

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



MEMOIRE DE FIN DE CYCLE
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER
Spécialité : Biochimie Fondamentale

Thème

**Evaluation de l'impact de l'extrait d'une plante
médicinale sur l'activité de la superoxyde
dismutase de quelques organes de rats**

Réalisé par :
SAHED Meriam et BEKKOUR Kenza

Soutenu le : 18/06/2023

Membre de jury :

Président :	M ^{me} DAHDOUH Eps	MCB
	AKSAS Amel	
Promotrice :	M ^{me} YOUS Farah	MCB
Examineur :	M. ZAIDI Hichem	MCB

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, je rends louanges à Allah le tout puissant de m'avoir donné le courage et la volonté de l'avoir accompli.

Je tiens à remercier ma promotrice Madame YOUS Farah pour ses chaleureux conseils, son soutien et son bon encadrement afin de réaliser ce travail.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury qui ont bien voulu accepter d'examiner mon travail :

Mme AKSAS Amel d'avoir accepté de présider le jury.

Mr ZAIDI Hicham d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Je remercie tout le personnel du laboratoire de Biochimie appliquée.

Nous remercions également Mme " Ourabah Asma", Mme "Ayouni Karima" de nous avoir accompagnés dans la réalisation du travail effectué au sein du laboratoire.

Et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.

Dédicace

Chaque jour qui passe je remercie Allah, et je le pris tout le temps de me donner la force de suivre le chemin qu'il m'a tracé afin de mener à bien le destin qu'il m'a prévu.

Je dédie ce travail :

À mes très chers parents que j'aime et qui m'ont soutenu tout au long de ma vie et de mes années d'études.

À mes sœurs : Lélia, Mbarka, Aichouche et son mari Massi, Djamila ainsi qu'à son époux Khelaf et à mon frère Amir

Ma nièce : Ayla et Mon neveu : Kylian.

*À mes Tantes : Cherifa, Rosa et son époux Yazid ses enfants Ania, Anis et Aris
Et Lynda et sa famille.*

Mes dédicaces ne seront pas complètes sans citer ma chère Binôme : Kenza et sa famille Bekkour.

À mes très chères cousines : Yasmine, Radia, Ryma, Thiziri, Iman, Ikrame et à mes très chers cousins : Kouceila, Lyes, Walid, Youba, Mourad et Abdelhak, Djamel, Hacem, Adel, avec qui j'ai partagé toute ma vie, je leurs adresse un grand merci, pour leur confiance et leurs qualités humaines, que dieu me les garde jusqu'à la fin de nos jours.

À mes très chères copines : Ouardia, Sandra, Lina, Dalia, Sarah, Lydia

A mon très cher ami : Yamine.

À mes chers camarades de l'association socio culturelle de mon village.

À mes amis de la promotion biochimie ; Fariel, Maria, Nadjat, Fariza et Céline.

Meriam

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À ma chère maman

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et ton affection tout au long de mon parcours de vie. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. Que dieu te donne la santé, le bonheur et une longue vie.

À mon cher père

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

À mes frères Aimad et Youcef et à ma sœur Rania qui ont toujours été à mes côtés, à m'encourager. Merci beaucoup mes trésors. Que Dieu vous garde toujours pour moi et vous protège.

À mes chers cousines Mina et Lila à leurs encouragements plus que précieux.

A toutes les personnes de ma grande famille pour leur soutien

À mon cher ami Mohand qui m'a toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

Sans oublié mon binôme Meriam pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension avec laquelle j'ai eu la chance de travailler.

Kenza

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste de tableaux

Liste des abréviations

Introduction..... 1

Synthèse bibliographique

1	Le foie :.....	4
1.1	Structure et emplacement :.....	4
1.2	Fonction du foie :.....	4
2	Le rein :.....	5
2.1	Structure et emplacement :.....	5
2.2	Fonction des reins :.....	5
3	Le cœur :.....	5
3.1	Structure et emplacement :.....	5
3.2	Fonction du cœur :.....	6
4	Stéatose hépatique non alcoolique :.....	6
4.1	Définition :.....	6
4.2	Incidence de la stéatose hépatique :.....	6
4.3	Prévalence de la stéatose hépatique :.....	6
5	Facteurs de risques de la stéatose hépatique :.....	7
5.1	Obésité :.....	7
5.2	Diabète de type deux :.....	7
5.3	Résistance à l'insuline :.....	8
5.4	Hypertension artérielle et les dyslipidémies :.....	8
6	Causes de la stéatose hépatique :.....	8
7	Mécanisme moléculaire de l'accumulation de lipides dans la stéatose hépatique non alcoolique :.....	9
8	Diagnostic de la stéatose hépatique :.....	10
9	Traitements et prise en charge clinique :.....	11
10	Radicaux libres :.....	11
11	Stress oxydatif :.....	12
11.1	Définition :.....	12
11.2	Antioxydants :.....	12
11.3	Superoxyde dismutase :.....	13

11.3.1	Définition:.....	13
11.3.2	Rôle et mécanisme d'action de la superoxyde dismutase :	14
12	Généralités sur <i>Juglans Regia</i> L. :	15
12.1	Origine et répartition géographique :.....	15
12.2	Description botanique :	15
12.3	Classification taxonomique de <i>Juglans regia</i> L. :	15
12.4	Composition biochimique :	16
12.5	Activités biologiques :.....	16
12.5.1	Activité antioxydants :	16
13	Utilisation du noyer (<i>Juglans regia</i> L.) en médecine :	17
1	Analyse chimique sur l'extrait d'écorces de racines <i>juglans regia</i> L.:.....	19
1.1	Dosage des polyphénols totaux :	19
1.2	Dosage des flavonoïdes :	19
1.3	Teneur en tanins hydrolysables :	19
1.4	Dosage de l'activité antioxydants par DPPH :	20
2	Expérimentation animale :.....	20
3	Procédure expérimentale animale :.....	21
3.1	Préparation des homogénats :.....	21
3.2	Estimation de l'activité de la Superoxyde dismutase :.....	22
3.3	Dosages des protéines :.....	22
3.4	Analyse statistiques :	22
1	Dosage des polyphénols totaux :.....	25
2	Dosage des flavonoïdes :	26
3	Test de piégeage des radicaux libres DPPH :	27
4	Teneur en tannins hydrolysables :.....	28
5	L'activité de la superoxyde dismutase :.....	29
5.1	Activité au niveau du foie :.....	29
5.2	Activité au niveau du rein et du cœur :.....	30

Conclusion et perspectives.....35

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
01	Anatomie du foie.	4
02	Perspectives mondiales sur la NAFLD.	7
03	Physiopathologie de la NAFLD.	9
04	La SOD parmi les autres piègeurs d'électrons.	12
05	Structures de Mn-SOD(A) et Cu/Zn-SOD (B).	13
06	Réactions et transformations de l'anion superoxyde.	14
07	Feuilles (A) et (b) Fruits de <i>Juglans regia</i> L..	15
08	Homogénéisation des organes.	21
09	Centrifugation des homogénats.	21
10	Mesure de l'absorbance de l'activité de la SOD.	22
11	Taux de l'activité de la SOD dans le foie.	30
12	Taux de l'activité de la SOD dans les reins et le cœur.	31

Liste des tableaux

Numéro	Tableau	Page
I	Les causes de la NAFLD.	8

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
AG	Acide Gras
ALAT	Alanine Amino Transférase
ASAT	Aspartate AminoTransférase
CAT	Catalase
CI	Concentration Inhibitrice
DPPH	α, α -DiPhényl- β -PicrylHydrazyl
EEJR	Extrait éthanolique de <i>juglans regia</i> L.
HDL	High Density Lipoproteins
IR	Résistance à l'insuline
IRM	Imageries par Résonance Magnétique
KDa	Kilo Daltons
LDL	Low Density Lipoproteins
NAFLD	Non-Alcoholic Fatty Liver Disease
NASH	Non-Alcoholic SteatoHepatitis
PBS	Tampon phosphate salin
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	Super Oxyde Dismutase
TG	Tri-Glycérides

Introduction

Introduction

Le foie est un organe essentiel du corps humain. Il assure de nombreuses fonctions nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme (**Bessagnet et al., 2021**). Il est exposé à diverses agressions métaboliques dues aux maladies et aux xénobiotiques, à savoir les médicaments résistants à l'insuline (IR), les toxines, les produits microbiens, etc. L'une des conséquences de ces agressions métaboliques est le développement de la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) (**Shetty et al., 2010**).

La NAFLD est devenue l'une des maladies les plus répandues, et l'une des pathologies les plus asymptomatiques dans le monde, expliquée par l'augmentation de la prévalence du diabète et de l'obésité. Ce phénomène correspond à un déséquilibre du métabolisme glucido-lipidique, résultant de l'accumulation des graisses dans les hépatocytes, sous forme de triglycérides (**Baulande, 2009**).

Cette accumulation des TG entraîne chez certains patients un stress oxydatif, ainsi qu'une stéatohépatite ou la NASH (NON-alcoholic steatohepatitis) qui représente la forme agressive de la NAFLD, caractérisé par une inflammation lobulaire et ballonnisation des hépatocytes favorisant ainsi l'évolution de la cirrhose et de ses complications (**George, 2023**).

