0,65 ± 0,02	5,47 ± 0,07	0,56 ± 0,02	4,82 ± 0,11	0,61 ± 0,05	4,82 ± 0,05
C18:0	0,20±0,05	1,60 ± 0,09	0,08 ± 0,01	1,48 ± 0,08	0,17 ± 0,08	1,4 ± 0,07	0,13 ± 0,08	1,40 ± 0,01
C18:1	2,40 ± 0,02	19,21± 0,19	0,83 ± 0,02	17,63 ± 0,13	2,59 ± 0,09	16,83 ± 0,15	1,71 ± 0,03	16,82± 0,28
C18:2	0,48 ± 0,06	3,83 ± 0,06	2,06 ± 0,08	5,41 ± 0,08	0,49 ± 0,12	3,36 ± 0,03	1,27 ± 0,03	3,37 ± 0,11
C18:3	0,08 ± 0,00	0,60 ± 0,05	0,05 ± 0,07	0,58 ± 0,09	0,06 ± 0,01	0,53 ± 0,05	0,05 ± 0,04	0,53 ± 0,00
C20:0	-	-	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	-	-	0,01 ± 0,00	-
C20:1	-	-	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	-	-	-	-
C20:4	0,08 ± 0,05	0,60 ± 0,03	0,11 ± 0,03	0,64 ± 0,02	0,07 ± 0,02	0,53 ± 0,06	0,09 ± 0,04	0,53 ± 0,09
ΣAGS	0,89 ± 0,01	7,10± 0,02	0,76 ± 0,01	6,98 ± 0,05	0,73 ± 0,01	6,22 ± 0,02	0,75 ± 0,02	6,22 ± 0,09
ΣAGMI	2,40 ± 0,05	19,21 ± 0,08	0,83 ± 0,01	17,64 ± 0,10	2,59 ± 0,08	16,83 ± 0,12	1,71± 0,02	16,82± 0,05
ΣAGPI	0,63 ± 0,01	5,05 ± 0,02	2,22 ± 0,09	6,64 ± 0,07	0,71 ± 0,01	4,42 ± 0,02	1,42 ± 0,03	4,43 ± 0,09
AGPI/AGS	0,71 ± 0,01	0,71 ± 0,01	2,92 ± 0,09	0,95 ± 0,01	0,85 ± 0,02	0,71 ± 0,01	1,89 ± 0,02	0,71± 0,02

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ES.

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

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime HG ; **Régime 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **Régime 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **Régime 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **Régime 8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Chapitre II: Etude in vivo de l'effet de l'huile de Nigelle sur l'obésité

Résultats et Interprétation

Tableau 08: Quantités moyennes des acides gras ingérés chez les rats soumis aux différents groupes expérimentaux.

		AGS (%)	AGMI (%)	AGPI (%)
R1	BI	0,098 ± 0,002 ^c	0,264 ± 0,003 ^d	0,069 ± 0,004 ^c
	BII	0,103 ± 0,001 ^b	0,278 ± 0,002 ^c	0,073 ± 0,002 ^b
	BIII	0,105 ± 0,003 ^b	0,285 ± 0,001 ^b	0,075 ± 0,002 ^{ab}
	BIV	0,108 ± 0,001 ^a	0,291 ± 0,001 ^a	0,076 ± 0,001 ^a
R2	BI	0,820 ± 0,005 ^c	2,216 ± 0,005 ^c	0,583 ± 0,004 ^c
	BII	0,756 ± 0,002 ^d	2,043 ± 0,001 ^d	0,537 ± 0,003 ^d
	BIII	0,913 ± 0,003 ^b	2,468 ± 0,002 ^b	0,648 ± 0,001 ^b
	BIV	0,965 ± 0,001 ^a	2,608 ± 0,002 ^a	0,685 ± 0,001 ^a
R3	BI	0,085 ± 0,005 ^c	0,093 ± 0,001 ^c	0,247 ± 0,002 ^d
	BII	0,100 ± 0,003 ^a	0,110 ± 0,005 ^a	0,292 ± 0,004 ^a
	BIII	0,097 ± 0,005 ^b	0,106 ± 0,004 ^b	0,283 ± 0,003 ^c
	BIV	0,099 ± 0,004 ^a	0,108 ± 0,003 ^{ab}	0,288 ± 0,001 ^b
R4	BI	0,783 ± 0,002 ^a	1,979 ± 0,001 ^a	0,713 ± 0,002 ^a
	BII	0,740 ± 0,002 ^b	1,872 ± 0,001 ^b	0,675 ± 0,001 ^b
	BIII	0,741 ± 0,001 ^b	1,873 ± 0,001 ^b	0,675 ± 0,002 ^b
	BIV	0,656 ± 0,001 ^c	1,658 ± 0,002 ^c	0,598 ± 0,001 ^c
R5	BI	0,085 ± 0,001 ^a	0,297 ± 0,001 ^a	0,072 ± 0,001 ^a
	BII	0,085 ± 0,004 ^a	0,296 ± 0,002 ^a	0,071 ± 0,005 ^a
	BIII	0,078 ± 0,002 ^b	0,274 ± 0,003 ^b	0,066 ± 0,004 ^b
	BIV	0,077 ± 0,001 ^b	0,270 ± 0,002 ^b	0,065 ± 0,001 ^b
R6	BI	0,752 ± 0,003 ^a	2,099 ± 0,021 ^a	0,537 ± 0,001 ^a
	BII	0,634 ± 0,003 ^b	1,769 ± 0,012 ^b	0,453 ± 0,030 ^b
	BIII	0,575 ± 0,001 ^d	1,606 ± 0,010 ^d	0,411 ± 0,030 ^d
	BIV	0,593 ± 0,004 ^c	1,655 ± 0,010 ^c	0,424 ± 0,007 ^c
R7	BI	0,089 ± 0,001 ^c	0,203 ± 0,001 ^d	0,168 ± 0,009 ^a
	BII	0,106 ± 0,002 ^a	0,242 ± 0,001 ^a	0,098 ± 0,010 ^b
	BIII	0,104 ± 0,002 ^a	0,239 ± 0,001 ^b	0,097 ± 0,011 ^b
	BIV	0,094 ± 0,001 ^b	0,222 ± 0,003 ^c	0,090 ± 0,031 ^c
R8	BI	0,785 ± 0,002 ^c	2,089 ± 0,021 ^c	0,779 ± 0,001 ^c
	BII	0,939 ± 0,001 ^a	2,498 ± 0,011 ^a	0,931 ± 0,001 ^a
	BIII	0,869 ± 0,000 ^b	2,311 ± 0,011 ^b	0,861 ± 0,040 ^b
	BIV	0,671 ± 0,001 ^d	1,785 ± 0,021 ^d	0,665 ± 0,041 ^d

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 HG ; **Régime 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4% d'huile de nigelle ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **Régime 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **Régime 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **Régime 8** : Régime HG supplémentés par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive. **BI** : bilan nutritionnel de la première semaine, **BII** : bilan nutritionnel de la quatrième semaine ; **BIII** : bilan nutritionnel de la cinquième semaine ; **BIV** : bilan nutritionnel de la huitième semaine.

2. Test de tolérance au glucose et insulino-résistance

Les résultats du TTOG sont représentés par les histogrammes de la **figure 16**. Les valeurs d'HOMA-IR et de l'OGIS sont représentées dans la **figure 17**.

Pendant la durée de 120 min du test, les animaux ont été manipulés avec soin pour éviter le stress. Au cours du *TTOG* (**Figure 16**), les niveaux de glucose dans le sang dans le groupe contrôle (**R1**) et les groupes de rats traités (**R4** et **R6**) sont demeurés plus élevés et ont atteint les niveaux de jeûne à 2 heures et aucune différence significative n'a été observée entre ces deux groupes. Par contre, dans un groupe HFD (**R2**) des taux de glucose sont significativement plus élevés que dans le régime 4 ($p < 0,01$) même après 2 heures du test. Aussi, le taux d'insulinémie durant le test de tolérance au glucose a augmenté significativement chez le groupe **R4** HG nourri à la nigelle après 120 min de test et en le comparant avec les autres groupes. Une correction hautement significative ($p < 0,01$) de l'insulinémie a été notée pour les groupes **R2**, **R4** et **R8** contrairement au groupe **R6** HG traité par l'huile d'olive où aucune différence n'a été notée.

Le score d'HOMA-IR a été positivement corrélé au poids corporel, à la quantité de lipides ingérés.

L'indice OGIS de la clairance du glucose donne des résultats très similaires en le comparant au clamp euglycémique hyperinsulinémique pour prédire la sensibilité à l'insuline.

Chez les rats obèses, l'OGIS diminue significativement par rapport aux autres groupes ce qui indique que la charge de glucose administré lors du test de tolérance pour les groupes de rats ayant reçu les huiles HO et HN améliore la clairance de glucose dans le sang.

Selon le modèle de régression multiple, on pourrait prédire à 80,1 % le poids corporel des rats à partir de la quantité de lipides ingérés et des taux de glucose et d'insuline pris durant le TTOG.

Résultats et Interprétation

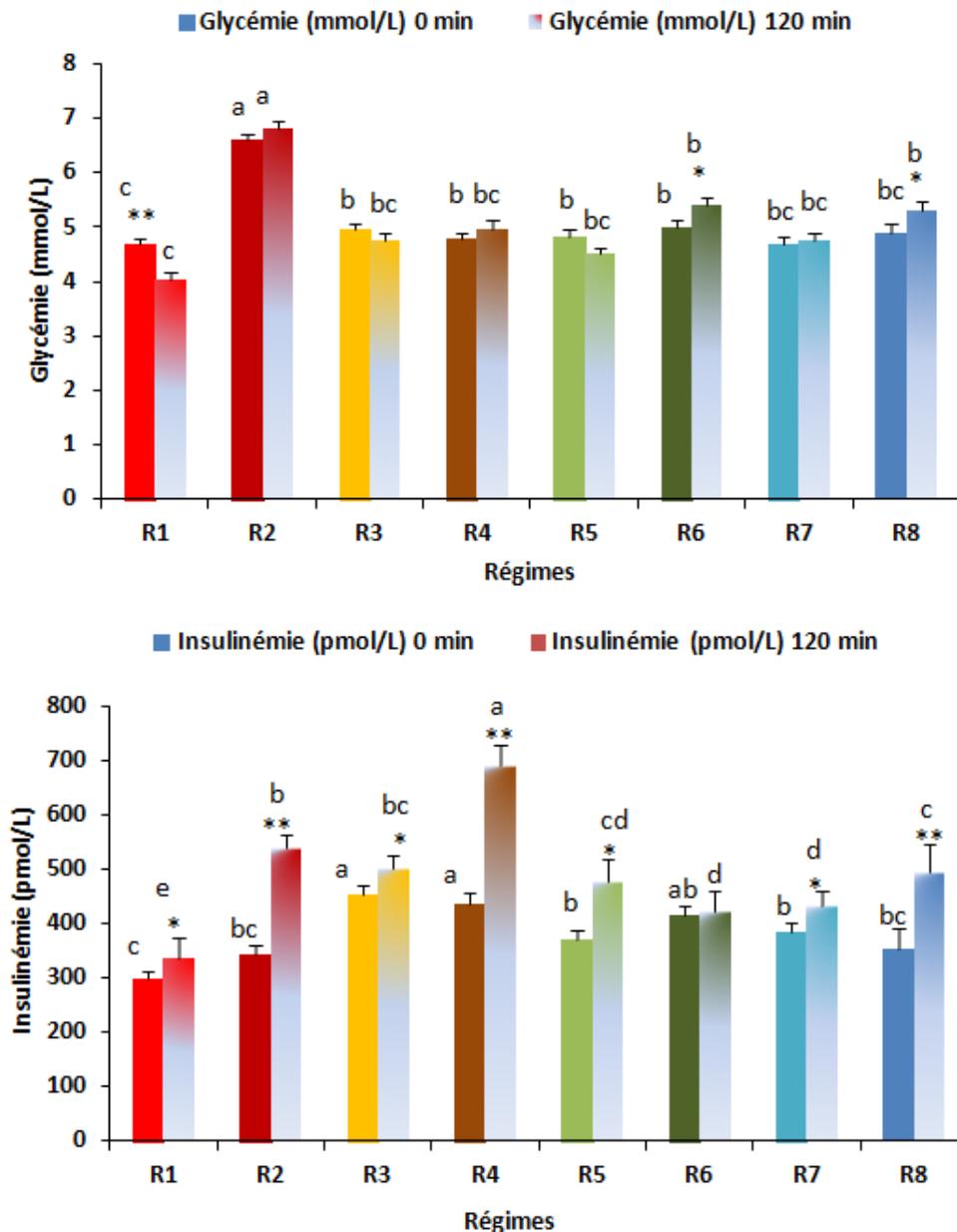


Figure 16: Résultats du TTOG à 0 min et 120 min, (glycémie, insulinémie).

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Les comparaisons entre 0 minute et 120 minutes sont réalisées par le test « t » de Student après analyse de variance.

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

* indique différence significative entre 0 minute et 120 minutes (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime HG ; **Régime 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **Régime 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **Régime 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **Régime 8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

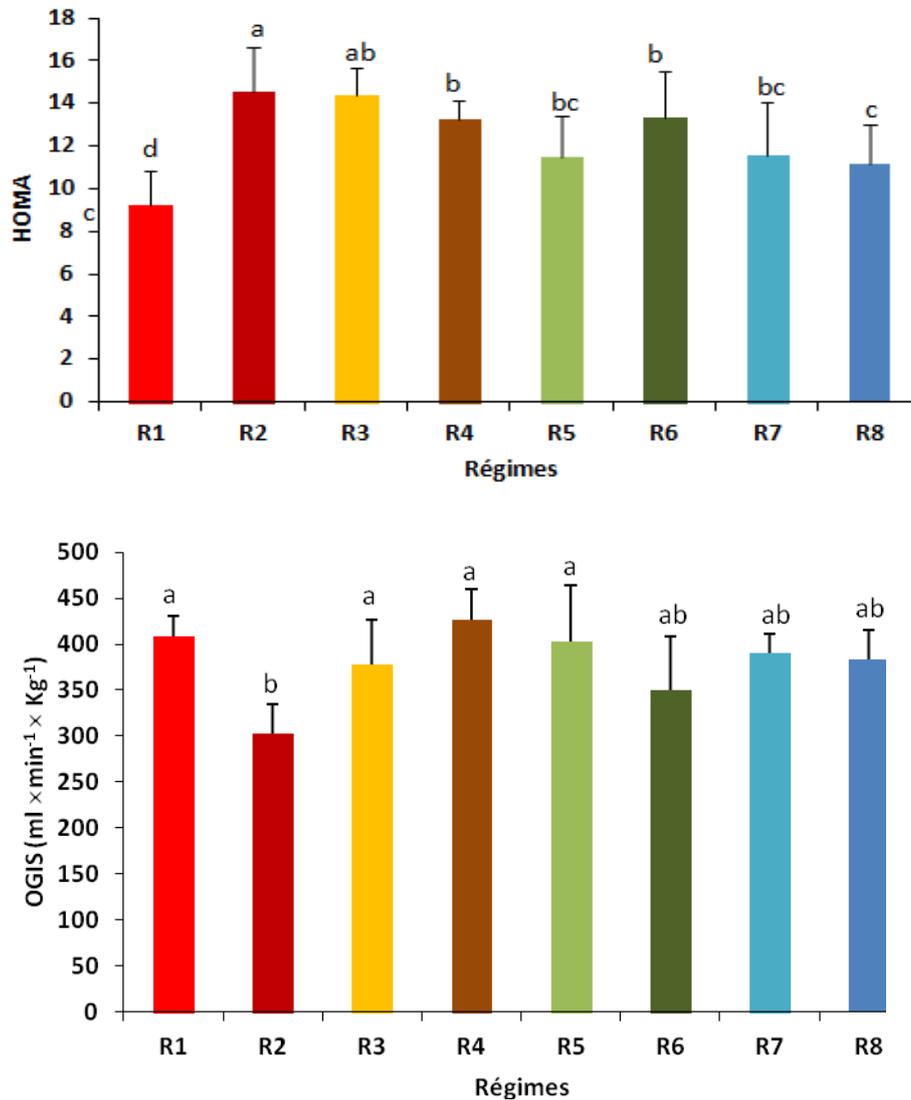


Figure 17: Valeurs moyennes du score d'*HOMA-IR* et de l'indice *OGIS*.

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ES.

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

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2** : Régime HG ; **Régime 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **Régime 6** : Régime HG supplémentés par 4 % d'huile d'olive ; **Régime 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2% d'huile d'olive ; **Régime 8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

3. Changement dans les poids des organes et des tissus adipeux

Résultats et Interprétation

Les changements dans les poids des organes (foie, pancréas et testicules, rein, cerveau et cœur) sont représentés par **les figures 18 et 19**, respectivement.

On note que le poids du foie est significativement élevé chez les rats obèses *versus* les rats contrôle qui est 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.

Pour le poids du pancréas, une augmentation significative pour les régimes **1, 4 et 7** a été noté ($p < 0,05$) en comparaison avec le groupe obèse (**R2**).

Une augmentation significative a été notée pour les régimes R7 et R8 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. On remarque aussi une diminution significative du poids du cœur et du cerveau pour les obèses (**R2**). Et une augmentation significative du poids du cœur chez les rats ayant reçu les régimes à base d'huile d'olive **R5 et R6**.

Dans **la figure 20**, on note que les poids des tissus adipeux abdominal et péri-rénal sont significativement élevés chez les rats obèses *versus* les rats contrôles qui sont positivement corrélés au poids corporel. Aucune différence n'a été notée entre les différents groupes concernant le tissu adipeux péri-testiculaire.

Résultats et Interprétation

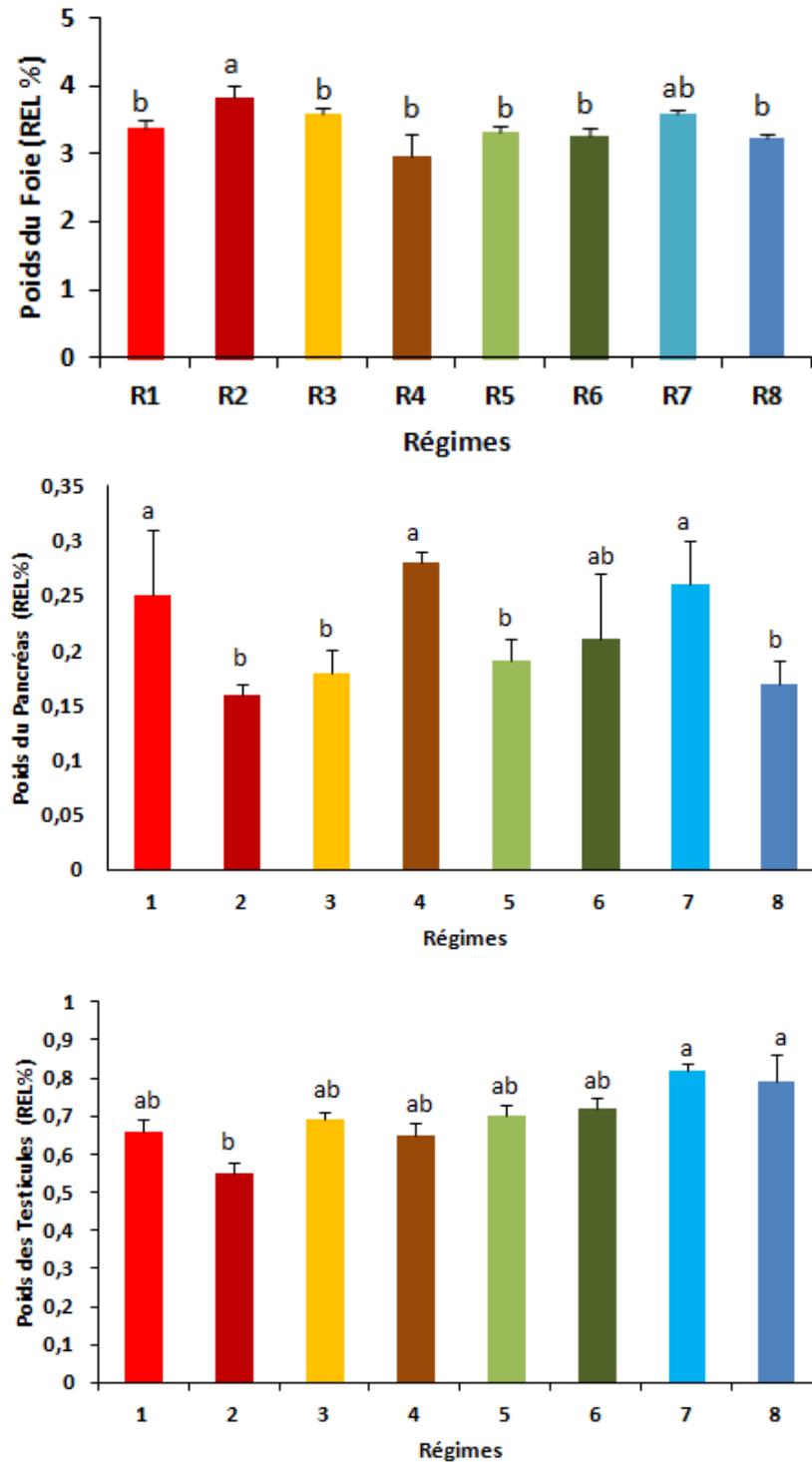


Figure 18 : Histogrammes représentant le poids du foie, du pancréas et des testicules.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive .

REL % : poids relatif en pourcentage.

Résultats et Interprétation

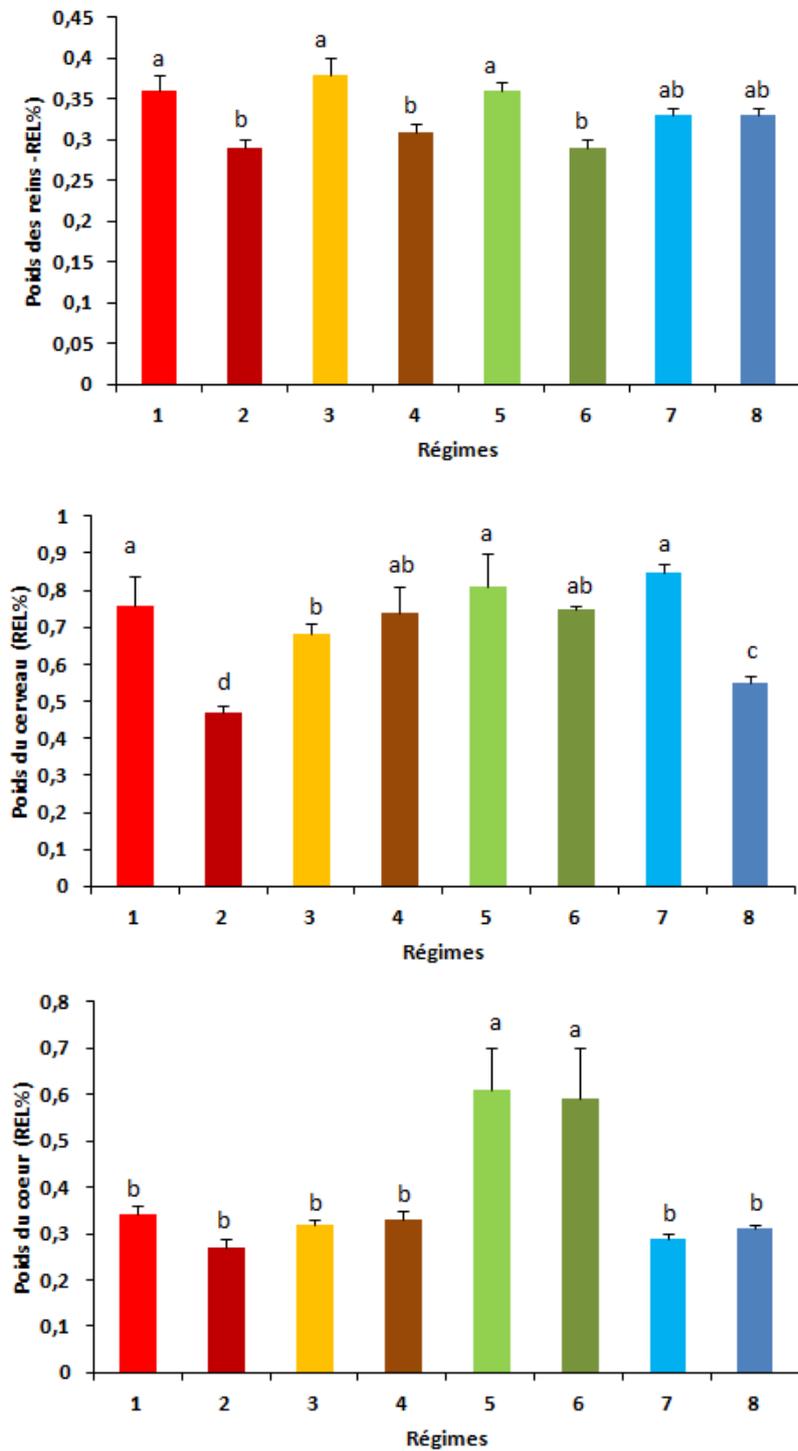


Figure 19 : Histogrammes représentant le poids des reins, du cerveau et du cœur.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2% d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive .

REL % : poids relatif en pourcentage.

Résultats et Interprétation

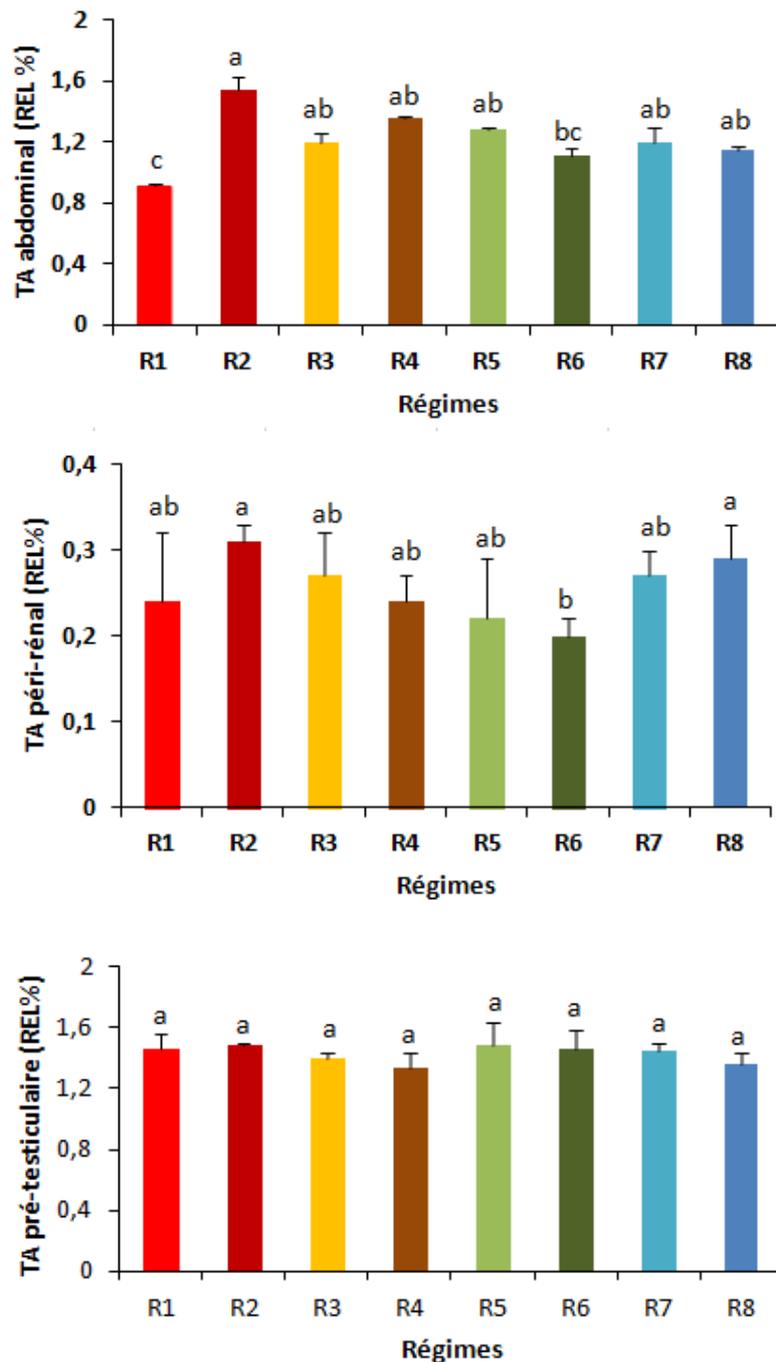


Figure 20 : Histogramme représentant les poids des tissus adipeux (TA).

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

Régime 1 : Régime standard ; **Régime 2 :** Régime HG ; **Régime 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **Régime 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **Régime 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **Régime 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **Régime 8 :** Régime HG supplémentés par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

REL % : poids relatif en pourcentage.

4. Paramètres biochimiques sériques

Au cours de notre étude nous avons évalué l'effet de la supplémentation quotidienne par les deux huiles nigelle et olive et ce pendant huit semaines, sur les variations des taux de certains paramètres biochimiques sanguins : glycémie, insulinémie ; cholestérol total, triglycérides ; HDL-C, LDL-C et VLDL-C ; les protéines totales, l'albumine et la globuline ; ALAT, ASAT, l'ALP et la lactate déshydrogénase ; 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 21 à 26**, respectivement.

Pour la glycémie, les résultats sont significativement plus élevés dans le groupe du régime HG par rapport au groupe contrôle ($p < 0,01$), mais il a diminué de façon significative ($p < 0,05$) pour les rats qui ont reçu l'huile NH (**R4**) et le groupe de rats ayant reçu le mélange des deux huiles (nigelle et olive à 2%) (**R8**) par rapport aux autres groupes. Aussi, le taux de l'insuline après huit semaines d'expérimentation, reste significativement élevé chez les rats recevant les régimes à base de nigelle et d'olive en les comparant aux obèses.

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 (**D4** et **D6**), tandis que le C-LDL a diminué de manière significative.

Les protéines totales et le taux de globuline ont diminué de manière significative dans le groupe HG des rats recevant l'huile d'olive (**R6**) par rapport aux autres groupes. Au contraire, après huit semaines de traitement quotidien avec l'huile de nigelle (**R4**), le taux d'albumine diminue en comparaison avec des rats des autres groupes.

Résultats et Interprétation

Le groupe HG (**D2**) souligne une augmentation significative de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT) et de l'aspartate aminotransférase (ASAT) par rapport au groupe de contrôle (**D1**). Au contraire, les activités des ALAT et ASAT diminuent ($p < 0,05$) de façon significative lorsque l'on compare le groupe HG (groupes obèses traités) avec les groupes des régimes **4** et **6**. Une différence significative est également observée entre les deux groupes traités **D4** et **D6** qui présentent une différence sur leur composition en acides gras (voir **tableau 07**). Également des niveaux d'ALP ont augmenté de façon significative après un traitement diététique avec NS et l'huile d'olive. En revanche, aucune différence statistiquement significative n'a été observée pour les taux de la LDH entre les différents lots.

En outre, il y avait une diminution significative des taux d'urée et de la créatinine chez des rats obèses (**D2**) groupe par rapport au groupe de contrôle (**D1**), 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 conclut à une perturbation de la fonction hépatique et une diminution de l'urée et de la créatinine, qui pourrait induire à long terme, une perturbation de la fonction rénale. 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 de nigelle 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.

Résultats et Interprétation

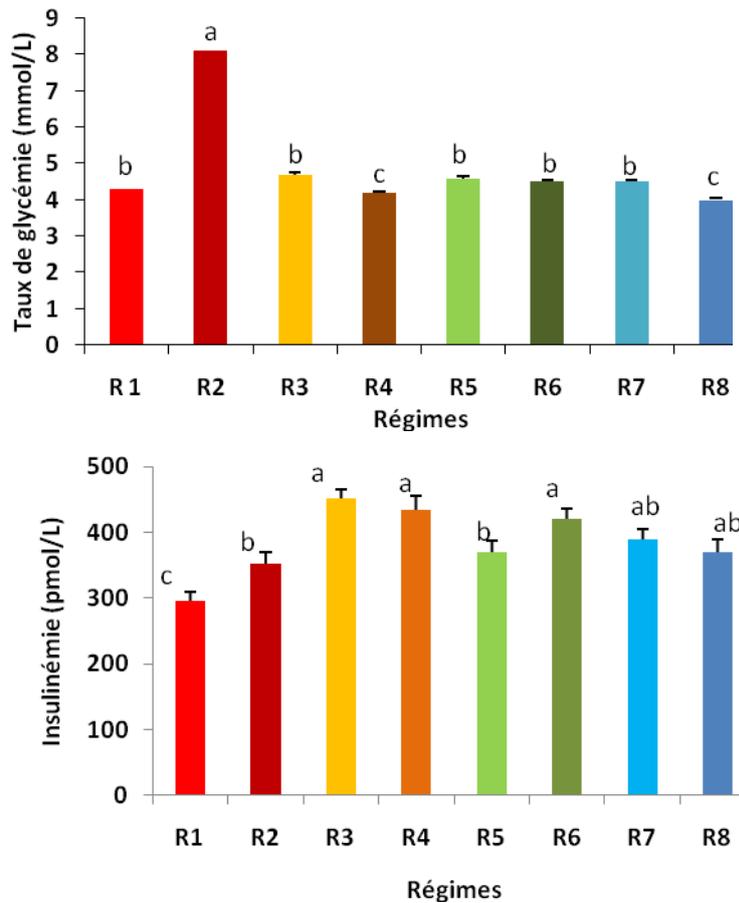


Figure 21 : Histogrammes représentant la glycémie et l'insulinémie à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive .

