

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de Vie
Département de Biologie Physico-Chimique



Mémoire de Fin de Cycle
En vue d'obtention du diplôme de

Master

Spécialité : Biochimie Fondamentale

Thème

**Evaluation de l'impact de l'extrait de tannins sur le tissu hépatique issu
d'un modèle de stéatose hépatique induite chez le rat :
Investigations enzymatique et histopathologique.**

Soutenu le : 26/06/2023 à 10h30-12h00

Réalisée par : YAICHE Maria et BOUMOUSSA Faryal

Devant le jury composé de :

Présidente :	Mme Bedjou F.	Professeur
Examinatrice :	Mme Sebaihi-Harzoune S.	MCB
Encadrante :	Mme Ayouni K.	MCB

Année universitaire : 2022/2023

DÉDICACE

C'est avec grand plaisir que je tiens à dédier ce modeste travail :

A mes parents qui m'ont soutenue et encouragée durant ces années d'études, que Dieu les protège et les garde pour moi.

A mes chers frère et sœurs : **RIM, CHAKIB et MERIEM**

A mes chères tantes : **NESSRINE , HANANE , SEHAM ET NADJIBA**

A mon cher binôme : **FERIEL**

A mes amies et collègues : **KENZA , MERIEM , FARIZA , CÉLINA ET NADJET**, pour les moments forts et agréables que nous avons passés ensemble.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Maria

DÉDICACE

Je dédie ce travail,

A ma famille, elle qui m'a dotée d'une éducation digne, son amour à fait de moi
ce que je suis aujourd'hui,

Particulièrement à **MA MÈRE**, celle qui a été toujours à mes côtés,

« Que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir ».

A vous mes chers frères : **AHCENE** et **KARIM**

A mes chers amis :

LILI, ALYC, ZAHWA, WISSAM, CICI, WIWI, CÉLIA ET JIGOU, qui m'ont
toujours soutenue et encouragée dans les bons comme les durs moments.

A mon cher binôme **MARIA**

A mon équipe de travail : **FARIZA, CÉLINA, MERIEM, KENZA ET NADJET**

Malgré le stress, on a passé de merveilleux moments.

FARYAL

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous tenons à remercier **DIEU**, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre mémoire de fin de cycle et pouvoir réaliser ce travail de recherche.

On adresse nos vifs remerciements aux membres du jury
Professeur BEDJOU F. et **Docteur SEBAIHI HARZOUNE S.**
pour avoir bien voulu examiner et juger ce mémoire.

En guise de reconnaissance, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre chère enseignante **Mme AYOUNI K.** pour ses efforts afin de nous avoir encadrées et orientées, nous la remercions pour sa disponibilité, sa patience, sa gentillesse et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous remercions vivement **Mme YOUS F.** pour sa gentillesse, son entière disponibilité, ses efforts, ses orientations et ses conseils.

Nous remercions toutes les personnes qui nous ont apportées leur soutien tout au long de notre démarche.

Liste des Figures

N°	Titre	Page
01	Anatomie du foie	2
02	Illustrations de foie sain et une stéatose hépatique	4
03	Physiopathologie de la NAFLD	7
04	Structure des tanins hydrolysables	10
05	Structure des tanins condensés	11
06	Les photographies originales illustratives des étapes de l'homogénéisation des échantillons de tissus hépatiques	15
07	Photographie originale lors du transfert des coupes d'organes vers les cassettes d'inclusion	17
08	Photographie originale illustrative de l'étape de déshydratation des échantillons	18
09	Photographie originale lors de la réalisation des blocs paraffinés	18
10	Photographie originale de l'étape de la préparation des coupes fines des tissus	19
11	Photographie des étapes de coloration (A) des lames prêtes (B) et des observations microscopiques.	19
12	Activité de la superoxyde dismutase SOD hépatique (A) exprimé également en taux d'inhibition (B) chez les quatre groupes de rats. Les résultats sont considérés significatifs par le test <i>One way Anova</i> avec le post-test Dunett's à $P < 0.05$.	20
13	Taux d'activité de la catalase hépatique chez les quatre groupes de rat. Les résultats sont considérés significatifs par le test <i>One way Anova</i> avec le post-test Dunett's à $P < 0.05$.	21
14	Les photographies originales des coupes histologique issues des foies rats du groupe témoin (Grossissement *20)	23
15	Les photographies originales des coupes histologique issues des foies rats nourrit par le régime enrichi en graisse et en sucre (Grossissement *20)	24
16	Les photographies originales des coupes histologique issues des foies rats dont le régime gras et sucré a été interrompu (Grossissement *20)	25
17	Les photographies originales des coupes histologique issues des foies rats traités par l'extrait de tannins à 50mg/ml (Grossissement *20)	26

Liste des Abréviations

AGL : Acide gras libre.

CMC : Carboxymethyle cellulose.

NAFLD : Non-alcoholic fatty liver disease .

NASH : Non-alcoholic steatohepatitis.

MAFLD : Metabolic Associated Fatty Liver Disease.

SOD : Superoxyde dismutase.

VLDL : Very low density lipoprotein.

SEM : Standard Error Mean.

Sommaire

Introduction	01
---------------------------	-----------

I. Synthèse bibliographique

I.1. Le foie	02
I.1.1. Fonctions du foie.....	02
I.2. La stéatose hépatique	03
I.2.1. Les facteurs de risque de la stéatose hépatique.....	04
I.2.2. La physiopathologie de la stéatose hépatique	06
I.2.3. Diagnostic de la NAFLD	08
I.2.4. Traitements de la NAFLD	09
I.3. Les tanins	09
I.3.1. Classification et structures des tanins	10
I.3.2. Caractérisation des tannins	11
I.3.3. Propriétés physico-chimiques	11
I.3.4. Propriétés biologiques.....	11

II. Matériel et méthodes

II.1. Origine des échantillons biologiques utilisés dans la présente étude	14
II.2. Préparation des Homogénats	14
II.3. Etudes des activités enzymatiques	15
II.3.1. Activité du superoxyde dismutase (SOD)	15
II.3.2. Activité de la catalase hépatique	16
II.4. Dosage des protéines par la méthode de Bradford	16
II.5. Analyse statistique des résultats	16
II.6. Etude histologique (coupes histologiques des foies).....	17
II.6.1. Préparation des cassettes d'inclusion	17
II.6.2. L'étape de déshydratation.....	17
II.6.3. L'étape d'inclusion (Enrobage).	18
II.6.4. L'étape de coupage.	18
II.6.5. L'étape de coloration hématoxyline-Eosine.	19

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats des l'activités enzymatiques hépatique	20
III.1.1 Résultats de l'activité superoxyde dismutase hépatique	20
III.1.2 L'activité de la catalase hépatique	21
III.2 Les résultats de l'étude histopathologique	23

Conclusion	27
-------------------------	-----------

Références bibliographique

Annexes

Résumés

Introduction

Le foie est un organe homogène, de consistance ferme, discrètement élastique qui pèse environ 2 % du poids corporel (**Debbi et al., 2017**). C'est un organe vital chez tous les mammifères grâce à son rôle central dans le métabolisme énergétique et la détoxification des xénobiotiques auxquelles l'individu est exposé. Il est la cible de diverses agressions, telles que les virus, l'alcool et diverses substances chimiques. Il peut également subir des transformations pathologiques profondes, lors du diabète ou de l'obésité conduisant à diverses pathologies hépatiques dont la stéatose hépatique (**Degli et Esposti, 2011**).

La stéatose hépatique non alcoolique touche environ 20% de la population générale, le plus souvent isolée (dans environ 80% des cas), il s'agit alors d'une situation bénigne avec un très faible risque de complications. Chez les 20 % restants, la stéatose est responsable d'une ballonnisation des hépatocytes et d'une inflammation du parenchyme hépatique : c'est la stéatose hépatique non alcoolique (NASH) (**Boursier et Péron, 2020**).

La stéatose hépatique représente la forme agressive de la maladie car elle favorise l'accumulation de fibrose hépatique. Celle-ci est graduée en cinq stades (0 à 4), le stade 4 correspondant à la cirrhose. Parmi l'ensemble des personnes ayant une stéatose, moins de 5 % ont une fibrose pré-cirrotique et 1 % une cirrhose. Ces pourcentages peuvent paraître faibles mais compte tenu de la fréquence de la stéatose, ils représentent un nombre important. Néanmoins, il suffit d'une perte de poids pour améliorer les lésions hépatiques observées, et une réversibilité de l'inflammation voire de la fibrose hépatique.

D'un point de vue pharmacologique, aucun traitement n'a actuellement d'autorisation de mise sur le marché (AMM) mais de nombreuses molécules sont en cours d'évaluation. Il est par ailleurs important de bien traiter et équilibrer l'hypertension artérielle, le diabète et l'hypercholestérolémie (**Boursier et Péron, 2020**). Le recours à la médecine traditionnelle est une alternative qui regagne de l'intérêt ces dernières décennies. Plusieurs médicaments sont issus d'une origine naturelle, particulièrement végétale (**Krzaczkowski et al., 2008**), parmi ces molécules on trouve les polyphénols dont les tannins. Les effets biologiques de ces derniers ont été évalués dans de nombreuses études et souvent associés à leurs propriétés antioxydants, anti-inflammatoire et anti-obésité (**Xiao et Zhang, 2018**).

C'est dans ce cadre que se situe l'objectif de cette étude qui porte sur l'évaluation de l'impact de l'extrait de tannins sur les tissus et les activités SOD et catalase hépatiques des rats (Wistar Fisher), chez qui une stéatose hépatique a été induite par un régime enrichi en sucre et en graisse.

I.1. Le foie

Le foie est la plus volumineuse glande de l'organisme. Il assure de nombreuses fonctions biologiques chez l'Homme, il mesure environ 30cm de large, 16cm d'épaisseur et 8cm de hauteur (**Kamina, 2013**). A l'état frais, il est de couleur brun-rouge et de consistance molle, sa surface saine et lisse (**Gosiling, 2013**). La capsule de Glisson fibreuse l'entoure et le protège. Il est constitué de deux lobes distincts séparés par le ligament falciforme, qui permet également de le relier à la paroi abdominale antérieure. Le hile qui se situe sur la face inférieure du foie correspond à la zone de passage des éléments vasculaires portaux et artériels et des conduits biliaires (**Lacour, 2015**) (**Figure 01**).

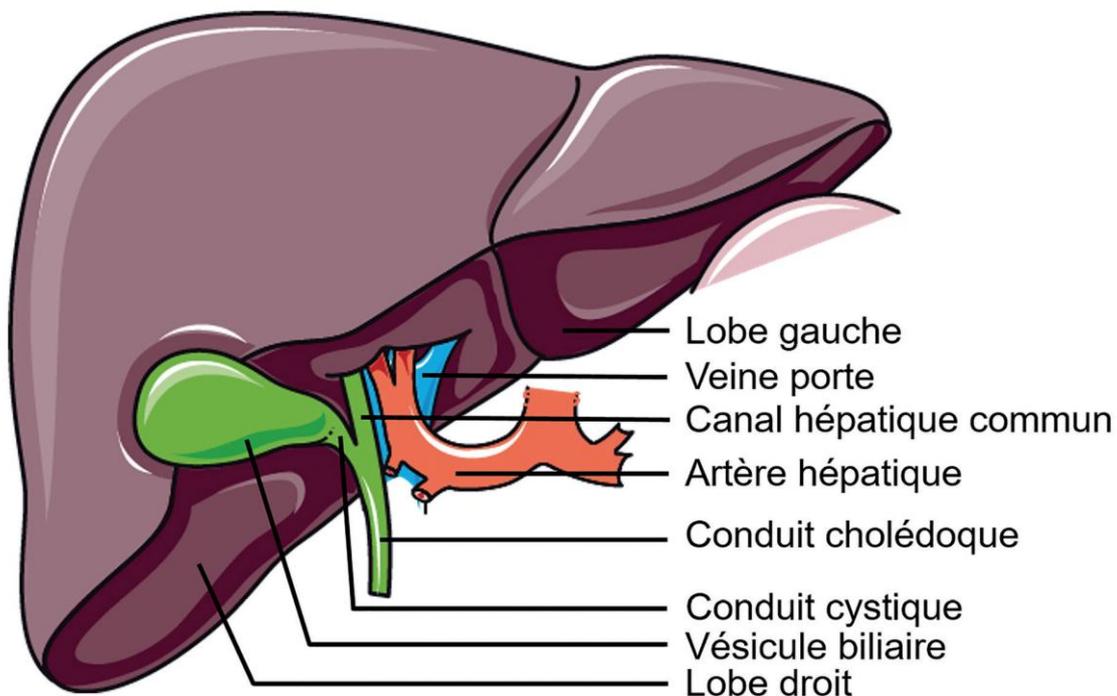


Figure 01 : Anatomie du foie (**Lacour et Belon, 2015**).