Jusqu'à présent, il n'existe pas de traitement efficace pour les patients atteints de stéatose hépatique non alcoolique (**Charytoniuk et al., 2016**).

Le stress oxydatif est causé par un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la capacité de défenses des antioxydants de l'organisme. Pour se protéger du stress oxydant, l'organisme a développé un pool d'antioxydants, avec des enzymes (superoxyde-dismutase, catalase et glutathion-peroxydase), des vitamines (A, E et C) (**Bruno, 2020**).

Malgré les progrès et le développement de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde, qui sont utilisées depuis l'antiquité, afin de soulager et guérir divers pathologies humaines. L'Algérie fait partie de ces pays, qui considèrent la médecine des plantes comme une partie intégrante de la culture algérienne, reconnu par sa richesse florale (**Kouider et al., 2019**). Parmi ces plantes le noyer commun dit «*Juglans Regia L.*».

Juglans Regia L., y compris ses racines et ses feuilles ont été utilisés dans la médecine traditionnelle dans le but de traiter diverse maux, telle que les maladies infectieuses, les douleurs abdominales et rhumatismales.

Introduction

Notamment, un impact sur le traitement des lésions hépatiques (**Kim *et al.*, 2021**), dû à sa composition riche par de nombreux nutriments et composants bioactifs comme les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins (**Masek *et al.*, 2019**).

Les thérapies pharmacologiques, les changements de mode de vie et les modifications du régime alimentaire sont peu efficaces. Il convient donc d'envisager différentes approches telle que les plantes médicinales qui ont une importance dans la prévention de la NAFLD. Cependant *juglans regia* L. peut-être un remède contre cette maladie hépatique ?

Le présent travail vise à étudier l'effet hépatoprotecteur de l'extrait éthanolique de *juglans regia* L. contre une stéatose hépatique non alcoolique, induite par un régime riche en gras et en sucre chez les rats Wistar. Cette étude est basée sur la mesure de l'activité de la SOD de différents organes, la quantification des composants poly phénoliques totaux, des flavonoïdes, des tanins et l'estimation de l'IC50 de l'extrait de plante sur le radical DPPH.

Chapitre 01 : Synthèse bibliographique

1 Le foie :

1.1 Structure et emplacement :

Le foie représente la glande la plus volumineuse de tout l'organisme, pèse entre 1,6 et 2 kg chez un sujet adulte (Bessaguet *et al.*, 2021). Il est de couleur rouge brune, de consistance assez ferme, cependant il reste très friable (Klotz *et al.*, 2000).

Le foie est positionné à droite, sous le diaphragme, entouré et protégé par la fibreuse capsule de Glisson. 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 *et al.*, 2015).

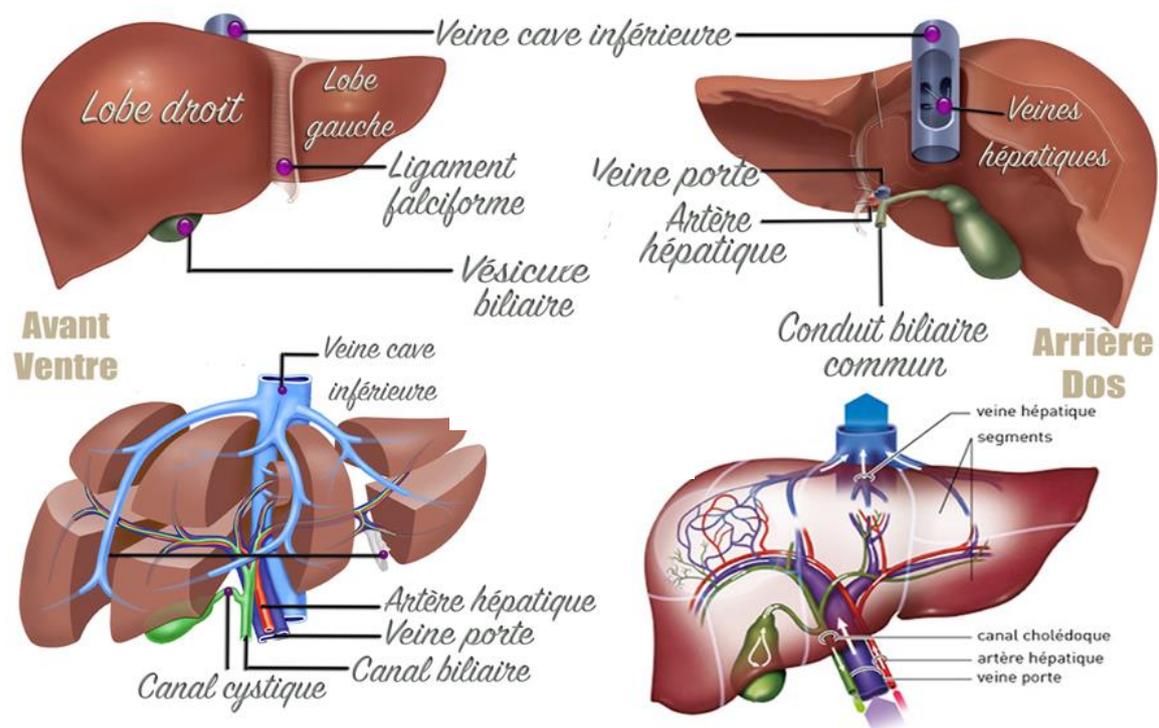


Figure 1. Anatomie du foie (Bessaguet *et al.*, 2021).

1.2 Fonction du foie :

Le foie remplit de nombreuses fonctions, il constitue une véritable petite usine de transformation chimique, qui préserve le corps en le purifiant et en protégeant le système immunitaire du risque de surcharges en toxines (Lukas, 2013).

Notamment le métabolisme, la sécrétion et l'excrétion de la bile (Barone, 1976), qui joue un rôle dans la digestion. Métabolisme des sucres et des graisses dans le système immunitaire humain.

Il converti les aliments en énergie, stocke les nutriments et produit des protéines sanguines, il s'agit également comme un filtre pour éliminer les agents pathogènes et produit les cellules sanguines (**Highleyman *et al.*, 2004 ; Bessaguet *et al.*, 2021**).

2 Les reins :

2.1 Structure et emplacement :

Les reins ont la forme d'un haricot rouge foncé, proche de la paroi arrière de l'abdomen, le rein droit est légèrement plus bas que le rein gauche (**Bessaguet *et al.*, 2020**).

Les reins sont situés dans la région lombaire, dans le rétro-péritoine. Ils comportent deux parties : le cortex et la médullaire. Le cortex est homogène et abrite les glomérules. La médullaire est formée de pyramides de Malpighi se terminant par la papille où l'urine terminale est excrétée dans le calice. Entre les pyramides se trouvent les colonnes de Bertin où les artères interlobaires pénètrent pour se ramifier et vasculariser le parenchyme rénal (**Gueutinet *et al.*, 2012**).

2.2 Fonction des reins :

Le rein est un organe clé de l'homéostasie. Il remplit cette fonction en modifiant la composition de l'urine au fil du temps pour maintenir le volume et la composition du liquide extracellulaire (**Bessaguet *et al.*, 2020**). Le rein assure différentes fonctions vitales pour l'organisme. Il épure l'organisme de ses déchets métaboliques endogènes (l'urée, l'acide urique, la créatinine) ou exogènes (médicaments, drogues, substances toxiques).

Il joue un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre homéostatique de l'eau et de multiples ions et solutés (sodium, potassium, calcium, phosphore), ce qui permet de contrôler le pH et la pression sanguine. De plus, le rein exerce également une certaine fonction endocrinienne (**Hélénon, 2008**).

3 Le cœur :

3.1 Structure et emplacement :

Le cœur est la pompe musculaire de l'organisme, valvulaire, sous la forme de cône, d'une taille d'un poing, il pèse d'environ 300g chez l'adulte (**Whitaker, 2018**). Constitué de deux chambres de collecte ; les oreillettes, et de deux chambres de pompes ; les ventricules.

Composé de cardiomyocyte et du tissu conjonctif et qui est protégé par le péricarde.

Le cœur se situe au milieu du médiastin de la deuxième à la sixième côte, localisé sur la face supérieure du diaphragme, projeté plus à gauche et en arrière du sternum (**Al Sakini, 2022**).

3.2 Fonction du cœur :

Le cœur joue un rôle crucial et central dans le système cardiovasculaire. Il permet la circulation du sang dans l'organisme, afin de distribuer aux cellules les nutriments et l'oxygène, et de réguler la pression artérielle (El Wilcken, 2018).

4 Stéatose hépatique non alcoolique :

4.1 Définition :

La NAFLD est une maladie métabolique qui se caractérise par l'accumulation des triacylglycérols à l'intérieur des cellules hépatiques (Adams *et al.*, 2006). Bien qu'elle soit considérée comme une forme relativement préliminaire de lésion hépatique chronique, elle peut conduire à la cirrhose du foie (Alkhoury *et al.*, 2009).

4.2 Incidence de la stéatose hépatique :

L'incidence de la NAFLD a rarement été évaluée. La plupart des études faisant état de l'incidence de la NAFLD ont été menées dans des pays asiatiques. Les taux d'incidence dans ces études variaient considérablement, avec des estimations allant de 19,9 à 87 pour 1000 personnes en Inde et au Japon (Suzuki *et al.*, 2005 ; Tsuneto *et al.*, 2010) et à 34 à 91 pour 1000 personnes en Chine (Zhou *et al.*, 2012 ; Wong *et al.*, 2015). L'incidence signalée en Asie est de 28,01 cas pour 1 000 personnes (Younossi *et al.*, 2016).