Résultats et Interprétation

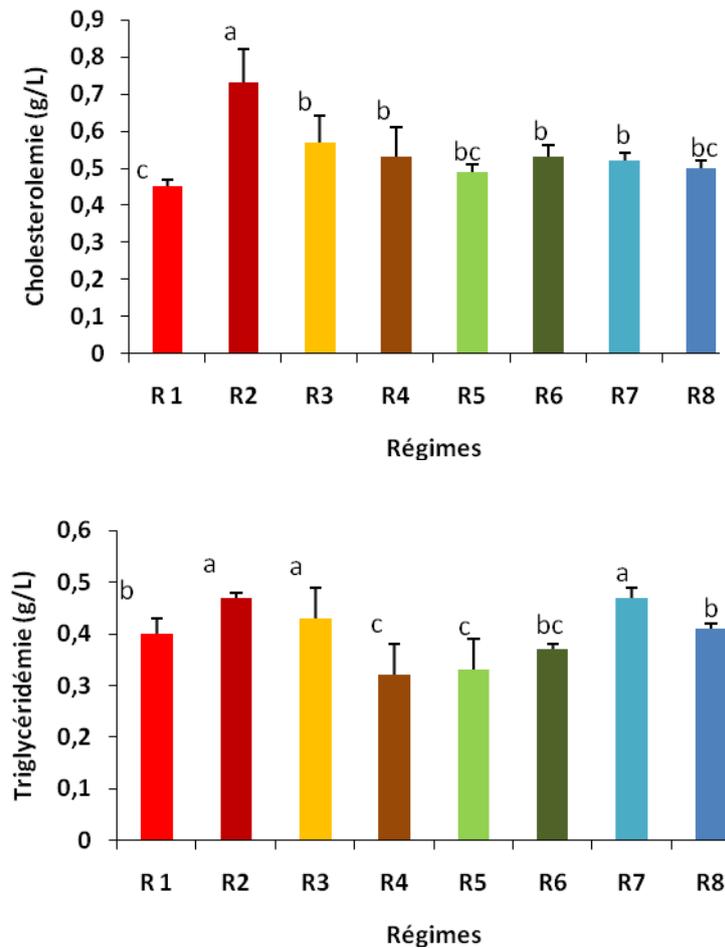


Figure 22 : Histogrammes représentant le taux des triglycérides, du cholestérol total à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémentés par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémentés par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R8** : Régime HG supplémentés par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive .

Résultats et Interprétation

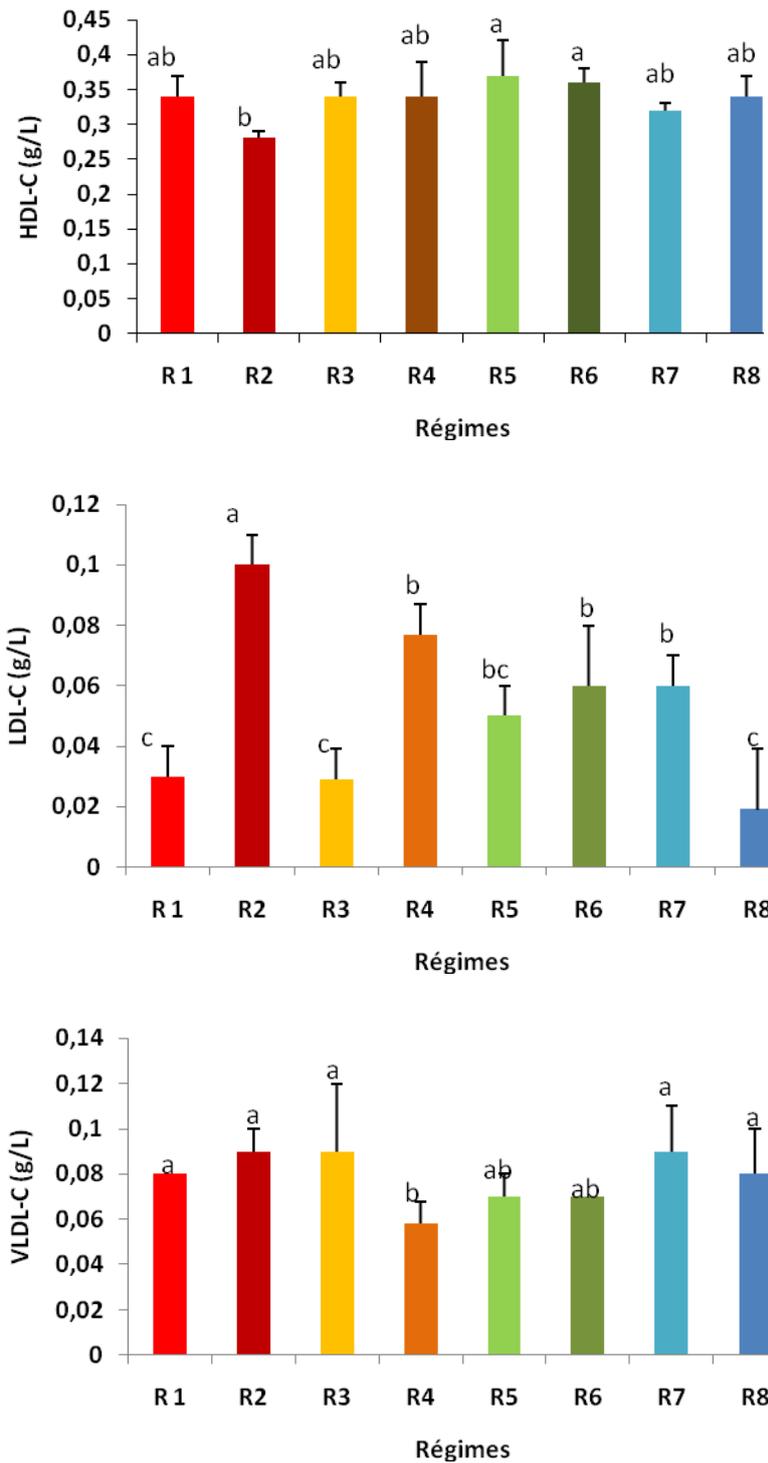


Figure 23: Histogrammes représentant le taux des HDL-C, LDL-C et VLDL-C à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4% d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémentés par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémentés par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8** : Régime HG supplémentés par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

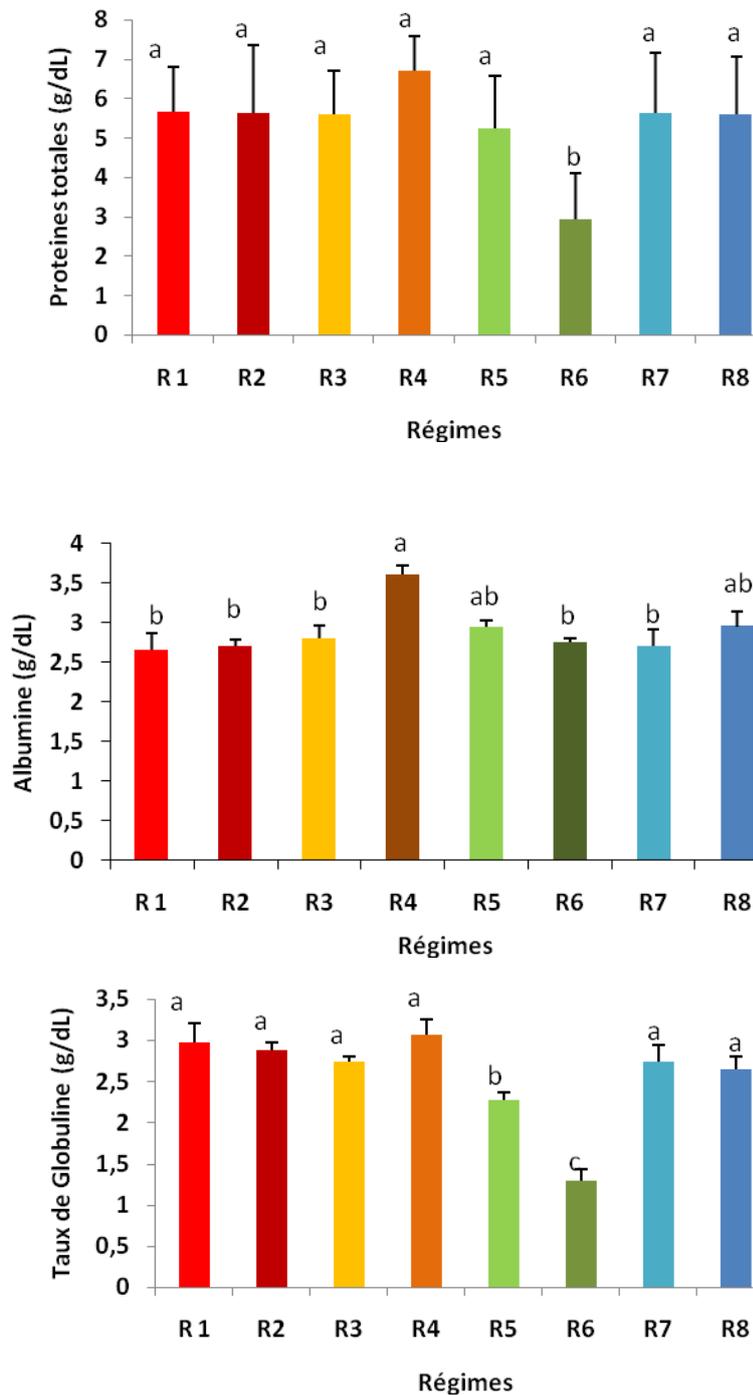


Figure 24 : Histogrammes représentant le taux des protéines totales, albumine et globuline à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4% d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémentés par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

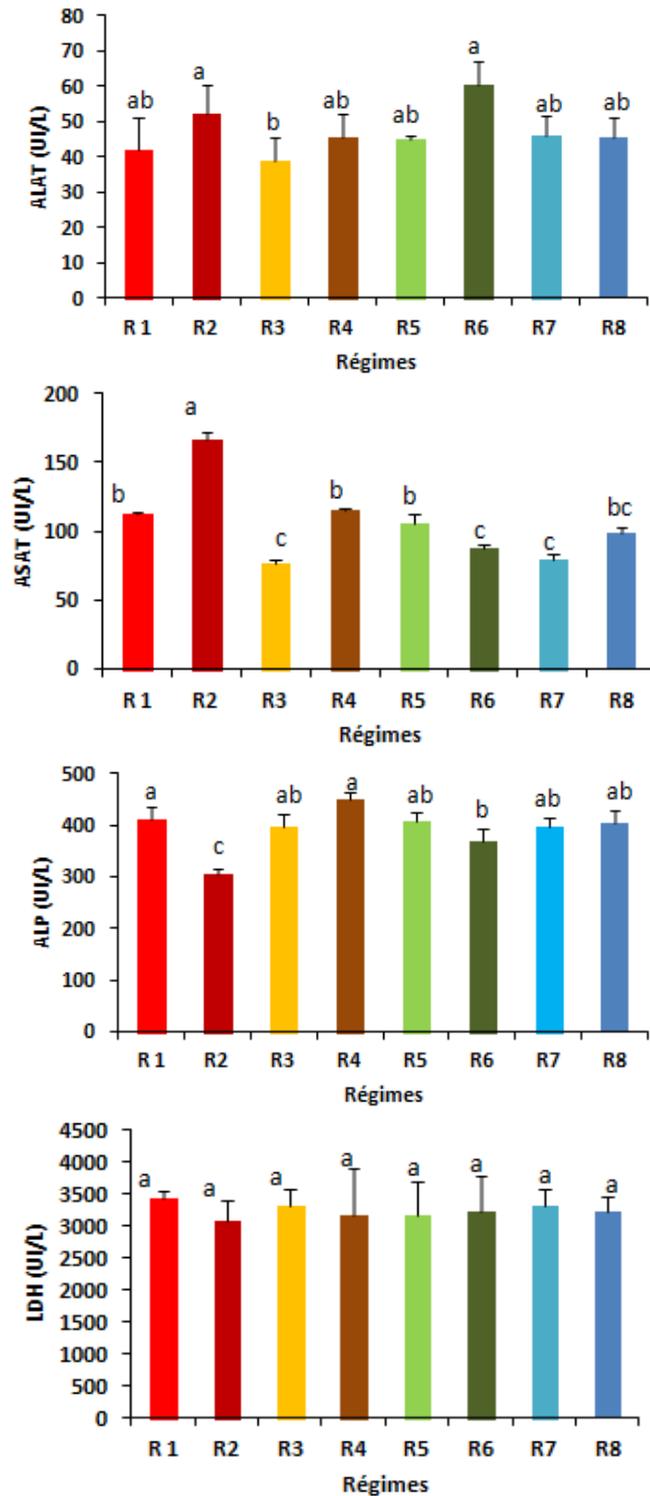


Figure 25 : Histogrammes représentant le taux des enzymes hépatiques (ALAT, ASAT, ALP et LDH) à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

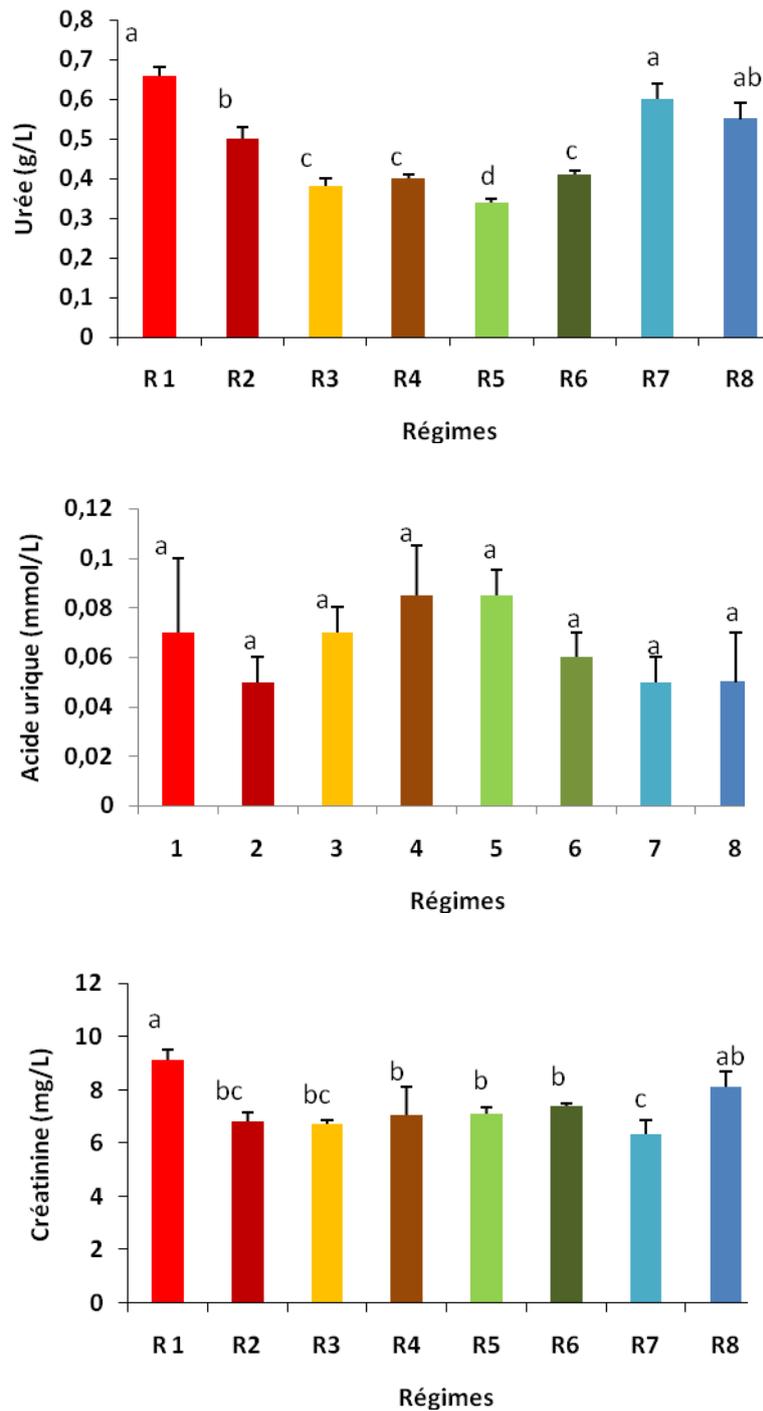


Figure 26 : Histogrammes représentant le taux de l'urée, l'acide urique et de la créatinine à la fin de l'expérimentation pour les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémentés par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Chapitre II: Etude in vivo de l'effet de l'huile de Nigelle sur l'obésité

Résultats et Interprétation

Les taux de calcémie, de magnésémie et de phosphorémie sont représentés dans le **tableau 9** ci-dessous.

On note que la quantité de calcium ne change pas quelque soit le régime. En ce qui concerne la magnésémie, les valeurs obtenues montrent une diminution significative chez les rats ayant reçu un régime à base de 32 % d'huile de tournesol (**R2**) par rapport aux témoins (**R1**). On constate aussi que la magnésémie diminue significativement chez les rats ayant reçus des régimes supplémenté d'huiles de nigelle et d'olive séparément ou associées.

Pour le taux de phosphore plasmatique, une seule diminution significative à été notée pour les témoins ayant reçu 4 % d'huile de tournesol par rapport aux autres lots.

Tableau 9: Effet des différents régimes sur la calcémie, la magnésémie et la phosphorémie.

Régime	Calcémie (mg/dL)	Magnésémie (mg/dL)	Phosphorémie (mg/dL)
R1	7,40 ± 0,21 ^a	3,34 ± 0,07 ^a	3,24 ± 0,99 ^b
R2	5,74 ± 0,98 ^a	2,46 ± 0,53 ^b	6,30 ± 2,3 ^a
R3	8,33 ± 0,39 ^a	1,38 ± 0,18 ^c	4,38 ± 0,55 ^{ab}
R4	7,19 ± 0,09 ^a	1,60 ± 0,04 ^c	5,77 ± 0,11 ^a
R5	6,39 ± 0,16 ^a	1,56 ± 0,23 ^c	5,26 ± 0,9 ^a
R6	6,76 ± 0,80 ^a	1,55 ± 0,26 ^c	5,15 ± 0,11 ^a
R7	7,85 ± 0,51 ^a	1,08 ± 0,04 ^d	4,78 ± 0,15 ^{ab}
R8	7,25 ± 0,91 ^a	1,52 ± 0,05 ^c	4,67 ± 0,10 ^{ab}

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémentés par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive .

Résultats et Interprétation

5. Teneurs en protéines et lipides tissulaires et membranaires

5.1. Teneurs en protéines hépatiques, pancréatique et mitochondriales

Les teneurs en protéines (mg/g de tissu) du foie, du pancréas ainsi que celles de la fraction mitochondriale hépatique sont représentées dans la **figure 27**.

Les teneurs en protéines pancréatiques ne varient pas entre les différents lots de rats quelque soit le régime. On remarque une légère augmentation du taux de protéines chez les rats du régime contrôle par rapport aux autres groupes de rats. Concernant les protéines mitochondriales, on note une augmentation de la teneur chez les rats ayant reçus des régimes hypergras à base d'huiles de tournesol, de nigelle ou d'olive en les comparant au régime témoin isocalorique.

Résultats et Interprétation

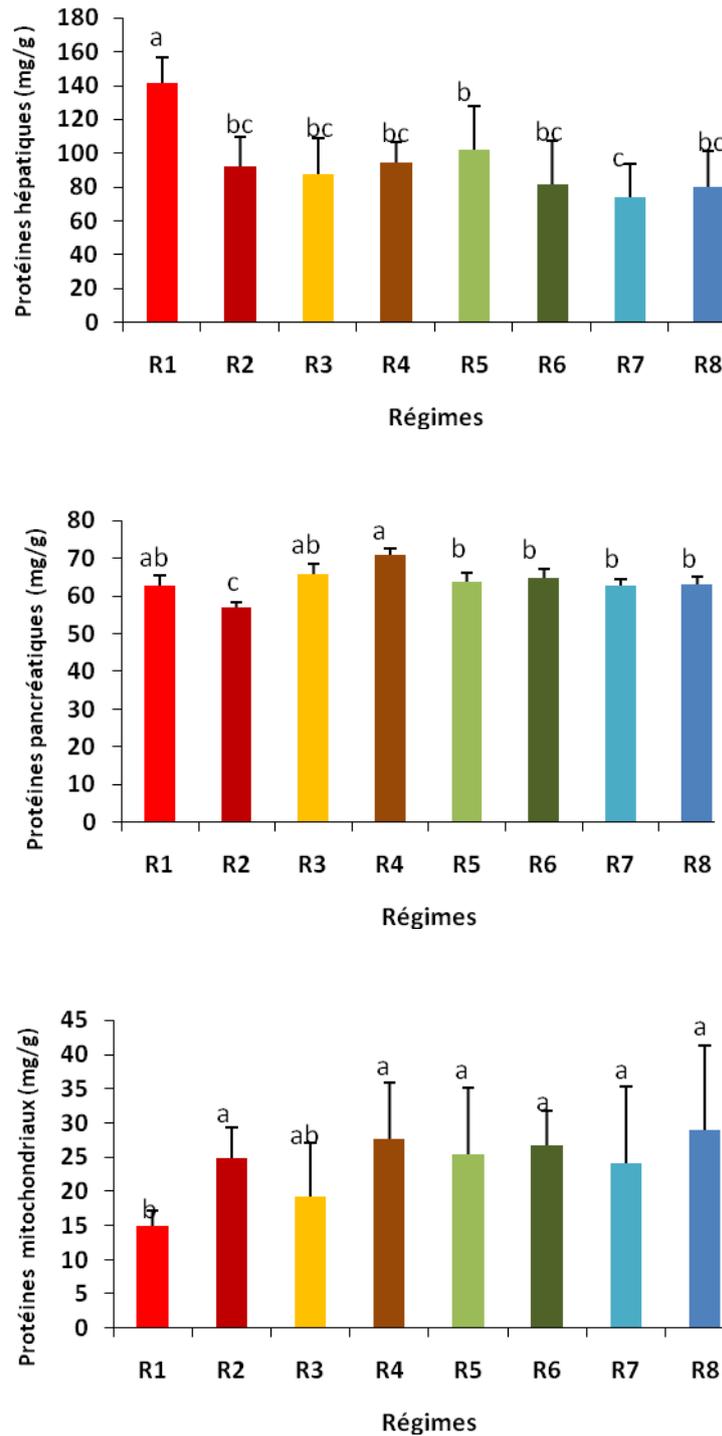


Figure 27 : Histogrammes représentant le taux des protéines hépatiques, pancréatiques et mitochondriales chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

5.2. Teneurs en lipides hépatiques, pancréatique et mitochondriaux

Les teneurs en lipides du hépatiques, pancréatiques et mitochondriaux sont représentés par les **figures 28 à 30**, respectivement.

Une baisse significative a été notée pour les teneurs en lipides totaux hépatiques chez les rats ayant reçus un régime supplémenté par les deux huiles associées (nigelle et olive) (**R8**), par contre pour le pancréas aucune différence n'a été notée chez les différents lots. Concernant les lipides totaux mitochondriaux, seul le groupe de rats ayant reçus l'huile de nigelle (**R4**) a présenté une diminution significative par rapport aux autres groupes.

Chez les rats ayant reçu un régime HG à base d'huile de tournesol, on remarque que la quantité de cholestérol et de triglycérides hépatiques ont fortement augmenté par rapport aux autres groupes, et qu'une diminution significative a été notée chez les rats ayant reçu l'huile d'olive (**R5** et **R6**) suivie par ceux ayant reçu un régime enrichi d'huile de nigelle (**R3** et **R4**) ($p < 0,01$). En ce qui concerne la fraction mitochondriale, le taux de cholestérol a diminué chez les rats traités par l'huile d'olive (**R6**). Pas de changement significatif concernant le pancréas pour ces paramètres.

A la lumière de ces résultats, on remarque que l'effet des huiles de nigelle et d'olive administrées à des rats recevant un régime HG pendant huit semaines, diminue significativement les lipides tissulaires et mitochondriaux, ce qui illustre bien que les deux huiles possèdent un effet protecteur contre les dommages qui peuvent être induits après un stockage excessive de lipides au niveau hépatique et par la conséquence, correcteur de l'activité hépatique et mitochondriale.

Résultats et Interprétation

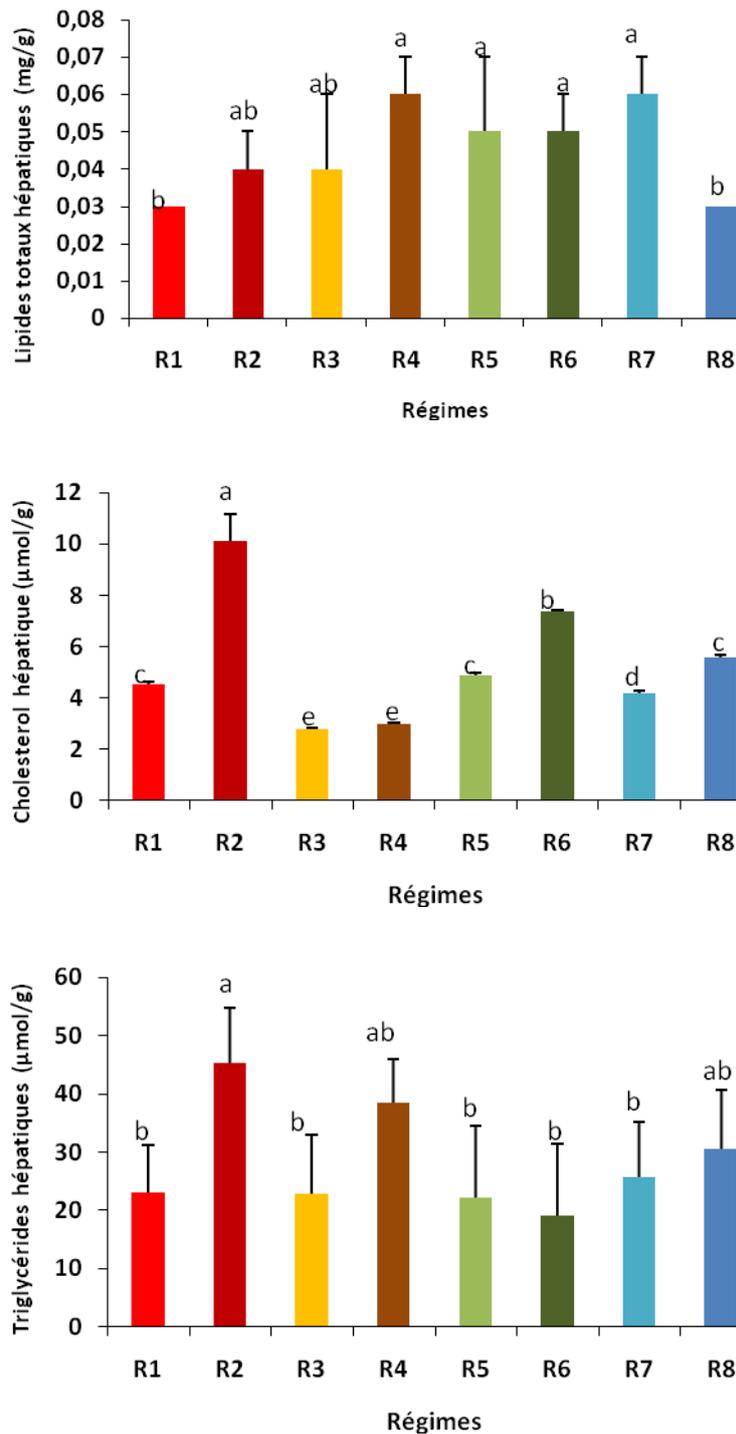


Figure 28 : Histogrammes représentant le taux des lipides hépatiques chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

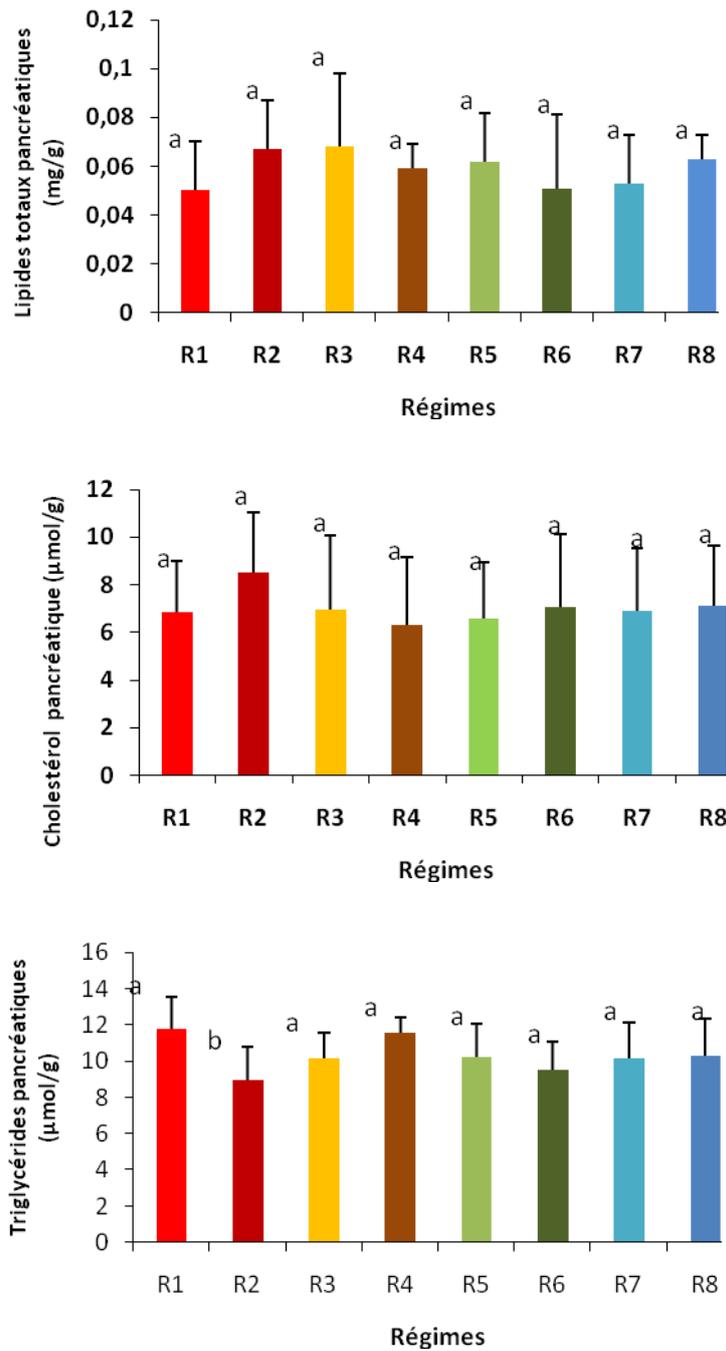


Figure 29 : Histogrammes représentant le taux des lipides pancréatiques chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémentés par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

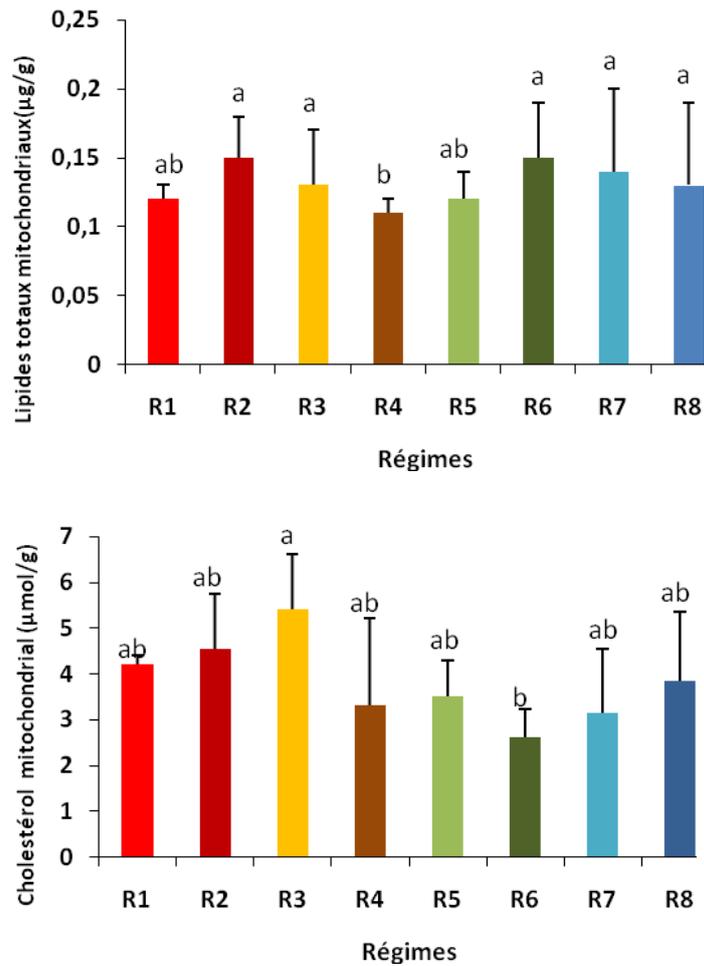


Figure 30 : Histogrammes représentant le taux des lipides mitochondriaux chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

6. Paramètres de la balance oxydante/antioxydante au niveau sérique, hépatique et mitochondriale

6.1. Paramètres de la balance oxydante/antioxydante au niveau plasmatique

La capacité du plasma à absorber 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 d'olive (**R6**) (**Figure 31**).