I.1.1. Fonctions du foie

Le foie assure une fonction endocrinienne (synthèse des facteurs de croissance) et une fonction exocrine (production de la bile), il participe à l'immunité (cellules de Kupfer et Pit celles), la synthèse de la plupart des protéines sanguines, l'albumine et les facteurs de coagulation, notamment, il module l'inflammation et stocke des vitamines et le fer. D'autre part, il représente une réserve énergétique pour l'organisme et il est avant tout un organe central de la régulation des métabolismes et de la détoxification (**Guiliani et al., 2019**).

Grâce à une organisation histologique particulière, le foie permet l'assimilation de la plupart des nutriments et l'élimination des éléments toxiques ou pathogènes provenant du tractus digestif. Par ailleurs, la synthèse hépatique de la bile autorise l'absorption des lipides. Le foie joue aussi un rôle important dans de nombreuses fonctions physiologiques car c'est un lieu de synthèse et/ou de stockage majeur pour de nombreux éléments, en effet des protéines, des glucides, des vitamines et des ions (**Lacour et Belon, 2015**). Le foie régule d'importantes fonctions physiologiques par la synthèse de nombreux facteurs sécrétés dans la circulation sanguine (**Palta et Saroa, 2014**). Le foie joue un rôle primordial dans le maintien de la balance glycémique de l'organisme (**Nguyen et al., 2008**).

I. 2. La stéatose hépatique

La stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) est la maladie hépatique chronique la plus fréquente, posant des problèmes de santé publique, souvent associée au diabète (**Younossi et al., 2018**). Le terme NAFLD désigne un spectre de maladies du foie (**Yao et al., 2016**) allant de la stéatose hépatique à la stéatohépatite non alcoolique (NASH) et à la cirrhose, spécifiquement chez les patients qui ne consomment pas des quantités excessives d'alcool (**Pisonero et al., 2005**).

La stéatose hépatique (**Figure 02**) se définit par une accumulation de lipides dans au moins 5% des hépatocytes en l'absence d'une consommation d'alcool significative (20 g/jour pour la femme et 30 g/jour pour l'homme). La NAFLD englobe un spectre allant de la simple stéatose hépatique jusqu'à la stéatohépatite non alcoolique, la fibrose et la cirrhose hépatique (**Smith et Adams, 2011**). Elle est associée à un dysfonctionnement métabolique (MAFLD) est extrêmement fréquente chez les personnes atteintes de diabète de type 2, qui sont souvent en surpoids ou obèses (**Morieri et al., 2021**).

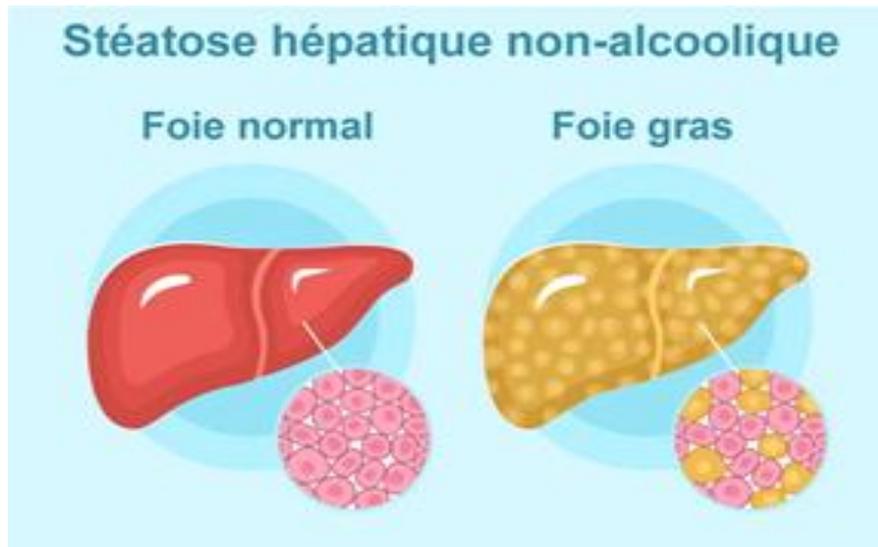


Figure 02: Illustrations du foie sain et d'une stéatose hépatique (Mittendorfer et al.,2009)

1.2.1. Les facteurs de risque de la stéatose hépatique

La NAFLD est une maladie dysmétabolique très complexe qui implique l'interaction de nombreux paramètres environnementaux, comportementaux, alimentaires, génétiques et épigénétiques. L'implication de ces facteurs dans la pathogénèse est très variable et explique l'hétérogénéité de ses expressions phénotypiques et ses complications, d'une personne à une autre ou d'une population à une autre. Sa prévalence est bien souvent étroitement associée à celle des comorbidités métaboliques du même spectre notamment l'obésité, le diabète de type 2 et surtout l'insulino-résistance. Elle est par ailleurs souvent décrite comme une de leurs complications (Adams et al.,2005) :

➤ **Obésité**

La prévalence de la NAFLD est fortement associée aux composantes du syndrome métabolique notamment l'obésité, c'est l'un des facteurs de risque majeurs d'un bon nombre de pathologies chroniques, telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2 et les cancers par l'intermédiaire de l'inflammation chronique et du stress oxydatif qui lui sont associés (Wellen et Hotamisligil, 2005). La grande majorité des études qui ont analysé les facteurs de risque de NAFLD ont mis en évidence une forte relation linéaire entre l'indice de masse corporelle, le tour de taille et la NAFLD chez les personnes en situation d'obésité sévère (en particulier centrale), la prévalence de la NAFLD peut atteindre 98% dont environ 37% au stade de NASH (Bedogni et al., 2005). En effet, l'excès de masse adipeuse centrale (obésité androïde), s'accompagne d'une insulino-résistance avec une augmentation et un

maintien d'une activité lipolytique, la libération d'acides gras libres qui affluent dans le foie via le drainage portal et une surexpression de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-6, IL-8, IL1 β) qui maintiennent un état inflammatoire chronique et participent à la physiopathologie de la NAFLD (**Dimitrov et al., 2017**). Le diabète de type 2 chez les personnes en situation d'obésité est en partie lié à cette inflammation chronique responsable de la résistance à l'insuline, autant de facteurs qui tous contribuent à la physiopathologie de la NAFLD. L'Association Européenne pour l'Etude du Foie (*European Association for the Study of the Liver* : EASL) recommande par ailleurs la recherche systématique de la NAFLD chez les personnes en situation d'obésité ou avec un syndrome métabolique (**Ratziu et al., 2010**).

➤ Diabète de type 2

Environ 70% des personnes souffrant de diabète sont atteints de NAFLD (**Kwok et al., 2016**). Le diabète chez les personnes atteintes de NAFLD est associé à des formes plus sévères de la maladie. Des études basées sur l'histologie hépatique montrent que 80% des personnes souffrant de diabète avec NAFLD présentent une NASH et une fibrose avancée dans 17% à 40 % des cas (**Adams et al., 2005**). Inversement, la présence d'une NAFLD augmente de 2 à 5 fois le risque de développer un diabète de type 2 (**Bril et Cusi, 2017**). Cet effet bidirectionnel serait la conséquence de l'insulino-résistance présente dans le diabète et la NAFLD. L'EASL recommande un dépistage du diabète de type 2 chez les personnes atteintes de NAFLD. De même, chez les personnes atteintes de diabète, la présence d'une NAFLD doit être recherchée, quel que soit le niveau des enzymes hépatiques car ces patients sont à risque de maladies hépatiques évolutives (**Ratziu et al., 2010**).

➤ Insulino-résistance

La stéatose métabolique est une affection dysmétabolique qui évolue dans un contexte d'insulino-résistance (**Adams et al., 2005**). Cette dernière joue un rôle central dans la pathogenèse de la NAFLD (**Oneta et al., 2002**). Elle fait augmenter les taux d'acides gras libres (AGL) dans le sang et leur captation dans le foie. En raison de la surcharge métabolique, les AGL non sécrétés comme VLDL s'accumulent dans les hépatocytes, avec pour résultat la stéatose hépatique. Il s'agit là d'une stéatose (bénigne) en principe réversible. Dans la plupart des cas, l'insulinorésistance apparaît dans le cadre d'une obésité et d'un diabète de type 2 (**Marchesini et al., 2001**).

La liaison de l'insuline sur son récepteur membranaire active la voie de signalisation permettant le transport de glucose via des transporteurs membranaires spécifiques, le stockage

des acides gras sous forme de triglycérides et l'inhibition de la lipolyse (Summers *et al.*, 1999). L'obésité (surtout viscérale), va s'accompagner du développement d'une insulino-résistance et une augmentation de l'activité lipolytique des tissus adipeux et une libération massive d'acides gras libres qui vont affluer dans le foie via le drainage portal. Au niveau hépatique, l'inhibition de l'activité de l'insuline (insulino-résistance centrale) s'accompagne d'une stimulation de la lipogenèse *de novo* entraînant une stéatose supplémentaire, L'oxydation des métabolites oxygénés des triglycérides ainsi accumulés va être à l'origine de l'apoptose hépatocytaire, entraînant l'inflammation (production de cytokines pro-inflammatoires IL-6, TNF α , IL-8, IL1 β) et l'activation des cellules étoilées responsables de la production de collagène, puis de la fibrose. En revanche, l'insulino-résistance centrale ou périphérique peut également être consécutive à une stéatose hépatique (Bugianesi *et al.*, 2007).

I.2.2. La physiopathologie de la stéatose hépatique

La stéatose hépatique est définie par un excès de graisse au sein des cellules du parenchyme hépatique (les hépatocytes), à savoir plus de 5% du poids du foie ou plus de 5% des hépatocytes chargés de gouttelettes lipidiques à l'histologie. L'accumulation de graisse au sein du foie, principalement sous forme de triglycérides, résulte d'un défaut de balance entre trois phénomènes : l'apport d'acides gras au foie par la circulation, la production d'acides gras au sein du foie, l'utilisation des acides gras hépatiques (par oxydation, estérification ou export) (Poekes *et al.*, 2015).

➤ L'apport d'acides gras

Les deux sources principales d'apport d'acide gras libres dans la circulation et donc dans le foie sont l'alimentation, un apport sous forme de chylomicrons et la lipolyse des triglycérides stockées au niveau du tissu adipeux. Cette lipolyse périphérique a lieu normalement en cas de nécessité d'apport énergétique (par exemple en cas de jeûne) et inhibée par l'insuline. En cas d'insulinorésistance, comme c'est le cas chez les diabétiques de type 2 et certains patients obèses, cette lipolyse n'est plus inhibée, ce qui induit une libération d'acides gras libres dans la circulation, et par conséquent dans le foie. Il a d'ailleurs été prouvé que, chez les patients présentant une NAFLD, ces taux d'acides gras libres sont plus élevés par rapport à une population contrôle. Les acides gras rentrent dans les hépatocytes via deux protéines de transport principalement la FATP et la CD36. Une augmentation de l'expression de CD36 est décrite au niveau du foie des patients avec NAFLD (Musso *et al.*, 2003).

➤ La lipogenèse *de novo*

La lipogenèse *de novo* contribue également au pool d'acides gras hépatiques. Les nombreuses enzymes impliquées dans cette lipogenèse (ACC, FAS, SCD- 1, ...) sont sous le contrôle du SREBP1c, un facteur de transcription sensible à l'insuline et de ChREBP, un facteur de transcription sensible au glucose. Au niveau du foie, à la différence du tissu adipeux exposé, même en cas de résistance à l'insuline, la lipogenèse hépatique est maintenue, sans résistance à ce niveau. La lipogenèse *de novo* est également augmentée par la prise de fructose. En effet, le fructose, contrairement au glucose, est presque entièrement capturé par le foie et transformé en lipides (Kettner *et al.*, 2016).

➤ Le stress oxydatif

C'est un facteur déterminant dans le déclenchement de la NAFLD. Plusieurs études ont montré, au cours de la stéatose hépatique non alcoolique, à la fois une augmentation des produits d'oxydation des protéines ou des lipides et une diminution des capacités antioxydantes (Glutathion, activité superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase, capacité antioxydante du plasma) (Gill et Wu, 2006) (Figure 03).