L'incidence élevée de la NAFLD dans les pays développés est associée à un large éventail de facteurs de risque, notamment la consommation de drogues, la nutrition parentérale, le pontage gastrique et les troubles métaboliques héréditaires tels que l'obésité, la dyslipidémie, et le diabète de type 2 (Tarantino *et al.*, 2007 ; Chitturi *et al.*, 2007).

4.3 Prévalence de la stéatose hépatique :

La NAFLD est la maladie hépatique chronique la plus courante, avec une prévalence mondiale de 25 %, 24 % en Amérique du Nord, 32 % en Amérique du Sud, 20 à 30 % en Europe, 15 à 40 % en Asie, 13,48 % en Afrique, 31,79 % au Moyen-Orient, 40 % en Australie et 13 % en Nouvelle-Zélande (Younossi *et al.*, 2019). En plus des variations observées entre les continents, la prévalence de la NAFLD varie en fonction du sexe et de l'âge. Les hommes ont un risque plus élevé de développer une NAFLD que les femmes (Lorando *et al.*, 2006 ; Vernon *et al.*, 2011).

Notamment, La prévalence de la NAFLD augmente avec l'âge, avec une probabilité inférieure à 1 % de développer une NAFLD chez les individus de moins de 20 ans, contre un risque de 8 % à 39 % chez ceux âgés de 40 à 60 ans (Tominaga *et al.*, 2009).

Dans ce contexte, la prévalence de la NAFLD serait la plus élevée dans les pays en développement du Moyen-Orient par rapport aux pays développés, en raison des changements des habitudes alimentaires et du mode de vie (Eshraghian *et al.*, 2017).

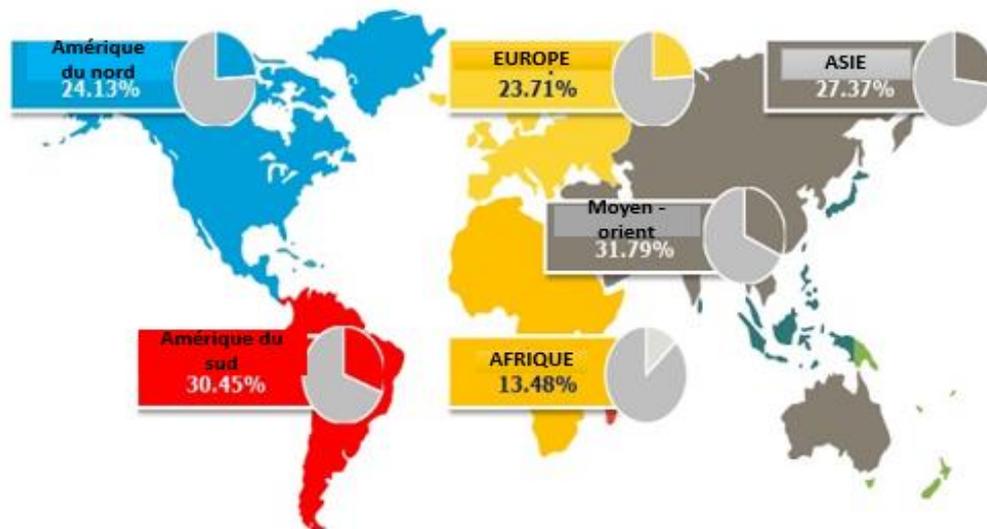


Figure 2. Perspectives mondiales sur la NAFLD (Younoussi *et al.*, 2019).

5 Facteurs de risques de la stéatose hépatique :

La résistance à l'insuline, l'obésité, la masse grasseuse viscérale, la dyslipidémie, le diabète et le syndrome métabolique sont des facteurs de risque bien connus associés à la NAFLD (Loomba *et al.*, 2013).

5.1 Obésité :

L'obésité est l'un des principaux facteurs de risque de nombreuses maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2 et les cancers associés causés par l'inflammation chronique et le stress oxydatif (Wellen *et al.*, 2005). La prévalence de la NAFLD augmente avec l'index de masse corporelle et le tour de taille. Les pathologies associées à l'obésité, comme le diabète de type 2, les syndromes métaboliques sont associés à une prévalence de NAFLD plus importante (Boursier, 2019).

5.2 Diabète de type deux :

Le diabète de type 2 et le pré-diabète sont associés à une prévalence accrue de la NAFLD.

De sorte que, ce type de diabète est fortement associé à la sévérité de la NAFLD, à la progression de la NASH, à la fibrose hépatique avancée et au développement du carcinome hépatocellulaire (**Kondapally *et al.*, 2011 ; Loomba *et al.*, 2012**). Néanmoins, la présence de NAFLD augmente le risque de développer un diabète de type 2 (**Armstrong *et al.*, 2014**).

5.3 Résistance à l'insuline :

La NAFLD se développe dans le cadre de troubles métaboliques et de résistance à l'insuline (**Gaggini *et al.*, 2013**). L'accumulation des critères du syndrome métabolique et le degré d'insulino-résistance sont associés à une augmentation de la prévalence de la NAFLD et de sa sévérité (NASH, fibrose) (**Speliotes *et al.*, 2010 ; Marchesini, 2003**).

5.4 Hypertension artérielle et les dyslipidémies :

La dyslipidémie et l'hypertension représentent des composantes majeures du syndrome métabolique et des facteurs de risque des maladies cardiovasculaires. En l'occurrence, la prévalence de la dyslipidémie chez les patients atteints de la NAFLD est estimée de 41 à 69 % et celle de l'hypertension est estimée à 39 %. Peu d'études ont évalué directement les mécanismes liant ces deux entités, cependant, la NAFLD et l'hypertension semblent également avoir un effet bidirectionnel, s'influencent et s'aggravent mutuellement (**Lonardo *et al.*, 2018 ; Oppedisano *et al.*, 2020**).

6 Causes de la stéatose hépatique :

Tableau I. Les causes de la NAFLD (**Pariente *et al.*, 2009**).

Causes métaboliques et nutritionnelles

Causes	
Principales	Obésité 70-75 %
	Diabète 40-50 %
	Hypertriglycéridémie 40-50 %
Autres	Dénutrition prolongée
	Alimentation parentérale
	Courts circuits digestifs
	Gastroplastie pour obésité morbide
	Réssection étendue du grêle
Causes non métaboliques	
Médicaments	Corticoïdes, Méthotrexate, sparaginase
	Tamoxifène, amiodarone, perhexiline, nifédipine
	Diltiazem, chloroquine, hycanthane

Agents toxiques	Huiles toxiques Diméthylformamide
Divers	Lipodystrophie des membres A-bêta lypoprotéïnémie Maladie de Weber Christian Diverticulose avec pullulation microbienne

7 Mécanisme moléculaire de l'accumulation de lipides dans la stéatose hépatique non alcoolique :

La stéatose hépatique correspond à l'accumulation hépatique de TG. La majorité des AG proviennent d'un relargage du tissu adipeux, de l'alimentation via les chylomicrons, et par la lipogenèse de novo (Salvoza *et al.*, 2022).

Le dysfonctionnement mitochondrial est une caractéristique importante de la NAFLD, dont la surcharge lipidique qui provoque une augmentation de l'altération de la bêta-oxydation.

Cette augmentation favorise l'accélération de la production des ROS qui majorent le stress oxydatif, entraînant des conséquences néfastes favorisant ainsi une stéatose hépatique. L'export des VLDL est aussi augmentée ce qui contribue à l'augmentation de TG (Quilliot *et al.*, 2011 ; Ipsen *et al.*, 2018).

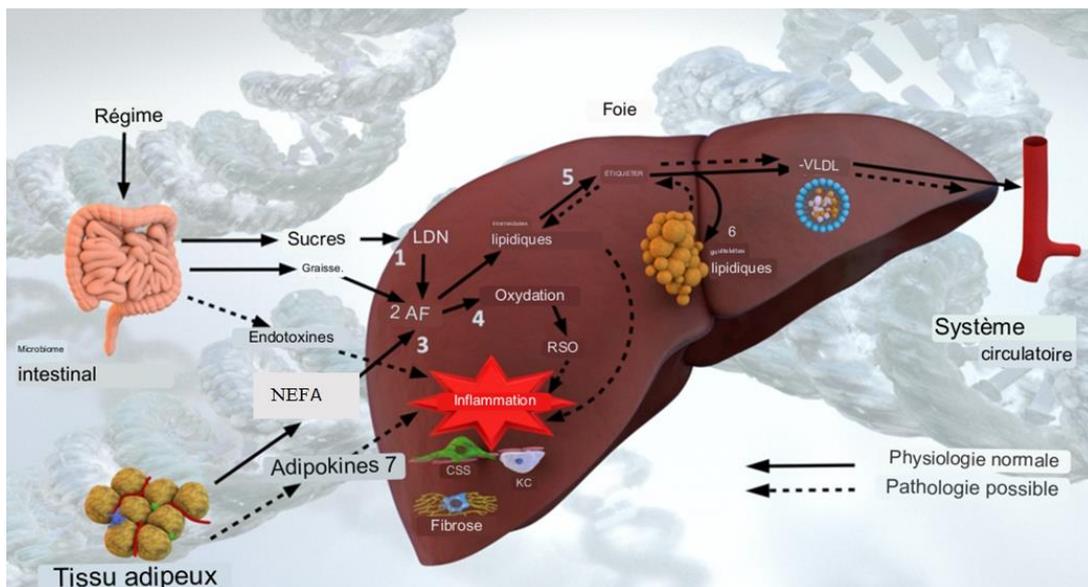


Figure 3. Physiopathologie de la NAFLD (Moore, 2019).