Les taux des vitamines (A, C et E), du MDA, des hydroperoxydes et des diènes conjugués, des protéines carbonylés et du glutathion réduit plasmatique, ainsi que les activités de la catalase et de la superoxyde dismutase sont représentés dans les histogrammes des **figures 32 à 35**, respectivement.

Nous avons constaté une réduction significative sur les concentrations des vitamines chez les rats obèses comparativement au groupe de contrôle et des groupes traités avec de l'huile fixe de nigelle et l'huile d'olive. Une augmentation significative a été observée dans les niveaux du MDA, des hydroperoxydes, des diènes conjugués ainsi que l'oxydation des protéines dans le groupe HG (**R2**) par rapport au groupe témoin (**R1**) et les groupes de rats supplémentés avec les huiles *N. sativa* et d'olive (**R4** et **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 *de nigelle* 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 à savoir : les vitamines lipophiles A, E et la vitamine C ainsi que les défenses enzymatiques CAT et SOD ont significativement été 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 d'huile de nigelle

Résultats et Interprétation

riche en polyphénols et de quinones actives et d'huiles d'olive riche en tocophérols (voir tableau 3).

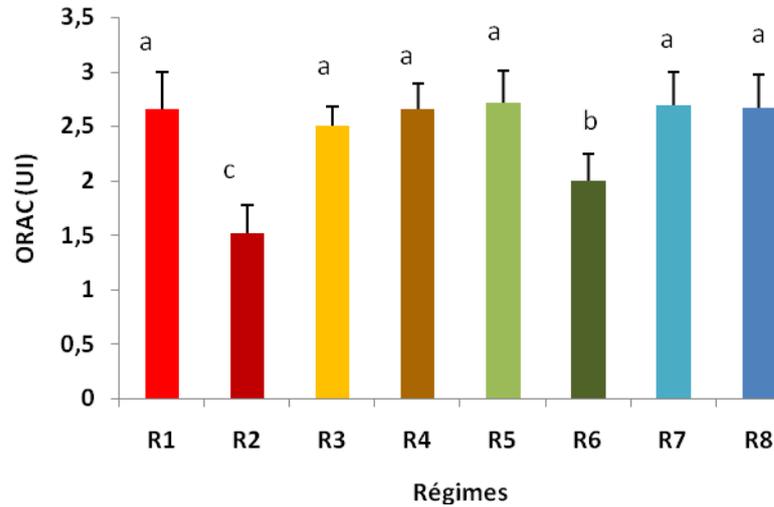


Figure 31: Histogrammes représentant le pouvoir antioxydant du plasma (ORAC) chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

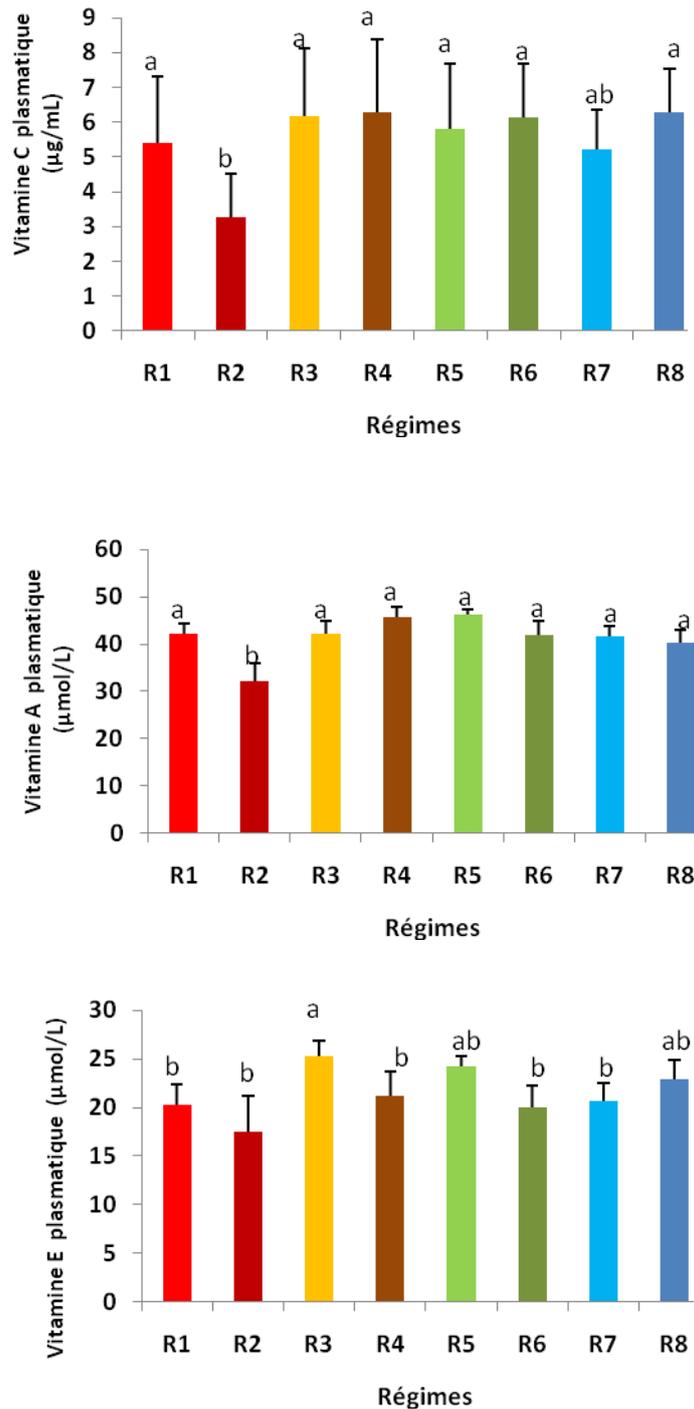


Figure 32: Histogrammes représentant des vitamines A, E et C chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémentés par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémentés par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8** : Régime HG supplémentés par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

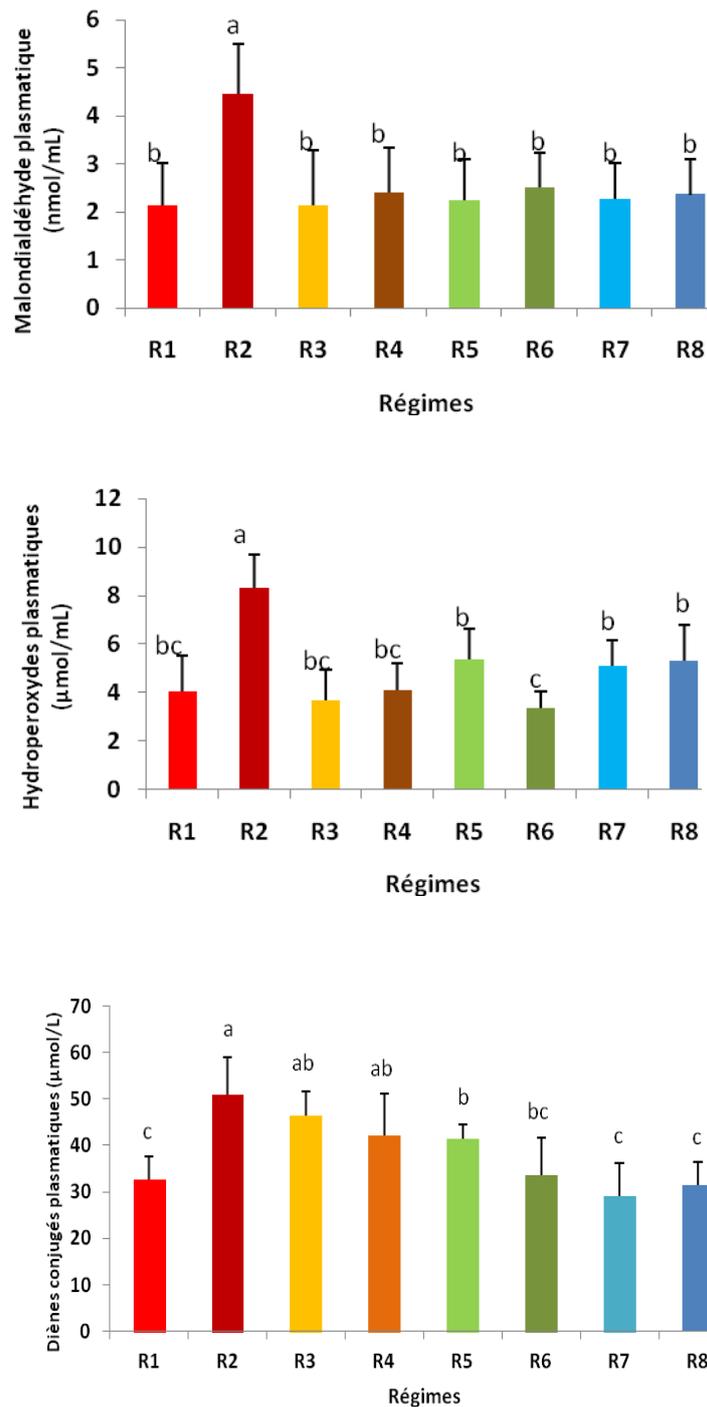


Figure 33: Histogrammes représentant du Malondialdéhyde (MDA), des hydroperoxydes, diènes conjuguées plasmatiques chez les rats ayant reçu les différents régimes.

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).

R 1 : Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2% d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

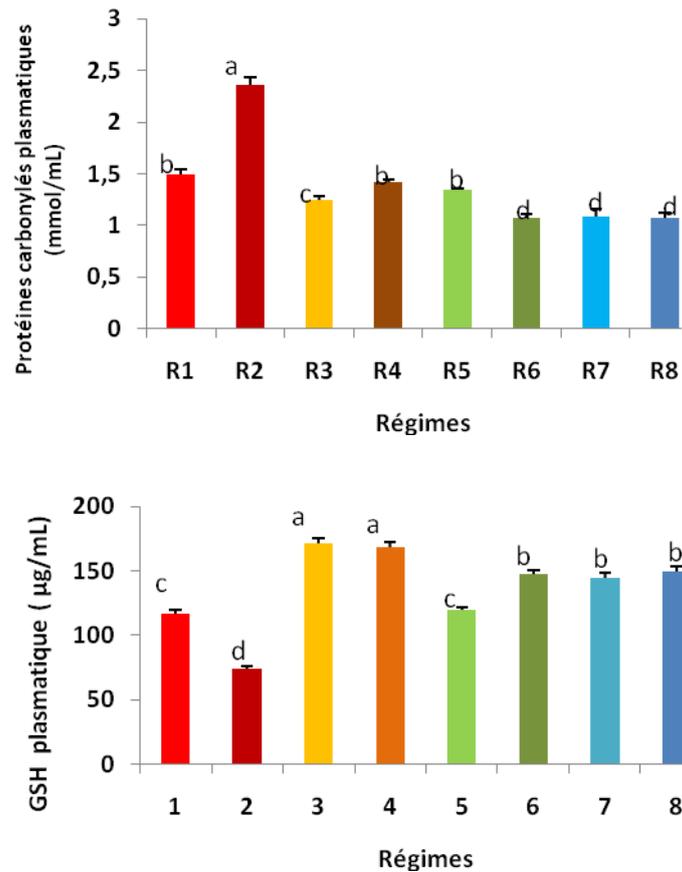


Figure 34: Histogrammes représentant des protéines carbonylées et du glutathion réduit (GSH) plasmatiques chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

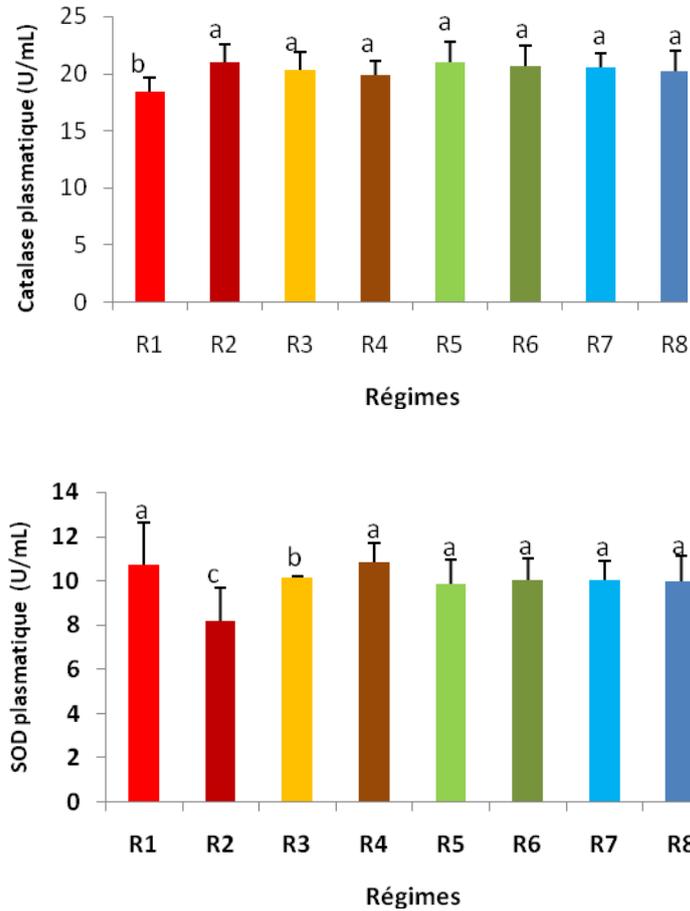


Figure 35: Histogrammes représentant de la catalase et la superoxyde dismutase (SOD) plasmatiques chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

6.2. Paramètres de la balance oxydante/antioxydante 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 36 à 38**, respectivement.

Nous avons constaté une augmentation significative des teneurs en glutathion réduit chez les rats témoins et obèses ayant reçu l'huile de nigelle (**R3** et **R4**) ainsi qu'aux groupes **R7** et **R8** comparativement aux groupes contrôle (**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 RHG (**R2**) par rapport au groupe témoin (**R1**) et les groupes de rats supplémentés avec les huiles *N. sativa* et d'olive (**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 l'huile *NS* et l'huile d'olive 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 ayant reçu un mélange équivalent d'huile de nigelle et d'huile d'olive (**R7** et **R8**).

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

Résultats et Interprétation

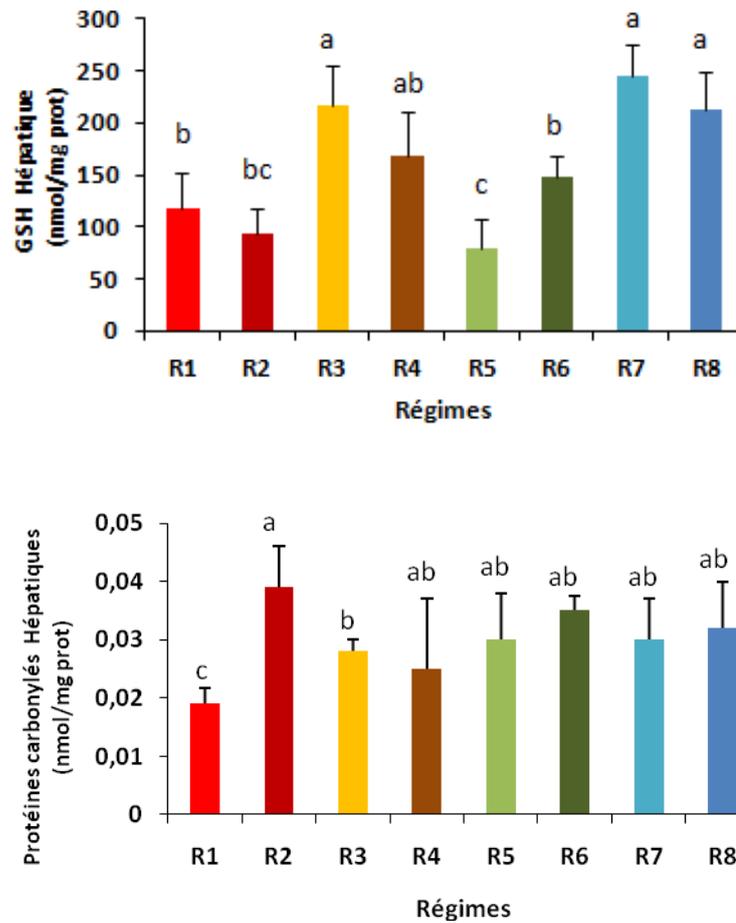


Figure 36: Histogrammes représentant la glutathion réduit (GSH) et les protéines carbonylés hépatiques chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1: Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

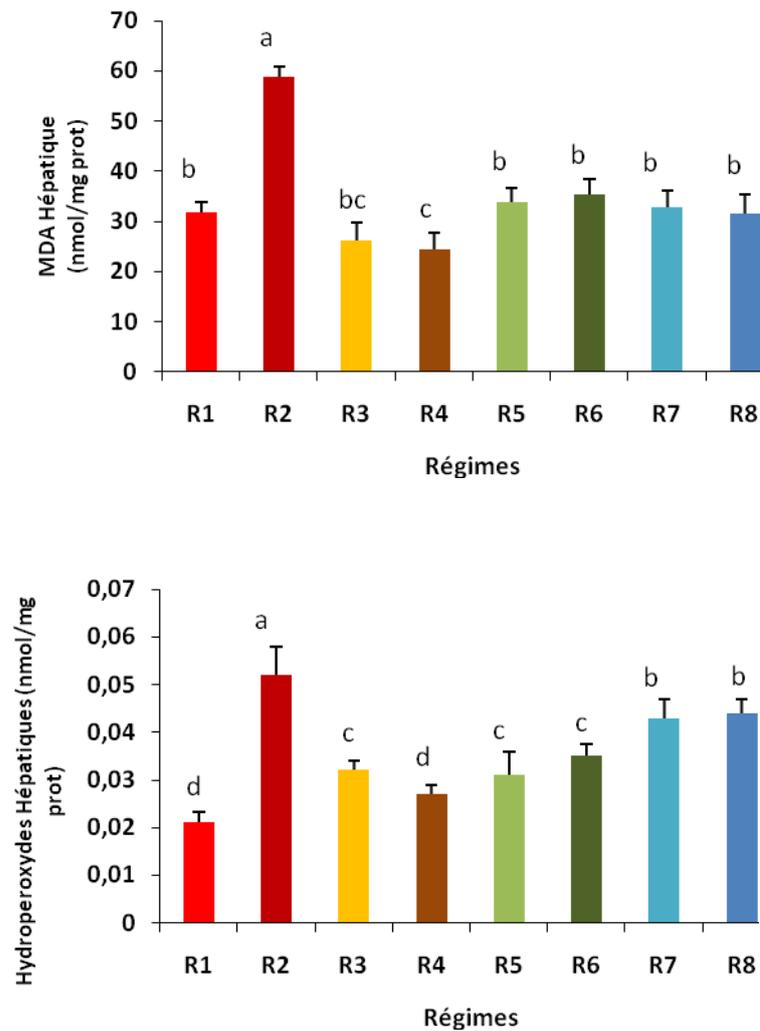


Figure 37: Histogrammes représentant du malondialdéhyde (MDA) et des hydroperoxydes hépatiques chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ES.

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

R 1: Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2% d'huile d'olive ; **R8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2% d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

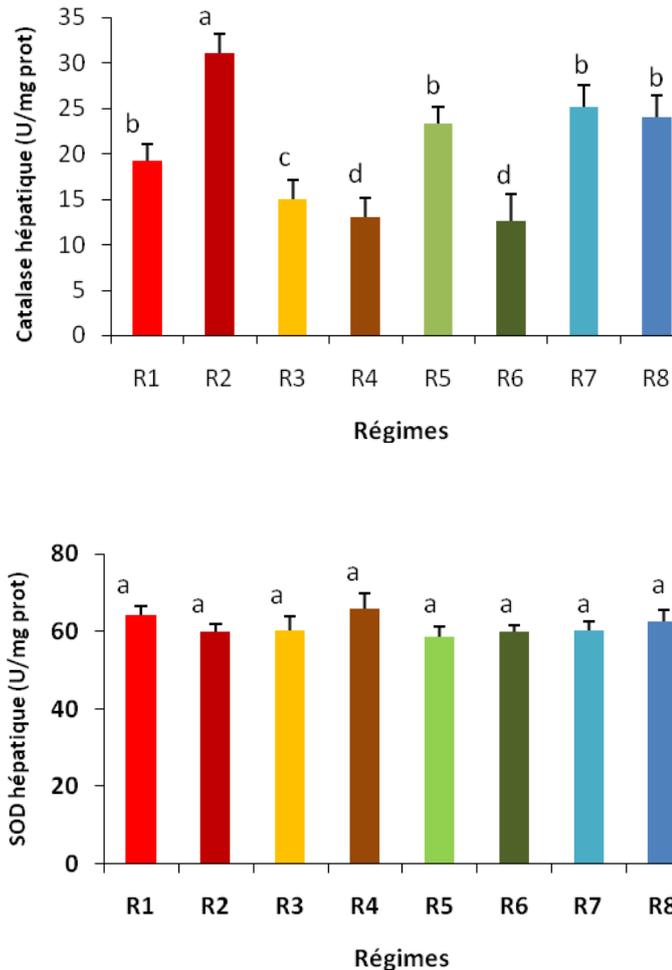


Figure 38: Histogrammes représentant de la catalase et la superoxyde dismutase (SOD) hépatiques chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

6.3. Paramètres de la balance oxydante/antioxydante au niveau mitochondriale

Le taux du glutathion réduit (GSH) et des protéines carbonylés mitochondriaux, du MDA, des hydroperoxydes et des diènes conjugués (DC) ainsi que les activités de la CAT et de la SOD sont représentés par les **figures 39 à 41**, respectivement.

On observe d'après ces résultats, une baisse significative des concentrations du GSH chez les rats obèses ayant reçu l'huile de tournesol à 32 % (**R2**) comparativement au groupe contrôle (**R1**) et aux autres groupes traités avec de l'huile fixe de nigelle et l'huile d'olive.

Nous avons constaté que le régime HG a agit de la même manière en augmentant significativement le taux des trois marqueurs de la peroxydation lipidique à savoir : le MDA, les hydroperoxydes et les DC.

On note aussi que les taux du MDA, des protéines carbonylées ainsi que les hydroperoxydes sont accentués chez le groupe RHG (**R2**) par rapport au groupe témoin (**R1**) et les groupes de rats supplémentés avec les huiles *N. sativa* et d'olive (**R4** et **R6**).

L'activité de la SOD se révèle significativement plus réduite ($p < 0,05$) chez les rats alimentés avec un régime hypergras (**R2**). Aucune différence n'a été perçue entre les groupes recevant les deux huiles nigelle et olive.

Résultats et Interprétation

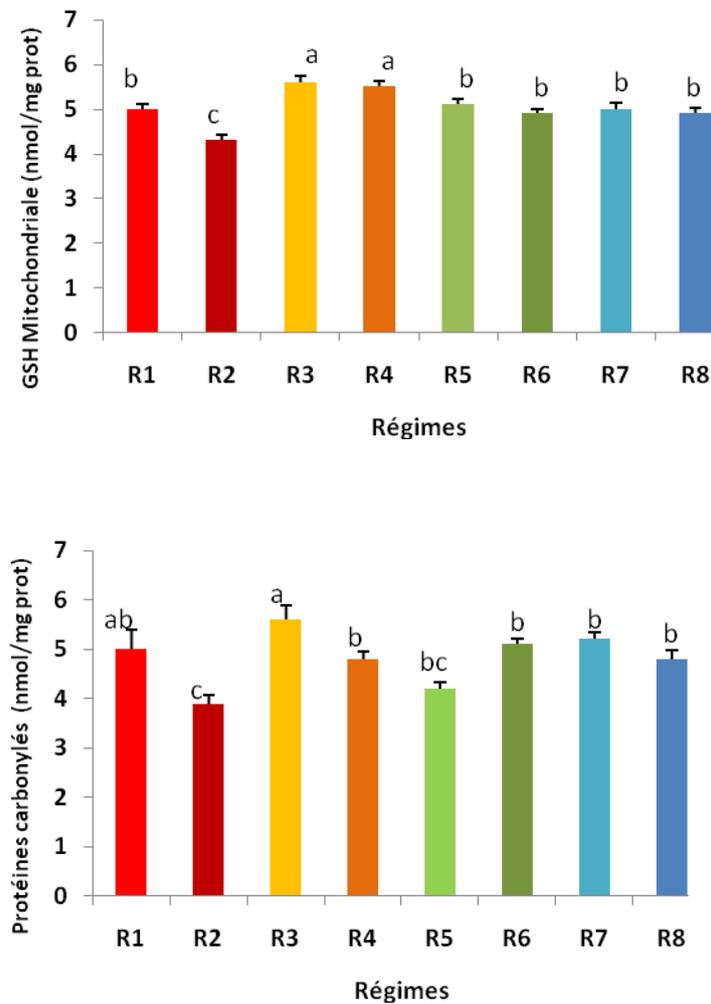


Figure 39: Histogrammes représentant du glutathion réduit (GSH) et les protéines carbonylées mitochondriales chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8** : Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

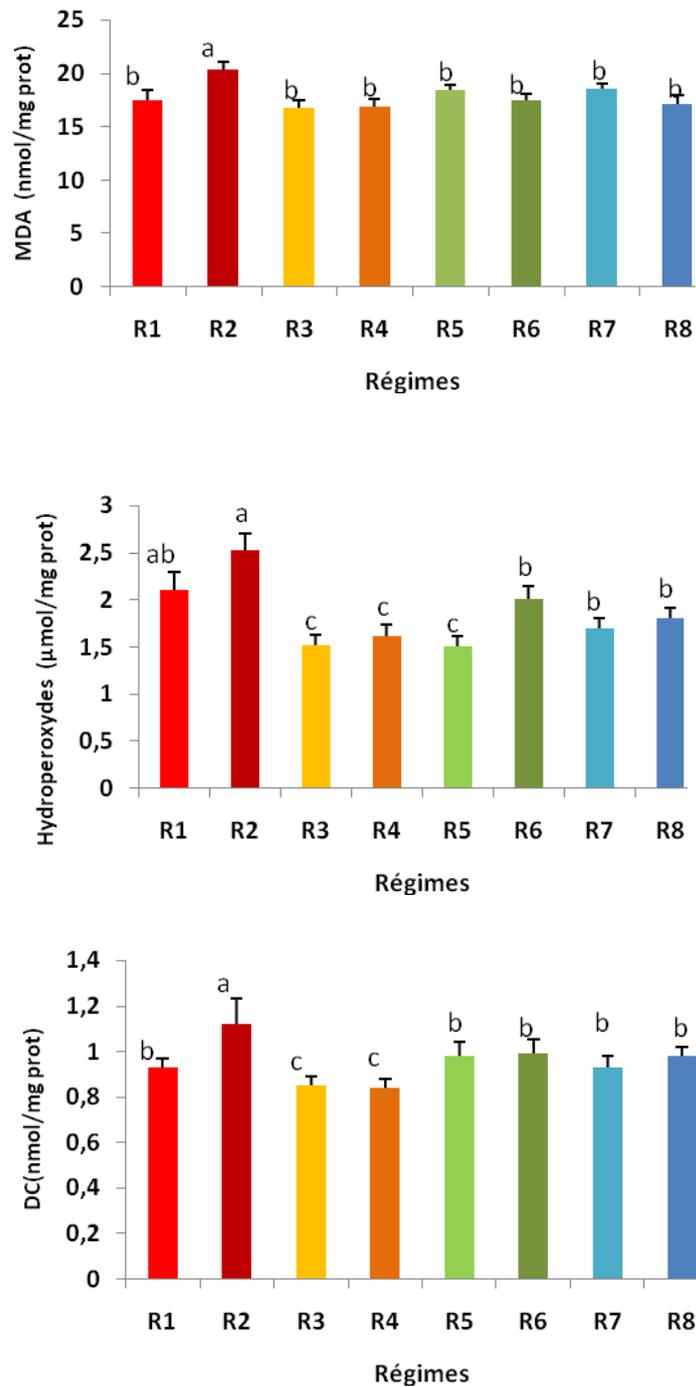


Figure 40: Histogrammes représentant du malondialdéhyde (MDA), des hydroperoxydes et des diènes conjuguées (DC) mitochondriaux chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2 :** Régime HG ; **R 3 :** Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle ; **R 5 :** Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6 :** Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7 :** Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8 :** Régime HG supplémenté par 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Résultats et Interprétation

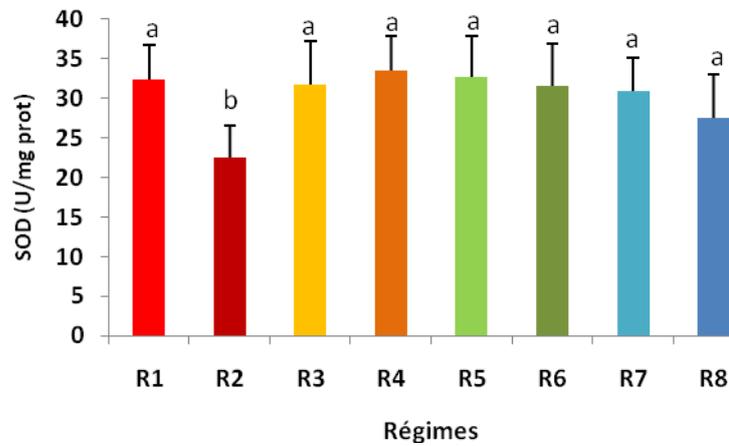


Figure 41: Histogramme représentant la superoxyde dismutase (SOD) mitochondriale chez les rats ayant reçu les différents régimes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ES.

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

R 1 : Régime standard ; **R 2** : Régime HG ; **R 3** : Régime à base de 4 % d'huile de nigelle ; **R 4** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile de nigelle de nigelle ; **R 5** : Régime à base de 4 % d'huile d'olive ; **R 6** : Régime HG supplémenté par 4 % d'huile d'olive ; **R 7** : Régime à base de 2 % d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive ; **R 8** : Régime HG supplémenté par 2% d'huile de nigelle + 2 % d'huile d'olive.

Discussion

Discussion

Notre société est confrontée à des taux croissants de maladies dites métaboliques telles que l'obésité, le diabète, l'hypertension et les pathologies cardiovasculaires (OMS, 2000). Cette situation reflète le contexte environnemental actuel qui est caractérisé par une prise alimentaire excessive et un style de vie sédentaire (Manco *et al.*, 2004). L'augmentation concomitante de la prévalence du diabète de type 2 constitue un risque majeur pour la santé et ce, tant dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement (Bosello *et Zamboni*, 2000). Alors que, les maladies cardiovasculaires représentent la première cause de mortalité à l'échelle mondiale (OMS 2006). Chez l'adulte, ces risques cardiovasculaires sont augmentés chez les patients porteurs d'un syndrome métabolique (SM) défini par Reaven en 1988 comme l'association d'une obésité abdominale, d'une résistance à l'insuline, d'une hypertension artérielle (HTA) et d'une dyslipidémie (hypo HDL cholestérolémie ou hypertriglycéridémie) (Maisonneuve *et al.*, 2009 ; Reaven, 1988).