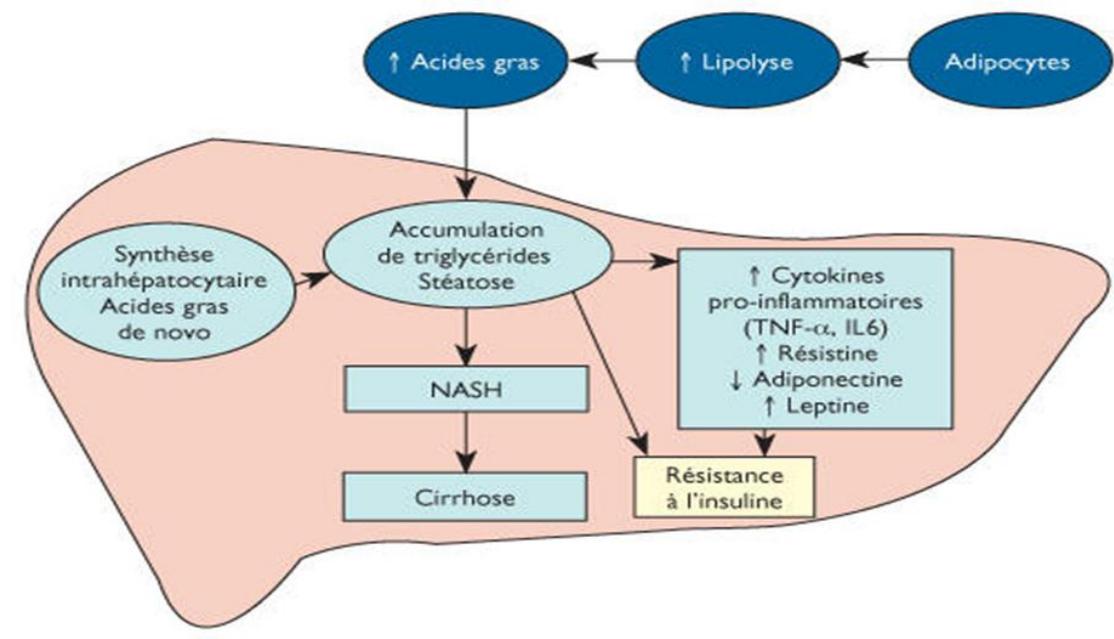
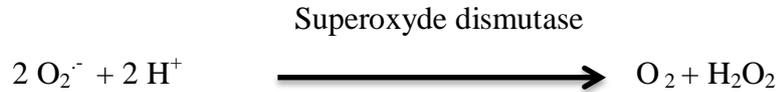


Figure 03 : Physiopathologie de la NAFLD (Gariani *et al.*, 2012).

➤ La superoxyde dismutase (SOD)

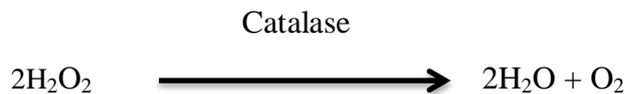
C'est une enzyme antioxydante majeure, présente dans tous les organismes vivants. La SOD est la seule enzyme antioxydante qui récupère l'anion superoxyde en convertissant ce radical libre en oxygène et en peroxyde d'hydrogène, empêchant ainsi la production de peroxy-nitrite et d'autres dommages. Les radicaux libres sont fortement associés à de nombreux processus

pathologiques dans le corps. En raison de cette capacité de piégeage, la SOD a suscité une attention considérable pour une utilisation thérapeutique. La SOD fait l'objet de nombreuses recherches et est utilisée dans des applications anti-inflammatoires, antitumorales, de radioprotection et antisénilité (Fei et Yu, 2015).



➤ La catalase

Elle a été la première enzyme antioxydante découverte. C'est une enzyme tétramère contenant de l'hème ubiquitaire. Il catalyse la dismutation de H_2O_2 en H_2O et O_2 , selon la réaction suivante :



Elle a une activité enzymatique très élevée et CAT peut dismuter environ 6×10^6 molécules de H_2O_2 par minute. Les catalases sont particulières car il n'y a aucune exigence pour un équivalent réducteur cellulaire dans son cas. Ils se trouvent principalement dans le peroxysoxe car c'est le centre de la production de H_2O_2 en raison de la β -oxydation des acides gras, de la photorespiration, du stress oxydatif et du catabolisme des purines.

I.2.3. Diagnostic de la NAFLD

Pour poser le diagnostic de NAFLD, il convient, dans un premier temps, d'exclure la présence d'une consommation d'alcool à risque, une prise chronique de traitement hépatotoxique ou la présence d'une autre affection hépatique, telle qu'une hépatite virale, auto-immune, médicamenteuse, une hémochromatose ou une maladie de Wilson à l'aide de tests sanguins. L'imagerie par ultrason, scanner ou IRM est utile pour détecter la présence d'une stéatose modérée à sévère.

L'échographie hépatique reste l'examen de dépistage le plus accessible, mais ses performances varient selon les études et le degré de stéatose. Sa sensibilité se situe entre 64 et 92% et sa spécificité entre 97 et 100% (Palmentieri *et al.*, 2006). Toutefois, en cas d'obésité morbide, l'ultrason se révèle médiocre avec une sensibilité et une spécificité de respectivement 49 et 75% (Mottin *et al.*, 2004) et scanner, qui présente le désavantage de son caractère irradiant, possède une sensibilité se situant entre 75 et 100% et une spécificité

d'environ 95% (**Mazhar et al., 2009**). Le fibroscan possède des caractéristiques intéressantes avec une sensibilité de 91% et une spécificité de 75% pour la détection de fibrose hépatique (**Wong et al., 2010**).

L'IRM par spectroscopie, dont la disponibilité reste très limitée, peut être considérée comme le gold standard en termes d'imagerie avec une spécificité de près de 100% déjà dans la détection d'un contenu hépatique en lipides de seulement 7,5% (**Szczepaniak et al., 2005**). L'inconvénient majeur de toutes ces techniques d'imagerie est qu'elles ne permettent pas de distinguer la présence ou non d'une activité inflammatoire ou de fibrose hépatique.

Le gold standard pour le diagnostic de NAFLD reste donc la biopsie hépatique. En raison de son caractère invasif, la réalisation de cet examen doit toutefois se limiter aux cas dont un doute persiste après une évaluation biologique et radiologique approfondie. Finalement, FGF21, un facteur endocrine récemment identifié, émerge comme un bio marqueur intéressant pour détecter la présence de NAFLD. En effet, son taux sanguin est bien corrélé avec la résistance à l'insuline et est élevé chez les sujets avec NAFLD (**Li et al., 2010**).

I.2.4. Traitements de la NAFLD

Les possibilités de traitement de la NASH sont restreintes. Il n'y a encore aucune étude randomisée et contrôlée ayant confirmé un effet d'une quelconque substance. Au cours des dernières décennies le recours à la médecine traditionnelle a été renforcé et un intérêt particulier est porté sur les végétaux, une source inépuisable de métabolites secondaires à effet thérapeutiques, tels que les composés phénoliques dont on cite les flavonoïdes et les tanins. En effet, ces derniers sont largement répandus dans le règne végétal, ils sont présents dans diverses parties de plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre différents tissus (**Fancesco et al., 2000**).

I.3. Les tanins

Les tanins sont des produits naturels phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses (**Mole et Waterman 1987**), ce sont des métabolites secondaires, à savoir les graines, les racines, l'écorce, le bois et les feuilles, en raison de leur rôle fondamental dans la défense contre les insectes, les infections alimentaires, les champignons ou les bactéries. Le mécanisme de défense repose sur la capacité des tanins à complexer les produits de façon irréversible, ils sont également considérés comme l'un des composants permettant de réduire efficacement les maladies cardiovasculaires, voire soulager certaines formes de cancer dans le cadre de régimes alimentaires riches en fruits et légumes. Les tanins

ce sont des composés de masse moléculaire élevée comprise entre 500 et 3000 (**Aron et Kennedy, 2008**).

L'importance des plantes à tanins est liée à leurs propriétés tannantes, c'est-à-dire à la propriété qu'ils ont de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible. Leurs principales caractéristiques sont la complexation et la précipitation des protéines, comme ils présentent des propriétés antioxydantes élevées, anti-obésité, anti-tumoraux (**Szczurek, 2021**).

I.3.1. Classification et structures des tanins

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux grands groupes de tanins différents par leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

➤ Tanins hydrolysables (pyrogalliques)

Ce sont des esters du glucose (ou de molécules apparentées) et d'acides phénols qui sont soit l'acide gallique, on parle alors de tanins galliques, soit l'acide ellagique, qui est un dimère de l'acide gallique, on parle alors de tanins ellagiques. Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide gallique ou plusieurs molécules d'acide ellagique (**Figure 04**) (**Ghestem et al., 2001**).

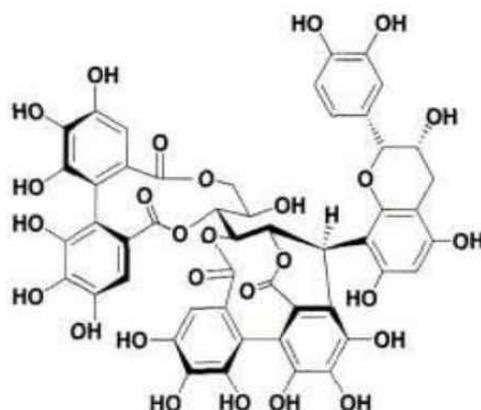


Figure 04 : Structure des tanins hydrolysables (Bruneton, 1999).

➤ Tanins condensés (proanthocyanidols)

Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ol dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères (Figure 05) (Harborne, 1989 ; Awika et Rooney, 2004). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (Guignard, 1996).

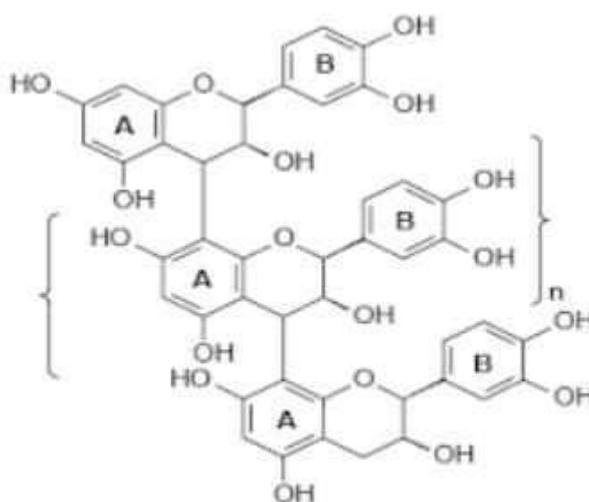


Figure 05 : Structure des tanins condensés (Bruneton, 1999).

I.3.2. Caractérisation des tanins

Avec les sels ferriques, les tanins galliques et ellagiques donnent des colorations et des précipités bleu-noir et les tanins condensés des précipités brun verdâtre. Les tanins galliques donnent une coloration rose avec l'iodate de potassium (l'acide gallique libre est lui coloré en orange par ce réactif). Les tanins ellagiques sont colorés par l'acide nitreux en milieu acétique (d'abord rose, la coloration vire au pourpre puis au bleu) et les tanins condensés sont colorés en rouge par la vanilline chlorhydrique. L'analyse des extraits fait appel aux techniques habituelles : CCM (sur cellulose ou silice, révélation par examen des fluorescences en UV et

par les réactifs, chromatographie liquide (phases inverses, solvants alcooliques légèrement acide (**Feldman, 2005**)).

I.3.3. Propriétés physico-chimiques des tanins

Les tanins se dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales mais leur solubilité varie selon le degré de polymérisation, elle diminue lorsque celui-ci augmente. Ils sont solubles dans les alcools et l'acétone. Les solutions aqueuses ont une solubilité généralement modérée, variable selon la structure. Ainsi, lors de l'extraction par l'eau bouillante (c'est –à dire dans les conditions d'une décoction), un tanin tel que la géraniine est décomposée en trente minutes en acide gallique, acide ellagique et corilagine. Les formes dimères et oligomères des esters galliques et HHDP du glucose sont également assez instables. Comme tous les phénols les tanins réagissent avec la chlorure ferrique, ils sont précipités de leurs solutions aqueuses par les sels de métaux lourds et par la gélatine. Les tanins hydrolysables et tanins condensé peuvent être distingués sur la base de leur comportement en milieu acide à chaud. Les premiers, polyesters du glucose, sont hydrolysés, libérant le sucre, l'acide gallique et l'acide hexahydroxydiphénique, ce dernier se lactonise rapidement en acide ellagique. L'hydrolyse des oligomères conduit également à des composés à trois ou quatre cycles benzénique dont la structure varie selon la nature de la liaison inter_monomérique. Dans le cas des polygalloylglucose ayant une chaîne latérale depsidique, les liaisons depsidiques, peuvent être rompues en milieu acide faible et à température ambiante, conditions qui laissent intactes les liaisons ester engageant les hydroxyles du glucose (**Shahidi et Naczk, 1995**).