8 Diagnostic de la stéatose hépatique :

La NAFLD représente une crise silencieuse, dite asymptomatique, mais, dans certains cas les patients peuvent se plaindre d'une fatigue intense, d'hépatomégalie, d'acanthosis nigricans et de lipomatose. Il existe différentes approches pour diagnostiquer la NAFLD (**Pouwels *et al.*, 2022**) :

Échographie : Il s'agit d'un test non invasif qui permet d'identifier avec précision le stade de la stéatose hépatique. La taille du foie peut être mesurée et ce test peut être utilisé pour évaluer les stades d'amélioration ou de la cirrhose (**Ravisankar *et al.*, 2015**).

Tomodensitométrie (TDM) : Une approche non invasive, donne des mesures précises et détaillées des organes internes à l'aide des rayons X (**Ravisankar *et al.*, 2015**).

IRM : Une technique également non invasive, où les ondes radio sont utilisées dans un champ magnétique pour balayer la structure des organes internes (**Ravisankar *et al.*, 2015**). L'IRM peut quantifier la graisse du foie et fournir des images aux cliniciens (**Idilman *et al.*, 2016**). Elle est sensible à l'eau et aux triglycérides qui fournissent une image complète de la distribution des graisses autour du foie. Cependant, son utilisation est limitée par plusieurs facteurs, tels que la disponibilité et le coût (**Caussy *et al.*, 2018**).

Biopsie : est le seul test largement accepté pour distinguer la NASH des autres formes de maladie du foie. Il permet également de surveiller de près l'efficacité d'un traitement approprié (**Ravisankar *et al.*, 2015**). Cependant, il s'agit d'une approche invasive qui ne peut évidemment pas être utilisée à grande échelle (**Idilman *et al.*, 2016**). De plus, des niveaux anormaux d'enzymes hépatiques dans le sang explique une bonne compréhension de la véritable cause de la stéatose hépatique (**Ravisankar *et al.*, 2015**).

Elastographie transitoire unidimensionnelle mesurée par Fibroscan : Cette technique de détection utilise la vitesse des ondes de cisaillement pour évaluer la rigidité et l'élasticité des tissus (**Mikolasevic *et al.*, 2016**). Bien qu'elle soit moins sensible que l'IRM, son faible coût permet une utilisation plus fréquente comme méthode de diagnostic.

Scanner à fibre : Le diagnostic de la NAFLD à l'aide d'un scanner à fibres est très pratique pour le clinicien en raison de la rapidité de son exécution (<5-10 minutes). Les autres avantages de cette technique sont son caractère non invasif et son faible coût par rapport aux deux techniques précédemment décrites (**Konerman *et al.*, 2018**).

Valeurs d'analyses biochimiques d'un sujet sain :

- Cholestérol (125 - 200mg/dL),
- Triglycérides (40 - 150mg/dL),
- Cholestérol HDL (lipoprotéines de haute densité) (30 - 70mg/dL),
- Cholestérol LDL (lipoprotéines de faible densité) (80 - 130mg/dL),
- Cholestérol VLDL (lipoprotéines de très faible densité) (5 - 40mg/dL),
- Protéines totales (6,0 - 8,0gm/dL), Albumine - sérum (3,7- 4,50gm/dL)

(Ravisankar *et al.*, 2015).

Généralement, la NAFLD peut être révélée lors des tests anormaux de la fonction hépatique tels que les aminotransférases (ASAT/ ALAT) (Pouwels *et al.*, 2022).

9 Traitements et prise en charge clinique :

Il n'existe actuellement aucun traitement médicamenteux approuvé et exhibant une efficacité pour la NALFD (Konerman *et al.*, 2018). Les mesures hygiéno-diétiques peuvent montrer un effet, c'est-à-dire une alimentation saine et de réduire l'apport en aliment riche en gras et en sucre. Cette modification peut mener à une disparition de la NAFLD, ainsi à un ralentissement de l'évolution de la NASH de façon à ce qu'elle n'évolue pas vers une cirrhose. En l'occurrence, les recommandations actuelles se concentrent sur les traitements non médicamenteux, tels que la perte de poids ou la chirurgie bariatrique (Younossiet *et al.*, 2019). D'autres composants alimentaire peuvent être bénéfiques dans le traitement de la NALFD, comme les polyphénols de source végétale (Pouwels *et al.*, 2022).

10 Radicaux libres :

Les radicaux libres sont des composés chimiquement instables, car ils représentent un électron libre non appariés dans leur structure, qui réagit avec d'autres molécules (Harman, 1956).

Dans les années 50, Gerschman *et al.*, (1954) ont prouvé que l'oxygène était non seulement une molécule indispensable à la vie, mais également, une molécule qui expose l'organisme à une certaine toxicité. En effet, le corps humain s'expose à des mauvaises habitudes, dont l'alimentation non saine qui augmente d'une façon anormale la production des espèces réactives à l'oxygène. Un rôle important entre des dommages induits par les radicaux libres dans l'étiologie et les maladies humaines. Les radicaux libres formés au cours du processus d'oxydation sont connus pour être la cause de la détérioration oxydative, un impact négatif pour la santé et du vieillissement accéléré (Haleng *et al.*, 2007 ; Zhang *et al.*, 2009)..

11 Stress oxydatif :

11.1 Définition :

Le stress oxydatif est un déséquilibre favorisant les oxydants par rapport aux antioxydants au sein d'un organisme vivant (Sies, 1997), notamment le stress oxydatif se définit par l'incapacité de l'organisme de se défendre contre des espèces réactives à l'oxygène (Sies, 1991). On additionne à cela, une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink *et al.*, 2008).

L'accumulation des espèces réactives de l'oxygène peut provoquer une oxydation de biomolécules, telles que les protéines, glucides, les lipides et l'ADN, puis à la perturbation des voies de transduction du signal et au dysfonctionnement cellulaire qui va provoquer au final la mort cellulaire (Su *et al.*, 2023).

11.2 Antioxydants :

Le rôle des antioxydants est la suppression et la neutralisation des radicaux libres dans les tissus biologiques (Kirschvink *et al.*, 2008). Ils sont essentiels dans la santé humaine, la prévention et le traitement de certaines maladies, grâce à leur capacité à réduire le stress oxydatif (Munteanu *et al.*, 2021).

L'organisme dispose d'un vaste réseau d'antioxydants, on distingue ceux apportés par l'alimentation sous forme de polyphénols empêchant la propagation de la peroxydation lipidique issue du stress oxydant et ceux synthétisés par l'organisme, représenté par un système enzymatique dont la superoxyde dismutase, une métalloprotéine qui représente une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde (O_2^-) (Haleng *et al.*, 2007).

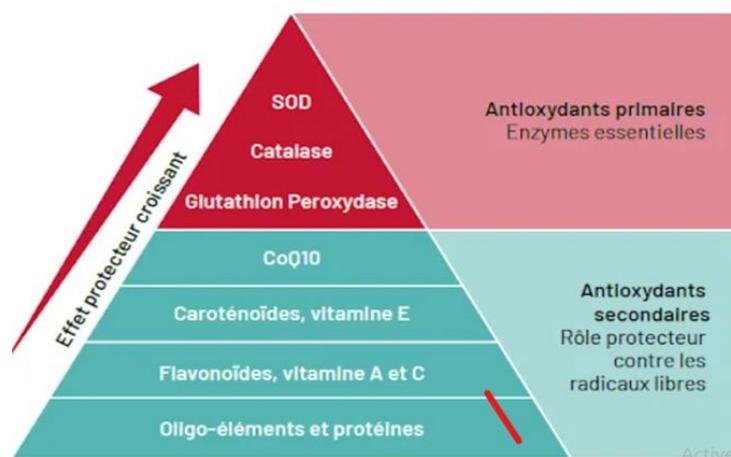


Figure 4. La SOD parmi les autres piègeurs d'électrons (Menvielle-Bourg, 2005).

11.3 Superoxyde dismutase :

11.3.1 Définition:

La superoxyde dismutase est une métallo-enzyme qui a été découverte par **Mc Cord** et **Fridovich**, (1939), et isolée à partir d'érythrocytes bovins. Elle existe dans la plupart des organismes, et se localise dans différents tissus, notamment les vaisseaux sanguins, les poumons, le cœur et les reins. Elle représente la première ligne de défense enzymatique contre les radicaux libres (**Wang et al., 2018**). Trois isoformes de cette enzyme ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire (**Ighodaro et al., 2018**) :

SOD1 : C'est une protéine oligomérique de 32KDa avec deux sous-unités identiques dite homodimère, portant chacune deux atomes métallique a son centre catalytique du Cu et Zn (Cu-Zn SOD) (**Baudin et al., 2020**).