En effet, quelle que soit la valeur pronostique de ces anomalies et de leurs complications syndromiques, il a été confirmé que leur prévalence est corrélée au degré d'obésité, et cela quelque soit l'âge; c'est donc à l'obésité, et pas aux autres anomalies métaboliques que la prise en charge doit accorder le plus d'importance (Maisonneuve *et al.*, 2009). De ce fait, la recherche de nouvelles stratégies de prévention et de lutte contre cette maladie est devenue d'une première nécessité.

Les cibles potentielles sont nombreuses; la génétique intervient comme facteur de prédisposition aux effets de l'environnement (Pérusse P. 2004 ; Basdevant A. 2008 ; Tremblay A *et* Doucet E. 2000). Mais, la génétique ne permet pas d'expliquer la spectaculaire progression de la prévalence de la maladie sous l'influence des évolutions de la société. Les comportements alimentaires jouent un rôle également important (Basdevant A. 2008). L'augmentation des apports alimentaires peut résulter d'une variété de causes; disponibilité et palatabilité des aliments, convivialité, habitudes culturelles et des troubles du comportement alimentaire (Basdevant A. 2006).

Discussion

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 A. 2006).

Le système alimentaire est au cœur de la discussion, notamment la part des lipides du point de vue qualitatif et quantitatif. Plusieurs arguments indiquent une responsabilité des lipides alimentaires du fait de leur faible capacité à promouvoir leurs oxydations ou d'un faible effet rassasiant (Horvath TL. 2005). Pour cela, il est recommandé de la part de plusieurs organisations sanitaires de limiter autant que possible la consommation journalière de matières grasses (Delplanque B *et al.*, 2002).

D'autre part, il est à noter que tous les acides gras n'apparaissent pas équipotents pour stimuler le développement du tissu adipeux; certains dits spécifiques ont le pouvoir d'affecter le métabolisme cellulaire, modifiant ainsi l'équilibre entre l'oxydation d'autres acides gras et la lipogenèse (Ailhaud *et al.*, 2002 ; Galgani *et al.*, 2008)..

Afin de pouvoir étudier l'impact de ces AG sur la prévention de l'installation de l'obésité ou la réduction de ses risques, nous avons essayé d'introduire l'huile de nigelle (riche en acides gras insaturés) dans des régimes alimentaires et de tester son effet régulateur et/ou protecteur probable sur le profil lipidique des rats mâles de souche Wistar rendus obèses par des régimes hyperlipidiques. On a aussi pu comparer l'effet de cette huile à l'effet de l'huile d'olive et aussi l'effet synergique probable qui peut en résulter entre ces deux huiles comestibles.

Parmi les méthodes actuellement disponible pour favoriser l'obésité chez le rat est l'induction de celle-ci par un régime hypergras (HG), régime très riche en énergie (hypercalorique). L'obésité induite par le régime hypergras est due uniquement à la suralimentation, et donc l'interprétation des changements métaboliques observés est

Discussion

plus facile, car ils ne sont pas marqués par d'autres anomalies associées à l'obésité d'origine génétique.

En effet, un régime hypergras chez des rats en croissance au cours des huit semaines d'expérimentation a favorisé un gain de poids d'environ 32% par rapport aux rats nourris par un régime isocalorique. 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 associée à l'augmentation du poids du tissu adipeux et son enrichissement en lipides. Cette obésité est associée à des altérations des métabolismes glucidiques, lipidiques et protéiques similaires à celles observées au cours de l'obésité chez l'humain (Kopelman, 2000).

La prise de poids excessive peut résulter d'un apport énergétique élevé résultant de la densité calorique élevée en matières grasses des aliments enrichis ou d'une panne de la capacité à oxyder les graisses chez les rats obèses (Lichtenstein *et al.*, 1998).

L'augmentation de l'apport énergétique est un déterminant important dans la genèse de l'obésité. Cet apport pourra provenir d'une augmentation importante de la quantité d'aliments ou la consommation d'une alimentation à haute densité énergétique. Les principaux déterminants de la densité énergétique d'une consommation alimentaire sont les lipides. Les lipides forment un élément qui a le plus d'impact sur la satiété et la prise de poids. Il est bien établi qu'une alimentation à haute densité énergétique, riche en graisses diminue la satiété et la sensation de faim et augmente le poids corporel.

D'autre part, lorsque la densité de l'énergie alimentaire est suffisamment élevée pour couvrir les besoins énergétiques, une augmentation de la densité d'énergie par des supplémentations de l'alimentation avec de la graisse ou d'hydrate de carbone peut se traduire par une carence en éléments nutritifs. Cela se produit parce que l'animal

Discussion

s'arrête généralement de manger quand son besoin en énergie a été atteint. En outre, non seulement la densité d'énergie de l'alimentation et la capacité du tractus gastro-intestinal influence la prise alimentaire, mais l'apport réduit est aussi communément observé en état de carence (Haut *et Schapiro*, 2011).

Plusieurs études ont montré que chez les rats un régime à forte teneur en graisses entraîne une prolifération cellulaire accrue dans le tissu adipeux et affecte considérablement la physiologie et l'utilisation intestinales des lipides et favorise l'obésité par hyperphagie (Petit *et al.*, 2007). L'induction de l'hyperphagie est une conséquence de l'effet obésogène d'un régime HG via un certain nombre de mécanismes différents, y compris l'altération de l'activation induite par les lipides de la voie afférente vagale (Savastano *et Covasa*, 2005).

Effectivement, la satiété, processus physiologique de cessation de repas, est médiée principalement par des signaux de rétroaction provenant de l'appareil gastro-intestinal. Une possibilité est que le mécanisme de la satiété induite par les graisses pourraient être modifiée en réponse à l'ingestion chronique de matière grasse 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. Un des signaux de satiété est la cholécystokinine (CCK), dont les effets sur la consommation de nourriture sont diminués chez les rats adaptés à un régime HG (Savastano *et Covasa*, 2005).

Ces résultats s'expliquent aussi par le fait que les régimes riches en graisses sont riches en acides gras saturés (AGS) qui sont considérés comme composés favorisant le développement du tissu adipeux (Pérez-Matute *et al.*, 2007). Ils jouent un rôle important dans la différenciation adipocytaire analysée *in vitro* par des études utilisant la culture de cellules préadipocytaires et/ou des biopsies de tissu adipeux chez l'homme ou le rongeur (Walrand *et al.*, 2010). En effet, les AG naturels se comportent comme de véritables hormones « adipogéniques »; ils stimulent la différenciation des préadipocytes en augmentant la transcription de gènes cibles dont les produits

Discussion

(enzymes) participent alors à la synthèse et à la mobilisation des lipides dans l'adipocyte.

Ainsi, lors d'un apport lipidique accru sur le long terme, l'hypertrophie (accumulation des graisses dans l'adipocyte) et sous l'effet de l'activation de certains facteurs de transcription qui régulent la différenciation adipocytaire par quelques hormones (insuline, IGF1 et glucocorticoïdes) et sous le contrôle des acides gras, il y a recrutement de nouveaux adipocytes à partir de pré-adipocytes (Moreno-Navarrete *et* Fernández-Real, 2012). Il a été établie que les acides gras naturels et certains de leurs métabolites comme les prostacyclines se comportaient comme de véritables hormones sur les pré-adipocytes de rongeurs mais également humaines, ce qui démontre le lien conceptuel entre la prise de régime hyperlipidique et la formation excessive d'adipocytes (Vassaux *et al.*, 1992).

D'autre part, on a montré les effets bénéfiques des acides gras polyinsaturés, en raison de la présence de doubles liaisons se terminant avec une faible énergie suivant leur oxydation (Garton, 2009). L'oxydation de l'acide oléique à est plus rapide que celle de l'acide linoléique et l'augmentation des acides gras polyinsaturés (AGPI) induit une diminution de la masse de tissu adipeux et empêche le développement de l'obésité par rapport aux acides gras mono-insaturés (AGMI) et les AGS (Liao *et al.*, 2010).

Parmi ces AG naturels ; l'acide linoléique que contient l'huile de tournesol conduisant à la synthèse de l'acide dihomog- γ -linoléique (DGLA) puis de l'acide arachidonique (ARA) et son métabolite, la prostacycline, favorisant ainsi la différenciation des préadipocytes en adipocytes et contribuent au développement du tissu adipeux (Pérez-Matute *et al.*, 2007). L'acide linoléique accentuerait ainsi la prise de poids (Scholtens *et al.*, 2009).

Pa contre, les résultats obtenus ont montré une diminution du poids corporel important qui peut également être expliqué par l'important rapport AGPI/AGS qui est égal à 2,92, 0,85 et 0,71 dans l'huile *N. sativa*, l'huile d'olive et l'huile de tournesol, respectivement. En fait, un rapport de haute qualité AGPI/AGS constitue un

Discussion

déterminant important pour la prévention de l'obésité induite par régime hyperlipidique. Liao et ses collaborateurs (2010) ont rapporté des résultats similaires aux nôtres chez les hamsters nourris avec un régime à faible rapport AGPI/AGS, ce qui a augmenté le gain de poids et soutenu l'accumulation de graisse, alors qu'un rapport AGPI/AGS élevé semble être bénéfique dans la prévention accumulation du tissu adipeux blanc en augmentant l'activité des enzymes lipolytiques hépatiques impliquées dans la β -oxydation.

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 de la thermogénèse post prandiale, d'où l'effet protecteur vis-à-vis de l'obésité (Couet *et al.*, 1997, Van Marken Leichtenbelt *et al.*, 1997).

On pense que la qualité des AGS dans l'huile de nigelle (HN) peut jouer un rôle aussi important même si en quantité un peu plus élevée que celle de l'huile d'olive; car il a été bien décrit que les AGS peuvent influencer différemment le métabolisme lipidique dans l'organisme selon leur nature et la longueur de leur chaîne carbonée; par exemple l'acide palmitique montre plusieurs effets néfastes contrairement aux autres AGS comme l'acide stéarique et l'acide myristique (Dubois *et al.*, 2007).

Nos résultats ont montré une diminution significative du développement de l'hyperglycémie et de l'hyperlipidémie (taux de cholestérol sérique total et triglycérides et du HDL-cholestérol) dans les groupes traités avec la *N. sativa* et l'huile d'olive par rapport au groupe obèse à base d'huile de tournesol.

Le profil lipidique et la glycémie viennent confirmer que l'huile fixe de *N. sativa* ainsi que l'huile d'olive possèdent des effets métaboliques remarquables. Additionnellement, dans l'étude menée par Houcher *et al.*, (2007), les auteurs ont mentionné que l'huile extraite des graines de nigelle cause une importante diminution de la glycémie. Cet effet hypoglycémiant peut être expliqué soit par l'inhibition de l'absorption intestinale, soit par l'inhibition des enzymes clés de la néoglucogénèse hépatique, ou par la stimulation de la sécrétion de l'insuline ou par la sensibilité des

Discussion

tissus à l'action de l'insuline, ce qui est confirmé dans nos résultats par le score de HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance) et l'indice OGIS (Oral glucose insuline sensitivity).

La notion de sensibilité à l'insuline concerne plusieurs tissus dits insulino-sensibles : le foie, le tissu adipeux et le muscle squelettique. L'insuline permet notamment la suppression de la production hépatique de glucose, l'inhibition de la lipolyse et l'utilisation musculaire du glucose (Disse *et al.*, 2013). Dans le tissu adipeux, elle inhibe l'action de la lipase hormono-sensible favorisant le stockage des graisses dans les adipocytes et réduisant le déversement d'acides gras libres dans la circulation. Elle freine, par un effet direct la production hépatique de VLDL. Par ailleurs, l'insuline est un puissant activateur de la lipoprotéine lipase, favorisant ainsi le catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides (Chylomicrons, VLDL) secondairement, à une réduction des LDL circulantes et des dyslipidémies athérogènes (Vergès, 2001). L'insulinorésistance correspond donc généralement à l'altération de ces différentes fonctions.

La biosynthèse des triglycérides utilise le glucose et les acides gras libres (AGL) comme substrat. En situation d'insulino-résistance, la concentration élevée d'AGL dans le sang portal est corrélée à un taux élevé de production des VLDL (Vergès, 2001).

La sensibilité à l'insuline est aussi positivement corrélée au taux de graisse viscérale et négativement à l'absorption intestinale du cholestérol (Taverne *et al.*, 2013). Chez l'animal, la carence en insuline se traduit par une réduction de l'inhibition de l'ACAT (AcylCoA Cholestérol Acyl Transférase) au sein des HDL et donc par une augmentation de synthèse et de sécrétion de cholestérol estérifié par l'anthérocyte. Cet effet est lié à la perte de l'effet positif de l'insuline sur le catabolisme des LDL, et donc apparaît une diminution importante du HDL-cholestérol (Vergès, 2001).

La sécrétion d'insuline de base permet l'obtention d'un taux constant d'insuline qui reflète la sensibilité à l'insuline. Il a en effet été montré que l'insulinémie à jeun est un bon marqueur de l'insulino-résistance (IR) (Haffner *et al.* 1996).

Discussion

L'élévation du poids et de la taille, la présence de valeurs tensionnelles élevées, l'hypertriglycémie et l'hypoHDLémie ainsi que l'élévation de la glycémie à jeun au dessus de la normale sont des éléments clinico-biologiques simples inclus dans le syndrome métabolique permettant de dépister, chez l'homme, la présence d'une IR. De plus, les critères du syndrome métabolique ne permettent pas d'accéder à une mesure quantitative de l'IR, ce qui peut être nécessaire pour le suivi évolutif de l'efficacité d'un traitement. Par ailleurs, en expérimentation animale, il n'existe pas de critères cliniques permettant le dépistage de la résistance à l'insuline et seule une mesure quantitative sera pertinente.

Mesurer de manière fiable la sensibilité à l'insuline chez l'homme, comme chez l'animal, est possible grâce à la technique de référence, le clamp euglycémique hyperinsulinémique. Le clamp permet, en fonction de la dose de l'insuline perfusée, et de la méthodologie utilisée et des paramètres mesurés, une quantification de la sensibilité à l'insuline du corps entier, mais également spécifiquement du tissu adipeux, du foie et du muscle squelettique. Le coût et la difficulté de mise en place de la technique du clamp (test de plusieurs heures nécessitant deux abords veineux) limitant son utilisation en routine, et même en recherche expérimentale (Diss *et al.*, 2013), en plus qu'elle est difficilement utilisable de façon chronique chez l'animal (Henri, 2006).

Ainsi depuis plus de 25 ans, de multiples méthodes alternatives ont été développées pour permettre de quantifier plus simplement la sensibilité à l'insuline. Ces méthodes sont des index composites utilisant des valeurs biologiques basales ou stimulées (fréquemment la glycémie et l'insulinémie) et parfois des paramètres anthropométriques (Muniyappa *et al.*, 2008 ; Diss *et al.*, 2013).

En effet, à partir de la glycémie (en mmol/L) et de l'insulinémie (en U/mL) on peut calculer le score de HOMA-IR qui nous permet de prédire l'insulino-résistance (Matthews *et al.* 1985). Le score de HOMA (*Homeostasis Model Assessment*) est l'index le plus utilisé pour caractériser les anomalies de la sensibilité à l'insuline et de la sécrétion d'insuline. Le score de HOMA-IR est

Discussion

efficace pour évaluer l'IR chez des personnes ayant une intolérance au glucose ou un diabète modéré (Hammoud, 2012).

La corrélation entre les valeurs du HOMA et les résultats obtenus par le clamp euglycémique hyperinsulinémique n'est pas très élevée ($R = 0,34-0,40$) mais ceci peut être en partie expliqué par le fait que l'Index HOMA et le clamp euglycémique hyperinsulinémique ne font pas référence aux mêmes domaines de la sensibilité à l'insuline. A jeun, l'effet de l'insuline plasmatique est plus important sur l'inhibition de la production hépatique de glucose que sur son utilisation périphérique : l'index HOMA reflète donc surtout l'insulino-résistance hépatique (Henri, 2006).

Il a été montré dans plusieurs études que le score de HOMA-IR est bien corrélé à la sensibilité à l'insuline estimée par d'autres méthodes. L'OGIS (Oral glucose insuline sensitivity) est l'un des index qui sont significativement corrélés à la méthode du clamp ($R=0,77$, $P<0,0001$) reflétant ainsi efficacement la sensibilité à l'insuline (Mari *et al.*, 2001).

Nos résultats peuvent être expliqués par le fait que l'augmentation de l'insulinémie correspond à une réaction d'adaptation de la cellule béta pancréatique, pour maintenir tout au moins initialement l'homéostasie glucidique face à un état de diminution de la sensibilité de l'organisme à l'effet de l'insuline. Mais l'hyperproduction de l'insuline par le pancréas n'explique pas à elle seule l'hyperinsulinisme de l'obèse. D'autres travaux suggèrent que l'insuline sécrétée *via* la voie portale, est moins extraite par le foie chez les individus obèses. Enfin, la réduction pondérale chez l'obèse est corrélée à celle de l'insulinémie et l'insulino-résistance. Ceci peut être expliqué par le fait qu'un hyperinsulinisme primaire conduit à l'insulino-résistance (IR), qui à son tour accentue l'hyperinsulinisme et réduit d'autant plus le nombre des récepteurs exprimés à la surface des cellules et donc accroît les effets lipogéniques de l'insuline et ainsi le degré d'obésité (Vergès, 2001).

En même temps, la présence de la thymoquinone (TQ), telle que détectée par la HPLC à la concentration de $6,01 \pm 0,54$ mg / g d'huile de graines de *N. sativa*, peut être une autre explication de l'effet de correction du niveau de glycémie.

Discussion

Plusieurs recherches scientifiques réalisées sur *N. sativa* sont consacrées à la mise en valeur de l'activité antidiabétique et hypolipémiante de l'huile et la TQ issue de la graine de cette plante. Les travaux de Fararh *et al.*, (2005) ont révélé que la TQ exerçait un effet anti-hyperglycémiant et améliore le taux de glucose dans un diabète gestationnel. L'administration journalière intra-gastrique d'une dose de 50mg/kg pendant 30 jours de TQ chez des Hamsters avec un diabète de type 2 induit par la streptozotocine, réduit la glycémie à jeun et le taux d'hémoglobine glyquée et réduit la néoglucogénèse en inhibant ses enzymes. Ainsi, Pari *et Sankaranarayanan* (2009) confirmaient ce mécanisme d'action chez des rats avec un diabète induit par le mélange STZ-nicotinamide, où l'administration pendant six semaines d'une dose de 80mg/kg de la TQ à ces rats a présenté une diminution significative de la glycémie et une augmentation de l'insulinémie et ceci sera dû au fait que la TQ normalise le métabolisme glucidique en améliorant l'utilisation du glucose et en diminuant la production du glucose hépatique en inhibant les enzymes de la néoglucogénèse, la glucose-6-phosphatase et la fructose 1-6-biphosphatase.

La TQ est capable d'abaisser le taux de cholestérol plasmatique chez les animaux, en partie, du fait de son activité antioxydante. L'administration de la TQ avec un régime alimentaire enrichi en cholestérol réduit le cholestérol total, les LDL et de triglycéride, tandis qu'elle fait augmenter le taux du cholestérol-HDL ainsi que du glutathion par rapport au groupe témoin. Une supplémentation par TQ dans un régime alimentaire hypergras diminue nettement les niveaux de la lipase sérique et l'amylase. Une dose de 100 mg / kg de poids corporel a été trouvée pour fournir un effet optimal sur les changements pathologiques du pancréas induites par un régime hypergras (Suguna *et al.*, 2013). En outre, la TQ génère un effet hypocholestérolémiant chez des rats diabétiques par la régulation du taux de cholestérol dont les deux mécanismes principaux sont, d'une part l'augmentation de l'absorption du LDL-cholestérol *via* la régulation du gène du récepteur des LDL hépatique et, d'autre part, par la suppression du gène de la 3-hydroxy-3- méthylglutaryl-coenzyme A réductase (HMG-CoAR) (Al-Naqeep *et al.*, 2009).

Discussion

De plus, nous trouvons que la proportion AGS / AGMI / AGPI d'huile de nigelle est d'environ 1/1,1/2,6 assez proche de la proportion citée dans une étude récente où les auteurs (Xuefeng Yang *et al.*, 2012) ont mentionné que la proportion des différents acides gras dans les régimes alimentaires joue un rôle important dans le métabolisme et en particulier la proportion de AGS / AGMI / AGPI (1/ 1/ 2) améliore le métabolisme du glucose et des lipides, et fait augmenter la sensibilité à l'insuline.

Grundy (1999) a expliqué les taux élevés de cholestérol et de triglycérides à des apports élevés d'AGS en comparaison avec les AGMI, ce qui peut s'expliquer par le fait que l'effet des AGS sur l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire est supérieure à celle des AGMI (Strange *et al.* , 1981). Des résultats similaires ont été obtenus par El-Dakhakhny *et al.*, (2000), qui a constaté que l'huile de *N. sativa* administrée à des rats a diminué de manière significative les niveaux de cholestérol total, TG, C-LDL sérique et une augmentation du HDL-C. En outre, Zaoui *et al.* (2002) ont indiqué que le traitement par voie orale avec de l'huile de *N. sativa*, réduit les taux de cholestérolémie, de triglycéridémie et les niveaux de glycémie par rapport aux rats normaux. En outre, Meddah *et al.* (2009) a montré que le traitement de *N. sativa* chronique améliore la tolérance au glucose de manière aussi efficace que la metformine et une réduction du poids corporel, sans aucun effet toxique noté.

La diminution du taux de cholestérol ainsi que des LDL-C trouvé dans notre étude sous l'effet d'une supplémentation en HN peut aussi être expliqué par le fait que notre huile est très riche en phytostérols (Cheikh-Rouhou *et al.*, 2008).

Les phytostérols sont des stérols végétaux structurellement similaires au cholestérol qui agissent dans l'intestin en diminuant l'absorption du cholestérol. Les phytostérols déplacent les micelles intestinales de cholestérol, ce qui réduit la réserve de cholestérol absorbable, mais ils sont également prises rapidement par les entérocytes et augmentent l'expression du transporteur de stérol A1 lié à l'adénosine triphosphate. Ainsi, les esters de phytostérols dissous dans la graisse alimentaire réduisent le cholestérol-LDL de 10% à une dose efficace maximale de 2 g / jour (Ostlund, 2004) .

Discussion

De nombreuses études corrélient le taux des triglycérides sériques à la résistance à l'insuline (Thien *et al*, 2003; Yang Pan *et al*, 2009). Dans une étude récente, Yang *et al*. (2012) ont montré que la proportion des différents acides gras dans l'alimentation joue un rôle important dans l'amélioration des lipides et le métabolisme du glucose et l'augmentation de la sensibilité à l'insuline. En fait, l'une des destinées des AGPIs dans les cellules est de s'intégrer dans les phospholipides membranaires. Une fois dans les membranes, les AGPIs contribuent à la fluidité membranaire qui est un facteur déterminant pour une liaison correcte hormone-récepteur. En effet, l'augmentation de la fluidité de la membrane peut se traduire par un nombre accru de récepteurs à l'insuline, ceci peut s'expliquer par l'inverse de la résistance à l'insuline, dans laquelle associée à une membrane rigide limite le nombre de récepteurs à l'insuline et fait diminuer l'affinité de l'insuline à son récepteur (Russo, 2009).

D'autre part, la différence constatée entre les deux régimes hypergras supplémentés par l'huile de nigelle et l'huile d'olive (régimes 4 et 6, respectivement) peut être expliquée par la différence de composition des acides gras des deux huiles. L'huile de *N. sativa* est riche en AGPI-n6, qui sont présents en faibles quantités dans l'huile d'olive. Les AG-n6 ont montré un effet hypocholestérolémiant, ils réduisent la résistance à l'insuline ainsi que le risque de diabète de type 2. Le principal AG dans l'huile d'olive est l'acide oléique mono-insaturé, qui a une action controversée (Jacomelli *et al.*, 2010).

En outre, il faut noter que l'acide myristique que l'on trouve dans HN (0,33%) et pas dans HT ni dans HO, occupe une place particulière, pouvant même exercer un rôle hypocholestérolémiant à dose alimentaire ; sachant que, par ailleurs, il se fixe sur plusieurs dizaines de protéines, leur conférant leurs fonctions métaboliques (Sebbagh *et al.*, 2009 ; 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.*, 1997). Parmi ces derniers, on trouve les transaminases ; qui sont des enzymes indispensables à l'organisme participant à la néoglucogenèse en catalysant le

Discussion

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 cœur, 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 une élévation de ce rapport chez les rats obèses. En effet, une surcharge alimentaire suffit pour entraîner une augmentation importante des transaminases hépatiques. La démonstration est faite expérimentalement par Béatrice Vuaille en 2008 chez des volontaires qui ont accepté de se soumettre pendant un mois à un régime hypercalorique à base de fast-food, où 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 corrélés à un risque de diabète de type 2 et de stéatose hépatique non alcoolique (Vuaille, 2008).

L'effet de l'huile *N. sativa* sur la synthèse de l'albumine a été reconnu depuis longtemps pour être utilisé comme traitement de maladies du foie. Plusieurs études ont montré que le traitement par les graines de *N. sativa* a augmenté le taux d'albumine sérique chez les rats (Al-Gaby, 1998, Al-Jishi *et* Abou Hozaiifa, 2003). En outre, dans une étude récente par Tousson *et al.*, (2011), des résultats similaires ont été trouvés, où un régime supplémenté par *N. sativa* a fait augmenter le taux plasmatique des protéines totales, de l'albumine, les niveaux de ALAT et de l'ASAT et chez le lapin et a diminué les concentrations sériques de lipides, ce qui concorde avec nos résultats. Le changement de niveau de l'albumine reflète la variation de la fonction hépatique et la présence d'acides gras peut avoir un effet sur la synthèse des protéines musculaires par un mécanisme de prostaglandine-dépendante.

Il est également possible que le niveau d'albumine élevé chez le groupe traité par HN peut être dû à une induction de leur synthèse par la TQ contenue dans cette huile et il est aussi important de noter que la TQ possède un site de liaison spécifique à l'albumine humaine (Lupidi *et al.*, 2010) et qui reste à confirmer chez les rongeurs.

Discussion

D'autre part, Nagi *et al.* (2010), ont traité des souris souffrant d'hépatotoxicité induite par l'acétaminophène avec une supplémentation par voie orale de TQ, et ont confirmé une correction de l'effet de l'ALAT d'une manière dose-dépendante ce qui protège le foie.

Aussi, il a été constaté que ces maladies métaboliques induisent des troubles du système antioxydant (Merzouk *et al.*, 2004).

Le stress oxydatif a été associé à l'obésité chez les rats. En effet, l'obésité est un facteur de risque principal pour le développement de profils dyslipidémiques et que le stress oxydatif pourrait jouer un rôle dans divers effets néfastes de l'obésité (Diniz *et al.*, 2005). L'utilisation d'oxygène dans le métabolisme oxydatif a pour conséquence de libérer les radicaux libres, ou les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Feuers, 1998). L'apport calorique accru est un facteur important dans la diminution de la fluidité de la membrane mitochondriale et l'augmentation de la production des ERO (Esposito *et al.*, 1999).

Par conséquent, bien que les ROS soient essentiels pour certains processus physiologiques, lorsque cette concentration est élevée, les défenses antioxydantes de l'organisme peuvent être incapables de faire face. Le résultat est un stress oxydant, un déséquilibre entre les oxydants et les systèmes antioxydants a lieu.

Les mitochondries sont connues pour être des organites vitaux pour soutenir la régulation dépendante de l'énergie des différentes fonctions. Comme déjà cité, une des caractéristiques majeures de la mitochondrie est la production des ROS par l'intermédiaire de l'activité de la chaîne respiratoire. En effet, dans des conditions bien déterminées, une très petite quantité de consommation d'O₂ par les mitochondries génère la production du radical superoxyde. Ce radical est ensuite dismuté par la superoxyde dismutase mitochondriale à manganèse (MnSOD) en H₂O₂ qui est ensuite détoxifié en eau par la glutathion peroxydase mitochondrial (GPx) qui utilise le glutathion réduit (GSH) comme co-facteur. Ainsi, dans les conditions normales, la plupart des ERO sont détoxifiés par les défenses antioxydantes mitochondriales, sinon servent de messagers secondaires. Cependant, dans certaines circonstances

Discussion

physiopathologiques telle que l'obésité, le procédé de détoxification peut être submergé dans l'addition d'un déficit bioénergétique profond, les ROS génèrent une formation d'hydroperoxydes lipidiques qui peuvent endommager les membranes mitochondriales conduisant à la perte des différentes fonctions vitales et de l'intégrité structurelle (Nigam D. *et al.*, 1999; Begrich *et al.*, 2011).

Dans notre travail, nous avons analysé quelques paramètres du status oxydant/antioxydant plasmatique, hépatique et mitochondriaux 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 l'huile fixe de *nigelle* et le comparer à celui de l'huile d'olive.

Le contenu en malondihaldéhyde (MDA) et des protéines carbonylées plasmatiques, hépatiques et mitochondriaux reste élevé ainsi que celui de la GSH a dans le groupe obèse (RHG) par rapport au groupe contrôle (isocalorique), indiquant que le stress oxydatif est augmenté chez les rats obèses.

Nous avons trouvé aussi 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, est élevé chez les rats obèses.

En outre, des concentrations plus faibles de vitamines reflètent l'installation d'un stress oxydatif dont les rats ont été 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 assurées 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

Discussion

toxiques complètent la panoplie des moyens de protection. 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 et agit comme antioxydant au niveau des radicaux hydroperoxydes. L' α -tocophérol, dans le processus, devient oxydé en radicaux tocophéroxyles. 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 HN.

Le glutathione 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 par oxydatif peut épuiser les défenses antioxydantes et induire un stress oxydatif lipidique (Soltys *et al.*, 2001).

Les mécanismes possibles qui contribuent au stress oxydant associé à l'obésité comprennent, une augmentation de la consommation d'oxygène par la chaîne respiratoire mitochondriale, l'augmentation des dépôts de graisses et des lésions des cellules provoquant une augmentation du taux de radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène (ERO) tel que le H_2O_2 (Begrice K. *et al.* 2011).

Un deuxième mécanisme par lequel l'obésité peut causer indépendamment l'augmentation de la peroxydation lipidique est par des dommages cellulaires

Discussion

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 α), 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 et mitochondriale diminue contrairement à celle du foie. La supplémentation par HN a bien rétablie la balance du statut oxydant/antioxydant en ce qui concerne ces enzymes.

En effet, face au stress oxydatif, les enzymes antioxydantes sont inactivées, ce qui peut expliquer la réduction de l'activité de la SOD au niveau plasmatique et mitochondriale chez les rats obèses. 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).

Le rôle principal de la CAT est de piéger le H₂O₂ généré par les radicaux libres et le convertir en H₂O pour l'élimination des anions superoxydes. Nos résultats semblent être une adaptation de la cellule à l'augmentation de la production des radicaux, comme une conséquence de l'obésité, et qui consiste alors à l'augmentation

Discussion

de l'activité de cette enzyme antioxydante. Cela peut aussi s'expliquer par l'épuisement de la GSH et l'augmentation de l'activité de la CAT, première ligne de défense antioxydante (Sfar *et al.*, 2013).

L'augmentation du taux de formation des radicaux libres tels que les anions superoxyde (O₂⁻) ou le radical hydroxyle est l'un des mécanismes potentiels généraux qui pourraient contribuer à la peroxydation lipidique liés à l'obésité (Vincent *et al.*, 2001)

Il faut noter que nos huiles sont riches en tocophérols. Ainsi, dans une étude entrepris par Shen *et al.*, (2009), ils ont constaté qu'une supplémentation en vitamine E a eu des effets modérés pour l'amélioration de l'état de stress oxydatif en augmentant les activités de la SOD plasmatique, de la glutathion peroxydase et de la capacité antioxydante total.

Dans notre étude, la supplémentation en HN et HO chez les rats obèses montre un effet correctif dans le système de défense antioxydant. Ces résultats montrent l'effet potentiel détoxifiant de l'huile des graines de nigelle médié par leurs propriétés antioxydantes. 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 (Salem, 2005; Yu *et al.*, 2008.).

Dans une étude récente (Ashraf SS *et al.*, 2011), les auteurs ont constaté que l'effet protecteur de *N. sativa* contre un stress oxydatif induit, peut être dû à la molécule active, la thymoquinone, et qui est la plus puissante en termes de capacité antioxydante. En outre, Mansour MA *et al.*, (2002) a suggéré que la TQ peut agir comme un agent antioxydant et prévenir la peroxydation des lipides membranaires et des enzymes antioxydantes dans les hépatocytes et c'est ce qui peut bien soutenir nos résultats.

La TQ est capable de diminuer le stress oxydatif hépatique induit par l'alimentation riche en cholestérol chez les lapins. Elle a également un effet protecteur

Discussion

contre le développement de l'athérosclérose chez les lapins nourris de cholestérol. réduit la concentration en TBARS, (Al-Naqeep *et al.*, 2009).