Dans les mêmes conditions expérimentales, la liaison interflavanique des secondes est rompue et en présence d'air, le carbocation formé conduit à un anthocyanidol. Lorsque les conditions sont contrôlées, cette réaction peut être utilisée pour l'étude structurale ; on peut notamment capturer les intermédiaires réactionnels par un nucléophile approprié (**Yanagida et al., 2003**).

I.3.4. Propriétés biologiques des tanins

La plupart des propriétés biologiques des tanins sont liées au pouvoir qu'ils ont de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines par la complexation réversibles ou bien la complexation irréversible (**Zhu et al., 1997**).

Les applications traditionnelles des plantes à tanins sont assez restreintes et découlent de leur affinité pour les molécules protéiques. Par voie externe, les tanins imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes ; ils ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant la perte de fluides et en empêchant les agressions extérieures, les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle ou de brûlure. Par voie interne, ils exercent un effet anti-diarrhéique certain. Quelle que soit la voie d'administration (orale ou locale) l'effet antiseptique-antibactérien et antifongique clairement démontré de ces molécules peut être intéressant (diarrhées infectieuse, dermites) (**Shin et al., 2002**).

Par ailleurs, de nombreux tanins, particulièrement des tanins hydrolysables, ont été impliqués dans l'activité antioxydante, ils inhibent la peroxydation des lipides induites par l'ADP et l'acide ascorbique sur les mitochondries hépatiques du Rat, *in vitro*, ce sont des piègeurs de radicaux, des inhibiteurs de la formation de l'ion superoxyde et pour certains d'entre eux, des inhibiteurs de la lipoxigénase des granulocytes péritonéaux du rat, mais pas de la cyclooxygénase. Plusieurs ont un effet inhibiteur sur l'autoxydation du linoléate de méthyle. *In vivo* la géraniine diminue le taux sérique de lipides peroxydés chez des rats (**Yanagida et al., 2003**).

Les tanins ont été également rapportés pour leurs effets anti-inflammatoires. En effet, **Madieha et Safdar (2020)** ont montré que les tanins condensés des cultures de callus de feuilles de *Achyranthes aspera* présente la meilleure activité anti-inflammatoire, tandis que les tanins des cultures de callus *Ocimum basilicum* ont montré de meilleurs résultats pour la cicatrisation des plaies.

Muthuraman et ses collaborateurs (2011) ont étudié les effets anti-inflammatoires des composés phénoliques libres, y compris l'acide tannique et l'acide gallique, dans les inflammations aiguës et chroniques chez des modèles de rats, et ils ont trouvé que les effets de l'acide tannique sur l'inhibition de l'œdème et de l'activité MPO (myeloperoxydase) pendant la phase aiguë de l'inflammation. .

L'étude de **Adjebli et al. (2019)** a trouvé que le tanin est capable d'exercer des effets antihyperglycémiques et de diminution du cholestérol total ainsi que d'améliorer le taux sérique de lipoprotéines de haute densité (HDL)-cholestérol et amélioré la tolérance au glucose, l'état histopathologique du foie chez les rats diabétiques et a démontré une activité antioxydante intéressante.

L'étude de **Yasuhito et al. (2022)** a conclu que l'effet des tanins hydrolysables inhibe l'accumulation de lipides dans les cellules et qui a un effet inhibiteur sur la différenciation des adipocytes par la suppression de l'expansion clonal mitotique.

II.1. Origine des échantillons biologiques utilisés dans la présente étude

Cette étude a été effectuée afin d'évaluer l'effet de l'extrait de tanins sur les activités des enzymes antioxydantes endogènes, à savoir la superoxyde dismutase et la catalase, ainsi que l'aspect des tissus hépatiques de rats récupérés à partir d'un travail mené préalablement sur 24 rats males de souche Wistar Fisher, chez qui une stéatose hépatique a été induite *in vivo*. Ces rats ont été répartis en quatre groupes de 6 individus afin de recevoir des régimes alimentaires et traitements suivants :

1. Le lot contrôle négatif (6 rats) : Nourriture standard quotidiennement pendant 16 semaines et un gavage par le CMC (1%).
2. Le lot contrôle positif 1 (6 rats) : Régime enrichi en graisse et en sucre quotidiennement pendant 16 semaines et un gavage par le CMC (1%).
3. Le lot contrôle positif 2 (6 rats) : Régime enrichi en graisse et en sucre quotidiennement pendant 14 semaines, puis ce régime a été interrompu pour reprendre un régime alimentaire standard et un gavage par le CMC (1%).
4. Le lot traité par l'extrait de tanins (6 rats) : Régime enrichi en graisse et en sucre quotidiennement pendant 14 semaines, suivi de deux semaines de régime alimentaire standard et de gavage gastrique par la solution d'extrait de tanins (50mg/Kg).

Au bout des 16 semaines d'expérimentation, les rats ont été sacrifiés afin de récupérer les différents organes, y compris les foies utilisés dans cette étude.

II.2. Préparation des homogénats

Dans le but d'extraire les molécules d'intérêt des tissus durs ou mous et d'échantillons biologiques, les préparations des échantillons comprennent généralement une étape indispensable qui est l'homogénéisation. Cette dernière consiste à découper les organes, suivie de l'homogénéisation des morceaux coupés, ceci a été réalisée à l'aide d'un broyeur et un mortier dans un milieu froid, en utilisant des mouvements de billes pour optimiser le broyage de l'échantillon (**Figure 06 A**), avec l'ajout progressif d'une quantité de tampon phosphate (pH=7,4). Le mélange obtenu a été récupéré dans un tube gradué afin de compléter par du tampon phosphate et atteindre un rapport masse volume de 1/10 (m/v) (**Figure 06 B**).

Cette préparation d'homogénat s'achève par une centrifugation dans le but de la séparation en différentes phases les éléments de la suspension grâce à leur différence de densité, ceci a été réalisé à 6000 rpm pendant 15 min (**Figure 06 C**). Enfin, les surnageants récupérés ont été dans tubes eppendorff et stockés à -20°C, afin de mesurer ultérieurement leurs activités superoxyde dismutase et catalase.

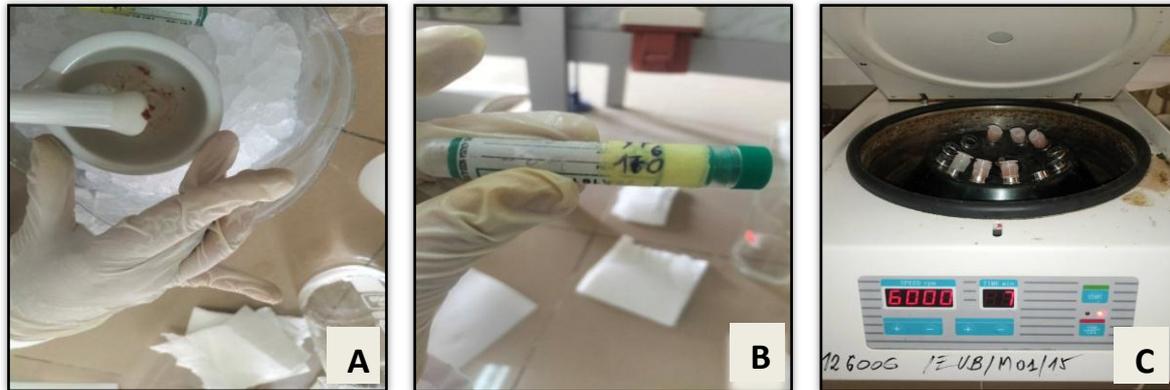


Figure 06: Les photographies originales illustratives des étapes de l'homogénéisation des échantillons de tissus hépatiques.

II.3. Etudes des activités enzymatiques

Les dosages des activités de la superoxyde dismutase et la catalase des échantillons préparés ont été effectués au niveau du laboratoire de Biochimie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

II.3.1. Activité de la superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase est une oxydoréductase catalysant la dismutation des anions superoxyde $O_2^{\cdot -}$ et peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , selon la réaction suivante :



Le dosage de cette activité superoxyde dismutase (SOD) dans les homogénats hépatiques a été réalisé par le protocole de **Marklund et Marklund (1974)**, décrit dans **Patel et Katyare (2006)**. Le mélange réactionnel a été préparé par 1430µl de tris-HCl et 20 µl du surnageant hépatique et de 100µl de pyrogallol. La cinétique de l'activité SOD est suivie par des lectures spectrophotométriques, à une longueur d'onde de 420 nm, avec un intervalle de 20 sec pendant 3 min. Un blanc contenant 1450 µl de tris-HCl (pH=8,74) et 100 µl de pyrogallol (0,2 mM) a été préparé par la même méthode. Les tests ont été répétés trois fois par échantillon.

II. Matériel et Méthodes

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm SEM des activités obtenues pour les 6 rats de chaque groupe, exprimées en U/mg prot/min.

Par rapport à la méthode de calcul pour la SOD c'est de faire la moyenne des pentes des blancs à chaque puis les pentes des différents essais qui suivent les blancs. On appliquant la loi suivante :

$$\text{Activité de la SOD} = ((1 - (\text{Pente essai} / \text{Pente blanc})) * 100)$$

Puis diviser la moyenne des activités de chaque échantillon sur la valeur de son bradford.

II.3.2. Activité de la catalase hépatique

La catalase est une enzyme qui veut dire un catalyseur biologique capable d'accélérer la réaction de dégradation de l' H_2O_2 , selon la réaction suivante :



Le dosage de cette activité dans les homogénats de foies a été mené selon le protocole de **Aebi (1983)** adopté par **Verma et al. (2012)**. Il s'agit de préparer un mélange contenant 1600 μL de H_2O_2 et de 380 μL de PBS et d'initier la réaction par l'ajout de 20 μL du surnageant à tester. La cinétique de la catalase hépatique a été ainsi suivie par des mesurer les absorbances au spectrophotomètre UV à une longueur d'onde de 240 nm pendant une minute avec un intervalle de 15 sec. Un blanc a été préparé par 400 μl de tampon phosphate (pH=7,4) et 1600 μL de H_2O_2 . Les tests ont été répétés trois fois par échantillons. Les résultats ont été exprimés en moyenne des activités obtenues (U/mg prot/min) pour les 6 rats de chaque groupe.

Par rapport à la méthode de calcul pour la catalase , Ce n'est pas la peine d'enlever le blanc des essais, On calcule en premier lieu

LOG (la première absorbance /ABS à 60 SECONDES) pour chaque essai

Puis on multiplie fois 2,303 cette valeur du log cité ci-dessus.

2,303 étant un coef.

Puis on divise la moyenne des calculs de chaque échantillon sur la valeur de son bradford.

II.4. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

La méthode de Bradford est une méthode d'analyse spectroscopique utilisée pour mesurer la concentration des protéines en solution, elle est basée sur le changement d'absorbance se manifestant par le changement de couleur de Blue de Coomassie après liaison avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminées présents dans les protéines (**Marion 1976**). Ce dosage dans cette présente étude a été mené par la méthode de Bradford

(Bradford, 1976), qui consiste à mettre dans des tubes Eppendorfs un volume de 20 μL d'échantillon (homogénat) qui a été ajouté à 980 μL du réactif de Bradford. Après 10min, la densité optique du mélange a été déterminée à 595nm. Les concentrations sont définies par référence à une gamme étalon à base de l'albumine du sérum bovin (BSA). Cette courbe d'étalonnage a permis l'expression des activités enzymatiques SOD et catalase en U/mg de protéines.

II.5. Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm SEM. Les résultats ont été analysés en utilisant le logiciel GraphPad Prism 8,0,2. L'analyse de la variance (ANOVA) a été menée avec un post test Dunett's. Les résultats ont été considérés comme étant significatifs à $P < 0,05$.