SOD2 : Elle contient du manganèse en tant que cofacteur et se situe dans les mitochondries, sa localisation a un grand intérêt car la mitochondrie est un site majeur pour la production de ROS au cours du métabolisme cellulaire normal (**Crawford et al., 2012**). Elle existe sous la forme tétramère avec une sous unité individuelle de 23KDa (**Zelko et al., 2002**).

SOD3 : Une SOD extracellulaire qui possède du Cu et du Zn dans son site actif, étant une glycoprotéine tétramérique de 135KDa, dont plusieurs formes sont associées à l'héparine (**Baudin et al., 2020**).

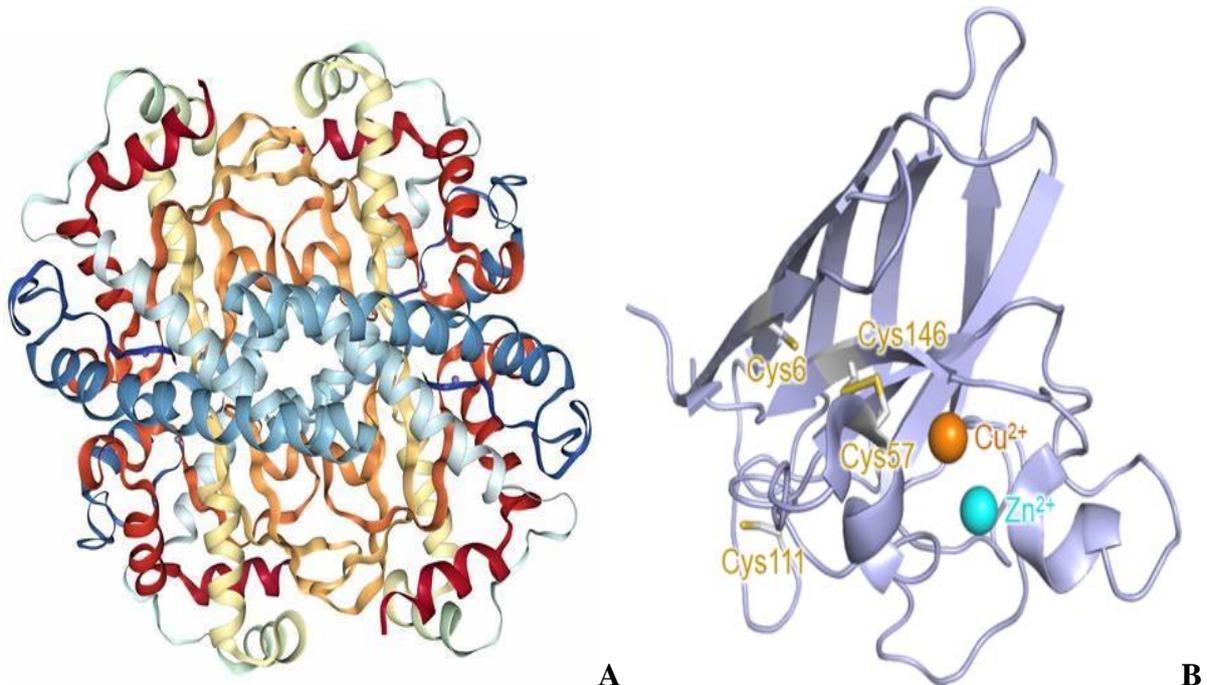


Figure 5. Structure de Mn-SOD (A) (Perry *et al.*, 2009), et Cu/Zn-SOD (B) (Yamazaki *et al.*, 2022).

11.3.2 Rôle et mécanisme d'action de la superoxyde dismutase :

La SOD est une enzyme de détoxification et le plus puissant antioxydant de la cellule (Ighodaro *et al.*, 2018). Son activité biologique primordiale est la dismutation de l'anion superoxyde O_2^- en oxygène O_2 et en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , en diminuant le niveau d' O_2^- qui endommage les cellules à une concentration excessive (Haleng *et al.*, 2007).

Lorsque la concentration en H_2O_2 est élevée, la catalase transforme le peroxyde d'hydrogène en oxygène (O_2) et en eau (H_2O) (Rosa *et al.*, 2021). En présence de fer (Fe^{2+}), l' O_2 et H_2O_2 peuvent interagir pour former le radical hydroxyle (OH^\cdot) par la réaction de Fenton Haber-Weiss.

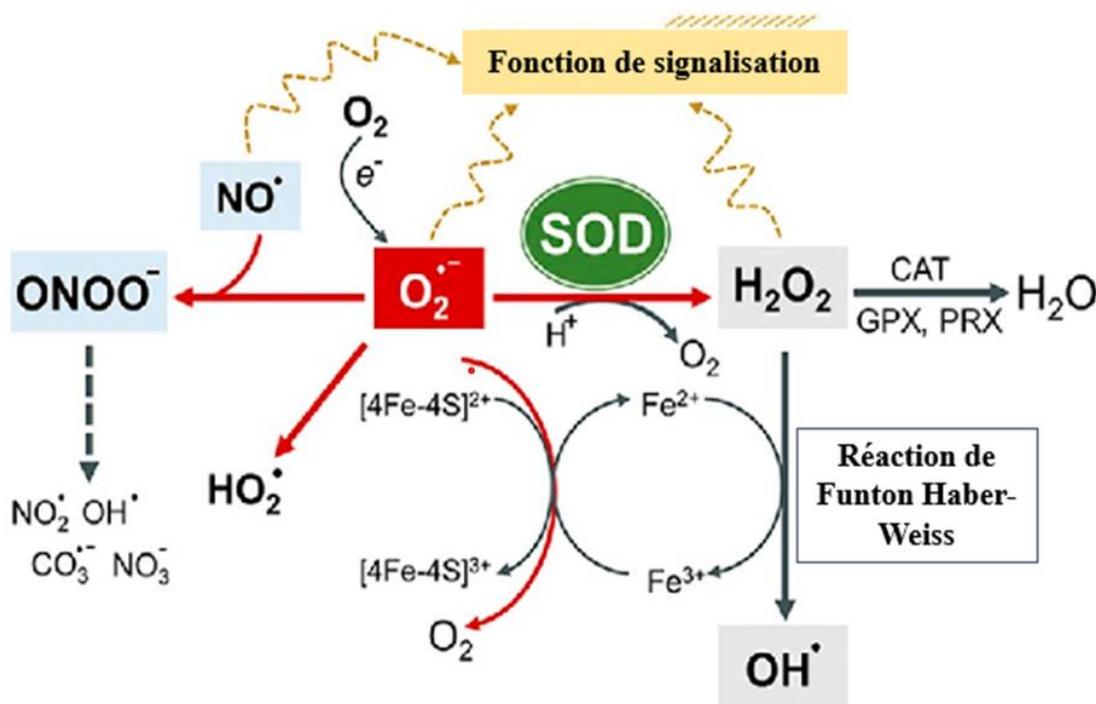


Figure 6. Réactions et transformations de l'anion superoxyde (Wang *et al.*, 2018).

Plus de son effet antioxydants, elle a un autre effet essentiel dans le domaine de la médecine, la cosmétique, l'industrie agroalimentaire. Peut jouer un rôle dans la prévention oncogénèse, dans le but de réduire les effets cytotoxiques des anticancéreux, ainsi d'autres maladies, tel que les maladies cardiovasculaires, diabète et l'asthme. La SOD est utilisé également dans l'élevage, elle empêcher l'oxydation de leurs produits, comme le lait, viande, œuf et d'améliorer la qualité de ces produit (Ma *et al.*, 2017).

12 Généralités sur *Juglans Regia* L. :

12.1 Origine et répartition géographique :

Les noix sont le plus vieilles aliment d'arbre connu de l'homme, datant de 7000 av J-C, les Romains appelaient noix *Juglans regia* L., "gland royal de Jupiter". Ainsi, la noix est souvent connue sous le nom de « Noyer de Perse » (Shahet *et al.*, 2014). Il est originaire d'Asie centrale, d'Anatolie, du nord de l'Iran et de l'Himalaya, et il a été introduit dans le monde entier, où il est utilisé par de nombreuses cultures à la fois comme aliment et comme traitement (Schwindl *et al.*, 2017).

Il est largement distribué dans le sud de l'Europe, Asie occidentale, Asie centrale, Cachemire, Tadjikistan, Kirghizistan, Chine, États-Unis, Turquie, Inde, Australie, Nouvelle-Zélande. La Chine est le plus grand et les États-Unis est le deuxième plus grand producteur de noix dans le monde (Gunjan *et al.*, 2020).

12.2 Description botanique :

Juglans regia L. est un grand arbre à feuilles caduques atteignant une hauteur de 25 à 35 m et un tronc allant jusqu'à 2 m diamètre, nécessite un apport en lumière pour son développement. L'écorce est de texture bien lisse, de couleur brun olive lorsqu'il est jeune et gris argenté lorsqu'il est plus âgé. Les feuilles présentes généralement une longueur de 25-40 cm. Les fleurs mâles sont réparties en chatons de longueur de 5 à 10 cm, et la femelle ses fleurs sont terminales, en grappes (Shah *et al.*, 2014). Les organes reproducteurs mâles et femelles existent sur le même plant donc pour la pollinisation quelques arbres poussent près, les uns des autres autre (Gunjan *et al.*, 2020). La fécondation se fait grâce au vent, donnant naissance à un fruit, ce fruit est caractérisé par une coque lignifiée enfermée dans une enveloppe appelée le brou (Manning *et al.*, 1978).