Les travaux de El-Saleh *et al.*, (2004) et ceux de Ilhen *et al.*, (2005) ont certifié que l'administration de l'huile de *N. sativa* et de la thymoquinone chez des rats protège contre l'hyperhomocystéinémie induite par la méthionine en bloquant l'accumulation de l'homocystéine, l'une des causes de l'état du stress oxydant, conduisant à la protection contre la peroxydation lipidique et les changements du statut oxydatif. Par ailleurs, le traitement de rats soumis à un régime alimentaire contaminé par l'aflatoxine; avec l'huile de *N. sativa*, entraîne une protection importante contre l'hépatonéphrotoxicité et les altérations oxydatives (réduction des taux de la GPx, de la SOD, augmentation de la peroxydation lipidique et des altérations de l'ADN). Cet effet protecteur de l'huile de *N. sativa* est probablement attribué à l'effet piègeur de radicaux libres de ses composants.

Le caractère anti-oxydant de TQ comme inhibiteur de la peroxydation lipidique dans le foie se compare à celle de l'hydroxytoluène butylé (BHT) comme un anti-oxydant synthétique classique. La TQ protège les hépatocytes isolés de rats en culture contre la toxicité induite par le tert-butyle hydroperoxyde (TBHP) (Nagi *et al.*, 1999).

Le traitement des rats avec la TQ diminue l'augmentation induite par le diabète du MDA tissulaire ainsi que la SOD tissulaire. La TQ améliore ainsi la plupart des effets toxiques de la STZ, y compris les lésions de l'ADN, la vacuolisation et la fragmentation mitochondriale, et conserve l'intégrité de la cellule bêta en diminuant le stress oxydatif. Dans une autre étude sur le stress oxydatif dans un modèle expérimental du diabète sucré utilisant la streptozotocine (STZ), les auteurs affirment que l'huile de *N. sativa* et son principe actif qu'est la TQ ont un effet atténuateur significatif de l'oxyde nitrique (NO_x), des taux de peroxyde lipidique et une augmentation significative de l'activité des enzymes anti-oxydantes; la glutathion-S-transférase (GST) et la catalase (Hamdy *et Taha* 2009).

Parmi les mécanismes envisageables, l'activité mitochondriale pourrait être un facteur clé dans le lien entre obésité et stress oxydant. En effet, la mitochondrie est une source

Discussion

permanente de radicaux libres, mais cette production mitochondriale d'ERO peut être augmentée dans le tissu adipeux par un régime riche en graisses, que ce soit chez l'animal ou chez l'homme. Il a récemment été montré chez la souris que la surexpression d'une protéine (mitoNEET) présente au niveau de la membrane mitochondriale externe, augmente le stockage lipidique et la masse de tissu adipeux, conduisant à une obésité massive. En inhibant le transport du fer dans la matrice mitochondriale, cette protéine diminue également la β -oxydation et conduit à une moindre production d'ERO et à une augmentation de la production d'adiponectine. Inversement, la diminution d'expression de mitoNEET pourrait augmenter la capacité respiratoire mitochondriale, conduisant à une plus faible prise de poids, mais provoquerait un stress oxydant accru et une insulino-résistance (Bonfont-Rousselot, 2013).

L'action sur l'activité mitochondriale est par conséquent un point très sensible, risquant d'affecter de façon délétère le métabolisme glucido-lipidique (Gouranton *et* Landrier, 2007).

Il a été montré qu'un stress oxydatif inhibe le captage GLUT4-dépendant du glucose par le muscle et le tissu adipeux. Récemment, l'implication des ERO en tant que facteur causal de l'insulino-résistance a été clairement établie. Au cours de l'obésité, l'accumulation de graisses au niveau du tissu adipeux conduit à l'induction d'un stress oxydant systémique, chez la souris et chez l'homme. Cela se traduit par une augmentation de la synthèse des ERO, spécifiquement au niveau adipocytaire. Cette augmentation est corrélée à une diminution de l'expression des enzymes anti-oxydantes (catalase, superoxyde-dismutase, glutathion-peroxydase) (Gouranton *et* Landrier, 2007).

Des taux élevés de marqueurs d'oxydant chez les rats obèses pourraient résulter de leur état de résistance à l'insuline, l'hypercholestérolémie et un métabolisme anormal. Actuellement, des études ont proposé que les ERO tels que H_2O_2 sont produites de manière transitoire en réponse à la stimulation par l'insuline et également agir en tant que second messenger pour la signalisation de l'insuline dans les adipocytes. En fait, une brève augmentation de ERO intracellulaire est importante pour la voie de

Discussion

signalisation de l'insuline, tandis que l'exposition excessive et à long terme des ERO réduit la sensibilité à l'insuline et altère le métabolisme du glucose et des lipides. Ces résultats suggèrent que l'augmentation de la production des radicaux libres causée par l'accumulation de graisse pourrait empêcher le stockage des lipides et peuvent provoquer simultanément une résistance à l'insuline (Furukawa *et al.*, 2004).

L'insulinorésistance joue un rôle primordial dans le processus de lipotoxicité provoquant un dysfonctionnement endothéliale. A priori, deux raisons expliqueraient le déséquilibre entre les facteurs oxydants et les antioxydants responsables de la dysfonction endothéliale. Il surviendra, à la fois, une augmentation du stress oxydatif (formation accrue de ERO entraînant la peroxydation lipidique), à laquelle s'ajouterait une diminution de l'activité des enzymes et des vitamines responsable de la neutralisation des ERO. Les espèces oxygénées réactives telles que le peroxyde d'hydrogène altèrent l'activation mitochondriale et l'insulino-sécrétion au niveau des cellules bêta pancréatiques. De plus, les produits de la peroxydation lipidique exercent un effet inhibiteur sur la sécrétion de l'insuline et la distribution cellulaire des récepteurs d'insuline (IRS-1) au niveau des adipocytes (Malti, 2014).

Conclusion

Conclusion

L'obésité et les facteurs de risques associés, sont devenus une préoccupation importante de la santé publique dans les pays développés ainsi que dans les pays en voie de développement. De ce fait, des actions d'intervention sont nécessaires pour permettre aux personnes en surcharge pondérale ou obèses de retrouver un poids et des paramètres métaboliques leur permettant d'éviter les complications médicales (de nombreuses pathologies associées: HTA, dyslipidémie, diabète de type II, cancers, arthrose, infertilité, asthme, apnée du sommeil, etc...), sociales (discrimination, isolement, absentéisme) et psychologiques (dépression, troubles alimentaires) auxquelles ils sont exposés.

Bien que la génétique joue un rôle dans l'installation de l'obésité, l'augmentation de sa prévalence dans la population mondiale souligne la contribution des facteurs environnementaux. Sans nier les méfaits de la sédentarité, les apports caloriques ont récemment été désignés comme un responsable majeur de l'évolution pondérale des populations modernes. Le rôle des macronutriments dans la régulation de la balance énergétique reste cependant à débattre. Dû à leur haute densité énergétique, leur palatabilité et leur faible capacité d'adaptation oxydative, les lipides contribuent à une balance énergétique positive. Néanmoins, tous les lipides n'ont pas la même puissance pour stimuler le développement du tissu adipeux, certains dits spécifiques ont le pouvoir d'affecter le métabolisme cellulaire, modifiant ainsi l'équilibre entre l'oxydation d'autres acides gras et la lipogénèse.

L'importance des acides gras alimentaires dans l'excès de la masse adipeuse reste controversée. Au terme de cette étude expérimentale, nous avons obtenu des résultats très probants et encourageants chez les rats ayant reçu des régimes hyperlipidiques à base de l'huile de nigelle. En effet, les résultats de cette étude ont démontré que l'huile des graines de *Nigella sativa* est bénéfique pour atténuer les complications de l'obésité et de la prévenir en raison de ses acides gras poly-insaturés (AGPI), éventuellement les acides gras essentielles ; les acides linoléique et linoléique et de son rapport favorable AGS/AGMI/AGPI en plus de la présence d'autres nutriments tels que les vitamines liposolubles telles que les tocophérols, des acides aminés essentiels, des polyphénols et terpénoïdes ainsi que les quinones libres

Conclusion

particulièrement la thymoquinone TQ qui ont montré des propriétés et potentielles médicinales en médecine traditionnelle.

Par ailleurs, nous avons constaté que la glycémie reste dans les limites physiologiques chez les rats recevant cette huile ainsi que l'huile d'olive, ce qui n'est pas le cas pour les rats ayant reçu le régime hyperlipidique à base de HT; c'est une forme de rentabilisation des paramètres biochimiques tels que le cholestérol total, les triglycérides et les LDL. Ces résultats, indiquent l'influence de l'aspect qualitatif et quantitatif des acides gras contenus dans l'huile de nigelle sur les mécanismes cellulaires qui contrôlent ces paramètres, réduisant ainsi les risques athérogènes.

En plus, une supplémentation en huile fixe de graines de *N. sativa* a montré un effet bénéfique par l'amélioration de la tolérance au glucose ainsi que la fonction hépatique et pancréatique chez les rats obèses et le métabolisme énergétique, vu qu'il y avait une bonne amélioration de la sécrétion de l'insuline. D'autre part, nous avons noté une nette régulation des valeurs plasmatiques des transaminases hépatiques et de la phosphatase alcaline.

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 hypergras. En effet, son action c'est résumé à l'amélioration de l'activité des enzymes antioxydants hépatiques et mitochondriaux ainsi que l'augmentation des taux des antioxydants non enzymatiques, tels que les vitamines et le glutathion réduit.

Enfin, d'autres études sont encourageantes dans cette voie afin de dévoiler les mécanismes moléculaires des actions biologiques de cette huile au niveau cellulaire, puis montrer son importance pour un usage domestique comme source supplémentaire d'acides gras essentiels et de nutriment à usage pharmaceutique pour prévenir ou corriger l'installation d'une obésité et les conséquences qu'elle provoque sur le corps humain.

Conclusion

Et en perspective future pour cette étude et à partir de ces résultats, il semble intéressant de faire des études complémentaires en faisant le dosage des autres paramètres tels que la leptine et l'adiponectine et ainsi que les autres paramètres inflammatoires, et d'autre part étudier l'expression génétique par les outils de la biologie moléculaire de ces paramètres pour enfin comprendre le mécanisme d'action des différents acides gras et des micronutriments des huiles végétales pour la prévention de l'installation de l'obésité. Il serait aussi souhaitable de faire une étude histologique complémentaire sur le pancréas, le foie et les différents tissus adipeux afin d'améliorer nos connaissances sur le sujet.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Aasheim ET, Hofsv D, Hjelmessaeth J, Birkeland KI, Bøhmer T. **2008**. Vitamin status in morbidly obese patients: across-sectional study. *Am J Clin Nutr.* 87(2):362-369.
- Abdel-aal E., Attia R. **1993**. Characterization of Black cumin (*Nigella sativa*) seeds. *Alexandria Science Exchange Journal* 14: 497-482.
- Abdel-Fattah A.F.M., Matsumoto K., Watanabe H. **2000**. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *European Journal of Pharmacology* 400: 89–97.
- Adrian J., Potus J., Poiffait A., Dauvillier P., **1998**. Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. *Techniques et documentation- Lavoisier pp* 47-53.
- Aebi H. **1984**. catalase in vivo, *Methods in enzymology* 105:121-126.
- Aftab A., Asif H., Mohd M., Shah A.K., Abul K.N., Nasir A.S., Zoheir A.D., Firoz A. **2013**. A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3(5): 337-352.
- Ailhaud G. **1998**. L'adipocyte, cellule sécrétrice et endocrine. *Médecine Sciences* 14: 858-864.
- Ailhaud G., Teboul M., Massiera F. **2002**. Angiotensinogen, adipocyte differentiation and fat mass enlargement. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 5(4): 385-389.
- Al-Gaby A.M. **1998**. Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with *Nigella sativa* (black cumin) cake protein. *Die Nahrung* 42: 290-294.
- Ali B.H., Blunden G. **2003**. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy research* 17: 299-305.
- Al-Jassir S.M. **1992**. Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa*) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chemistry* 45: 239-242.
- Al-jishi S.A., Abou Hozafa, B. **2003**. Effect of nigella sativa on blood hemostatic function in rats. *J. Ethnopharmacol* 85, 7-14.
- Al-Naqeep G., Ismail M., Allaudin Z. **2009**. Regulation of low-density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene expression by thymoquinone-rich fraction and thymoquinone in HepG2 cells. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 2: 163–172.
- Al-Saleh I.A., Billedo G., El-Doush I.I. **2006**. Levels of selenium, DL- α -tocopherol, DL- γ -tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 167–175.
- Ashraf, S.S., Rao, M.V., Kaneez, F.S., Qadri, S., Al-Marzouqi, A., Chandranath I.S., and Adem, A. **2011**. *Nigella sativa* Extract as a Potent Antioxidant for Petrochemical-Induced Oxidative Stress. *Journal of Chromatographic Sciences*, 49: 321-327.
- Atek M., Traissac M.P., El Ati J., Laid Y., Aounallah-Skhiri H., Eymard-Duvernay S., Mézimèche N., Bougatef S., Béji C., Boutekdjiret L., Martin-Prével Y., Lebcir H., Gartner

Références Bibliographiques

- 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. doi: 10.1371/journal.pone.0075640.
- Atta U.R., Malik S., Zaman K. **1992**. Nigellimine, a new isoquinoline from seeds of *Nigella sativa*. *Journal of natural products* 55: 676-678.
- Barat P, Duclos M, Moisan P, Mormède P. **2008**. Place de l'axe corticotrope dans le développement de l'obésité abdominale. *Arch de Pédiatrie* 15: 170-78.
- Basdevant A. **1998**. Complications de l'obésité. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 12: 211-215.
- Basdevant A. **2006**. Origines et conséquences d'une épidémie. *C.R . Biologies* 329 : 562-569.
- Basdevant A. **2008**. Obésité: évolutions des conceptions physiopathologiques. *Revue du Rhumatisme* 75: 935-936.
- Bastard J.P., Maachi M., Lagathu C., Kim M.J., Caron M., Vidal H., Capeau J., Fève B. **2006**. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *European Cytokine Network* 17 (1): 4-12.
- Begriche 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.
- Bełtowski J. **2003**. Adiponectin and resistin--new hormones of white adipose tissue. *Medical Science Monitor* 9(2): RA55-61.
- Benmahdi H. **2000**. Valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Thèse magistère, chimie organique appliquée, université de Tlemcen.
- Benyoussef E. H., Zouagh N., Belabbès R., Bessière J.M. **2001**. Botanical study of Algerian *Nigella* seeds and analysis of their essential oil. *Rivista italiana EPPOS* 31: 15-19.
- Bhupendra K. M., Uma S., Sumit A., Vikas P., Nidhi J., Meenal G. **2008**. Isolation and characterization of new compounds from seeds of *Nigella sativa*, *Med Chem Res* 17, 462–473.
- Birari R.B., Bhutani K.K. **2007**. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug discovery today* 12 (19-20): 879-889.
- Bosello O., Zamboni M. **2000**. Visceral obesity and metabolic syndrome. *Obesity Review* 1:47-56.
- 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.
- Boukli-Hacène L., Meguenni K. **2007**. Facteurs de risque cardio-vasculaire dans la communauté urbaine de Tlemcen (Algérie). *Cahiers Santé* 17(3): 153-158. doi: 10.1684/san.2007.0079.

Références Bibliographiques

- Bradford MM. **1976**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72 :248–54.
- Brawer R., Brisbon N., Plumb J. **2009**. Obesity and cancer. Primary Care - Clinics in Office Practice. *Department of Family & Community Medicine Faculty Papers* 36(3): 509-531.
- Buswell L, Stalder H. **2001**. Elevation des transaminases (Amino-peptidases). *Postgrad Med* 107:1266-71.
- Cahuzac-Picaud M. **2010**. Les huiles végétales, intérêt diététique et gastronomique. *Phytothérapie* 8 (2): 113–117.
- Chakravarty N. **1993**. Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. *Annals of Allergy* 70 (3): 237-242.
- Cheftel J.C., Cheftel H. **1984**. Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. *Techniques et documentation –Lavoisier* pp. 244-249.
- Cheikh-Rouhou S., Besbes S., Hentati B., Blecker C., Derouanne C., Attia H. **2007**. *Nigella sativa* L. chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry* 101: 673-681.
- Couet C, Delarue J, Ritz P, Antoine J M, Lamisse F. **1997**. Effect of dietary fish oil on body fat mass and basal fat oxydation in healthy adults. *Int J Obes* 21 : 637-43.
- Curat C. A., Wegner V., Sengenès C., Miranville A., Tonus C., Busse R., Bouloumié A. **2006**. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia* 49: 744–747.
- Darakhshan S., Bidmeshki Pour A., Hosseinzadeh Colagar A., Sisakhtnezhad S. **2015**. Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacological Research* 95–96: 138-158. doi:10.1016/j.phrs.2015.03.011.
- Dardour J. C. 2012. Nouvelle approche anatomoclinique du tissu adipeux. *Annales de chirurgie plastique esthétique* 57(5): 454-464.
- Das U.N. **2001**. Is obesity an inflammatory condition? *Nutrition* 17(12): 953-66.
- De Brandt J.P. **2004**. Nutrition et obésité. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 18: 147-55.
- Delplanque B., Leroy B., Mendy F. **2002**. Équilibre entre acides gras saturés: contribution à l'étude de la prévention des maladies cardio-vasculaires. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* 9: 237-43.
- Dubois V, Breton S, Linder M, Fanni J, Parmentier M. **2007**. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *Eur J Lipid Sci Technol* 109:710–32.

Références Bibliographiques

- El-Dakhakhny M., El-Halim, M., Aly, S.M., Barakat, M.K. **2000(a)**. Protective effect of *Nigella sativa* oil and clindamycin against production of TNF- α and liver injury in murine septic peritonitis. *Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 362: R17.
- El-Dakhakhny M., Madi N.I., Halim M.A. **2000**. Effect of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 72 (1/2): 299-304.
- El-Dakhakhny M., Madi N.J., Lembert N., Ammon H.P.T. **2002**. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *Journal of Ethnopharmacology* 81: 161-164.
- El-Saleh S.C., Al-Sagair O.A., Al-Khalaf M.I. **2004**. Thymoquinone and *Nigella sativa* oil protection against methionine-induced hyperhomocysteinemia in rats. *International Journal of Cardiology* 93: 19-23.
- Fabri, R.L., Nogueira, M.S., Braga, F.G., Coimbra, E.S., Scio, E. **2009**. *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects, *Bioresource Technology*, 100 : 428-433.
- Fabricant D. S., Farnsworth N.R. **2001**. The value of plants used in Traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives* 109: 69-75.
- Fararh K. M., Shimizu Y., Shiina T., Nikami H., Ghanem M. M., Takewaki T. **2005**. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. *Research in Veterinary Science* 79: 219–223.
- Faust I. M., Johnson P. R., Stern J.S., Hirsch J. **1978**. Diet-induced adipocyte number increase in adult rats: a new model of obesity. *American Journal of Physiology* 235: E279-E286.
- Fernández-Sánchez A., Madrigal-Santillán E., Bautista M., Esquivel-Soto J., Morales-González Á., Esquivel-Chirino C., Durante-Montiel I., Sánchez-Rivera G., Valadez-Vega C., Morales-González J. A. **2011**. Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. *International Journal of Molecular Sciences* 12: 3117-3132. doi: 10.3390/ijms12053117.
- Ferre P. **2003**. L'obésité: aspects physiologiques, cellulaires et moléculaires. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* 10 (2): 119-123.
- Fève B., Bastard J. P., Vidal H. **2006**. Relationship between obesity, inflammation and insulin resistance: new concepts. *Comptes Rendus Biologies* 329 (8): 587-597.
- Fonseca-Alaniz M.H., Takada J., Alonso-Vale M.I., Lima F.B. **2007**. Adipose tissue as an endocrine organ: From theory to practice. *Journal of Pediatrics* 83(5): S192–S203.
- Frezza C, Cipolat S, et Scorrano L. **2007**. « Organelle isolation: functional mitochondria from mouse liver, muscle and cultured fibroblasts ». *Nature Protocols* 2 (2): 287-295.
- Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. **1972**. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* 18(6): 499-502.
- Furukawa S., Fujita T., Shimabukuro M., Iwaki M., Yamada Y., Nakajima Y., Nakayama O., Makishima M., Matsuda M., Shimomura I. **2004**. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation* 114: 1752-1761.

Références Bibliographiques

- Galgani J., Uauy R.D., Aguirre C.A., Diaz E.O. **2008**. Effect of the dietary fat quality on insulin sensitivity. *British Journal of Nutrition* 100 (3): 471-479.
- Garton, L., 2009. Le rôle des aliments à base de plantes dans la lutte contre l'obésité. Congrès européen sur l'obésité. *ALPRO Foundation. Amsterdam*.
- Ghedira, K. **2006**. La Nigelle cultivée: *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytotherapie* 4 : 1-7.
- Gholay A. **1998**. Rôle des graisses alimentaires dans le développement de l'obésité : Obésité et lipides. *Oléagineux, corps gras, lipides* 5: 205-207.
- Goetz P. **2006**. Revue critique des éléments de phytothérapie opposables à une surcharge pondérale. *Phytothérapie* 1: HS14–HS20.
- Gouranton E., Landrier J.F. **2007**. Les facteurs modulant l'expression des adipokines en relation avec l'insulinorésistance associée à l'obésité. *Obesity* 2: 272–279.
- Grove T.H. **1979**. Effect of Reagent pH on Determination of High-density Lipoprotein Cholesterol by Precipitation with Sodium Phosphotungstate-Magnesium. *Clinical Chemistry* 25 (4): 560-564.
- Grundy M. S., **1999**. The optimal ratio of fat-to-carbohydrate in the diet, *Ann Rev Nutr*, 19: 325-41.
- Guinard M. **2013**. La régulation du comportement alimentaire par les peptides orexigènes et anorexigènes. Master 2 Biologie Gestion, Université de Rennes 1, UFR Sciences de la Vie et de l'Environnement.
- Gustafson B., Gogg S., Hedjazifar S., Jenndahl L., Hammarstedt A., Smith U. **2009**. Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 297: 999-1003. DOI: 10.1152/ajpendo.00377.
- Haaz S., Fontaine K., Cutter G. **2006**. *Citrus aurantium* and synephrine alkaloids in the treatment of overweight and obesity: an update. *Obesity reviews* 7(1): 79-88.
- Hamdy N.M., Taha R.A. **2009**. Effects of *Nigella sativa* oil and thymoquinone on oxidative stress and neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacology* 84(3): 127-134.
- Hammoud Ahd. **2010**. Facteurs métaboliques de risque cardio-vasculaire : interaction entre les régimes alimentaires et les polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme des lipides. Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de la Méditerranée. Option : Pathologie Humaine Spécialité : Nutrition.
- Hansen J. C., Gilman A. P., Odland J. Ø. **2010**. Is thermogenesis a significant causal factor in preventing the “globesity” epidemic? *Medical hypotheses* 75 (2): 250-256.
- Hassan M., El-Dakhkhny M. **1992**. Effect of some *Nigella sativa* constituents on chemical carcinogenesis in hamster cheek pouch. *Journal of the Egyptian Society Pharmacology Experimental Therapeutics* 11: 675–677.

Références Bibliographiques

- Hatri A. **2007**. Prévalence de l'obésité androïde dans la population algéroise. *La Revue de médecine interne* 28: 83–160.
- Haut J., Schapiro S.J. **2011**. Handbook of laboratory animal science, essential principles and practices. *Third edition by Taylor and Francis group, LLC* 1, 309-310.
- Henri Marion. **2012**. Obésité et insulino-résistance : étude longitudinale avec un traceur du transport du glucose, le [125I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose. Thèse de Doctorat de l'université de Grenoble. Spécialité : Biotechnologie, Instrumentation, Signal et Imagerie pour la Médecine, la Biologie et l'Environnement.
- Hong J., Friedman M.I. **2007**. Reduced capacity for fatty acid oxidation in rats with inherited susceptibility to diet-induced obesity. *Metabolism* 56: 1124-1130.
- Hopkins T. A., Noriyuki O., Rei S., Kenneth W. **2007**. Adiponectin actions in the cardiovascular system. *Cardiovascular Research* 74: 11–18.
- Horvath T.L. 2005. The hardship of obesity: a soft-wired hypothalamus. *Nature Neuroscience* 8: 571-578.
- Houcher Z., Boudiaf K., Benboubetra M., Houcher B. **2007**. Effects of methanolic extract and commercial oil of *Nigella sativa* L. on blood glucose and antioxidant capacity in alloxan-induced diabetic rats; *Pteridines*, 51(18):8-18.
- Houghton P.I., Zarka R., De las Heras B., Hoult R.S. **1995**. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Medica* 61: 33–36.
- 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.
- Ilhan A., Gurel A., Armutcu F. **2005**. Antiepileptogenic and antioxidant effects of *Nigella sativa* oil against pentylenetetrazolinduced kindling in mice. *Neuropharmacology* 49: 456-464.
- Jacomelli M., Pitozzi V., Zaida M., Larrosa M., Tonini G., Martini A., Urbani S., Taticchi A., Servili M., Dolara P., Giovannelli L. **2010**. Dietary extra-virgin olive oil rich in phenolic antioxidants and the aging process: long-term effects in the rat. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(4): 290-296.
- Jaswal A., Sinha N., Bhadauria M., Shrivastava S., Shukla S. **2013**. Therapeutic potential of thymoquinone against anti-tuberculosis drugs induced liver damage. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 36: 779–786.
- Jayaprakasha G.K., Singh R.P., Sakariah K.K. **2001**. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry* 73: 285-290.
- Kawano J., Arora R. **2009**. The role of adiponectin in obesity, diabetes, and cardiovascular disease. *Journal of the Cardiometabolic Syndrome* 4(1): 44-49. doi: 10.1111/j.1559-4572.2008.00030.x.

Références Bibliographiques

- Keller U. **2002**. Complications de l'obésité et modalités thérapeutiques. *Medicale suisse* 39: 908-913.
- Kemali Z. **2003**. L'obésité au Magreb. *Santé Magreb* p1.
- Kim J., Li Y., Watkins B. A. **2013**. Fat to treat fat: Emerging relationship between dietary PUFA, endocannabinoids, and obesity. *Prostag oth Lipid M*, 104–105: 32–41.
- Kim S.O., Yun S.J., Jung B., Lee E.H., Hahm D.H., Shim I., Lee H.J. **2004**. Hypolipidemic effects of crude extract of adlay seed (*Coix lachrymajobi* var. mayuen) in obesity rat fed high fat diet: Relations of TNF- α and leptin mRNA expressions and serum lipid levels. *Life Science* 75: 1391-404.
- Koji N., Teruyoshi Y. **2007**. Bioactive lipids in metabolic syndrome. *Progression in Lipid Research* 47: 127-46.
- Kökdil G., Delialioğlu N., Özbilgin B., Emekdaş G., **2005**. Antilisterial activity of ballota species growing in turkey, antibacterial activity screening of nigella species growing in turkey. Mersin University, Faculty of pharmacy, Department of pharmacognosy. Ankara Ecz. Fak. Derg. 34(3): 183-190.
- Kouamé J., Gnoula C., Palé E., Bassolé H., Guissou I.P., Simporé J., Nikiéma J.B. **2009**. Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et technique, Sciences de la santé* 32 (1, 2) 9-23.
- Kretschmer B.D., Schelling P., Beier N., Liebscher C., Treutel S., Krqger N., Scholz H.P., Haus A. **2005**. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Science*, 76:1553–1573.
- Lafontan M., Berlan M. **2003**. Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights? *Trends in Pharmacological Sciences* 24: 276-83.
- Lecerf J. M. **2011**. Vegetable oils: Particularities and usefulness. *Médecine des Maladies Métaboliques* 5(3): 257–262.
- Lee Hae-In, Kim Mi-Su, Lee Kyung-Mi, Park Seok-Kyu, Seo Kwon-Il, 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.
- 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.
- Liao Fang-Hsuean M.S., Liou Tsan-Hon M.D., Ming-Jer Shieh , Yi-Wen Chien. **2010**. Effects of different ratios of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids to saturated fatty acids on regulating body fat deposition in hamsters. *Nutrition* 26, 811–817.

Références Bibliographiques

- Lichtenstein A.H., Kennedy E., Barrier P., Dandford D., Nancy D., Grundy M.S., Leveille G.A., Van Horn L., Williams C.L., Booth S. L. **1998**. Dietary fat consumption and health, *Nutr Rev*, 56 (5): S3-S28.
- Liu J.W., DeMichele S.J., Palombo J., Chuang L.T., Hastilow C., Bobik E. and Huang Y.S. **2004**. Effect of long-term dietary supplementation of high-gamma-linolenic Canola oil versus Borage oil on growth, hematology, serum biochemistry, and n-6 fatty acid metabolism in rats. *J Agr Food Chem*, 52: 3960-3966.
- Lupidi G., Scireb A., Camaionic E., Khalifea K.H., De Sanctisa G., Tanfanib F., Damiani E., **2010**. Thymoquinone, a potential therapeutic agent of *Nigella sativa*, binds to site I of human serum albumin, *Phytomedicine* 17: 714–720.
- Mahfouz M., El-Dakhakhny M. **1960**. The isolation of a crystalline active principle from *Nigella sativa* seeds. *Journal of the Pharmacology Sciences of the U.A.R.* 1: 9-19.
- Maisonneuve B, Auclair C, Ali M, Terral D, Deméocq F, Roszy k, Venzac M, Meyer M, Merlin E. **2009**. Prévalence des anomalies métaboliques chez l'enfant obèse. *Archive de pédiatrie* 16: 991-998.
- Maisuthisakul,P., Suttajit, M., Pongsawatmnit, R. **2007**. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants, *Food Chemistry*, 100: 1409- 1418.
- Majhenić, L., Skerget, M., Knez, Z., **2007**.Antioxydant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*,104: 1258-1268.
- Majob F; Kamalinjab M;Ghaderi N;Vahidipour H,P., **2003**. La phytochimical screening of some species of Iranien plantes. *pharmaceutical research*.77-82
- Malti -Boudilmi N.A. **2014**.Troubles nutritionnels et métaboliques au cours de la grossesse associée à l'obésité dans la région de Tlemcen. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie Cellulaire et Moléculaire.
- Manco M., Calvani M., Mingrone G. **2004**. Effects of dietary fatty acids on insulin sensitivity and secretion. *Diabetes Obesity and Metabolism* 6: 402-413.
- Mansour M.A., Nagi M.N., El-khatib A.S., Al-Bekairi A.M. **2002**.Effect of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxydation and DT–diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. *Cell Biochemistry and Function* 20: 143-151.
- Mari A., Pacini G., Murphy E. Ludvik B. Nolan J.J. **2001**. Model-BasedMethod for Assessing InsulinSensitivity From the Oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes Care* 24:539–548.
- Masataka Okuno, Kenta Kajiwara, Shoko Imai, Tetsuo Kobayashi, Nobuko Honma, Toshio Maki, Kazuhito Suruga, Toshinao Goda, Sachiko Takase, Yasutoshi Muto et Hisataka Moriwaki. **1997**. Perilla Oil Prevents the Excessive Growth of Visceral Adipose Tissue in Rats by Down-Regulating Adipocyte Differentiation. *The Journal of Nutrition* 127: 1752–1757.