II.6. Etude d'histopathologie (coupes histologiques des foies)

L'étude histologique a été réalisée au niveau du laboratoire de la Faculté de Médecine de l'université de Bejaia, elle s'est déroulée en plusieurs étapes, à savoir la préparation des cassettes d'inclusion, la déshydratation des échantillons, l'inclusion et l'enrobage, le découpage (microtomie), les montages des lames, les colorations et les observations microscopiques.

II.6.1. Préparation des cassettes d'inclusion

Après le prélèvement effectué sur les organes et l'immergez immédiatement dans un liquide fixateur qui est le formol, ces prélèvements reçus sont analysés macroscopiquement pour les recouper afin d'obtenir des pièces de petite taille (**Figure 07**) et les mettons dans les cassettes d'inclusion et le remettre dans liquide de formol dans le but de la conservation des structures et leur durcissement des pièces, la durée de fixation et le volume de fixateur utilisé varient selon le volume des prélèvements.

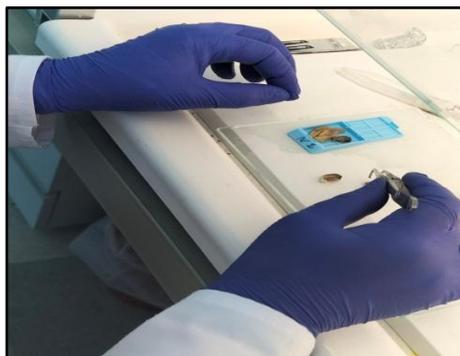


Figure 07 : Photographie originale lors du transfert des coupes d'organes vers les cassettes d'inclusion.

II.6.2. L'étape de déshydratation

La déshydratation se fait par l'automate de déshydratation (**Figure 08**), cette machine permet la déshydratation progressive des échantillons fixés grâce à des bains croissants d'éthanol (2 bains) puis de xylène (2 bains), suivi de l'imprégnation dans la paraffine liquide (8 bains) dans le but d'éliminer l'eau contenus dans les organes , cette étape prépare l'inclusion vu que la paraffine est hydrophobe .



Figure 08: Photographie originale illustrative de l'étape de déshydratation des échantillons.

II.6.3. L'étape d'inclusion (Enrobage)

Elle a pour but de permettre la réalisation des coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine. Le prélèvement baigne dans de la paraffine fondue (chauffée à 56° C) donc devenue liquide et qui infiltre alors toute la pièce. Après 3heures d'inclusion, la paraffine liquide est coulée dans un petit moule en métal. Après refroidissement, on se trouve alors en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse (**Figure 09**).



Figure 09 : Photographie originale lors de la réalisation des blocs paraffinés

II.6.4. L'étape de coupage

Après obtention des blocs de paraffine, ils vont être coupés à l'aide de microtome (**Figure 10**) qui permet de réaliser des tranches fines des tissus de 2 à 5 μm d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre pour être par la suite déparaffinées.



Figure 10: Photographie originale de l'étape de la préparation des coupes fines des tissus

II.6.5. L'étape de coloration hématoxyline-Eosine

Les différents colorants ont été utilisés pour nous permettre d'observer les coupes de tissus préparés sous le microscope, nous les avons donc mises dans hématoxyline puis dans l'Eosine ensuite dans l'éthanol et après dans l'éthanol xylène à la fin dans le xylène pour obtenir des coupes colorées, ces derniers sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique afin d'obtenir une lame prête à être observée au microscope optique numérique qui utilise un système optique et une caméra numérique pour afficher les images capturées sur un écran d'ordinateur (**Figure 11**) .

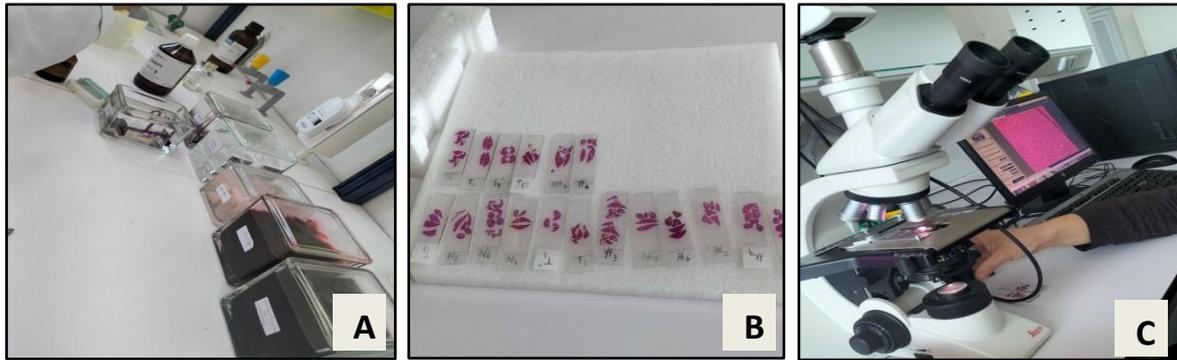


Figure 11 : Photographie des étapes de coloration (A) des lames prêtes (B) et des observations microscopiques (C).

III.1. Résultats des activités enzymatiques hépatiques

III.1.1. Résultats de l'activité superoxyde dismutase hépatique

L'activité superoxyde dismutase cytosolique a été déterminée selon la méthode décrite par (Marklund et Marklund, 1974). La mesure de l'activité de cet enzyme est basée sur sa capacité à inhiber l'auto-oxydation du pyrogallol. Dans cette étude, on a vu l'effet de l'extrait de tanins sur des rats Wistar Fisher ayant développé une stéatose hépatique par l'administration d'un régime enrichi en gras et en sucre par le dosage de l'activité de la SOD exprimée par unités par mg de protéines par minute (U/mg prot/minute). Les résultats sont illustrés par les histogrammes suivant :

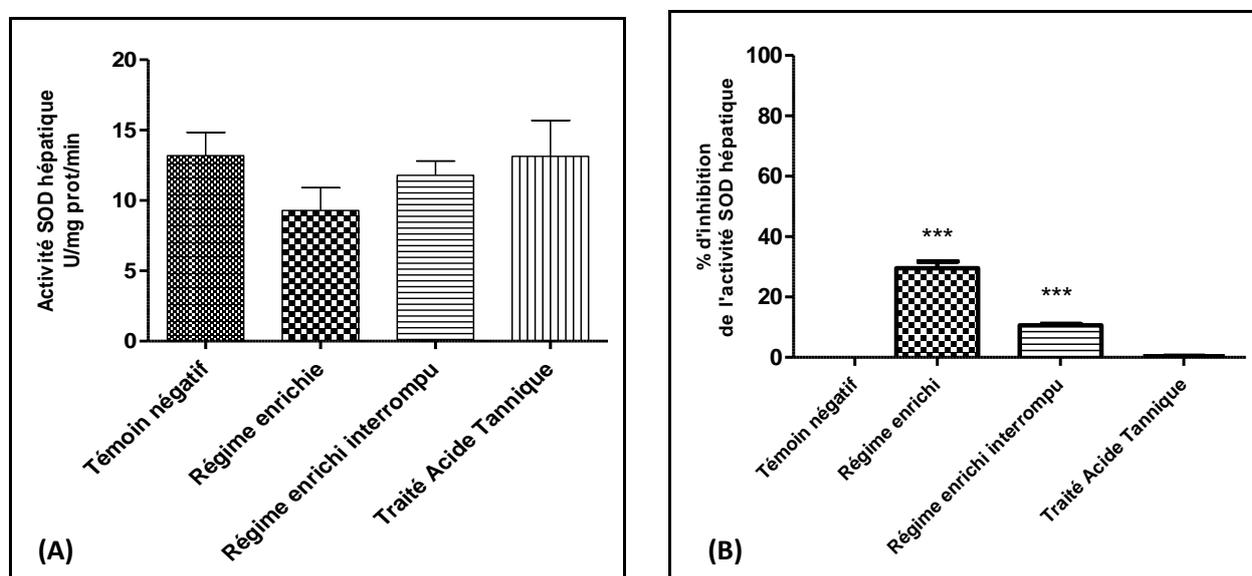


Figure 12 : Activité de la superoxyde dismutase SOD hépatique (A) exprimé également en taux d'inhibition (B) chez les quatre groupes de rats. Les résultats sont considérés significatifs par le test *One way Anova* avec le post-test Dunett's à * $P < 0,05$.

Les résultats obtenus avant et après traitement par l'extrait de tanins a présenté une variation de l'activité enzymatique de la SOD. Le groupe témoin qui a reçu un régime alimentaire standard présente une activité enzymatique de $13,186 \pm 1,650$ U/mg prot/min. cette valeur est retenue comme référence de comparaison aux autres groupes de cette même étude. En effet, Le groupe qui a reçu un régime alimentaire enrichi a montré une valeur d'activité de la SOD qui a diminué à $9,21 \pm 1,61$ U/mg prot/min, exprimant un taux d'inhibition modéré de 30% comparé (***) au groupe témoin négatif. Ceci suggère un déséquilibre au niveau du système antioxydant enzymatique intracellulaire du foie touché par la NALFD.

Cette diminution a été maintenue chez le groupe de rats ayant interrompu ce régime gras et sucré. Par contre nous constatons clairement la restauration de cette capacité antioxydante à travers l'activité SOD chez le groupe traité par l'extrait de tanins. En effet, le groupe dont le régime gras et sucré a été interrompu a éprouvé une amélioration de l'activité de la SOD avec une valeur égale à $11,78 \pm 1,03$ U/mg prot/min, une activité supérieure à celui enregistré chez le groupe malade exprimant un taux d'inhibition de 11% comparativement au groupe témoin ($***P < 0,05$). Cependant, Le groupe traité par l'acide tannique a exhibé une augmentation du taux de l'activité SOD de $13,13 \pm 2,55$ U/mg prot/min, similaire à celle de groupe témoin négatif, ce qui témoigne d'un bon effet curatif de cette substance vis à vis du stress oxydatif induit chez le groupe NAFLD (**Figure 12**).

III.1.2. L'activité de la catalase hépatique

L'activité de la catalase a été déterminée selon la méthode de **Aebi (1983)**. Elle est basée sur la capacité de la catalase à dégrader le H_2O_2 . Dans la présente étude, l'effet de l'extrait de tanins a été évalué par le dosage de l'activité de la catalase hépatique exprimée par unités par mg de protéines par min (U/mg prot/min). Les résultats sont illustrés dans l'histogramme suivant :

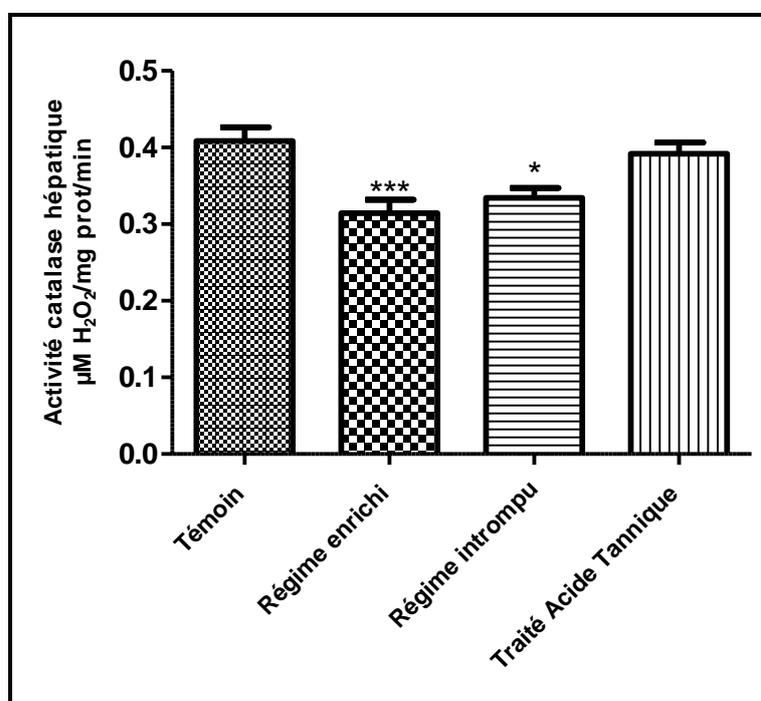


Figure 13 : Taux d'activité de la catalase hépatique chez les quatre groupes de rats. Les résultats sont considérés significatifs par le test *One way Anova* avec le post-test Dunett's à $*P < 0,05$.