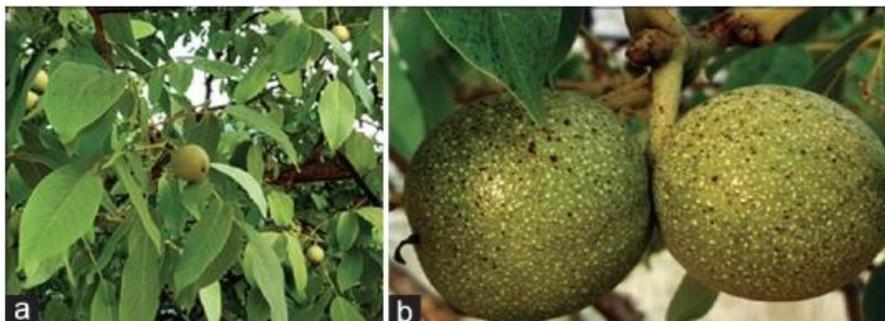


Figure 7. (a) Feuilles et (b) Fruits de *Juglans regia* L. (Delaviz *et al.*, 2017).

12.3 Classification taxonomique de *Juglans regia* L. :

- Règne : Plantae ;

- Division: Magnoliophyta ;
- Classe : Magnoliopsida ;
- Ordre : Fagales ;
- Famille : Juglandaceae ;
- Genre : Juglans ;
- Espèce : *Juglans regia* L. (Bremer *et al.*, 2009).

12.4 Composition biochimique :

Juglans regia L. est connu comme un nutriment riche, due à sa composition qui est riche en gras, en acides gras essentiels tels que l'acide alpha-linolénique et l'acide oléique, et contient différents composants nutritionnels (Kim *et al.*, 2021), des protéines et des vitamines (Al Wadaan *et al.*, 2011). Il englobe des métabolites primaires, tels que les glucides (le fructose, le glucose, le saccharose) (Santos *et al.*, 2013), des acides aminés, des éléments minéraux (cuivre, zinc, manganèse) (Kale *et al.*, 2010) et des acides organiques (acide malique, acide shikimique, acide citrique) (Santos *et al.*, 2013). Elle est souvent une grande source de flavonoïdes, stérols, pectique (Al Wadaan *et al.*, 2011), ainsi que divers types de constituants chimiques tels que des juglones, polyphénols, terpénoïdes, stéroïdes, acide ascorbique, acide gallique, sitostérol, et des acides gras oméga 3 (Gunjan *et al.*, 2020). Contient également de la quercétine (quercétine 3-galactoside, quercétine 3-arabinoside, quercétine 3-xyloside, la quercétine 3-rhamnoside) (Amaral *et al.*, 2004 ; Liu *et al.*, 2007), des tannins (Blumenthal, 2000), et des composés phénoliques qui sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique, la plus part sont des acides phénoliques dont l'acide parahydroxybenzoïque, vanillique, genistique, paracoumarique, gallique, acide chlorogénique (Luczak *et al.*, 1989 ; Blumenthal, 2000), acide chlorogénique et acide éllagique (Kim *et al.*, 2021).

12.5 Activités biologiques :

Juglans regia L. est utilisé comme anti-inflammatoire, diurétique, anticancéreux, laxatifs, antidiabétique, antiathérogène, antimutagène, antifongique, antioxydants, antiseptique, antibactérien, antiallergique et Anti-ulcère (Gunjan *et al.*, 2020).

12.5.1 Activité antioxydants :

Plusieurs composés phénoliques obtenus à partir de la plante comme les tannins, ont un rôle crucial pour la santé, notamment vis-à-vis des maladies liées aux stress oxydatif (Zhang *et al.*, 2009). Arcan et Yemenicioğlu, (2008) ont indiqué que les noix présentaient l'activité antioxydants la plus élevée, suivies des pistaches et des noisettes (Arcan *et al.*, 2008). Cette activité est révélée en utilisant le test DPPH comme cation radical. Un antioxydant aura la

capacité de céder l'hydrogène ou un électron singulet au radical synthétique DPPH° (Munteanu *et al.*, 2021).

13 Utilisation du noyer (*Juglans regia* L.) en médecine :

Différentes parties de cette plante, telles que l'écorce, le noyau, les fleurs, les feuilles, les enveloppes, les graines, l'huile ont leurs propriétés médicinales (Balasundram *et al.*, 2006) qui est principalement due à la présence de constituants phytochimiques tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les caroténoïdes (Girzu *et al.*, 1998).

Elle traite un éventail d'affections telles que les helminthiases, la diarrhée, la sinusite, les maux d'estomac, l'arthrite, l'asthme, l'eczéma, le scrofule, troubles cutanés et diverses maladies endocriniennes telles que le diabète sucré, l'anorexie, la thyroïde, cancers et les maladies infectieuses (Al-Wadaan *et al.*, 2011). Spécifiquement, les racines de noyer sont utilisées pour traiter le diabète, ses feuilles sont utilisées pour traiter les douleurs rhumatismales, la fièvre, le diabète, les maladies de peau, l'insuffisance veineuse et des hémorroïdes ; et ses fleurs sont utilisées pour traiter le paludisme et les douleurs rhumatismales (Delaviz *et al.*, 2017).

Chapitre 02 : Matériel et méthodes

1 Analyse chimique sur l'extrait d'écorces de racines *Juglans regia* L.:

1.1 Dosage des polyphénols totaux :

➤ Principe

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu, conçue par Singleton et Rossi, permettant de déduire la concentration totale des groupements hydroxyles présents sur les composés phénoliques (Singleton *et al.*, 1965).

➤ Mode opératoire

Le réactif est un mélange d'acide phospho-tungstique et d'acide phospho-molybdique entraînant une coloration bleue lorsque les composés phénoliques réagissent avec ce dernier, qui peut être déterminée par spectrophotométrie à 765nm (Boizot *et al.*, 2006).

Un volume de 0,5mL de Folin-Ciocalteu (dilué à 1/10^{ème} dans l'eau distillée) et un volume de 0,45 ml de carbonate de sodium (7,5%) ont été introduits dans des eppendorfs, un volume de l'extrait a été additionné à la mixture, après avoir été vortexée, elle a été conservée à l'obscurité pendant 30min. L'absorbance a été lue à 765nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme standard, à différentes concentrations.

1.2 Dosage des flavonoïdes :

➤ Principe :

La méthode de trichlorure de l'aluminium (AlCl₃), utilisé pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait a été décrite par (Djeridane *et al.*, 2006).

➤ Mode opératoire :

Un volume de 600µl de l'extrait (dissous dans le méthanol) a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl₃. L'absorbance a été lue à 430nm après 15 minutes d'incubation.

1.3 Teneur en tanins hydrolysables :

➤ Principe :

La méthode est basée sur la réaction avec le chlorure ferrique, La réaction de l'extrait de tanin avec le réactif chlorure ferrique donne une couleur bleu (Mole *et al.*, 1987).

➤ Mode opératoire :

Un volume de 500µl de l'extrait a été ajouté à un volume de FeCl₃ (1mM HCl).

L'absorbance a été lue à 660nm après une incubation de 5min à l'aide d'un spectromètre.

1.4 Dosage de l'activité antioxydants par DPPH :

➤ Principe :

L'activité anti-radicalaire a été évaluée par le test DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl) en utilisant la méthode décrite par **Molyneux, (2003)**.

➤ Mode opératoire :

Dans chaque eppendorf, pour un volume de l'extrait du noyer on ajoute 2mL de solution de DPPH. Après incubation, à température ambiante et à l'obscurité pendant 30min, la lecture des absorbances a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 517nm. Les résultats ont été exprimés en IC50.

2 Expérimentation animale :

L'élevage des animaux a déjà été réalisé en mois d'avril jusqu'au milieu du mois d'aout 2022 à l'animalerie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia, sur des rats de souches Wistar, afin d'étudier l'effet de l'extrait de *juglans regia L.* (EEJR) sur la NALFD.

Les rats ont été répartis en quatre lots expérimentaux constitués de six animaux chacun.

Groupe de rats témoins (T) : Groupe d'animaux recevant un régime standard.

Groupe de rats témoins positif (T+) : Groupe d'animaux recevant un régime riche en gras et en sucre rapides afin d'induire la maladie puis ils ont été remis sous un régime normal comme traitement et notamment traités durant la même période avec l'extrait de plante (EEJR).

Groupe de rats témoins négatif (T-) : Les rats de ce lot ont été nourris avec le même régime que le groupe T+ mais ils n'ont reçu aucun traitement après induction de la maladie et ils n'ont pas été remis sous le régime normal.

Groupe RR : les rats de ce lot ont été nourris avec le régime riche en gras et en sucres rapides, après induction de la maladie, ils ont été remis sous un régime normal mais n'ont reçu aucun traitement.

Après quatre mois et 10 jours de régime riche en gras et en sucre, un extrait EEJR a été administré pour les rats du groupe témoin positif (T+) par gavage pendant 21 jours.