Références Bibliographiques

- Massiera F., Barbry P., Guesnet P., Joly A., Luquet S., Moreilhon-Brest C., Mohsen-Kanson T., Amri E.Z., Ailhaud G. **2010**. A Western-like fat diet is sufficient to induce a gradual enhancement in fat mass over generations. *Journal of Lipids Research* 51: 2352-2361.
- Matsuda M., DeFronzo R.A. **1999**. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care* 22: 1462-70.
- Matthews D.R., Hosker J.R., Rudenski A.S., Naylor B.A., Treacher D.F., Turner R.C. **1985**. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28: 412-419.
- McAuley K. and Mann J. **2006**. Nutritional determinants of insulin resistance. *Journal of Lipid Research* 47: 1668-1676.
- Meddah B, Ducroc R, Faouzi M, Eto B, Mahraoui L, Benhaddou-Andaloussi A, Martineau L .C, Cherrah Y, Haddad P. S., **2009**. Nigella sativa inhibits intestinal glucose absorption and improves glucose tolerance in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 121: 419–424
- Merfort i., Wray v., Barakat h., Hussein s., Nawwar M., et Willuhng. **1997**. Flavonoid triglycerides from seeds of Nigella sativa. *Phytochemistry* (46), pp. 359-363.
- Merzouk S, Hichami A, Sari S, Madani S, Merzouk H, Yahia Berrouiguet A, Lenoir-Rousseaux J, chabane sari N, khan NA. **2004**. Impaired oxidant/Antioxydant status and LDL-Fatty Acid Composition are associated with increased susceptibility to peroxydation of LDL in diabetic patients. *Gen Physio Biophys.* 23: 387-399.
- Mishra K.P. **2004**. Cell membrane oxidative damage induced by gamma radiation and apoptotic sensitivity. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 23: 61-66.
- Moreno-Navarrete J. M., Fernández-Real J.M. **2012**. Adipose Tissue Biology; Chapter 2: Adipocyte Differentiation 17-39. Doi10.1007/978-1-4614-0965-6-2,
- Morton G., Cummings D.E., Baskin D.G., Barsh G.S., Schwatz M.W., **2006**. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 443 (7109): 289–295.
- Mukherjee M., **2003**. Human digestive and metabolic lipase—a brief review. *Journal of Molecular Catalysis B* 22(5-6): 369–376.
- Muniyappa R., Lee S., Chen H., Quon MJ. **2008**. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitataions, and appropriate usage. *American journal of Physiology and Endocrinology and Metabolism* 294: E15-26.
- Nagi M.N., Almakki H.A., Sayed-Ahmed M.M., Al-Bekairi A.M., **2010**. Thymoquinone supplementation reverses acetaminophen-induced oxidative stress, nitric oxide production and energy decline in mice liver, *Food Chem Toxicol.* 48 : 2361–2365

Références Bibliographiques

- Nagi, M.N., Almakki, H.A., Sayed-Ahmed, M.M., Al-Bekairi, A.M. **2010**. Thymoquinone supplementation reverses acetaminophen-induced oxidative stress, nitric oxide production and energy decline in mice liver. *Food Chem Toxicol* 48: 2361–2365.
- Ndiaye MF. **2007**. Obésité en Afrique : définitions et épidémiologie. *J Afr Hepato Gastroenterol.* 1: 71-75.
- Nergiz C., Otlis S. **2003**. Some characteristics of *Nigella sativa* L. seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry* 83: 63-68.
- Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M. **2000**. The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Report* 17: 215-234.
- Nickavar B., Mojaba F., Javidniab K., Amolia M.A.R. **2003**. Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Journal of biosciences* 58: 9-10.
- Nigam D., Shukla G.S., Agarwal A.K. **1999**. Glutathione depletion and oxidative damage in mitochondria following exposure to cadmium in rat liver and kidney. *Toxicology Letters* 106: 151–157.
- Nourooz-zadeh J., Tajaddini-sarmadij, Mc Carthy S. **1996**. Elevated levels of authentic plasma hydroperoxides in NIDDM. *Diabetes* 44: 1768-1774.
- Ohkawa Hiroshi, Ohishi nobuko, et Yagi kunio. **1979**. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry* 95, 35-1-358.
- Okuda H., Han L., Kimura Y. **2001**. Anti-Obesity Action of Herb Tea.(Part 1). Effects or Various Herb Teas on Noradrenaline-Induced Lipolysis in Rat Fat Cells and Pancreatic Lipase Activity. *Japanese Journal of Constitutional Medicine* 63(1/2): 60-65.
- Ollé M. **2002**. Analyse des corps gras, Bases documentaires ; techniques d'analyse. Ed. *Techniques de l'ingénieur*. p3325
- 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.
- OMS : Organisation mondiale de la Santé **2000**. The metabolic syndrome new worldwide definition. *Life Sciences* 73, 2395-2411.
- OMS. Organisation mondiale de la Santé **2015**. Obesity and overweight: Fact Sheet, OMS. http://www.who.int/hpr/NPH/docs/g_s_obesity.pdf.
- OMS: Organisation mondiale de la Santé **2006**. The metabolic syndrome and cardiovascular diseases. *Life Sciences*.
- Ostlund RE Jr. **2004**. Phytosterols and cholesterol metabolism. *Current Opinion in Lipidology*. 15(1):37-41.
- Özel A., Demirel U., Güler İ., Erden K. **2009**. Effect of different row spacing and seeding rates on Black Cumin (*Nigella sativa* L.) yields and some agricultural characters. *Journal of the Faculty of Agriculture of Harran University (Turkey)* 13(1) 17-25.

Références Bibliographiques

- Papandreou D., Rousso I., Malindretos P., Makedou A., Moudiou T., Pidoni I., Pantoleon A., Economou I., Mavromichalis L. **2008**. Are saturated fatty acids and insulin resistance associated with fatty liver in obese children? *Clinical Nutrition* 27: 233-240.
- Pari L., Sankaranarayanan C. **2009**. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Science* 85: 830-834.
- Parvardeh S. et Fatehi M. **2003**. Effects of Thymoquinone, the Major Constituent of *Nigella sativa* Seeds, on the Contractile Responses of Rat vas Deferens. *Pharmaceutical Biology* 41(8): 616-621.
- Pérez-Matute P., Pérez-Echarri N., Martínez J.A., Martí 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.
- Peri, C., Pompei, C., **1971**. Estimation of different phenolic groups in vegetable extracts. short communication, *Phytochemistry* 10 : 2187-2189, 1971.
- Pérusse P. **2004**. Génétique de l'obésité. *EMC-Endocrinologie* 1: 67-80.
- Petit V, Arnould L, Martin P, Monnot MC, Pineau T, Besnard P, Niot I. **2007**. Chronic high-fat diet affects intestinal fat absorption and postprandial triglyceride levels in the rat. *Journal of Lipid Research* 48: 278-287.
- 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.
- Platat C. **2005**. Implication de l'activité physique et de l'alimentation dans le syndrome métabolique de l'adolescent. *Recherche clinique, Santé publique* 15 34-41.
- Ramadan M.F., Morsel J.T. **2002**. Direct isocratic normal-phase HPLC assay for fat soluble vitamins and β -caroten in oil seeds. *European food research and technology* 214: 521-527.
- Ramadan M.F., Morsel J.T. **2003** Analysis of glycolipids from black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) oil seeds. *Food chemistry* 80: 197-204.
- Reaven G.M. **1988**. Role of insulin resistance in human disease. Banting lecture. *Diabetes* 37:1595-607.
- Ribeiro R., Lopes C., Medeiros R. **2006**. The link between obesity and prostate cancer: the leptin pathway and therapeutic perspectives. *Prostate Cancer Prostatic Diseases* 9: 19-24.
- Rodgers A.J., Tschöp M.H., Wilding J.P.H. **2012**. Anti-obesity drugs: past, present and future. *Disease Models & Mechanisms* 5: 621-626.
- Russo G.L. **2009**. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochem pharmacol*, 77: 937-946.

Références Bibliographiques

- Salem M.L., **2005**. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Internat Immunopharmacol.* 5: 1749–1770
- Salih B. T., Sipahi, E., Oybak D. **2009**. Ancient nigella seeds from Boyalı Höyük in north-central Turkey. *J. Ethnopharmacol.* 124:416–420.
- Savastano DM, Covasa M. **2005**. Adaptation to a high-fat diet leads to hyperphagia and diminished sensitivity to cholecystokinin in rats. *The Journal of Nutrition* 135: 1953–1959.
- Schlienger J.L., Luca F.; Vinzio S., Pradiagnac A. **2009**. Obésité et cancer. *La revue de médecine interne* 30: 776-82.
- Scholtens S., Wijga AH., Smit HA., Brunekreef B., De Jongste JC., Gerritsen J., Seidell JC. **2009**. Long-chain polyunsaturated fatty acids in breast milk and early weight gain in breast-fed infants. *Br J Nutr* 101(1): 116-21.
- 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 & Metabolism* (35): 178-84.
- Sedlak J. and Lindsay R.H. **1968**. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein bound sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 25, 192-205.
- Sethi J.K. **2007**. Is PBEF/visfatin/Nampt an authentic adipokine relevant to the metabolic syndrome? *Current Hypertension Reports* 9: 33–38.
- Sethi J.K., Hotamisligil G.S. **1999**. The role of TNF alpha in adipocyte metabolism. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 10: 19-29.
- Sfar S., Bousoffara R., Sfar M.T. and Kerkeni A. **2013**. Antioxidant enzymes activities in obese Tunisian children. *Nutr J.* 12:18.
- Shahzya S.H., Lauren E.B., Naveed S. **2010**. Obesity in pregnancy: prevalence and metabolic consequences. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 15: 70–76.
- Sonta T., Inoguchi T., Tsubouchi H., Sekiguchi N., Kobayashi K., Matsumoto S., Utsumi H., Nawata H. **2004**. Evidence for contribution of vascular NAD (P) H oxidase to increased oxidative stress in animal models of diabetes and obesity. *Free Radical Biology & Medicine* 37:115-115.
- Spichiger r.e. ; Savolainen ,v.v. ; Figeat m. ; Jeanmonod d., **2002**. Botanique systématique des plantes à fleurs. 2è édition Presses polytechniques et universitaires romandes, *Lausanne*, 2002.
- Storlien LH, Higgins JA, Thomas TC, Brown MA, Wang HQ, Huang XF, Else PL. **2001**. Diet composition and insulin action in animal models. *Br J Nutr* 83: 85-90.
- Strange E.F., Alavi M., Schneider A., Ditschuneit H., Poley J. R. **1981**. Influence of dietary cholesterol, saturated and unsaturated lipid on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase activity in rabbit intestine and liver. *J lipid Res*, 22: 47-56.

Références Bibliographiques

- Stumvoll M., Goldstein B.J., Van Haeften T.W. **2000**. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet* 365:1333-46.
- Suguna P., A. Geetha, R. Aruna, G.V. Siva. **2013**. Effect of thymoquinone on ethanol and high fat diet induced chronic pancreatitis – a dose response study in rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 51: 292–302
- Sultan M.T., butt M.S., Anjum F.M, Jamil A., Akhtar S., Nasir M. **2009**. Nutritional profile of indigenous cultivar of black cumin seeds and antioxidant potential of its fixed and essential oil. *Pakistan Journal of Botany* 41(3): 1321-1330.
- Taleb S., Oulamara H., Agli A.N. **2010**. Prévalence du surpoids et de l'obésité chez les enfants scolarisés à Tébessa (Algérie) entre 1998 et 2005. *Eastern Mediterranean Health Journal* 16(7): 746-751.
- Thien T. T., Neehar G., Tracy G., Dinaz N., Marie C.C., Niloofar K., Shruti M., Gail M-E., Garcia A., and Bruce, W. R. **2003**. Direct Measure of Insulin Sensitivity with the Hyperinsulinemic-Euglycemic Clamp and Surrogate. Measures of Insulin Sensitivity with the Oral Glucose Tolerance Test: Correlations with Aberrant Crypt Foci Promotion in Rats. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 12: 47-56.
- Tousson E., El-Moghazy M. and El-Atrsh E. **2011**. The possible effect of diet containing *Nigella sativa* and *Thymus vulgaris* on blood parameters and some organs structure in rabbits. *Toxicol Ind Health* 27 (2): 107-116.
- Trease E et Evans W.C. **1987**. Pharmacognosy. *Billiare. Tindall. London* 13th Ed. pp: 61-62.
- Tremblay A., Doucet E. **2000**. Obesiy: a disease or biological adaptation? *Obesity Review* 1: 27-35.
- Valet P., Richard D. **1997**. Les lipides et la cellule adipeuse. Obesity and Association with Area of Residence, Gender and Socio-Economic Factors in Algerian and Tunisian Adults. *Edition Masson* pp109-120.
- Van Heerden F., Hoodia G. **2008**. A natural appetite suppressant. *Journal of Ethnopharmacology* 119(3): 434-437.
- Van Kruijsdijk R.C.M., Van der Wall E., Visseren F.L.J. **2009**. Obesity and Cancer: The Role of Dysfunctional Adipose Tissue. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 18: 2569.
- Van Marken Leichtenbelt Wd, Mensinkrp M, Westerterp KR. **1997**. The effect of fat composition of the diet on energy metabolism. *Z Ernährungswiss* 36 : 303-05.
- Vance V., Hanning R. **2004**. L'obésité infantile. *Documentation* 21: 1-3.
- Vanessa M. C., Romero M.M., Esteve M., Ardevol A., Blay M., Blade C., Arola L., Salvado M. J. **2011**. Antioxidant effects of a grapeseed procyanidin extract and oleoyl-estrone in obese Zucker rats. *Nutrition* 27: 1172–1176.

Références Bibliographiques

- Vassaux G., Gaillard D., Ailhaud G., Négrel R. **1992**. Prostacyclin is a specific effector of adipose cell differentiation: its dual role as a cAMP- and Ca²⁺- elevating agent. *The Journal of Biological Chemistry* 267: 11092-7.
- Vuaille Béatrice **2008**. Une expérience de provocation de surpoids. *Le quotidien du Medecine* 5: 4-6.
- Walrand S, Fisch F, Bourre JM. **2010**. Tous les acides gras saturés ont-ils le même effet métabolique ? *Nutr clin & Métab* 65:1-12.
- Wang Y., Beydoun M.A., Liang L., Caballero B., Kumanyika S.K. **2008**. Will all Americans become overweight or obese? Estimating the progression and cost of the US obesity epidemic. *Obesity (Silver Spring)* 16: 2323-30.
- Wilson P.W., Abbot R.D., Garrison R.J., Castelli W.P. **1981**. Estimation of very low density lipoprotein cholesterol from data on triglyceride concentration in serum. *Clinical Chemistry* 27: 2008-2010.
- Wolff. **1968**. Manuel d'analyse des corps gras, Ed Azoulay Paris.
- Worthen D.R., Ghosheh O.A., Crooks P.A. **1998**. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of blackseed, *Nigella sativa* L. *Anticancer Research* 18: 1527-1532.
- XiuHua Shen, QingYa Tang, Jiang Wu, Yi Feng, Juan Huang, Wei Cai. **2009**. Effect of Vitamin E Supplementation on Oxidative Stress in a Rat Model of Diet-induced Obesity. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 79, 255-263. DOI: 10.1024/0300-9831.79.4.255.
- Xuefeng, Y., Yi, Z., Jieyi, L., Anfang, P., Chenjiang, Y., Wenhong, C., Limei, M. **2012**. A lower proportion of dietary saturated/monounsaturated/polyunsaturated fatty acids reduce the expression of adiponectin in rats fed a high-fat diet. *Nutr Res* 32 (4): 285-291.
- Yang Pan, Baochang Cai, Kelin Wang, SuminWang, Shuyuan Zhou, XiaochunYu, Bin Xu, Long Chen. **2009**. Neferine enhances insulin sensitivity in insulin resistant rats. *J Ethnopharmacol*, 124: 98-102.
- Yang X, Zhang Y, Lin J, Pen A, Ying C, Cao W, Mao L. **2012**. A lower proportion of dietary saturated/monounsaturated/polyunsaturated fatty acids reduces the expression of adiponectin in rats fed a high-fat diet. *Nutri res*, 32(4):285-91
- You J.S., Lee Y. J., Kim K.S., Kim S.H., Chang K.J. **2014**. Ethanol extract of lotus (*Nelum bonucifera*) root exhibits an antiadipogenic effect in human pre-adipocytes and anti-obesity and anti-oxidant effects in rats fed a high-fat diet. *Nutrition Research* doi: 10.1016/j.nutres.2014.01.003
- 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.

Références Bibliographiques

- Yuliana N.D., Jahangir M., Korthout H., Choi Y. H., Kim H. K., Verpoorte R. **2011**. Comprehensive review on herbal medicine for energy intake suppression. *Obesity Reviews* 12(7): 499–514.
- Yun J.K., Keun-Young K., Min S.K. **2008**. A mixture of the aqueous extract of *Garcinia cambogia*, soy peptide and L-carnitine reduces the accumulation of visceral fat mass in rats rendered obese by a high fat diet. *Genes & nutrition* 2353-358.
- Zaman Z., Fielden P., Frost P.G. **1993**. Simultaneous determination of vitamins A and E and carotenoids in plasma by reversed-phase HPLC in elderly and younger subjects. *Clinical Chemistry* 39: 2229-34.
- Zaoui, A., Cherrah, Y., Mahassini, N., Alaoui, K., Amarouch, H., Hassar, M. **2002**. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine*, 9: 69–74.
- Zillikens M. C., Yazdanpanah M., Pardo L. M., Rivadeneira F., Aulchenko Y. S., Oostra B. A., Uitterlinden A. G., Pols H. A. P., Van Duijn C. M. **2008**. Sex-specific genetic effects influence variation in body composition. *Diabetologia* 51: 2233–2241.

ECB 2014, volume 3, Number 9

ISSN: 2063-5346

European Chemical Bulletin



Materials and Environmental Chemistry
Chemistry of Biological Systems
Industrial and Engineering Chemistry
Theoretical and Nuclear Chemistry
Classical Chemical Sciences

Deuton-X Research and Development Ltd



METABOLIC AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF *NIGELLA SATIVA* OIL ON PREVENTION OF OBESITY DEVELOPMENT IN RATS FED HIGH-FAT DIET.

Amal Didi,^{[a]*}, Radjaa K. Meziane^[a], Fouzia Amamou^[a], Amine Benhmidat^[a],
Daoudi Chabane Sari^[a]

Keywords: Metabolic and antioxidant effect; *Nigella sativa* oil, obesity.

The results of this study demonstrated that *Nigella sativa* seeds oil is beneficial for attenuating complications of obesity and possibly preventing it because of its essential polyunsaturated fatty acids; linoleic and linolenic acids and other nutrients such as liposoluble vitamins like tocopherols and also minerals, essential amino acids, some polyphenols, terpenoids and quinones, particularly thymoquinone that have shown potential medicinal properties in traditional medicine.

*Corresponding Authors

Fax: +213 553 57 1929

E-Mail: didiame113@gmail.com

[a] Laboratory of naturel products, Department of Biology,
Faculty of sciences of nature and life, sciences of earth and
universe. Abou Bekr Belkaïd University-PB 119- Tlemcen-
Algeria.

associated with obesity such as insulin resistance, diabetes, hypertension, and metabolic syndrome. Different factors can contribute to oxidative stress in obesity, e.g., hyperglycemia, increased muscle activity because of the need to carry excessive weight, increased tissue lipid levels, inadequate antioxidant defenses, chronic inflammation and endothelial reactive oxygen species (ROS) production.¹⁵

Introduction

Obesity is rapidly increasing worldwide. It has become a leading health problem in the 21st century loading both in developed and developing countries.^{1,2} In 2009, the World Health Organization estimates that nearly 700 million the number of obese people by 2015, with an increase of 75% in 10 years.^{3,4} Obesity and overweight can lead to a high risk of health complications such as cardiovascular disease, insulin resistance and type II diabetes mellitus, hyperlipemia, hypertension and cancers.⁵

Once of their many factors that involved obesity, consumption of energy-dense foods; rich in fat and/or carbohydrates, is considered a major contributing cause to this disease. Furthermore, an increased body weight is observed in the imbalance between the energy intake and the expenditure.^{1,6,7} A high fat diet intake can contribute to the development of obesity and dyslipidemia in humans and rodents by altering cholesterol and triglyceride levels in plasma and tissues.⁸ Several studies have reported that diet composition in type and amount of fat favors reduced hyperlipidemia⁹ and mainly diet rich in saturated fatty acids favor an acute increase in insulin resistance and adiposity.¹⁰ Some studies also show how the effect of n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs), conjugated fatty acids, phytosterols, medium-chain triglycerides and phospho lipids as important modulators, can affect obesity.¹¹⁻¹³

Numerous studies have found elevated biomarkers of oxidative stress in overweight and obesity. Oxidative stress can lead to damage of biomolecules such as lipids, proteins, and DNA.¹⁴ Oxidative stress may be the mechanism underlying the development of inflammation and diseases

There are several treatments developed to remedy this deadly disease and its complications, including hypo caloric diets, exercise, medication and also surgery.⁷ Among these treatments, dieting, exercise and behavior modification are essential to the management of obesity; even though often, long-term results are disappointing. Various anti-obesity drugs, including rimonabant, Sibutramine, fenfluramine, phentermine, phendimetrazine, and diethylpropion have been withdrawn from the market owing to an unacceptable side effects that include headaches, vomiting, and heart attacks and psychiatric problems such as anxiety and depression. The history of anti-obesity drugs development is far from glorious and only a handful of agents are currently licensed for clinical use. Orlistat is the only weight loss agent approved for long-term clinical use in Europe.¹⁶⁻¹⁸

Many researchers in the field of food science have focused on the search for functional food ingredients and/or herbal extracts that can prevent the accumulation of body fat so achieving body weight loss,¹⁹ improving the oxidative metabolism by alleviating glycemia and lipidemia and decreasing obesity-related oxidative stress by increasing tissue antioxidant levels.¹⁵

Vegetable oils are a good example that depicts the actions of dietary fat on obesity and their alterations. Among the various oil seeds, black cumin (*Nigella sativa* L.), an annual *Ranunculaceae* herbaceous plant, is of particular interest because it may be used for medicinal purposes as a natural remedy for a number of illnesses. The effects of black cumin seeds have been evaluated in clinical and animal studies. These seeds have been used as diuretic, antiulcerogenic, liver tonic, immunomodulative, anti-inflammatory, antitumor and antidiabetic.²⁰⁻²² Additionally, these seeds

have been subjected to a range of pharmacological investigations in recent years.^{23,24} Besides the diversity of fatty acids that contained in this seed oil, thymoquinone (TQ) is known as a pharmacologically active compound that is shown to have a protective effect mainly against hepatotoxicity induced by either chemicals or diseases.²⁵

The investigations of protective effect of *N. sativa* fixed oil seeds on lipid metabolism and their corrective effect of the alterations that follow obesity in animal models are limited.²⁶ Consequently, in order to explore the effect of vegetable oils for preventing and eventually treating obesity, the aim of this study was carried out to examine the possible beneficial effect of *N. sativa* seeds fixed oil on body weight, lipid metabolism, pancreatic and hepatic activity and investigate their effect on the antioxidant status by quantifying the plasmatic concentrations of antioxidant vitamins (A,C and E), malondialdehyde (MDA) levels, protein carbonyls as a markers of an oxidative stress in addition of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities, and this was carried out in growing obese male rats fed with high fat diet (HFD) and in non-obese rats were measured.

Materials and methods

Vegetable oils

Nigella sativa L. (*Ranunculaceae*) seeds oil was extracted using the following method: Seeds obtained from Tlemcen-Algeria were grounded using a crusher (Retsch RM 100). The lipid fraction was extracted using petroleum ether (40–60 °C) in a Soxhlet apparatus for 2 hours (Natural Products Laboratory, Tlemcen, Algeria). The solvent was then evaporated and the lipid fraction residues weighed. The yield oil content on seeds was found to be 35 ± 1.8 %.

After preparation, seed oil extract was refrigerated and covered with aluminium foil, to protect from light to assure its stability.

Olive and Sunflower oils are commercial local products (Olive oil is obtained by cold extraction and sunflower oil purchased from Cevital®). All chemicals used were commercially provided with a high purity level.

Thymoquinone quantification on *N. sativa* seeds oil

TQ quantification was carried out by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) as described by Al-saleh *et al.*,²⁷ with some modifications, for this; oil sample (a triplicate) was dissolved in methanol (for HPLC analysis from Sigma-Aldrich) vortexed for 1 min and centrifuged 10 min at 3000 rpm. 20 μ L of supernatant was injected on reverse-phase Waters column (150 \times 4.6mm \times 3.5 μ m particle size), using an isocratic mobile phase of water: methanol: 2-propanol (50:45:5% v/v) at a flow rate of 1 mL min⁻¹. Analyses were made at room temperature.

UV monitoring was carried out at 275 nm. Calibration curve was constructed by TQ standard at the same conditions.

Evaluation of biological activity

Animals

The experimental protocol was approved by the Animal Care and Use Committee of Tlemcen University. Fifty male Wistar rats obtained from the Pasteur Institute (Algiers, Algeria) weighing 86.7 ± 1.3 g were considered at the beginning of the experiment. One-month-old male Wistar rats were housed in clear plastic cages with natural beddings and subjected to 12 hours light-dark cycles. Food and water were available *ad libitum*. Food was replaced daily and the uneaten portions weighed. The temperature was maintained at 24 °C and humidity kept constant at 60 %.

Experimental diets

The rats were divided randomly into six diet (D1-D6) groups. Each group was fed one of six diets (**Table 1**) for eight weeks:

D 1: Control diet, rats received 4 % Sunflower oil (n=10);

D 2: Obese group received high fat diet (HFD) with 32 % Sunflower oil (n=10);

D 3: received 4 % black cumin seeds oil (n=7);

D 4: were fed 28 % Sunflower oil and 4 % black cumin seeds oil (n=8);

D 5: were fed 4 % Olive oil (n=7);

D 6: were fed 28 % of Sunflower oil and 4 % Olive oil (n=8).

Oral glucose tolerance test (OGTT)

After the two weeks period of experimentation diets and following overnight fasting, the rats were being subjected to an oral glucose tolerance test (OGTT) by intragastric feeding with a glucose solution (2 g/kg body weight). OGTT was carried out during two (02) hours. Blood samples were collected from the tail vein at 0, 30, 60, 90 and 120 min after glucose administration. Because it's stressful, only two blood samples were done from the retro-orbital sinus, and this was to determine initial (0 min) and final (120 min) insulin blood concentration.

Blood glucose was determined using a glucometer (Accu-Check Active, Roche, Germany). Plasma insulin concentration was measured by radio-immunoassay using Rat Ultrasensitive Insulin ELISA (ALPCO Diagnostics, NH). The homeostasis model assessment score of insulin resistance (HOMA-IR) was calculated from the fasting glucose and insulin concentration using the standard formula as described by Matthews *et al.*²⁸ Insulin sensitivity was determined using the quantitative oral glucose and insulin sensitivity index OGIS and calculated from a spreadsheet that can be downloaded using this link: <http://webmet.pd.cnr.it/ogis/download.php>, which was based on glucose oral dose and insulin levels.^{29,30}

Table 1. Ingredient composition of experimental diet groups (D1-D6).

Constituent, wt. %	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Starch	60.3	32.3	60.3	32.3	60.3	32.3
Oil	4.0	32.0	4.0	32.0	4.0	32.0
Dietary fatty acids ^a						
ΣSFA ^b	0.89±/0.01	7.10±/0.02 ^a	0.76±/0.01	6.98±/0.05 ^b	0.73±/0.01	6.95±/0.02
ΣMUFA ^c	2.40±/0.05	19.21±/0.08 ^a	0.83±/0.01	17.64±/0.10 ^b	2.59±/0.08	19.40±/0.12
ΣPUFA ^d	0.63±/0.01	5.05±/0.02 ^a	2.22±/0.09	6.64±/0.07 ^b	0.71±/0.01	5.13±/0.02
P/S ^e	0.71±/0.01	0.71±/0.01 ^a	2.92±/0.09	0.95±/0.01 ^b	0.85±/0.02	0.73±/0.01
Energy values (kcal)	371.9	517.5	371.9	517.5	371.9	517.5

In addition, the common ingredients in all diet groups were: 16 % casein, 0.3 % methionine, 5 % saccharose, 5 % cellulose, 7.37 % mineral mix* and 2 % vitamin mix*. *Mineral mix composition (g/100 g of dry diet): Ca²⁺, 4; K⁺, 2.4; Na⁺, 1.6; Mg²⁺, 0.4 Fe²⁺, 0.12; trace elements: manganese, 0.032; copper, 0.05; zinc, 0.018. Vitamin mix composition (mg Kg⁻¹ of dry diet): retinol, 1.8; cholecalciferol, 0.019; thiamine, 6; riboflavin, 4.5; pantothenic acid, 21; inositol, 5; ascorbic acid, 240; L-tocopherol, 51; nicotinic acid, 30; folic acid, 1.5; biotin, 0.09. Refer to text for diet groups. *a*: calculated from CG data, *b*: total saturated fatty acids, *c*: total monounsaturated fatty acids, *d*: total polyunsaturated fatty acids, *e*: polyunsaturated and Saturated fatty acids ratio. *a*: *p*<0.05 obese group versus controls. *b*: *p*<0.05 nigelle oil treated group versus obese and olive oil's treated group. *c*: *p*<0.05 olive oil's treated group versus obese.

Table 2. Effect of the different diets on plasma fatty acids composition

Plasma fatty acids, wt. %	D1 (n=10)	D2 (n=10)	D3 (n=7)	D4 (n=8)	D5 (n=7)	D6 (n=8)
C14:0	nd ^α	nd	0.11±/0.03	0.17±/0.03 ^b	nd	nd
C16:0	26.27±/0.01	24.22±/0.03	25.66±/0.04	14.34±/0.04 ^b	21.29±/0.13	15.62±/0.03
C18:0	19.22±/0.01	16.68±/0.01	10.44±/0.03	16.52±/0.06	9.70±/0.09	14.16±/0.01
C18:1	29.44±/0.04	35.55±/0.11 ^a	35.10±/0.18	32.07±/0.04 ^b	24.08±/0.21	25.32±/0.01
C18:2	11.27±/0.05	21.7±/0.03 ^a	20.85±/0.05	29.61±/0.1 ^b	27.37±/0.06	35.16±/0.01
C18:3	0.67±/0.02	Nd	0.09±/0.01		nd	nd
C20:0	nd	Nd	0.05±/0.00	0.88±/0.01 ^b	nd	nd
C20:1	0.58±/0.02	Nd	nd	nd	nd	nd
C22:0	nd	Nd	nd	nd	1.4±/0.05	nd
C20:4	6.36±/0.03	10.59±/0.02 ^a	7.08±/0.03	12.09±/0.01 ^b	10.2±/0.08	8.80±/0.02
ΣSFA ^β	45.49±/0.01	40.9±/0.02 ^a	36.26±/0.02	31.91±/0.12 ^b	32.39±/0.013	29.78±/0.12
ΣMUFA ^γ	30.02±/0.03	35.55±/0.05 ^a	35.1±/0.04	32.07±/0.08 ^b	24.08±/0.35	25.32±/0.12
ΣPUFA ^δ	18.63±/0.03	23.29±/0.09 ^a	28.02±/0.04	41.7±/0.10 ^b	37.57±/0.08	43.96±/0.22

^α not detected, ^β Total saturated fatty acids, ^γ Total monounsaturated fatty acids, ^δ Total polyunsaturated fatty acids. *a*: *p*<0.05 obese group versus controls. *b*: *p*<0.05 nigelle oil treated group versus obese and olive oil's treated group. *c*: *p*<0.05 olive oil's treated group versus obese.

Body weight, liver, adipose tissues weight and blood parameters

Food intake and body weight were measured on a daily basis. At the end of the eighth (8th) week, the control and treated groups were sacrificed, after anesthetization with intra-peritoneal injection of chloral hydrate 10 % (3 mL Kg⁻¹). These animals were treated, manipulated and killed according to the regulations of the *Animal Care Laboratory of Tlemcen University-Algeria*.

Blood was immediately collected from the abdominal aorta in heparinized tubes and the plasma obtained after centrifugation was used for the determination of biochemical markers including alanine aminotransferase EC 2.6.1.2 (ALT), aspartate aminotransferase EC 2.6.1.1 (AST), lactate dehydrogenase EC 1.1.1.27 (LDH), alkaline phosphatase EC 3.1.3.1 (ALP) using enzymatic kits (Spinreact, Girona, Spain).

Albumin, globulin, total protein, blood urea, creatinine, blood glucose (BG), triglycerides (TG) and total cholesterol (TC) using enzymatic kits (Biomérieux, Lyon, France).

HDL-cholesterol (HDL-C) was measured using also enzymatic method after precipitating HDL by sodium phosphotungstate-magnesium.³¹ VLDL-cholesterol (VLDL-C) was calculated by dividing triglyceride concentration by five.³² LDL-cholesterol (LDL-C) concentration was calculated using the Friedewald-Levy-Fredrickson formula.³³

Liver and visceral adipose tissues (abdominal's, kidney's and testis fats) were excised and weighted.

Measurement of total plasma fatty acids

The fatty acid profile of plasma was determined by gas chromatography (CG). Fatty acids were trans-esterified into methyl esters (FAMES) following the Bligh and Dyer procedure using 14% boron trifluoride in methanol with some modifications.³⁴ FAMES were identified by CG Varian CP-3380 using a capillary column (Alltech EC-Wax) (30m×0.53mm×1.2 μm film thickness) and equipped with a flame ionization detector (FID). Helium was used as the carrier gas. 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 with 6°C/min heating rate. After this period, the temperature was kept at 220°C for 10 min. FAMES were identified using FAMES authentic standard (Grace AOCS Mix 3A) injected in the same conditions as the plasma FAMES (a triplicate).

Oil FAMES composition was also analyzed as described above. The results are shown in Table 2.