D'après l'histogramme de la figure 13, on constate clairement une baisse significative (**P<0,05) de l'activité de la catalase hépatique chez le groupe NAFLD (malade) suite au régime alimentaire enrichi en graisse et en sucre, avec un taux d'activité de $0,314 \pm 0,018$ U/mg prot/min par rapport au groupe témoin avec un taux d'activité $0,409 \pm 0,017$ U/mg prot/min. L'activité de la catalase chez le groupe dont le régime est interrompu a été sensiblement amélioré mais reste significativement basse comparé au témoin négatif, avec une activité de $0,334 \pm 0,013$ U/mg prot/min.

Concernant le groupe traité par l'acide tannique, il a enregistré un taux d'activité catalase de $0,391 \pm 0,014$ U/mg prot/min comparable à celle du témoin négatif. Cette différence on significative avec le groupe témoin est un résultat qui exprime une nette restauration et préservation des capacités antioxydantes endogènes chez les rats NAFLD traités par l'extrait de tanins.

L'augmentation de l'activité de la catalase de la SOD retrouvé dans notre étude chez le groupe traité avec l'extrait de tanin est en accord avec le résultat de **Jian *et al.* (2017)** ayant travaillé sur les activités de la SOD, de la catalase et la glutathion peroxydase (GSH-Px) chez les souris dont l'hépatotoxicité les a significativement réduites jusqu'à 65%, puis leur activités ont été augmentées par un prétraitement avec l'extrait de tanins à 25 et 50 mg/kg. Des effets prometteurs dans la gestion de la NAFLD ont été également démontré par les antioxydants dans d'autres études (**Salomone *et al.*, 2016 ; Ferramosca *et al.*, 2017**).

Les défenses antioxydants cellulaires contre le stress oxydatif impliquent des enzymes antioxydants, tel que la SOD, la catalase et la glutathion peroxydase. Ces enzymes appartiennent au principaux mécanismes de défense antioxydant qui protège les cellules des dommages causés par la surproduction des espèces réactives de l'oxygène et la réduction du stress oxydatif (**Weydert et Cullen, 2010**). Par ailleurs, le rôle antioxydant de la catalase est crucial pour le maintien des peroxysomes (**Nordgren et Fransen, 2014**) et que les fonctions peroxysomales sont nécessaires pour le métabolisme lipidique normal (**Lodhi et Semenkovich, 2014**).

La SOD régule le stress oxydatif, le métabolisme des lipides, elle empêche également la formation des gouttelettes lipidiques formant les stéatoses hépatiques. Cette enzyme agit comme un agent thérapeutique contre les maladies médiées par les espèces réactives de l'oxygène. Elle permet de catalyser la dismutation du radical libre anion superoxyde en oxygène moléculaires et en peroxyde d'hydrogène, qui est converti ensuite en eau par la catalase (**Younus, 2018**). En l'occurrence, dans cette étude le régime riche en gras et en sucre a provoqué une NAFLD, et

cette dernière a provoqué à son tour une diminution de l'activité de la SOD en comparaison au groupe témoin.

Les tanins sont des composés phénoliques, ces derniers sont considérés bénéfiques pour la santé humaine par leur potentiel antioxydant qui leur permet d'agir comme agents réducteurs, piègeurs de radicaux libres et donneurs d'hydrogène en réduisant le stress oxydatif et en inhibant l'oxydation macromoléculaire (**Gupta et al., 2019**).

D'autres part, les acides gras rentrent dans les hépatocytes via deux protéines de transport principalement la FATP et la CD36. Une augmentation de l'expression de CD36 est décrite au niveau du foie des patients avec NAFLD (**Musso et al., 2003**), les tanins ont probablement pu agir sur la FATP et la CD36 en inhibant le flux des acides gras vers les hépatocytes.

III.2. Les résultats de l'étude histopathologique

Dans le but d'évaluer l'effet de l'extrait des tanins sur la maladie de stéatose hépatique, une étude histologique a été effectuée car elle permet d'observer toutes les structures des tissus hépatiques étudiés et déceler l'existence d'éventuelles anomalies à travers des observations au microscope numérique. Des images originales ont été enregistrées en grossissement*20. La **figure 14** représente les coupes hitologiques illustratives des foies des rats du groupe témoin négatif.

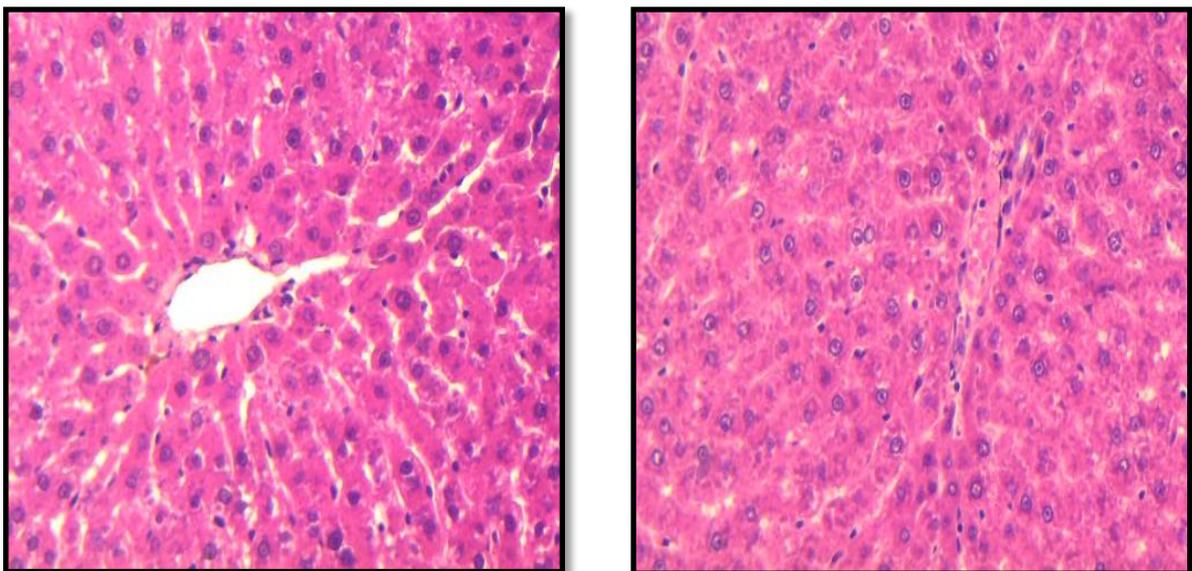


Figure 14: Les photographies originales des coupes histologiques issues des foies rats du groupe témoin. (Grossissement *20).

Les images de la figure 14 montre la représentation des cordons des cellules parenchymateuses hépatiques (hépatocytes) qui sont séparées par des sinusoides et pour les caractères cytologiques évidents sont les noyaux et les nucléoles des hépatocytes et on trouve que la plupart des noyaux contiennent un seul nucléole et on remarque une rareté des vacuoles graisseuses et l'absence d'inflammation, donc le foie est sain et il ya pas une développement de la stéatose hépatique chez ce groupe.

La figure 15 suivante représente les coupes histologiques des foies des rats ayant reçu le régime enrichi en graisse et en sucre pendant 16 semaines dans le but d'induire une stéatose hépatique.

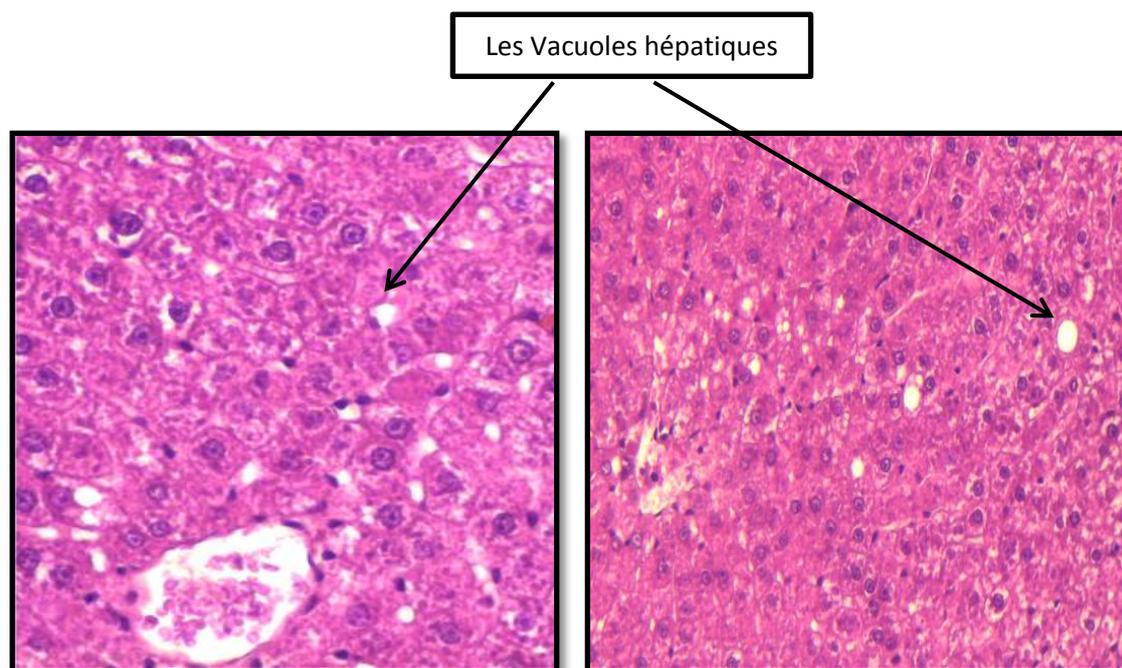


Figure 15 : Les photographies originales des coupes histologiques issues des foies de rats nourrit par le régime enrichi en graisse et en sucre (Grossissement *20).

D'après **la Figure 15**, on remarque des résultats clairement différents de ceux de la **figure 14**, ont été observées exprimant l'induction d'une inflammation. De plus, on remarque plusieurs vacuoles graisseuses hépatiques qui peuvent être des vacuoles de stéatose de type macrovacuolaire de taille supérieure au noyau et il sont déjetées en périphérique. Des vacuoles blanches optiquement vides ont été également observées, ceci s'explique par le fait que les prélèvements ont été colorés après inclusion en paraffine et les triglycérides contenus dans ces vacuoles se libèrent d'acides gras libres et rentre via deux proteines de transport principalement le FATP et la CD36 dans le foie et maintiennent un état inflammatoire chronique et participent ainsi à la physiopathologie de la NAFLD. Donc, il y'a eu un développement d'une stéatose

hépatique probablement liée à l'obésité de ces rats et une inflammation suite à la libération des radicaux libres.

Nos résultats sont compatibles à ceux trouvés par **Jinyang et al. (2023)** chez les humains adultes atteints de stéatose hépatique non alcoolique sur la base de la stéréologie et de la distribution spatiale des gouttelettes de graisse provenant d'échantillons de biopsie hépatique.

Chez le troisième groupe, le régime enrichi en sucre et en graisse a été interrompu au bout de la 14^{ème} semaine et les rats ont repris la nourriture standard, la **figure 16** représente les coupes histologiques obtenues.

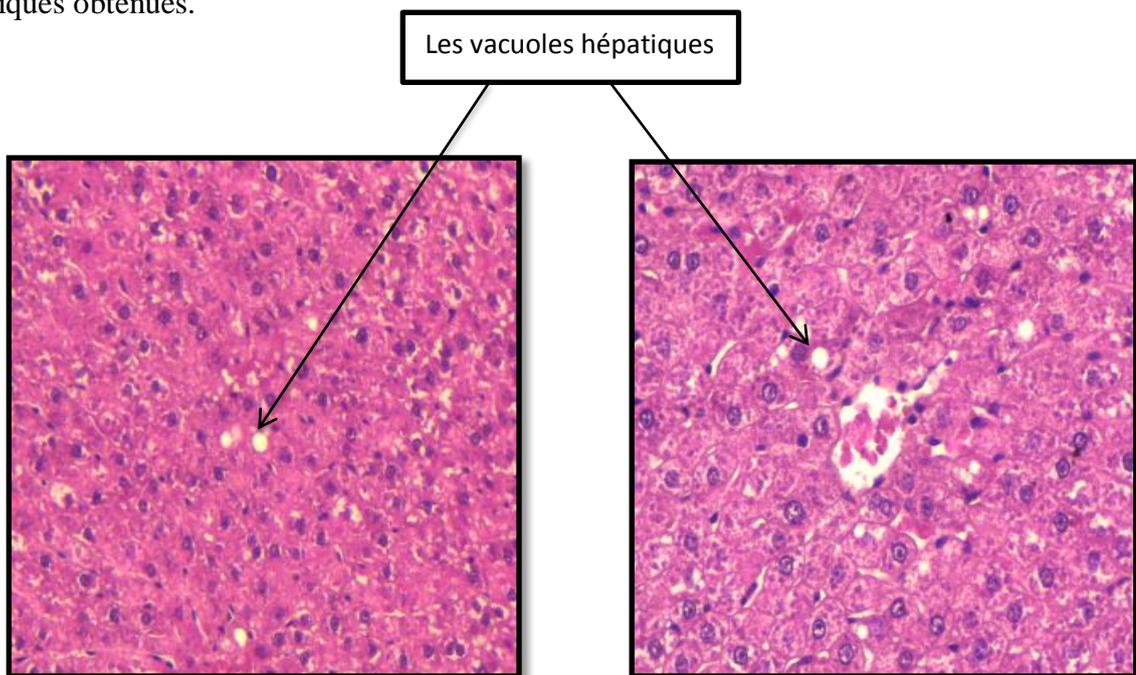


Figure 16 : Les photographies originales des coupes histologiques issues des foies de rats dont le régime gras et sucré a été interrompu (Grossissement *20).