Les animaux ont été sacrifiés après les avoir anesthésiés au chloroforme, les organes (foie, rein, cœur) ont été rapidement prélevés, rincé avec de l'eau physiologique, pesé puis conservées au frais dans le formol à 10 %.

3 Procédure expérimentale animale :

3.1 Préparation des homogénats :

Les organes (Foie, Rein et Cœur) ont été récupérés à partir de chaque lot et ont été conservés à -30°C . La manipulation a été réalisée au frais dans des bacs remplis de glace, à l'aide de mortiers qui ont préalablement été mis au frais. Des morceaux des organes ont été homogénéisés séparément après les avoir pesé avec un rapport de $1/10^{\text{ème}}$ dans le PBS d'homogénat. Puis, les homogénats ont été centrifugés à 6000rpm pendant 7minutes. Les surnageant ont été récupérés dans des eppendorfs et mis au congélateur.



Figure 8. Homogénéisation des organes prélevés.



Figure 9. Centrifugation des homogénats.

3.2 Estimation de l'activité de la Superoxyde dismutase :

➤ Principe :

La détermination de l'activité de la SOD est basée sur une compétition entre la réaction d'oxydation du pyrogallol par l'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$ et la dismutation de $O_2^{\cdot -}$ par la SOD la capacité de la SOD à inhiber l'auto-oxydation du pyrogallol selon (Marklund et Marklund, 1974).

➤ Mode opératoire :

Dans un tube un volume de tris/HCl (pH=8,2), un volume de 20ul de l'échantillon (foie, rein, cœur) ont été additionnés, enfin 100ul de pyrogallol (0,2mM) a été ajouté à ce mélange.

Les absorbances ont été enregistrés à une longueur d'onde de 420nm avec un intervalle de 20 sec pendant 3 min.

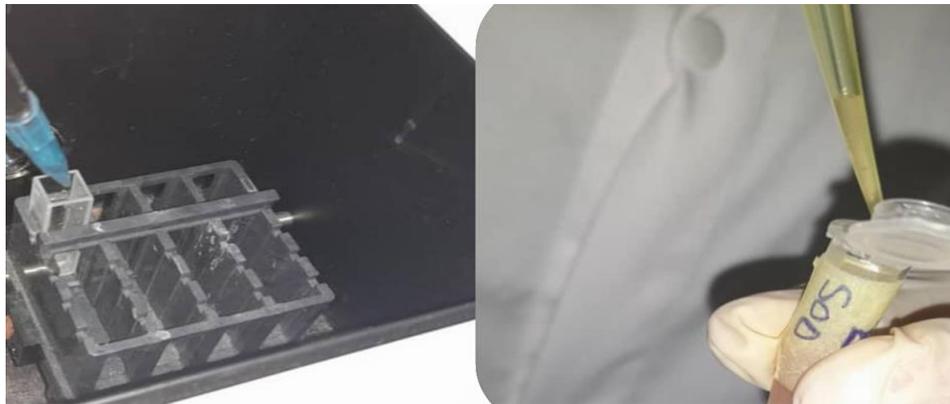


Figure 10. Mesure des absorbances de l'activité de la SOD.

3.3 Dosages des protéines :

➤ Principe :

La teneur en protéines a été déterminée selon la méthode de Bradford, basé sur le changement d'absorbance se manifestant par le changement de couleur de bleu de Coomassie après liaison avec les acides aminés basiques, et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la protéine (Marion, 1976).

➤ Mode opératoire :

Dans des tubes eppendorfs, un volume de 20ul d'échantillon a été ajouté à 980ul 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 BSA.

3.4 Analyse statistiques :

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm écart-type pour les mesures *in vitro*. Les tests *in vivo* ont été exprimés en moyenne \pm SEM. Les résultats ont été analysés en utilisant le logiciel

Matériel et méthodes

GraphPad Prism8,0,2. L'analyse de la variance (ANOVA). Les résultats ont été considérés comme étant significatifs à 0,05.

Chapitre 03 : Résultats et discussion

1 Dosage des polyphénols totaux :

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour le dosage des phénols totaux. La teneur en phénols totaux dans l'EEJR a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

En effet, la noix a fait l'objet de plusieurs études révélant sa richesse en composés phénoliques, lesquels sont considérés entre autre, comme des participants à la capacité antioxydants (**Liu et al., 2007**). Par conséquent, déterminer leur contenu est crucial pour étudier le potentiel des plantes dans la prévention des maladies causées par les EROS (**Tosun et al., 2009**).

La méthode d'extraction utilisée a permis d'obtenir un taux en phénols totaux, égale 560 ± 30 mg acide gallique équivalent/g d'extrait sec. Sachant que la stéatose hépatique est en partie provoquée par un stress oxydant lié à une inflammation, cela signifie que les acides phénoliques de *Juglans regia* L. pourraient potentiellement contribuer à l'effet anti-NAFLD de la présente étude.

Cintesune et al, (2023) a démontré que la teneur en polyphénols totaux de l'extrait de cerneaux de *Juglans regia* L. était de $102,02 \pm 5,06$ mg GAE/g. Une autre étude effectuée par **Ryszard et al, (2008)** a dévoilé une teneur en polyphénols qui équivaut 546 ± 14 mg/g dans l'extrait de noix noire de *Juglan nigra* L. équivalente au résultat obtenu dans la présente étude.

Cette différence de teneur totale en composés phénoliques entre les extraits pourrait être due au fait que le réactif de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols car plusieurs composés peuvent réagir avec ce réactif donnant un taux de phénolique élevé. Egalement, cela pourrait être lié au type de solvant utilisé et à la partie visée de la plante.

En effet, la teneur en composés phénoliques peut être déterminée par plusieurs facteurs. En l'occurrence, des études ont montré que les facteurs extrinsèques, tels que les facteurs géographiques et climatiques, les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur la variabilité de la composition et de la quantité en polyphénols (**Aganga et al., 2001**).

L'EEJR pourrait exhiber des propriétés protectrices contre les lésions hépatiques induites par le régime riche en gras et en sucre induite par la présence des polyphénols dans sa composition chimique.

2 Dosage des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont montré de bonnes activités de piégeage des radicaux libres contribuant à réduire le niveau d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules (Ming-Hui *et al.*, 2014). En l'occurrence, la détermination de leurs teneurs dans les extraits végétaux est essentielle pour étudier leur potentiel dans la prévention des pathologies induite par le stress oxydant.

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par la méthode spectrophotométrique au trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES). Dans la présente étude, la teneur totale des flavonoïdes de l'extrait éthanolique de l'écorce de *Juglans regia* L. est égale à $20 \pm 0,1$ mg équivalent quercétine/g d'extrait sec.

Ebrahimzadeh *et al.*, (2013) a démontré que le taux des flavonoïdes de l'extrait de fleurs de *juglans regia* L. était de $61,7 \pm 2,7$ mg d'équivalent quercétine/g d'extrait. Cette visible différence avec la teneur obtenue dans l'extrait étudié dans notre étude est le fait que les flavonoïdes sont présents en général dans la partie colorée des fruits et des fleurs.

On suppose un contenu plus élevé en flavonoïdes dans les fleurs et noyau comparativement à l'écorce de la plante. Par contre, l'étude établie par Cintesun *et al.*, (2023) a exprimé une teneur dans les noix de *Juglans regia* L. inférieure de l'extrait étudié dans la présente étude égale à $5,40 \pm 1,92$ mg QE/g.

Pour ainsi dire, que la partie ciblée de la plante et la méthode d'extraction a un impact primordial dans la composition de l'extrait en flavonoïdes. Cette différence de teneur en flavonoïdes peut être également dû au fait que les flavonoïdes sont des molécules très polaires, résultant de leur richesse en groupements hydroxyles, donc se solubilisent facilement dans les solvants polaires (Pietta, 2000 ; Bimakr *et al.*, 2011).

L'extrait de *Juglans regia* L. possède des propriétés protectrices contre les lésions hépatiques induites par le régime riche en gras qui sont dues à la présence de flavonoïdes (Gnanadesigan *et al.*, 2017). Les flavonoïdes ont des effets positifs sur diverses voies NAFLD, telles que la régulation du métabolisme des lipides, la résistance à l'insuline, l'inflammation et le stress oxydatif (Panli *et al.*, 2022). Cela signifie que les flavonoïdes de *Juglans regia* L. pourraient potentiellement contribuer à l'effet anti-NAFLD.

3 Test de piégeage des radicaux libres DPPH :

La méthode de piégeage des radicaux libres 2,2-diphényl-1 (DPPH) offre la première approche pour évaluer le potentiel antioxydant d'un extrait. Il s'agit d'une méthode rapide, simple, peu coûteuse et largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydants (**Kedare et al., 2011**).

Le test de neutralisation DPPH est basé sur le don d'électrons des antioxydants afin de neutraliser le radical DPPH. La réaction s'accompagne d'un changement de la couleur du mauve vers le jaune, et la décoloration agit comme un indicateur de l'activité antioxydants (**Manteanu et al., 2021**). À partir de cette méthode, la détermination de l'IC50 ce qui représente est la concentration nécessaire pour piéger 50% du radical libre (DPPH), ainsi, une faible valeur d'IC50 exprime une capacité antioxydants élevé et vice-versa (**Stahr et al., 2021**).