Determination of anti-oxidant status

Determination of plasma levels of vitamins A, C and E

Plasma α -tocopherol (vitamin E) and retinol (vitamin A) were determined by reverse phase HPLC and detected by an UV detector at 292 nm for vitamin E and 325 nm for vitamin A.³⁵ Vitamin C levels were determined in plasma using the method described by of Roe and Kuether.³⁶

Measurement of malondialdehyde (MDA):

Analysis of lipid peroxidation was estimated by measuring thio-barbituric acid reactive substances (TBARS) and was expressed in terms of malondialdehyde content, according to the method of Ohkawa *et al.*,³⁷ Briefly, an aliquot of 200 µL of plasma was mixed thoroughly with aqueous solution of thiobarbituric acid and heated at 95°C for 30 min in a water bath. The suspension was then cooled to room temperature, centrifuged at 4000 rpm for 10 min, and the pink colored supernatant was taken for spectrophotometry measurement at 532 nm for MDA assay.

MDA concentration was calculated by the extinction coefficient of MDA-TBA complex $E_{532nm,1cm}^M = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Measurement of protein carbonyls

Plasma carbonyl proteins (marker of protein oxidation) were assayed by the 2, 4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) reaction.³⁸ Briefly, proteins were precipitated by the addition of 20% trichloroacetic acid and redissolved in DNPH and the absorbance was read at 370 nm.

Determination of antioxidant enzymes activities:

Analysis of catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) activity was performed using the method of Aebi³⁹ where the enzyme-catalyzed decomposition of H_2O_2 is measured. The rate of H_2O_2 decomposition was measured at 240 nm. The activity was calculated utilizing the extinction coefficient of H_2O_2 , $E_{240nm,1cm}^M = 0.0394 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Superoxide dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1) activity was determined according to the method described by Sun *et al.*⁴⁰ The principal of the method is based on the inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) by the xanthine oxidase system as a superoxide generator. SOD activity (1U) was defined as of the enzyme amount causing 50% inhibition in the NBT reduction rate.

Statistical analysis

The results were expressed as the mean value \pm standard deviation. The comparison between the mean values of each two groups was established by Student's test "t". Significance was set at $p < 0.05$. The significance of differences between all the parameters was assessed by the one way ANOVA analysis and Tukey's post hoc test was used for the comparisons; p -values < 0.05 were considered statistically significant. Multiple regression analysis was used to estimate the relationship between FBW (final body weight), glycemia, insulinemia, food intake, AGPI intake, HDL-C, TG, HOMA score and OGIS index; while all confidence limits represent 95% intervals. A Pearson correlation was also made to compare all the parameters.

Results

Body weight, lipid intake and energy supply

From the first week of the experimentation (Fig. 1), body weight of rats fed by an HFD (Diet 2) started to increase significantly compared to those fed an isocaloric diet (Diet 1, 3 and 5) which suggests in at first sight the installation of obesity. Also, the weight of rats fed an HFD with 4% Nigella oil or Olive oil (Diet 4 and 6 respectively) decreased significantly from the third week compared to group 2. On the other hand, liver and abdominal adipose tissue weights (Table 3) show a significant increase in obese *versus* control rats which are positively correlated to FBW. Only for liver weight, a significant decrease in Diet 4 and 6 ($p < 0.05$) compared with obese group was noted. No differences were observed between the other adipose tissues (*see Table 1*).

The data showed that all rats received an HFD (Diets 2, 4 and 6) presented an increase in lipid intake compared to isocaloric fed rats (Diets 1, 3 and 5). Consequently, the total energy supply (TES) was significantly higher on the HFD fed rats.

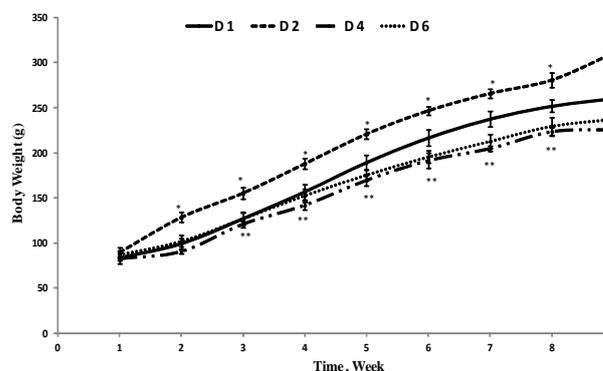


Fig 1. Changes in body weight per week of rats of different diet groups: control (D1), obese (D2), nigella (D4) and olive oil (D6) treated groups. (D3 and D5) are not represented because of their superposition on the control curve (D1). Refer to Table 2 for diet groups. * ($p < 0.05$): Significant difference between control and obese group. ** ($p < 0.01$): Significant difference between obese and treated groups.

Table 3. Effect of the different diets on initial and final body weight, food intake and organs weights.

	D1 (n=10)	D2 (n=10)	D3 (n=7)	D4 (n=8)	D5 (n=7)	D6 (n=8)
Initial BW, g	86.20±/5.98	89.5±/5.80	87.5±/1.98	82.4±/2.07	87.7±/5.45	87.2±/3.94
Final BW, g	202.0±/7.05	310.5±/4.13 ^a	228.0±/22.63	225.7±/6.26 ^b	237.0±/2.54	237.2±/9.64 ^c
Food intake, g d ⁻¹ 100 g BW ⁻¹	11.90±/0.66	12.8±/0.66	13.1±/0.86	13.4±/0.99	11.2±/0.22	9.80±/1.27 ^c
Lipid intake, g d ⁻¹ 100 g BW ⁻¹	0.48±/0.03	5.10±/0.27 ^a	0.53±/0.03	5.30±/0.39	0.45±/0.01	3.90±/0.51 ^c
TES, kcal d ⁻¹ 100g BW ⁻¹	43.34±/1.82	63.48±/7.16 ^a	47.52±/1.66	57.78±/10.32	40.56±/1.67	49.85±/10.40 ^c
Liver weight, rel. %	3.37±/0.12	3.82±/0.20 ^a	3.6±/0.08	2.96±/0.32 ^b	3.31±/0.10	3.26±/0.11
Abdominal fat, rel. %	0.91±/0.02	1.54±/0.09 ^a	1.20±/0.06	1.35±/0.02 ^b	1.28±/0.01	1.11±/0.05 ^c
Peri-testis fat, rel. %	1.46±/0.10	1.48±/0.02 ^a	1.40±/0.03	1.34±/0.09 ^b	1.48±/0.15	1.46±/0.13
Peri-renal fat, rel. %	0.24±/0.10	0.31±/0.02 ^a	0.27±/0.05	0.24±/0.03 ^b	0.22±/0.07	0.20±/0.02 ^c

BW: Body weight, TES: Total energy supply; d: day; W: watt; rel: relative weights; a: $p < 0.05$ obese group versus controls; b: $p < 0.05$ nigelle oil treated group versus obese and olive oil's treated group; c: $p < 0.05$ olive oil's treated group versus obese rats.

Table 4. Effect of the different diets on the biochemical parameters.

	D1 (n=10)	D2 (n=10)	D3 (n=7)	D4 (n=8)	D5 (n=7)	D6 (n=8)
Glycemia, mmol L ⁻¹	4.30±/0.01	8.10±/0.03 ^a	4.70±/0.07	4.20±/0.04 ^b	4.60±/0.05	4.50±/0.04 ^c
Total cholesterol, g L ⁻¹	0.45±/0.02	0.73±/0.25 ^a	0.57±/0.07	0.53±/0.08 ^b	0.49±/0.02	0.53±/0.03 ^c
Triglycerids, g L ⁻¹	0.40±/0.03	0.47±/0.01 ^a	0.73±/0.16	0.29±/0.06 ^b	0.33±/0.06	0.37±/0.01 ^c
HDL-C, g L ⁻¹	0.34±/0.03	0.28±/0.01 ^a	0.34±/0.02	0.34±/0.05 ^b	0.37±/0.05	0.36±/0.02 ^c
LDL-C, g L ⁻¹	0.03±/0.01	0.36±/0.07 ^a	0.08±/0.05	0.13±/0.07 ^b	0.05±/0.01	0.10±/0.03 ^c
VLDL-C, g L ⁻¹	0.08±/0.00	0.09±/0.01	0.15±/0.03	0.06±/0.01	0.07±/0.01	0.07±/0.00
Total proteins, g dL ⁻¹	5.66±/1.15	5.62±/1.73	5.60±/0.02	6.70±/0.87	5.25±/3.20	5.26±/0.58
Albumin, g dL ⁻¹	2.65±/0.21	2.70±/0.08	2.80±/0.16	3.60±/0.12	2.95±/1.08	2.75±/0.05
Globulin, g dL ⁻¹	2.98±/0.23	2.88±/0.09	2.74±/0.06	3.06±/0.19 ^b	2.28±/0.09	2.51±/0.19
A/G ratio	0.88±/0.12	1.43±/0.13 ^a	1.02±/0.11	1.17±/0.21 ^b	1.29±/0.12	1.09±/0.15 ^c
TGO, UI L ⁻¹	112.7±/1.87	94.1±/5.50 ^a	77.5±/2.37	115.0±/1.68 ^b	106.2±/7.10	87.5±/3.15
TGP, UI L ⁻¹	42.03±/30.11	52.2±/11.30 ^a	38.8±/6.55	45.5±/6.54 ^b	44.8±/1.34	60.2±/6.70
TGO/TGP ratio	2.34±/0.20	3.20±/0.7 ^a	2.50±/0.60	2.08±/0.14 ^b	2.30±/0.22	2.30±/0.19
LDH, UI L ⁻¹	3421.4±/132.34	3093.9±/320.39 ^a	3320.2±/264.13	3181.5±/710.43 ^b	3171.32±/530.04	3223.8±/567.65
ALP, UI L ⁻¹	412.5±/23.33	305.2±/11.67	396.2±/0.18	448.8±/14.0 ^b	405.7±/19.45	367.9±/53.7 ^c
Creatinine, mg L ⁻¹	9.10±/0.43	6.80±/0.035 ^a	6.70±/0.18	7.05±/1.06	7.10±/0.24	7.40±/0.10
Urea, g L ⁻¹	0.66±/0.02	0.50±/0.01 ^a	0.38±/0.01	0.40±/0.01	0.34±/0.01	0.41±/0.01

a: $p < 0.05$ obese group versus controls; b: $p < 0.05$ nigelle oil treated group versus obese and olive oil's treated group; c: $p < 0.05$ olive oil's treated group versus obese rats. Data represents means±/SD.

Table 5. Effect of *Nigella sativa* and olive oils oxidative stress biomarkers.

	D1 (n=10)	D2 (n=10)	D3 (n=7)	D4 (n=8)	D5 (n=7)	D6 (n=8)
Vitamin C, µg mL ⁻¹	15.40±/2.3	11.08 ±/1.9 ^a	16.16 ±/1.2 ^b	16.27 ±/1.8 ^b	15.80±/1.06 ^c	16.12 ±/1.07 ^c
Vitamin E, µmol mL ⁻¹	7.65±/0.6	6.87 ±/0.7 ^a	8.22 ±/0.65 ^b	8.58 ±/0.8 ^b	7.98 ±/0.54	8.08 ±/0.63 ^c
Vitamin A, µmol mL ⁻¹	16.09±/3.12	10.03 ±/2.18 ^a	14.08 ±/2.04 ^b	14.55 ±/2.09 ^b	14.15±/2.02 ^c	14.20 ±/1.78 ^c
MDA, nmol mL ⁻¹	2.14 ±/2.3	4.47±/4.0 ^a	2.13±/5.0	2.40 ±/4.1 ^b	2.24±/2.8 ^c	2.50±/2.4 ^c
Protein carbonyls, mmol mL ⁻¹	1.94 ±/0.3	2.63 ±/0.5 ^a	1.24 ±/0.1 ^b	1.42±/0.1 ^b	1.34 ±/0.2 ^c	1.07 ±/0.6 ^c
SOD, U mL ⁻¹	10.02 ±/1.91	11.89±/1.85 ^a	09.74±/2.21 ^b	10.11±/0.96 ^b	08.60±/0.85 ^c	09.25±/0.99 ^c
Cat activity, U mL ⁻¹	18,43±/2.6	21,93 ±/4.2 ^a	20,27±/10.8 ^b	19,83 ±/10.9 ^b	20,93±/13.9 ^c	20,61±/11.2 ^c

Data represents means±/SD. a: $p < 0.05$ obese group versus controls; b: $p < 0.05$ nigelle oil treated group versus obese and olive oil's treated group; c: $p < 0.05$ olive oil's treated group versus obese rats. Refer to Table 1 for diet groups.

Final body weight and Biochemical parameters

Concerning the investigated biochemical parameters presented in Table 4, the HFD group (D 2) points out a significant increase in alanin aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) compared to the control group (D 1). In opposite, ALT and AST concentrations decreased ($p < 0.05$) significantly when comparing the HFD group with obese treated groups (Diets 4 and 6). A statistical difference is also observed between the two treated groups D 4 and D 6 which present a difference in their fatty acid composition (see Table 1). Also ALP levels increased significantly after dietary treatment with NS and olive oil. In contrast, no statistical difference was noted in LDH levels.

Total proteins, albumin and globulin levels decreased significantly in the HFD group compared to the control group. In opposite, after 08 weeks of daily treatment with NS oil, these parameters raised up, although the A/G ratio decreased in the same treated group when compared with obese rats reflecting the production of albumin by the hepatic cells which are the site of albumin synthesis and that the liver gets back their functional status. Also, there was a significant decrease in urea and creatinine levels in the obese rats (D 2) group vs. the control group (D1) and there was no statistical difference observed between the other groups.

BG, insulin, TG and TC were significantly higher in the HFD group compared to the control group, but decreased significantly ($p < 0.05$) for rats that received NS and olive oils compared to the HFD group. The HDL-C concentrations tended to increase in the treated groups (D4 and D6) while LDL-C was decreased significantly.

Blood glucose, plasma insulin and insulin resistance

The results of OGTT are shown in Figure 2. HOMA and OGIS results are summarized in Figure 3. For the duration of 120 min of the test, the animals were manipulated carefully to avoid stress. During the OGTT (Figure 2), the blood glucose levels in the control (D1) and treated group rats (D4 and D6) remained higher and reached the fasting levels at 2 hours and no significant difference was noted between these two groups. In contrast, in a HFD group (D2) glucose levels were significantly higher than in Diet 4 ($p < 0.01$) even at 2 hours of test. HOMA-IR score is correlated to insulin sensibility OGIS has found to give a very similar results compare to hyper-insulinemic-euglycemic clamp.

Based on a multiple regression model, we can predict at 80.1% of the final weight from the amount of lipid intake, the insulin and glucose levels taken during an oral glucose tolerance test.

Oxidative stress biomarkers

Results of vitamins (A, C and E), MDA and protein carbonyls contents, CAT and SOD activities are shown in Table 5.

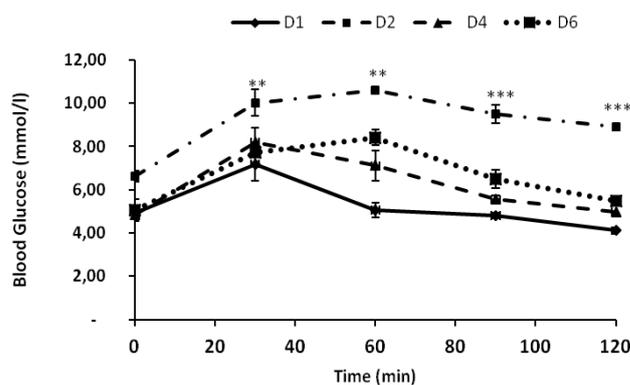


Fig 2. Evolution of blood glucose during OGTT. Results are expressed as means \pm SD. **($p < 0.05$) ; ***($p < 0.01$): significant difference between obese and control and control and treated obese groups.

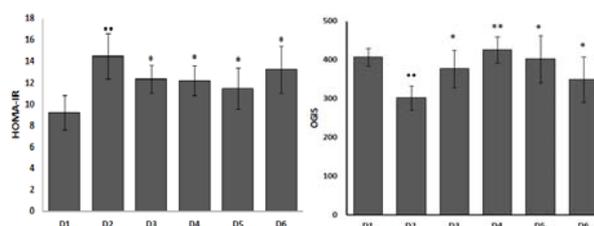


Fig 3. HOMA-IR score and OGIS values. • : Significant difference between obese group and control ($p < 0.05$); •• ($p < 0.01$); *: Significant difference between obese and treated groups (*Nigella* or olive oil) ($p < 0.05$); ** ($p < 0.01$).

We have noted a significant reduction on vitamins concentrations in obese rats compared to control group and treated groups with NS fixed oil and olive oil. A significant increase was observed in the levels of plasma MDA and protein oxidation in HFD group (D2) compared to control group (D1) and supplemented groups with nigelle and olive oils (D4 and D6). The SOD and CAT activities were significantly higher ($p < 0.05$) in rats feeding with HFD. The treatment with NS oil induced a significant correction in SOD and CAT activities in both control (D3) and obese treated rats (D4).

Discussion

The aim of this study was to verify whether the supplementation with vegetable oils (*Nigella sativa* and olive oils) if it can prevent obesity. In fact, HFD induced obesity in growing rats during the 08 weeks of experimentation 32.02 % of weight gain was noted in the HFD group compared with the control group. It has been reported that HFD consumption may predispose individuals to obesity, and it can be explained that a high fat intake can contribute to excess of energy and consequently promote or support obesity.⁴¹ It can also be explained that excessive weight gain may result from high energy intake resulting from the high caloric density of fat-enriched food or a failure in the ability to oxidize fat in obese rats.⁴² These results can also be explained by the fact that high fat diets

are rich in SFAs which are considered as enhancing compounds in the development of adipose tissues.⁴³ On the other hand, it was shown the beneficial effects of PUFAs, due to the presence of double bonds ending up with low energy following their oxidation.⁴⁴ The oxidation rate of oleic acid is faster than that of linoleic acid and the increase in PUFAs induces a decrease in adipose tissue mass and prevents obesity development compared with MUFAs and SFAs.⁴⁵

Moreover, the results obtained showed a significant body weight decrease which can also be explained by the high P/S ratio that is equal to 2.92, 0.85 and 0.71 in *N. sativa* oil, olive oil and sunflower oil, respectively. Actually, a high P/S ratio constitutes an important determinant for preventing HFD induced obesity. Liao and collaborators⁴⁵ reported similar results to ours in hamsters fed a low P/S ratio diet, which increased body weight gain and supported fat accumulation, whereas a high P/S ratio diet appeared to be beneficial in preventing white adipose tissue accumulation by increasing hepatic lipolytic enzyme activities involved in β -oxidation.

In fact, our results showed a significant decrease in the development of hyperglycemia and hyperlipidemia (total serum cholesterol and triglyceride levels) in groups treated with *N. sativa* and olive oils compared to the HFD group. The correction of lipid profile and glycemia comes to confirm that *N. sativa* fixed oil possesses favorable metabolic effects. Therefore in the study led by Houcher *et al.*,⁴⁶ the authors mentioned that an oil seed extract of *N. sativa* cause an important decrease in glycemia. This hypoglycemic effect can be explained by either inhibition of intestinal absorption, the stimulation of insulin secretion or sensibility of tissues to insulin action which is confirmed by the HOMA-IR score and OGIS index, or by the inhibition of gluconeogenesis enzymes which must be verified. At the same time, the presence of thymoquinone on *N. sativa* as detected by the HPLC at the concentration of $6.01 \pm 0.54 \text{ mg g}^{-1}$ of oil can be another explanation to the corrective effect on the glycemia level; this is which Fararh *et al.*,⁴⁷ proved in their study. We find out that the proportion S/M/P of NS seed oil is about 1:1.1:2.6 close enough to the proportion cited in a recent study where the authors⁴⁸ mentioned that the proportion of different fatty acids in diets played an important role in metabolism and specifically, the proportion of S/M/P at 1:1:2 improved glucose and lipids metabolism, and increase insulin sensitivity.

Grundy⁴¹ imputed the increased cholesterol and triglyceride levels to high intakes of SFAs when compared with UFAs, which can be explained by the fact that the effect of SFAs on the intestinal absorption of dietary cholesterol is greater than UFAs action.⁴⁹ Similar results were obtained by El-Dakhkhny *et al.*,⁵⁰ who found that *N. sativa* oil administrated to rats decreased significantly the serum levels of total cholesterol, TG, LDL-C and increased HDL-C. Also, Zaoui *et al.*,⁵¹ indicated that oral treatment with *N. sativa* oil, reduced serum cholesterol and TG and glycemia levels compared with normal rats. Moreover, Meddah *et al.*,⁵² showed that chronic *N. sativa* treatment improved glucose tolerance as efficiently as metformin and reduced body weight without any toxic effect.

Many studies correlate the level of serum triglycerides have been associated with insulin resistance.^{29,53} In a recent study, Yang *et al.*,⁵⁴ showed that the proportion of different fatty acids in diets plays an important role in improving lipid and glucose metabolism and increasing insulin sensitivity. In fact, one of the destinies of PUFAs in cells is incorporated into membrane phospholipids. When in membranes, PUFAs contribute to their fluidity that is an important factor in the correct hormone-receptor binding. In fact, increasing in membrane fluidity might result in an enhanced number of insulin receptors that can explain by the opposite the insulin resistance, which might be associated with a rigid membrane, which limits the number of insulin receptors and decreased affinity of insulin to its receptors.⁵⁵

On the other hand, the difference noted between the two fat supplemented diets (diets 4 and 6) can be explained by the difference in fatty acid composition of both oils. *N. sativa* oil is rich in ω 6-PUFAs, which are present in low amount in olive oil. ω 6-FAs have shown a cholesterol-lowering effect. They reduce insulin-resistance as well as the risk of type 2 diabetes. The main FA in olive oil is the monounsaturated oleic acid, which has a controversial action.⁵⁶ A recent study made on Spanish adult's shows that the risk of obesity increased with olive oil consumption when not controlled for total energy intake. The authors explain this result by the failure of energy compensation for olive oil consumption but at the isocaloric level, olive oil consumption did not affect obesity risk in plausible energy intake reporters.⁵⁷

The effect of *N. sativa* on albumin synthesis was long recognized to be used as a liver disease cure. Several studies reported that treatment with *N. sativa* seeds increased the total proteins and especially the serum albumin levels in rats.^{58,59} Also, in a recent study similar results were found by Tousson *et al.*,²⁶ where *N. sativa* supplemented diet increased plasma total protein, albumin, ALT and AST levels in rabbits and decreased total lipid serum concentrations. The change in albumin level reflects the change in the liver function and the presence of fatty acids may have an effect on the muscle protein synthesis through a prostaglandin-dependent mechanism. It is also possible as a hypothesis that the high albumin level in NS treated group may be due to an induction of their synthesis by the detected TQ and it is important to note a proof that TQ have a specific binding site on human albumin,⁶⁰ which remains to be confirmed in rodents. Moreover, Nagi *et al.*,⁶¹ treated with an oral supplementation of TQ in acetaminophen-induced hepato-toxicity in mice and confirmed a corrected effect of ALT in a dose-dependent manner which is therefore protecting the liver.

In a recent study, the authors find for the first time that n-3 PUFA causes alterations in several novel functional proteins involved in regulating lipid, carbohydrate and protein metabolisms, and suggesting integrated regulation of metabolic pathways. These novel proteins are potential targets to develop therapeutic strategies against metabolic disorders such as obesity.⁶²

Furthermore, in order to investigate the anti-oxidant effect of NS fixed oil, we analyzed plasmatic MDA and protein carbonyl contents, plasmatic vitamins levels and CAT and SOD activities in HFD rats and supplemented rats by this oil compared to olive oil supplementation. Lower vitamins

concentrations and a higher plasmatic MDA and protein carbonyls contents were found in obese rats compared with the control group, that reflect the amount of oxidative stress that rats have been exposed to during the time of experimentation. These results confirm the fact that obesity is associated with the 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 such as H₂O₂.⁶³ Lee H.I. *et al.*,⁶⁴ reported that increased fat deposition results mainly from consumption of a hyperlipidemic diet, and is vulnerable to oxygen metabolism that can cause lipid peroxidation and consequently malondialdehyde (MDA-TBARS) formation. The low plasma levels of vitamins could reflect their high utilization rate, suggesting that these vitamins may be used to reduce oxidative stress in obese rats. In addition and unexpectedly, an increase in SOD and CAT activities were observed in obese rats. These results suggest an up regulation of these antioxidants enzymes in our growing young obese rats. It's could be interpreted as a positive feedback mechanism reflecting a favorable response of the organism to oxidative stress if compared to old obese rats in other studies.^{65,66}

Elevated levels of oxidant markers in obese rats could result from their insulin resistance state, hypercholesterolemia and abnormal metabolism. Actuality, recent studies, have proposed that ROS such as H₂O₂ are produced transiently in response to insulin stimulation and also act as a second messenger for insulin signaling in adipocytes. In fact, a brief increase of intracellular ROS is important for the insulin signaling pathway, while excessive and long-term exposure to ROS reduces insulin sensitivity and impairs glucose and lipid metabolism. These results suggest that increased ROS production caused by fat accumulation may prevent further lipid storage, but may simultaneously cause insulin resistance.¹⁴

In our study, a NS and olive oils supplementation in obese rats show a corrective effect in the antioxidant defense system. These results show the potential antitoxic effect of NS seeds oil mediated by their antioxidant properties. Many studies have reported that dietary supplementation by the small molecular-weight antioxidants and the free radical scavengers such as vitamins, minerals, polyphenols, quinones and PUFAs prevent or at least attenuate the damages due to ROS in the case of an oxidative stress.^{19,67} In a recent study,⁶⁸ the authors found that the protective effect of NS against petrochemical-induced oxidative stress may be due to TQ which is the most potent in terms of antioxidant capacity. In addition, Mansour M.A. *et al.*,⁶⁹ suggested that TQ may act as an antioxidant agent and prevent the membrane lipid peroxidation and antioxidant enzymes in hepatocytes and that may well sustain our results.

Conclusion

The results of this study demonstrated that *Nigella sativa* seeds oil is beneficial for attenuating complications of obesity and possibly preventing it because of its essential polyunsaturated fatty acids; linoleic and linolenic acids and other nutrients such as liposoluble vitamins like tocopherols

and also minerals, essential amino acids, some polyphenols, terpenoids and quinones, particularly thymoquinone that have shown potential medicinal properties in traditional medicine.

Thus, *N. sativa* seeds oil supplement has shown a beneficial impact by ameliorating glucose tolerance, liver enzymes activities, pancreatic function in obese rats and metabolic rate as well. So, further investigations are encouraged in this way in order to unveil the molecular mechanisms of this oil on body cells and then show its importance for human use as a supplementary source of lipids and nutraceutical rich source to correct obesity and their consequences or to prevent their installation also in a favorable environment like a consumption of high caloric diet.

Acknowledgements

Special thanks for Pr Villemin Didier (LCMT-ENSICAen-UMR6507) and Pr. Cardinal Pascal (IRCOF-Sciences et Méthodes Séparatives, Rouen University) and his team for the HPLC and CG analyses, respectively.

References

- Hong, J. and Friedman, M. I., *Metabolism*, **2007**, *56*, 1124.
- McCrory, M. A., Fuss, P. J., McCallum, E. J., Yao, M., Vinken, A. G., Hays, P. N., Roberts, S. B., *Am. J. Clin. Nutr.*, **1999**, *69*, 440.
- WHO: *World Health Organisation, Obesity and overweight*. Fact sheet N° 311, **2013**.
- Shahzaya, S. H., Lauren, E. B., Naveed, S., *Semin. Fetal. Neonatal Med.*, **2010**, *15*, 70.
- Kim, S. O., Yun, S. J., Jung, B., Lee, E. H., Hahm, D. H., Shim, I., Lee, H. J., *Life Sci.*, **2004**, *75*, 1391.
- Kim, J., Li, Y., Watkins, B. A., *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, **2013**, *32*, 104.
- Kretschmer, B. D., Schelling, P., Beier, N., Liebscher, C., Treutel, S., Kroger, N., Scholz, H. P., Haus, A., *Life Sci.*, **2005**, *76*, 1553.
- Lee, J. S., Lee, M. K., Ha, T. Y., Bok, S. H., Park, H. M., Jeong, K. S., Woo, M. N., Do, G.-M., Yeo, J. Y., Choi M. S., *Food Chem. Toxicol.*, **2006**, *44*, 1875.
- Platat, C., *Rech. cliniq., Santé Publ.*, **2005**, *15*, 34.
- McAuley, K., Mann, J., *J. Lipid Res.*, **2006**, *47*, 1668.
- During, A., Combe, N., Mazette, S., Entressangles, B., *J. Am. Coll. Nutr.*, **2000**, *19*, 458.
- Ramadan, M. F., Kroh, L. W., Mörsel, J. T., *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, *51*, 6961-6969.
- Koji, N., Teruyoshi, Y., *Prog. Lipid Res.*, **2007**, *47*, 127.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M., Shimomura, I., *J. Clin. Invest.*, **2004**, *114*, 1752.
- Castrillejo, V. M., Romero, M. M., Esteve, M., Ardevol, A., Blay, M., Blade, C., Arola, L., Salvado, M. J., *Nutrition*, **2011**, *27*, 1172.
- Mathus-Vliegen, E. M. H., Basdevant, A., Finer, N., Hainer, V., Hauner, H., Micic, D., Maislos, M., Roman, G., Schutz, Y., Tsigos, C., Toplak, H., Yumuk, V., Zahorska-Markiewicz, B., *Obes. Facts*, **2012**, *5*, 460.