D'après la figure, on a observé clairement une diminution de l'inflammation et des vacuoles lipidiques en moindre quantité comparativement à la **figure 15**, donc l'arrêt de régime enrichi en graisse et en sucre a pu ralentir la progression de la stéatose, qui peut être due à une perte de poids mais qui n'a pas été totale sur une courte période insuffisante de 2 semaines.

Enfin, le 4^{ème} lot qui a reçu un traitement par l'extrait de tannins à 50 mg par kg de poids corporel en plus de l'interruption du régime riche en sucre et en gras a montré des résultats très intéressants illustrés sur la **figure 17**.

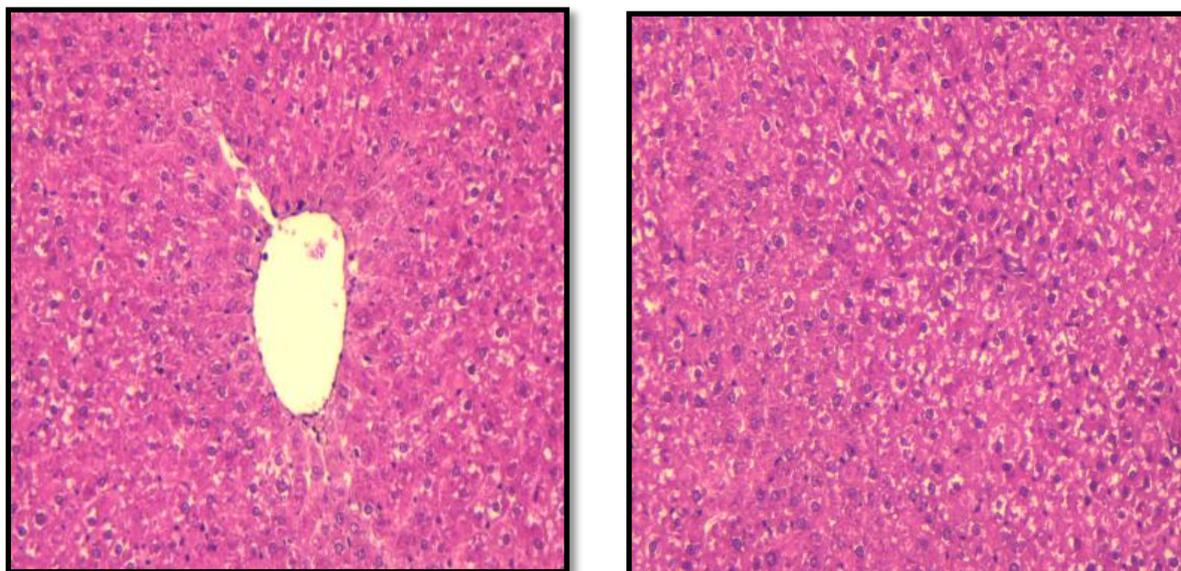


Figure 17 : Les photographies originales des coupes histologiques issues des foies rats traités par l'extrait de tannins à 50 mg/ml (Grossissement *20)

La **figure 17** nous montre des résultats intéressants, on observe une disparition des cellules de Kupffer, ainsi que les vacuoles de graisses hépatiques qui sont en train de se vider en comparaison à la **figure 15**. Ces images ressemblent à celles du témoin négatif en **figure 14**. Ce résultat peut être dû aux effets anti-inflammatoire et l'effet antioxydant de l'extrait des tanins, sachant que les antioxydants peuvent rompre la chaîne de création des radicaux libres et empêchent l'oxydation des graisses qui peuvent provoquer la stéatose hépatique, donc cet extrait a pu inverser le développement de stéatose hépatique et la diminution d'apparition des vacuoles hépatique induite par le régime enrichi en graisse et en sucre. Nos résultats s'accordent avec les travaux de **Hassan et al. (2022)**, sur L'activité anti-inflammatoire de la fraction riche en phénols contre les médiateurs inflammatoires où ils ont trouvé que les polyphénols naturels sont des candidats potentiels pour la gestion des radicaux libres et de l'inflammation et le travail de **Jinyang et al., 2023** sur les humains adultes atteints de stéatose hépatique non alcoolique sur la base de la sérologie et de la distribution spatiale des gouttelettes de graisse provenant d'échantillons de biopsie hépatique. **Kenji et Shin-ichiro (2012)** a révélé que les kakis qui contiennent une grande quantité de tanins empêchaient l'hyperlipidémie, l'hyperglycémie et la stéatose hépatique des souris atteintes de diabète de type 2.

La stéatose hépatique résulte de l'accumulation de triglycérides dans le foie mais elle ne se limite pas uniquement au foie, elle effectue aussi plusieurs dysfonctionnements extra-hépatiques. Malheureusement, il n'existe aucun traitement efficace contre la stéatose hépatique non alcoolique sans prendre en compte les régimes alimentaires. À cet égard, les plantes médicinales contiennent une large gamme de composés chimiques naturels et ces composés peuvent avoir des effets bénéfiques tels que des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires.

Dans cette étude on a choisi d'étudier l'effet d'un extrait de tanins sur la maladie de la stéatose hépatique, les résultats sont basés sur un régime alimentaire enrichi en graisse et en sucre de 14 semaines qui a provoqué une stéatose hépatique.

La comparaison des investigations enzymatiques et anatomo-histopathologique entre le groupe malade et les groupes témoins ainsi que le groupe traité par l'extrait de tanins a montré que la stéatose hépatique causée par ce régime est partiellement réversible après un traitement avec des tanins et de l'acide tannique. Nos résultats ont démontré l'implication des tanins dans le contrôle des activités superoxyde dismutase (SOD) et la catalase, d'après leurs diminutions significatives chez le groupe stéatosé et leurs restaurations chez le groupe traité par 50mg/kg de l'extrait de tannins. Les résultats de l'étude histopathologique sont venus confirmer cet effet par des aspects des vacuoles lipidiques et les manifestations d'ordre inflammatoires qui ont été amoindri voire disparus sous l'effet de ce même traitement.

L'ensemble des résultats obtenus nous permettent de retenir comme principale conclusion que cet extrait de tanins a pu améliorer la condition pathologique induite par le régime gras et sucré qui est la stéatose hépatique, nettement installée dans cette étude, ceci sur le plan de l'accumulation des lipides au niveau hépatique, ainsi que sur le plan inflammatoire et stress oxydatif. Ces résultats confirment une fois de plus le statut antioxydant .

Ce travail mérite d'être complété par d'autres investigations d'activités biologiques ainsi que l'étude de la toxicité, en fonction des concentrations, de cet extrait de tanins.

A

-Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, Angulo P. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005 .

-Ajebli M , EL Ouary F , Eddouks M . Study of Antioxidant Activities of Tannins Extracted from *Warionia saharae* Benth.& Coss.*Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*.2019.

-Ajebli M,El Ouary ,Eddouk M. Etude des activités antihyperglycémiques ,antihyperlipidémiques et antioxydantes des tannins extraits de *Warionia saharae* Benth.&Coss.2019.

-Ambreen M,Mirza SA.Evaluation of anti-inflammatory and wound healing potential of tannins isolated from leaf callus cultures of *Achyranthes aspera* and *Ocimum Balsilicum*.*Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*.2020.

-Aron PM, Kennedy JA. Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity. *Molecular Nutrition Food Research*. 2008 .

B

-Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Castiglione A, Crocè LS, Tiribelli C, Bellentani S. Incidence and natural course of fatty liver in the general population: the Dionysos study. *Hepatology*. 2007.

-Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology*. 2005.

-Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of Against Aspirin and Ethanol Induced Gastric Ulcer in Rats . *International Journal of proteinutilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry*.1976.

-Bril F, Cusi K. Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Type 2 Diabetes: A Call to Action. *Diabetes Care*. 2017.

-Bruneton J. Les tanins. Ed. Editions médicales internationales, Paris,1999. .

C

-Cos P, De Bruyne T, Hermans N, Apers S, Berghe DV, Vlietinck AJ. Proanthocyanidins in health care: current and new trends. *Currents of Medecine and Chemistry*. 2004.

D

-Dimitrov S, Hulteng E, Hong S. Inflammation and exercise: Inhibition of monocytic intracellular TNF production by acute exercise via β_2 -adrenergic activation. *Brain Behaviour and Immunology*. 2017.

E

-Ebrahim HY, Mady MS, Atya HB, Ali SA, Elsayed HE, Moharram FA. *Melaleuca rugulosa* (Link) Craven Tannins: Appraisal of anti-inflammatory, radical scavenging activities, and molecular modeling studies. *Journal of Ethnopharmacology* 2022 .

G

-Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A. M. Le préparateur en pharmacie. Ed. Médicales Internationales. Paris,2001.

-Gill HK, Wu GY. Non-alcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome: effects of weight loss and a review of popular diets. Are low carbohydrate diets the answer? *World Journal of Gastroenterology*2006..

-Gosling J.A. Anatomie humaine atlas en couleur. De Boeck Supérieur ; 2003.

-Guingard. Biochimie végétale. Lavoisier, Paris,1996 .

H

-Haq TA, Mason HS, Clements JD, Arntzen CJ. Oral immunization with a recombinant bacterial antigen produced in transgenic plants. *Science*. 1995 .

-Harborne JB. Recent advances in chemical ecology. *Natural. Product. Reports* .1989 .

J

-Jinyang W , Xiaoben L , Mengyuan M. Monte Carlo modeling of hepatic steatosis based on stereology and spatial distribution of fat droplets ; 2023.

-

K

-Kamina P. L'essentiel en anatomie .Paris : Maloine ; 2013.

-Kenji M et Shin – ichiro Y . Induction of uncoupling protein-1 , and -3 in brown adipose tissue by Kaki-tannon in type 2 diabetic NSY /Hos mice ; *Food and Chemical Toxicology* 50 (2012) .

-Kettner NM, Voicu H, Finegold MJ, Coarfa C, Sreekumar A, Putluri N, Katchy CA, Lee C, Moore DD, Fu L. Circadian Homeostasis of Liver Metabolism Suppresses Hepatocarcinogenesis. *Cancer Cells* 2016 .

-Krzaczkowski L, Wright M, Gairin JE. Les Bryophytes, source potentielle de médicaments de demain *Medical Sciences (Paris)* 2008 .

Kwok R, Choi KC, Wong GL, Zhang Y, Chan HL, Luk AO, Shu SS, Chan AW, Yeung MW, Chan JC, Kong AP, Wong VW. Screening diabetic patients for non-alcoholic fatty liver disease with controlled attenuation parameter and liver stiffness measurements: a prospective cohort study. *Gut.* 2016 .

L

-Lall RK, Syed DN, Adhami VM, Khan MI, Mukhtar H. Dietary polyphenols in prevention and treatment of prostate cancer. *International Journal of Molecular Sciences,* 2015 .

-Li H, Fang Q, Gao F, Fan J, Zhou J, Wang X, Zhang H, Pan X, Bao Y, Xiang K, Xu A, Jia W. Fibroblast growth factor 21 levels are increased in nonalcoholic fatty liver disease patients and are correlated with hepatic triglyceride. *Journal of Hepatology* 2010.

-Lienard D, Tran Dinh O, van Oort E, Van Overtvelt L, Bonneau C, Wambre E, Bardor M, Cosette P, Didier-Laurent A, de Borne FD, Delon R, van Ree R, Moingeon P, Faye L, -Gomord V. Suspension-cultured BY-2 tobacco cells produce and mature immunologically active house dust mite allergens. *Plant Biotechnology Journal* 2007.

-Liénard, D., Sourrouille, C., Gomord, V. and Faye Pharming and Transgenic Plants. *Biotechnology Annual Review,* 2007 .

M

-Morieri ML, Targher G, Lapolla A, D'Ambrosio M, Tadiotto F, Rigato M, Frison V, Paccagnella A, Simioni N, Avogaro A, Fadini GP. Changes in markers of hepatic steatosis and fibrosis in patients with type 2 diabetes during treatment with glucagon-like peptide-1 receptor agonists. A multicenter retrospective longitudinal study. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 2021.

-Mottin CC, Moretto M, Padoin AV, Swarowsky AM, Toneto MG, Glock L, Repetto G. The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients. *Obesity Surgery.* 2004 .

-Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, Fagà E, Silli B, Pagano G. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 2003.

-Muthuraman A, Sood S and Singla SK. The anti-inflammatory potential of phenolic compound from *Emblica officinalis* L. in rat. *Inflammopharmacology* 2011.

N

-Nobushi Y, Wada Taira, Koike Y, Kaneko H, Shimba S, Uchiyama, Kishikawa Y. Effects of hydrolysable tannins on the accumulation of lipids in 3T3-L1 cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2022.

O

-Oneta CM, Dufour JF. Non-alcoholic fatty liver disease: treatment options based on pathogenic considerations. *Swiss Medical Weekly*. 2002 .

P

-Palmentieri B, de Sio I, La Mura V, Masarone M, Vecchione R, Bruno S, Torella R, Persico M. The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. *Digestive Liver Disease*. 2006 .

-Palta S, Saroa R, Palta A. Overview of the coagulation system. *Indian Journal of Anaesthesia*. 2014.

-Patel S, Katyare S. DIFFERENTIAL pH SENSITIVITY OF TISSUE SUPEROXIDE DISMUTASES *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2006.

-Pisonero-Vaquero S, Gonzalez-Gallego J, Sanchez-Campos S, Victoria Garcia-Mediavilla M. Flavonoids and related compounds in non-alcoholic fatty liver disease therapy. *Current medicinal chemistry* ; 2015.

-Poekes L, Lanthier N, Leclercq IA. Brown adipose tissue: a potential target in the fight against obesity and the metabolic syndrome. *Clinical Science (Lond)*. 2015;129(11):933-49.

R

-Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol*. 2010 .

S

-Smith BW, Adams LA. Nonalcoholic fatty liver disease and diabetes mellitus: pathogenesis and treatment. *Nature Review of Endocrinology*. 2011.

-Sousa JN, Paraíso AF, Andrade JMO, Lelis DF, Santos EM, Lima JP, Monteiro-Junior RS, D'Angelo MFSV, de Paula AMB, Guimarães ALS, Santos SHS. Oral gallic acid improves liver steatosis and metabolism modulating hepatic lipogenic markers in obese mice. *Experimental Gerontology*. 2020 .

-Squillaro T, Cimini A, Peluso G, Giordano A, Melone MAB. Nano-delivery systems for encapsulation of dietary polyphenols: An experimental approach for neurodegenerative diseases and brain tumors. *Biochemistry Pharmacology*. 2018.

-Summers SA, Kao AW, Kohn AD, Backus GS, Roth RA, Pessin JE, Birnbaum MJ. The role of glycogen synthase kinase 3beta in insulin-stimulated glucose metabolism. *Journal of Biology and Chemistry*. 1999 .

-Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, Hobbs HH, Dobbins RL. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *American Journal Physiology, Endocrinology and Metabolism*. 2005 .

V

-Verma VK, Singh N. Anti-Ulcer and Antioxidant Activity of Moringa Oleifera (Lam) Leaves Against Aspirin and Ethanol Induced Gastric Ulcer in Rats. *Journal of pharmaceuticals*. 2012.

W

-Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *Journal of Clinical Investigations*. 2005 .

-Weydert, C.J., Cullen, J.J. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Natural Protocols*. 2010 .

-Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, Choi PC, Kowo M, Chan AW, Merrouche W, Sung JJ, de Lédinghen V. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010 .

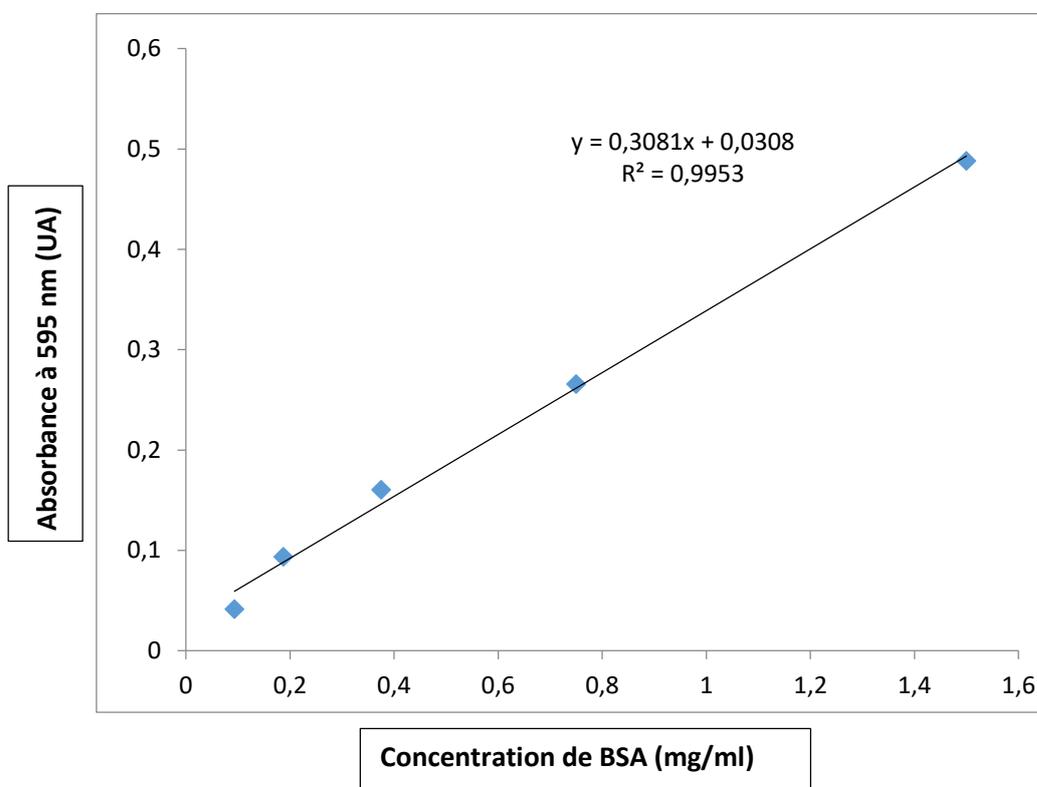
X

-Xiao Y, Zhang S, Tong H, Shi S. Comprehensive evaluation of the role of soy and isoflavone supplementation in humans and animals over the past two decades. *Phytotherapy Research*. 2018.

Y

-Younoussi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam, Bugianesi E. Global burden of NASH :trends ,predictions,risk factors and prevention. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*; 2018.

Annexe 01: Courbe d'étalonnage de Bradford réalisée par une gamme de concentration de l'albumine du sérum Bovin (BSA).



Résumé

Cette étude a été réalisée dans le but de tester l'impact de l'extrait de tannin sur le tissu hépatique issu d'un modèle de stéatose hépatique induite chez le rat Wistar Fisher *in vivo* induite par un régime enrichi en graisse et en sucre.

Les résultats d'activité enzymatique montrent une réduction significative pour le groupe régime enrichi en graisse et en sucre pour l'enzyme de la SOD hépatique ($9,21 \pm 1.61$ U/mg prot/min) et ainsi que pour la catalase hépatique (0.314 ± 0.175 U/mg prot/min). De façon très intéressante, une augmentation a été obtenue au niveau de l'activité SOD (13.13 ± 2.55 U/mg prot/min) pour le contrôle traité par les tanins et ainsi pour la catalase (0.3910 ± 0.14 U/mg/min), et une petite augmentation remarquée pour la SOD (11.78 ± 1.02 U/mg prot/min) et la catalase (0.39 ± 0.0147 U/mg/min) suite à l'interruption du régime enrichi.

Les résultats histopathologiques ont montré une diminution des vacuoles graisseuses hépatiques Jusqu'à la disparition complète de la NAFLD pour le contrôle traité par les tanins et leurs apparitions élevées dans le contrôle positive 1 (régime enrichi en graisse et en sucre).

Ces résultats indiquent que l'extrait de tanins et l'acide tannique possèdent un effet antioxydant, anti-inflammatoire dans le cas de la stéatose hépatique.

Les tanins sont des biomolécules très intéressantes comme candidats dans la thérapeutique de cette stéatose hépatique non alcoolique et mérite de plus profondes investigations.

Mots clés : Stéatose hépatique, Tanins, SOD, catalase, histopathologie.

Abstract :

This study was carried out to test the effect evaluation of the impact of tannin extract on liver tissue from a Wistar Fisher rat model of hepatic steatosis induced *in vivo* by a fat- and sugar-enriched diet.

Enzyme activity results showed a significant reduction in the fat- and sugar-enriched control for the SOD enzyme ($9,21 \pm 1.61$ U/mg prot) and for the catalase enzyme (0.314 ± 0.175 U/mg prot/min).

However, an increase in SOD enzyme activity (13.13 ± 2.55 U/mg prot/min) for the tanin-treated control and catalase (0.391 ± 0.147743 U/mg prot/min) and a small increase for SOD (Superoxide dismutase) (11.783 ± 1.026 U/mg prot/min) and catalase (0.391).

Histopathological investigation results showed a decrease in hepatic fat vacuoles until complete disappearance of NAFLD in the tanin-treated control and their elevated appearance in the positive control 1 (fat- and sugar-enriched diet) and a slight decrease in the appearance of hepatic vacuoles in the interrupted diet control group.

These results indicate that tannin and tannic acid extracts have an antioxidant and anti-inflammatory effects, and are therefore beneficial for hepatic steatosis. Tanins are very interesting and deserve further study in the pharmaceutical field thanks to their therapeutic effect.

Keywords: hepatic steatosis, tanins, SOD, catalase, histopathology

. ملخص

أجريت هذه الدراسة بهدف اختبار تقييم تأثير مستخلص التانين على أنسجة الكبد من نموذج التتسك الدهني الكبدي الممرض في فئران ويستار فيشر في الجسم الحي الناتج عن نظام غذائي غني بالدهون والسكر.

تظهر نتائج نشاط الإنزيم فقط انخفاضاً كبيراً في التحكم المخصب بالدهون والسكر لأنزيم SOD يساوي (9.21 ± 1.61 وحدة / مجم) وبالتالي لإنزيم الكاتالاز (0.314 ± 0.175).

ومع ذلك ، هناك زيادة في مستوى النشاط الأنزيمي لـ (13.13 ± 2.55 SOD وحدة / مجم) للتحكم المعالج بالعفص وبالتالي للكاتالاز (0.3910 ± 0.147 وحدة / مجم) ، وزيادة طفيفة ملحوظة لـ (11.78 ± 1.02 U / mg SOD) والكاتالاز (0.39 ± 0.0147 U / mg)

(mg) وتعطي نتائجنا النسيجية انخفاضاً في الفجوات الدهنية الكبدية حتى الاختفاء التام لـ NAFLD للسيطرة المعالجة بالعفص وظهورها العالي في التحكم الإيجابي 1 (النظام الغذائي المخصب في الدهون والسكر) وانخفاض طفيف في ظهور الفجوات الكبدية للتحكم في نظام غذائي متقطع.

تشير هذه النتائج إلى أن مستخلص العفص وحمض التانين له تأثير مضاد للاكسدة ومضاد للالتهابات ومضاد للسرطان ، وبالتالي فإن تأثيره مفيد على التتسك الدهني الكبدي والعفص مثير جداً للاهتمام ويستحق المزيد من الدراسة في المجال الصيدلاني بفضل تأثيرهما العلاجي

الكلمات المفتاحية: التتسك الدهني الكبدي ، العفص وحمض التانين ، في الجسم الحي ، الكاتالاز