- ¹⁷Rodgers, A. J., Tschöp, M. H. and Wilding, J. P. H., *Dis. Models & Mech.*, **2012**, 5, 621.
- ¹⁸You, J. S., Lee, Y. J., Kim, K. S., Kim, S. H., Chang, K. J., *Nutr. Res.* **2014**, doi: 10.1016/j.nutres.2014.01.003.
- ¹⁹Yun, J. K., Keun-Young, K., Min, S. K., *Genes Nutr.*, **2008**, 2, 353.
- ²⁰Kanter M., Coskun O., Kalayci, M., Buyukbas, S., Cagavi, F., *Hum. Exp. Toxicol.*, **2006**, 25, 127.
- ²¹Bhupendra, K. M., Uma, S., Sumit, A., Vikas, P., Nidhi, J., Meenal, G., *Med. Chem. Res.*, **2008**, 17, 462.
- ²²Salih, B. T., Sipahi, E., Oybak, D., *J. Ethnopharmacol.*, **2009**, 124, 416.
- ²³Kökdil, G., Tamer, L., Ecran, B., Ilcim, A., Aras, N., Atik, U., *J. Ethnopharmacol.*, **2005**, 99, 131.
- ²⁴Gargari, P. B., Ebrahimzadeh-Attary, V., Rafrat, M., Gorbani, A., *J. Med. Plants Res.*, **2009**, 3, 815.
- ²⁵Ilhan, A., Gurel, A., Armutcu, F., Kamisli, S., Iraz, M., *Neuropharmacology*, **2005**, 49, 456.
- ²⁶Tousson, E., El-Moghazy, M. and El-Atrsh, E., *Toxicol. Ind. Health*, **2011**, 27, 107.
- ²⁷Al-Saleh, I. A., Billedo, G., El-Doush, I. I., *J. Food Comps. Anal.*, **2006**, 19, 167.
- ²⁸Matthews, D. R., Hosker, J. R., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F., Turner, R. C., *Diabetologia*, **1985**, 28, 412.
- ²⁹Thien, T. T., Neehar, G., Tracy, G., Dinaz N., Marie C. C., Niloofar K., Shruti M., Gail M-E., Garcia A., and Bruce, W. R., *Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev.*, **2003**, 12, 47.
- ³⁰Papandreou, D., Rousso, I., Malindretos, P., Makedou, A., Moudiou, T., Pidoni, I., Pantoleon, A., Economou, I., Mavromichalis, L., *Clin. Nutr.*, **2008**, 27, 233.
- ³¹Grove, T. H., *Clin. Chem.*, **1979**, 25, 560.
- ³²Wilson, P. W., Abbot, R. D., Garrison, R. J., Castelli, W. P., *Clin. Chem.*, **1981**, 27, 2008.
- ³³Friedewald, W. T., Levy, R. I., Fredrickson, D. S., *Clin. Chem.*, **1972**, 18, 499.
- ³⁴Liu, J. W., DeMichele, S. J., Palombo, J., Chuang, L. T., Hastilow, C., Bobik, E. and Huang, Y. S., *J. Agr. Food Chem.*, **2004**, 52, 3960.
- ³⁵Zaman, Z., Fielden, P., Frost, P. G., *Clin. Chem.*, **1993**, 39, 2229.
- ³⁶Roe, J. H., Kuether, C. A., *J. Biol. Chem.*, **1943**, 147, 399.
- ³⁷Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., *Anal. Biochem.*, **1979**, 95, 351.
- ³⁸Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G., Ahn, B. W., Shaltiel, S., Stadtman, E. R., *Methods Enzymol.*, **1990**, 186, 464.
- ³⁹Aebi, H., *Methods Enzymol.*, **1984**, 105, 121.
- ⁴⁰Sun, Y., Oberley, L. W., Li, Y., *Clin. Chem.*, **1988**, 34, 497.
- ⁴¹Grundy, M. S., *Ann. Rev. Nutr.*, **1999**, 19, 325.
- ⁴²Lichtenstein, A. H., Kennedy, E., Barrier, P., Dandford, D., Nancy, D., Grundy, M. S., Leveille, G. A., Van Horn, L., Williams, C. L., Booth, S. L., *Nutr. Rev.*, **1998**, 56, S3.
- ⁴³Pérez-Matute, P., Pérez-Echarri, N., Martínez, J. A., Martí, A., Moreno-Aliaga, M. J., *Brit. J. Nutr.*, **2007**, 97, 389.
- ⁴⁴Garton, L., *Le rôle des aliments à base de plantes dans la lutte contre l'obésité. Congrès européen sur l'obésité. ALPRO Foundation. Amsterdam, 2009.*
- ⁴⁵Liao, Fang-Hsuean, M. S., Liou, Tsan-Hon, M. D., Shieh, M-J., Chien, Y-W., *Nutrition*, **2010**, 26, 811.
- ⁴⁶Houcher, Z., Boudiaf, K., Benboubetra, M., Houcher, B., *Pteridines*, **2007**, 18, 8.
- ⁴⁷Fararh, K. M., Shimizu, Y., Shiina, T., Nikami, H., Ghanem, M. M., Takewaki, T., *Res. Vet. Sci.*, **2005**, 79, 219.
- ⁴⁸Xuefeng, Y., Yi, Z., Jieyi, L., Anfang, P., Chenjiang, Y., Wenhong, C., Limei, M., *Nutr. Res.*, **2012**, 32, 285.
- ⁴⁹Strange, E. F., Alavi, M., Schneider, A., Ditschuneit, H., Poley, J. R., *J. Lipid Res.*, **1981**, 22, 47.
- ⁵⁰El-Dakhakhny, M., Mady, N. I., Halim, M. A., *Arzneim. Forsch.*, **2000**, 50, 832.
- ⁵¹Zaoui, A., Cherrah, Y., Mahassini, N., Alaoui, K., Amarouch, H., Hassar, M., *Phytomedicine*, **2002**, 9, 69.
- ⁵²Meddah, B., Ducrocq, R., Moulay El Abbes, F., Etoc, B., Mahraoui, L., Benhaddou-Andaloussi, A., Martineaud, L. C., Cherraha, Y., Haddadd, P. S., *J. Ethnopharmacol.*, **2009**, 121, 419.
- ⁵³Yang, P., Baochang, C., Kelin, W., Sumin, W., Shuyuan, Z., Xiaochun, Y., Bin, X., Long, C., *J. Ethnopharmacol.*, **2009**, 124, 98.
- ⁵⁴Yang, X., Zhang, Y., Lin, J., Pen, A., Ying, C., Cao, W., Mao, L., *Nutr. Res.*, **2012**, 32, 285.
- ⁵⁵Russo, G. L., *Biochem. Pharm.*, **2009**, 77, 937.
- ⁵⁶Jacomelli, M., Pitozzi, V., Zaida, M., Larrosa, M., Tonini, G., Martini, A., Urbani, S., Taticchi, A., Servili, M., Dolara, P., Giovannelli, L., *J. Nutr. Biochem.*, **2010**, 21, 290.
- ⁵⁷Benítez-Arciniega, A. D., Gómez-Ulloa, D., Vila, A., Giralt, L., Colprim, D., Rovira Martori, M. A., Schröder, H., *Obes. Facts*, **2012**, 5, 52.
- ⁵⁸Al-Gaby, A. M., *Die Nahrung*, **1998**, 42, 290.
- ⁵⁹Al-Jishi, S.A., Abou Hozaifa, B., *J. Ethnopharmacol.*, **2003**, 85, 7.
- ⁶⁰Lupidi, G., Scireb, A., Camaionic, E., Khalifea, K. H., De Sanctisa, G., Tanfanib, F., Damiani, E., *Phytomedicine*, **2010**, 17, 714.
- ⁶¹Nagi, M. N., Almakki, H. A., Sayed-Ahmed, M. M., Al-Bekairi, A. M., *Food Chem. Toxicol.*, **2010**, 48, 2361.
- ⁶²Ahmed, A. A., Balogun, K. A., Bykova, N. V. and Cheema, S. K., *Nutr. Metabol.*, **2014**, 11, 6.
- ⁶³Begrliche, K., Massart, J., Robin, M. A., Borgne-Sanchez, A., Fromenty, B., *J. Hepatol.*, **2011**, 54, 773.
- ⁶⁴Lee, H. I., Kim, M. S., Lee, K. M., Park, S. K., Seo, K. I., Kim, H. J., Kim M. J., Choi M. S., Lee, M. K., *Food Chem. Toxicol.*, **2011**, 49, 2370.
- ⁶⁵Finkel, T., Holbrook, N. J., *Nature*, **2000**, 408, 239.
- ⁶⁶Kregel, K. C., Zhang, H. J., *Am. J. Physiol. Regulat., Integrat. Comp. Physiol.*, **2007**, 292, 18.
- ⁶⁷Salem, M. L., *Int. Immunopharmacol.*, **2005**, 5, 1749.
- ⁶⁸Ashraf, S. S., Rao, M. V., Kaneez, F. S., Qadri, S., Al-Marzouqi, A., Chandranath, I. S., and Adem, A., *J. Chromatogr. Sci.*, **2011**, 49, 321.
- ⁶⁹Mansour, M. A., Nagi, M. N., El-khatib, A. S., Al-Bekairi, A. M. *Cell Biochem. Funct.*, **2002**, 20, 143.

Received: 20.07.2014.

Accepted: 25.08.2014.

in twice daily doses (12 h apart). Vitamins E and C were given by oral gavage in once daily dose. Afterwards, the plasma levels of creatinine (Cr), vit E and vit C, the renal tissue activities of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx), as well as renal histology were performed.

Results: CMS induced an acute tubular necrosis, increased the MDA level, reduced the level of vit E and vit C and decreased the activities of SOD, CAT and GPx. The pretreatment with combined vitamins E and C plus CMS restored all biochemical parameters cited above and improved the histopathological damage.

Conclusion: It appears that CMS-induced nephrotoxicity is at least partly due to free radical formation. The pretreatment with combined vitamins E and C seems to protect against oxidant injury which may be related to their antioxidant properties.

Keywords: colistin, nephrotoxicity, oxidative damage, vitamins E and C.

PM2-161

Protective effects of an aqueous extract of *Artemisia campestris* against methidathion-induced hepatotoxicity in male Wistar rats

L Barkat^{a,b}, A Boumendjel^b, M Messarah^c ^aUniversité Badji Mokhtar, SIDIAMAR, Annaba, Algérie; ^bLaboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology, Faculty of Sciences, University of Badji Mokhtar, Annaba, Algeria; ^cApplied Biochemistry and Microbiology Laboratory, Faculty of Sciences, University of Badji Mokhtar, Annaba, Algeria

Methidathion (MD) is one of the most widely used organophosphate insecticides in agriculture and public health programs throughout the world including Algeria.

This study was interested first in evaluating the effects of MDT on lipid peroxidation and on antioxidant enzymes activities (CAT, GPx and GST) in liver homogenate, second in the protective role of an aqueous extract of *Artemisia campestris* (AC) leaves against MDT-induced hepatotoxicity.

Rats were randomly divided into four groups: group I served as control rats. Group II was treated daily with an aqueous extract of *Artemisia campestris* (AC) leaves (5 g/l) (Mongi Saoudi *et al.* 2009) administered by orally way. Group III received MD (5 mg/kg BW) by using corn oil as the vehicle (Turhan Yavuz *et al.* 2004) administered by gavage. Animals of group IV (MD+AC) were treated with MD and AC.

Histopathological examination was examined in liver tissue, and the level of Malondialdehyde (MDA), Glutathione (GSH) and the activity of the Catalase (CAT), Glutathione transferase (GST), and Glutathione peroxidase (GSH-Px) were evaluated in our studies.

Exposure of rats to MD caused a significant increase of MDA levels in liver were observed in MD group compared to controls. Antioxidant enzyme activities and GSH contents in liver homogenate were modified in MD group compared to controls. Significant increases in the levels of hepatic markers enzymes (alanine aminotransferase (ALT), aspartate amino transferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH)). Additionally, serum cholesterol and lipid peroxidation were significantly enhanced and MD exposure caused liver tissue necrosis and enlargement of portal veins. Co-administration of AC to the group IV restored all the parameters cited above to near-normal values.

Our results indicated the potential effects of MD biochemical parameters and histological of liver and the ability of an aqueous extract of *Artemisia campestris* (AC) leaves to attenuate MD-induced oxidative damage (Mediha Sefi *et al.* 2011).

Keywords: *Artemisia campestris*, hepatotoxicity, Methidathion, oxidative stress, protective effects.

PM2-162

Impact of some vegetable oils and their SFA/PUFA ratio on lipid profil, adiposity and lipid peroxidation on obese male rat

A Didi^a, RK Meziane^a, F Amamou^a, M Yazit^a, D Chabane Sari^a ^aFaculté SNV-STU, Tlemcen, Algérie

Vegetable oils appear to play a paradoxical role on the organism, depending on their composition on different fatty acids (SFA, MUFA or PUFA) and other active compounds such as polyphenols, phytosterols, vitamins and quinones. In order to evaluate the impact of the constituents of some vegetable oils on adipose tissue, lipid metabolism and lipid peroxidation in obesity, we used wistar male rats' rendered obese with a high fat diet, a high energy dense food [1]. Animals were randomly divided on four groups ($n = 6$): group 1: standard diet (4% of fat), group 2: high-fat diet (32% of sunflower oil), group 3: 28% of sunflower oil (SO) and 4% of nigelle oil (NO) and the group 4 was treated by 28% sunflower oil and 4% of olive oil (OO). We controlled the obesity evolution by a daily measurement of body weight during eight weeks of experimentation. Fatty acids plasma composition was measured by gas chromatography. Lipid profil (total cholesterol, triglycerides, HDL-c, LDL-c) were measured by enzymatic methods. Lipid peroxidation were evaluated by measuring malondialdehyde (MDA), hydroperoxydes and conjugated dienes by specific spectrophotometric methods. Our results show a high significant increase in body weight in group 2 compared with group 1 that is translated by 43% of body weight gain on obese rats. A high correction in blood parameters is shown (glucose, lipid profil) in NO and OO. Concerning lipid peroxidation, we noted a significant ($P < 0.01$) correction on the third group on MDA and hydroperoxydes levels and a thoughtless decrease ($P < 0.05$) on conjugated dienes in the same group compared with group 1 and 2. The high fat diets are rich in SFAs which are considered as enhancing compounds in the development of adipose tissues [2]. So, depending on SFAs/PUFA favorable ratio, NO and OO play an important role on preventing obesity installation and their metabolic complications, is shown by the fact that NO corrected obesity state by its PUFAs in addition of its pharmacologically active compounds such as thymoquinone [3].

References:

1. Grundy M. S., 1999. Annual Review of Nutrition 19, 325–41.
2. Pérez-Matute P., Pérez-Echarri N., Martínez J.A., Martí A., Moreno-Aliaga M.J., 2007. British J. of Nutrition 97(2): 389–9.
3. Gargari P.B., Ebrahimzadeh-A. V., Rafraf M., Gorbaní A., 2009. J. of Medicinal plants Research 3(10), 815–821.

Keywords: obesity, rats, saturated/polyunsaturated fatty acids ratio, adiposity, lipid peroxidation.

PM2-163

Effect of mashed potato affected by pesticides (metribuzin) low dose on oxidative status/antioxidant wistar rats

FZ Chiali^a, H Merzouk^a, A Medjdoub^b, SA Merzouk^c ^aLaboratoire de physiologie physiopathologie et biochimie de la nutrition, Tlemcen, Algérie; ^bLaboratoire de physiologie et biochimie de la nutrition, Tlemcen, Algérie; ^cFaculté de l'ingénieur, Université de Tlemcen, Tlemcen, Algérie

Introduction: Metribuzin is an herbicide triazine widely used in agriculture against weeds, but it has harmful effects on human health. Potato, vegetable widely consumed by the Algerian population is particularly susceptible to contamination by metribuzin.

The objective of this work is to show the effect of potato infected with metribuzin on the oxidant/antioxidant status, using Wistar rats breed like animal model.

Material/methods: The experimental study is based on the use of male and female rats divided into two groups: a control group consisting of 6 rats consuming a standard commercial diet mixed with mashed potato and a test batch consisting of 6 rats consuming the standard diet mixed with a specific amount of mashed potatoes treated metribuzin dose 1.3 mg/kg/day.

After three months of diet, the rats were sacrificed, blood was collected to recover the plasma. Assays performed, vitamin C and reduced glutathione as an antioxidant, and conjugated dienes as oxidant, the oxidation rate and the protein carbonyl.

The results show the similarity levels of vitamin C decreased with reduced glutathione levels in male and female rats consuming potato metribuzin treated compared to their respective controls. Increased levels of protein carbonyl, conjugated diene and the oxidation rate in male and female rats consuming potato treated with metribuzin compared to their respective controls.

Conclusion: Metribuzin causes imbalances in the oxidant/antioydanse balance.

Keywords: metribuzin, oxidative stress, Wistar rats.

PM2-164

Oxidative stress and maternal obesity: fetoplacental unit repercussions

N Malti^a, H Merzouk^a, SA Merzouk^b, B Loukidi^a, A Malti^c, M Narce^d ^aLaboratoire de Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition, Département de Biologie, Université, Tlemcen, Algérie; ^bDépartement des sciences techniques, Faculté des Sciences, Université, Tlemcen, Algérie; ^cService de Gynécologie-Obstétrique, Faculté de médecine, CHU, Tlemcen, Algérie; ^dINSERM UMR 866, 'Lipids Nutrition Cancer', Université de Bourgogne, Dijon

Objective: To determine oxidative stress markers in maternal obesity during pregnancy and to evaluate fetoplacental unit repercussions, especially predictors of fetal metabolic alterations.

Patients and methods: 40 obese pregnant women (BMI > 30 kg/m²) were compared to 50 control pregnant women. Maternal, cord blood and placenta samples were collected at delivery. Biochemical parameters (total cholesterol and triglycerides) and oxidative stress markers were assayed by biochemical methods.

Results: Maternal, fetal and placental triglyceride levels were increased in obese group compared to control. Maternal malondialdehyde, carbonyl proteins, nitric oxide and superoxide anion levels were high while reduced glutathione concentrations and superoxide dismutase activity were low in obesity. In the placenta and in newborns of these obese mothers, variations of redox balance were also observed indicating high oxidative stress. Maternal and placental interaction constituted a strong predictor of fetal redox variations in obese pregnancies.

Conclusion: Maternal obesity is associated to metabolic alterations and dysregulation of redox balance in the mother-placenta – fetus unit. These perturbations could lead to maternal and fetal complications and should be carefully considered.

Keywords: pregnancy, obesity, mother, newborn, placenta, oxidative stress.

PM2-165

Anti-hyperlipidaemic effect of *Citrullus colocynthis* oil in the offspring of obese rats

RK Meziane^a, A Didi^a, F Amamou^a, M Yazit^a, D Chabane Sari^a ^aFaculté SNV-STU, Tlemcen, Algérie

Citrullus colocynthis (L.) Schrad. (Cucurbitaceae), commonly known as "colocynthis", is a tropical plant that grows abundantly in many place in the world. Originally from Tropical Asia and Africa, it is now widely distributed in the Saharo-Arabian phytogeographic region in Africa and the Mediterranean region. The fruits are widely used medicinally as an anti-inflammatory, purgative in constipation, anti-rheumatic and anti-diabetic Mediterranean countries. The seeds of *C. colocynthis* have been subjected to a range of pharmacological, phytochemical and nutritional investigations in recent years. It has been shown to contain 17% of a fixed oil with high proportion of unsaturated fatty acids, mainly linoleic acid (60–70%), oleic acid (11.7–15%) and a very low n-3 poly-unsaturated FA level (0.5%). It is also rich in antioxidant. This study was conducted to evaluate the effect of Colocynthis oil on weight change and lipid parameters in the offspring of obese rats.

Three groups of male Wistar rats were established ($n = 6$): group 1 (control group) containing the offspring of control mothers receiving a diet iso-caloric (4% sunflower oil), group 2 containing the offspring of mothers obese receiving a high-calorie diet (32% sunflower oil) and Group 3 containing the offspring of obese mothers receiving a high-calorie diet based on a mixture of 28% sunflower oil + 4% oil of colocynthis. After 8 weeks of diet, the offspring were sacrificed. Blood and organs were harvested. Weight, blood glucose, cholesterol, and triglycerides were measured.

Our results showed a significant decrease in body weight in offspring of obese mothers fed a diet of colocynthis oil, compared to obese rats, but remain almost parallel to that of controls. Furthermore, the glucose values remain within physiological limits in group 1 and 3 while those of group 2 increased significantly. On lipid markers, we scored a significant increase of triglycerides in obese rats



The International Publication of SFPT, the French Society of Pharmacology and Therapeutics

Volume 28
Supplement 1
May 2014

Fundamental & Clinical Pharmacology

IN THIS ISSUE

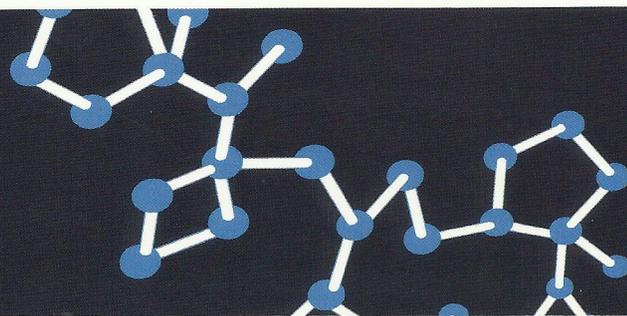
Abstracts of the 18th Annual Meeting of French Society of Pharmacology and Therapeutics, 81th Annual Meeting of Society of Physiology, 35th Pharmacovigilance Meeting, 15th APNET Seminar, 12th CHU CIC Meeting and 9th Annual Meeting of Physiology, Pharmacology and Therapeutics
22–24 April 2014
Poitiers, France

www.fundamental-clinical-pharmacology.com



Société Française de
Pharmacologie
et de Thérapeutique

WILEY
Blackwell



Fundamental & Clinical Pharmacology

AIMS AND SCOPE

Published on behalf of the Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique, *Fundamental & Clinical Pharmacology* publishes reports describing important and novel developments in fundamental as well as clinical research relevant to drug therapy. Original articles, short communications and reviews are published on all aspects of experimental and clinical pharmacology including:

- Antimicrobial, Antiviral Agents
- Autonomic Pharmacology
- Cardiovascular Pharmacology
- Clinical Trials
- Endocrinopharmacology
- Gene Therapy
- Inflammation & Immunopharmacology
- Lipids, Atherosclerosis
- Liver & G-I Tract Pharmacology
- Metabolism, Pharmacokinetics
- Neuropharmacology
- Neuropsychopharmacology
- Oncopharmacology
- Pediatric Pharmacology & Development
- Pharmacoeconomics
- Pharmacoepidemiology
- Pharmacogenetics, Pharmacogenomics
- Pharmacovigilance
- Pulmonary Pharmacology
- Receptors, Signal Transduction
- Renal Pharmacology
- Thrombosis & Hemostasis
- Toxicopharmacology

Clinical research, including clinical studies and clinical trials, may cover disciplines such as pharmacokinetics, pharmacodynamics, pharmacovigilance, pharmacoepidemiology, pharmacogenomics and pharmacoeconomics. Basic research articles from fields such as physiology and molecular biology which contribute to an understanding of drug therapy are also welcomed.

DISCLAIMER

The Publisher, Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique, and Editors cannot be held responsible for errors or any consequences arising from the use of information contained in this journal; the views and opinions expressed do not necessarily reflect those of the Publisher, Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique, and Editors, neither does the publication of advertisements constitute any endorsement by the Publisher, Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique, and Editors of the products advertised.

COPYRIGHT AND COPYING

Copyright © 2014 Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique. Published by John Wiley & Sons Ltd. No part of this publication may be reproduced, stored or transmitted in any form or by any means without the prior permission in writing from the copyright holder. Authorization to copy items for internal and personal use is granted by the copyright holder for libraries and other users registered with their local Reproduction Rights Organisation (RRO),

e.g. Copyright Clearance Center (CCC), 222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA (www.copyright.com), provided the appropriate fee is paid directly to the RRO. This consent does not extend to other kinds of copying such as copying for general distribution, for advertising and promotional purposes, for creating new collective works or for resale. Special requests should be addressed to: permissionsuk@wiley.com

SUBSCRIPTIONS

Fundamental & Clinical Pharmacology is published in 6 issues per year. Subscription prices for 2014 are:

Premium Institutional (Print & Online): US\$1614 (The Americas), £876 (UK), €1114 (Europe), US\$1884 (Rest of World); Personal (Print & Online): US\$301 (The Americas), £164 (UK), €244 (Europe - Euro zone), £164 (Europe - non Euro zone), US\$352 (Rest of World). Prices are exclusive of tax. Asia-Pacific GST, Canadian GST/HST and European VAT will be applied at the appropriate rates. For more information on current tax rates, please go to www.wileyonlinelibrary.com/tax-vat. The price includes online access to the current and all online back files to January 1st 2010, where available. For other pricing options, including access information and terms and conditions, please visit www.wileyonlinelibrary.com/access.

DELIVERY TERMS AND LEGAL TITLE

Where the subscription price includes print issues and delivery is to the recipient's address, delivery terms are Delivered At Place (DAP); the recipient is responsible for paying any import duty or taxes. Title to all issues transfers FOB our shipping point, freight prepaid. We will endeavour to fulfil claims for missing or damaged copies within six months of publication, within our reasonable discretion and subject to availability.

BACK ISSUES

Single issues from current and recent volumes are available at the current single issue price from cs-journals@wiley.com. Earlier issues may be obtained from Periodicals Service Company, 11 Main Street, Germantown, NY 12526, USA. Tel: +1 518 537 4700, Fax: +1 518 537 5899, Email: psc@periodicals.com.

PERIODICAL ID STATEMENT A

FUNDAMENTAL & CLINICAL PHARMACOLOGY (ISSN: 0767-3981) is published bimonthly. US mailing agent: Mercury Media Processing, LLC 1634 East Elizabeth Ave, Linden, NJ 07036, USA. POSTMASTER: Send all address changes to FUNDAMENTAL & CLINICAL PHARMACOLOGY, Journal Customer Services, John Wiley & Sons Inc., 350 Main St., Malden, MA 02148-5020.

PUBLISHER

Fundamental & Clinical Pharmacology is published by John Wiley & Sons Ltd 9600 Garsington Road

Oxford OX4 2DQ
Tel: +44 (0)1865 776868
Fax: +44 (0)1865 714591
Email: fcj@wiley.com

JOURNAL CUSTOMER SERVICES

For ordering information, claims and any enquiry concerning your journal subscription please go to www.wileycustomerhelp.com/ask or contact your nearest office.

Americas: Email: cs-journals@wiley.com; Tel: +1 781 388 8598 or +1 800 835 6770 (toll free in the USA & Canada).

Europe, Middle East and Africa: Email: cs-journals@wiley.com; Tel: +44 (0) 1865 778315.

Asia Pacific: Email: cs-journals@wiley.com; Tel: +65 6511 8000.

Japan: For Japanese speaking support, Email: cs-japan@wiley.com; Tel: +65 6511 8010 or Tel (toll-free): 005 316 50 480.

Visit our Online Customer Get-Help available in 6 languages at www.wileycustomerhelp.com

This journal is available online at Wiley Online Library. Visit wileyonlinelibrary.com to search the articles and register for table of contents e-mail alerts.

Printed in the UK by Page Bros.

ABSTRACTING AND INDEXING SERVICES

The Journal is indexed by ASCA, Biological Abstracts, Current Awareness in Biological Abstracts, Current Contents, Index Medicus, ISI/BIOMED, Science Citation Index.

ISSN 0767-3981 (Print)
ISSN 1472-8206 (Online)

For submission instructions, subscription and all other information visit: www.fundamental-clinical-pharmacology.com/

Wiley's Corporate Citizenship initiative seeks to address the environmental, social, economic, and ethical challenges faced in our business and which are important to our diverse stakeholder groups. Since launching the initiative, we have focused on sharing our content with those in need, enhancing community philanthropy, reducing our carbon impact, creating global guidelines and best practices for paper use, establishing a vendor code of ethics, and engaging our colleagues and other stakeholders in our efforts.

Follow our progress at www.wiley.com/go/citizenship

Access to this journal is available free online within institutions in the developing world through the HINARI initiative with the WHO. For information, visit www.healthinternetwork.org

ملخص

الطاقة تعرف على انها استمرارية التوازن بين التزود بالطاقة و استهلاكها. اختلال هذا التوازن يؤدي الى مشاكل وظيفية قد تنتج امراض مثل السمنة الزائدة. حديثا تحولت السمنة الى مشكل صحي عالمي و اساسي تعزز بالاستهلاك المفرط للأغذية المدعمة حراريا و الغنية بالدهن و الكربوهيدرات. الابحاث الحديثة بينت ان التغذية المتنوعة بالأحماض الدسمة غير كثيرة التشبع قد تمنع او تعالج السمنة. من هذا المنطق, دراستنا هذه اهتمت بإدخال زيادة على نظام دسم علني, زيت بذور *Nigella Sativa* الجذغية بالأحماض الدسمة غير التشبع بالمقارنة من زيت الزيتون الغني بالأحماض الدسمة احادية غير التشبع.

لدراسة تأثير هذه الاحماض تمت تغذية ثمانية مجموعات من الفئران في حالة نمو (سنة شهر واحد) لمدة ثمانية اسابيع وفق عدة انظمة غذائية. تم تسمين الفئران الذي تم معالجتهم بزيت بذور *Nigella Sativa*, تجريبيا بواسطة تغذية جد غنية بالدهن, نسبة السكر و الانسولين بينت انخفاض محسوس مقارنة مع المجموعة السمينية و كذلك لوحظ انخفاض في نسبة الغليسيريد الثلاثي, الكوليسترول الكلي, الليبوبروتين الغير متجانس في الدم لدى هذه الفئران. دراستنا بينت ان زيت *Nigella Sativa* يمكن ان تحمي او تمنع الجسم هاته الفئران من ظهور مقاومة ضد الانسولين.

نتائج دراستنا بينت كذلك تصحيح توازن مؤكسد/ضد مؤكسد عند الفئران المعالجة بتصحيح النشاط الانزيمي الكتلانز, المؤكسد القوي دسمتاز و اعادة النسبة البلازمية, هيباتيت و المتوكندرية الدفاعية ضد الفلج المؤكسد المرتبط بالسمنة. هذا النشاط لهاته الزيت تم تأكيده لاحقا بدراسة خارجية و التي بينت ان الاسباب تعود لوجود متعدد الفينولا, الفيلافينويد و الكيتون بكميات معتبرة. و عليه اضافة زيت *Nigella Sativa* بين تحسن تغل الكليكويز و العمل الهيباتيت و البنكرياس عند الفئران السمينية

كخاتمة يمكن القول ان النتائج تظهر علاقة وطيدة بين عدم السمنة و الزيت النباتي المختار. هذه العلاقة يجب دراستها اكثر لتحديد آلية العمل الجزئي و الاثر البيولوجي لهذه الزيت على مستوى الخلية, ثم لتبيان اهميتها كمصدر اضافي للأحماض الدسمة الضرورية في البيت و كإضافة غذائية علاجية لتصدي او علاج ظاهرة السمنة.

كلمات مفتاحية: السمنة, *Nigella Sativa*, زيت نباتي, نشاط ضد مؤكسد, مقاوم للانسولين, قلق تأكسدي.

Résumé

L'homéostasie 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 notamment de l'obésité. Cette pathologie est devenue un problème majeur de santé publique en ce 21^e siècle et la consommation d'aliments hypercaloriques riches en graisse et hydrate de carbone est considérée comme un facteur important, contribuant à l'excès de poids et à l'obésité. Des recherches récentes ont montré qu'une supplémentation en acides gras polyinsaturés (AGPI) tend à corriger et/ ou à prévenir l'obésité. De ce fait, notre étude a porté sur l'incorporation, à un régime hypergras, l'huile fixe des graines de Nigelle (*Nigella sativa* L.) très riche en AGPI en comparaison avec l'huile d'olive très riche en acides gras monoinsaturés (AGMI).

Pour étudier l'effet hypolipidémiant de cette huile (HN) et en comparaison de l'effet de l'huile d'olive sur l'obésité, huit lots de rats mâles de souche Wistar en croissance (agés d'un mois) ont été nourris pendant huit semaines par différents régimes. L'obésité a été induite expérimentalement par un régime hypergras chez les rats traités par la nigelle; l'évolution pondérale, le taux de glycémie et d'insulinémie montrent une baisse significative par rapport au groupe obèse. Les taux sanguins de triglycérides, de cholestérol total et des lipoprotéines athérogènes diminuent aussi significativement chez ces rats. Notre étude a montré que l'huile de nigelle a pu remédier et/ou protéger l'organisme de ses rats à une éventuelle installation d'insulino-résistance.

Nos résultats ont montré aussi une correction de la balance oxydante/antioxydante chez les rats recevant le régime à base d'HN en corrigeant l'activité enzymatique de la catalase, la superoxyde dismutase et en rétablissant les taux plasmatique, hépatique et mitochondrial des défenses contre le stress oxydatif lié à l'obésité. Cette activité de l'huile a été confirmée ultérieurement *in vitro* et elle est due à la présence des polyphénols, des flavonoïdes et des quinones en quantité considérable dans cette huile, en plus d'un rapport d'AGPI/AGS très favorable.

Ainsi, une supplémentation en huile fixe de graines de *N. sativa* a montré un effet bénéfique par l'amélioration de la tolérance au glucose ainsi que la fonction hépatique et pancréatique chez les rats obèses et le métabolisme énergétique.

En conclusion, ses résultats nous ont permis de mettre en évidence l'effet anti-obésité et de notre huile végétale, qui méritent des études plus approfondies afin de dévoiler les mécanismes moléculaires des actions biologiques de cette huile au niveau cellulaire, puis montrer son importance pour un usage domestique comme source supplémentaire d'acides gras essentiels et de nutriment à usage pharmaceutique pour prévenir ou corriger l'installation d'une obésité.

Mots clés : Obésité, *Nigella sativa*, huiles végétales, activité antioxydante, insulino-résistance, stress oxydatif.

Abstract

Energy homeostasis is defined as maintaining the balance between energy intake and energy expenditure. Upsetting this balance leads to the development of metabolic disorders including obesity. This disease has become a major public health problem in the 21st century and the consumption of high calorie foods rich in fat and carbohydrate is considered an important factor contributing to excess weight and obesity. Recent research has shown that supplementation with polyunsaturated fatty acids (PUFAs) tends to correct and / or prevent obesity. Therefore, our study focused on the incorporation, a hypergras regime the fixed oil of Nigella seeds (*Nigella sativa* L.) rich in PUFAs compared with olive oil rich in fatty acids monounsaturated (MUFA).

To study the effect hypolipidemic of this oil and by comparison with the effect of the olive oil, the eight groups of male growing rats "Wistar" (one-month-old) were fed during eight weeks by various diets. Obesity has been experimentally induced hyper fat diet in rats treated with nigella, the weight evolution, the rate of glycemia and insulinemia shows a significant reduction to the obese group. The blood rates of triglycerids, total cholesterol and atherogenous lipoproteins decrease significantly at these rats. Our study to show that the oil of nigella was able to remedy and / or to protect the body of its rats in a possible installation of insulino-resistance.

Our results also have shown a correction of oxidative / antioxidant balance in rats receiving the HN based diet by correcting the enzymatic activity of catalase, superoxide dismutase and restoring plasma, liver and mitochondrial defense against oxidative stress associated with obesity. This activity of the oil was later confirmed *in vitro* and is due to the presence of polyphenols, flavonoids and quinones in considerable amount in this oil, in addition to a very favorable PUFA / SFA ratio.

Thus, a fixed oil supplementation of *N. sativa* seeds showed a beneficial effect by improving the glucose tolerance as well as liver and pancreatic function in obese rats and the energy metabolism.

In conclusion, the results have enabled us to highlight the anti-obesity effect and our vegetable oil, that deserve further studies to reveal the molecular mechanisms of biological action of this oil at the cellular level and show its importance for home use as a supplementary source of essential fatty acids and pharmaceutical use nutrient to prevent or correct the installation of obesity.

Keywords: Obesity, *Nigella sativa*, vegetable oils, antioxidant activity, insulin resistance, oxidative stress.