Les résultats obtenus pour le test DPPH est de l'ordre de 0,54 mg en comparant la concentration inhibitrice 50 % des radicaux libres DPPH d'une recherche ultérieure réalisée sur les écorces de la même plante et la même partie du *Juglans regia* L, trouvé par **Khadhri et al., (2022)** dans l'extrait méthanolique est de l'ordre $3,4 \pm 0,04$ mg/ml et de l'ordre de $1,27 \pm 0,03$ mg dans l'extrait d'infusion. Autres investigation réalisée sur les feuilles de la même plante *Juglans regia* L. par **Zhao et al, (2014)** ont démontré que l'IC50 de l'extrait éthanolique était de l'ordre 0,022 mg/ml une valeur inférieure et plus efficace à celle obtenue dans la présente étude.

L'étude de **Bhatia et al, (2006)** ayant utilisé l'extrait aqueux de l'écorce du *Juglans regia* L. ont démontré une inhibition de 50 % du DPPH équivalente à notre résultat avec une concentration de 0,58 mg. On en déduit que l'extrait utilisé dans notre étude possède une forte capacité de piégeage du radical libre DPPH, avec un IC50 inférieur à la plupart des études réalisées ultérieurement.

Cette différence pourrait être liée aux différentes méthodes d'extraction et au solvant utilisé pour la réalisation de l'extraction, notamment aux différentes parties visées de la plante et selon le temps consacré à l'extraction de la matière active la maturation de la plante et les conditions climatiques. En l'occurrence, l'effet antioxydants est dû à la présence des flavonoïdes car ils sont d'excellents donateurs d'hydrogène qui sont acceptés par les radicaux libres afin de donner des espèces radicalaires et non radicalaires beaucoup moins réactives (**Losada-Barreiro et al., 2017**).

En effet, des études sur la relation entre la structure chimique des composés phénoliques et leur pouvoir piègeur des radicaux libres ont montré que l'activité radicalaire est dépendante du degré de polymérisation et la polarité de l'antioxydants (**Popovici et al., 2009**).

Par conséquent, les antioxydants sont devenus un élément essentiel des soins de santé, agissant en empêchant ou en ralentissant la progression des dommages oxydatifs en minimisant l'oxydation des biomolécules lorsqu'elles sont présentes à de faibles concentrations par rapport à celles des substrats oxydables (**Zhang et al., 2009**).

4 Teneur en tannins hydrolysables :

Les tannins sont des substances naturelles polyphénoliques, comme leur nom l'indique, ils sont facilement hydrolysables. Ils se localisent dans divers organes, les plus fortes concentrations se rencontrent dans les fruits, les fleurs, les feuilles, et surtout une grande accumulation dans les écorces âgées (**Borreani et al., 2003**).

Dans la présente étude, la méthode de chlorure ferrique a été utilisée pour le dosage des tanins hydrolysables par la formation d'ions Fe^{+3} . La teneur en tannins hydrolysables marquée par l'extrait éthanolique des écorces de *Juglans regia* L. est de l'ordre de $210 \pm 4,3$ mg/g d'extrait d'acide tannique équivalent.

Khadri et al., (2022) a enregistré une teneur en tannins condensé de la même partie que notre plante de $1,2 \pm 0,01$ mg /g équivalent catéchine dans l'extrait méthanolique, et une teneur de $3,6 \pm 0,02$ mg CE/g MS dans l'extrait d'infusion. Des quantités inférieures à celles obtenues dans la présente étude.

Dans une autre étude établie par **Noumi et al, (2011)** qui a enregistré dans l'extrait éthyl acétate de l'écorce du *Juglans regia* L. une teneur de 16,167 mg/g d'extrait équivalent catéchine par la méthode de vanilline/HCl. Ce qui confirme l'efficacité de l'optimisation de l'extraction réalisée sur l'EEJR de notre étude.

Cette différence de teneur en tannin peut être due au fait que les tannins soient solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (**Farooq et al., 2023**). L'efficacité du solvant d'extraction, les conditions suivies pour l'extraction et la variabilité de la libération des tannins peuvent avoir conduit à une légère différence dans la teneur des tannins enregistrée dans notre étude par rapport aux études rapportées au-dessus.

5 L'activité de la superoxyde dismutase :

5.1 Activité au niveau du foie :

L'activité enzymatique de la 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 la capacité de la SOD à inhiber l'auto-oxydation du pyrogallol.

Dans la présente étude, l'activité hépato-protectrice de l'EEJR a été évaluée sur des rats atteints de la NFLD induite par un régime riche en gras et en sucre, par le dosage de l'activité de la SOD. L'activité de cette enzyme de chaque groupe a été déterminée par unités par mg de protéines (U/mg prot).

Les résultats obtenus montrent une variation de l'activité enzymatique de la SOD avant et après traitement avec de l'EEJR. Le groupe témoin qui a reçu un régime standard sans restriction a révélé une activité enzymatique de $13,817 \pm 2,82$ U/mg dans le foie. Ce taux a été pris comme une valeur de référence dans notre étude.

Le groupe malade qui a reçu un régime riche en gras et en sucre, a montré un taux d'activité enzymatique de la SOD réduit par rapport au groupe témoin, ce qui correspond à une valeur de $8,06 \pm 1,7$ U/mg. En l'occurrence, le régime en sucre et en gras a probablement provoqué un déséquilibre au niveau du système antioxydants enzymatique intracellulaire du foie atteint de la NALFD.

Le groupe nourriture a exhibé une amélioration du niveau de l'activité de la SOD avec un taux égale à $11,74 \pm 2,02$ U/mg prot. Ce taux est supérieur à celui enregistré chez le groupe malade. De plus, on observe que les groupes nourriture et témoin possèdent des taux de l'activité de la SOD avoisinants.

L'administration de l'EEJR a présenté une augmentation du taux de l'activité enzymatique de la SOD de $11,15 \pm 1,22$ U/mg prot, proche à celle du groupe témoin. Cela signifie une amélioration du potentiel antioxydant enzymatique, comparativement au groupe malade. Ces résultats montrent également un bon effet préventif marqué par l'EEJR (**Figure N°11**).

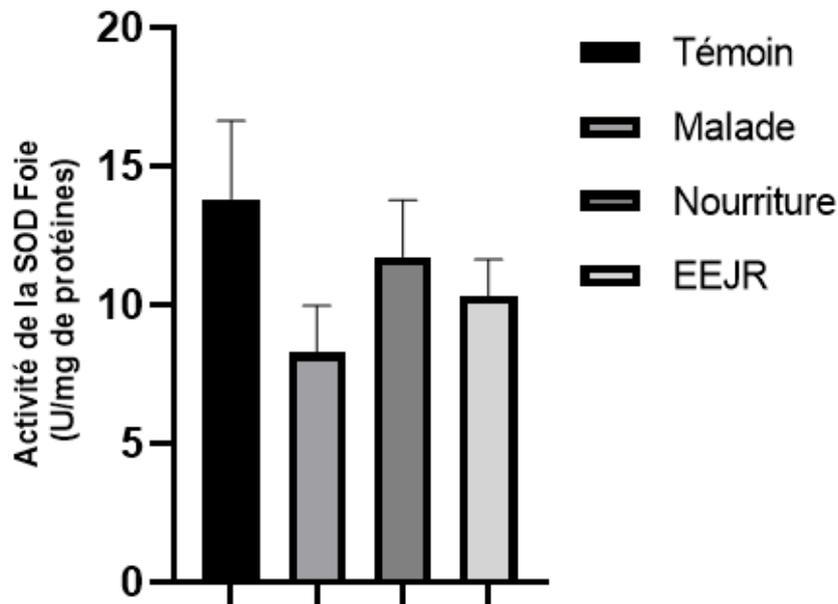


Figure 11. Taux de l'activité de la SOD dans le foie.

5.2 Activité au niveau du rein et du cœur :

Au niveau du rein, on constate une baisse de l'activité de la SOD du rein chez le groupe malade avec une activité égale à $2,72 \pm 0,56$ U/mg prot par rapport au groupe témoin, dans lequel une augmentation a été observée avec un taux égale à $3,64 \pm 0,92$ U/mg prot. L'activité de SOD chez le groupe nourriture avec un taux de $4,09 \pm 0,45$ U/mg prot qui est supérieur à celui du le groupe malade.

Quant au groupe traité par l'EEJR, il a révélé une activité de SOD élevé égale à $3,64 \pm 0,92$ U/mg prot par rapport au groupe témoin, et au groupe malade. On remarque également que le groupe témoin possède un taux d'activité de la SOD proche à celui du groupe nourriture.

On remarque que l'activité de la SOD du cœur est de $6,70 \pm 2,20$ U/mg prot chez le groupe témoin, supérieure à celle du groupe malade $2,36 \pm 2,20$ U/mg prot. On observe que l'activité de la SOD du groupe malade est également inférieur à celle du groupe nourriture avec un taux de $2,87 \pm 0,71$ U/mg prot.

Le groupe EEJR possède une activité du SOD de $3,38 \pm 0,68$ U/mg prot presque proche à celle enregistré chez le groupe témoin, et qui est élevé, en comparaison avec le groupe malade. D'après les résultats obtenus, on remarque que l'activité de la SOD est plus grande dans le groupe malade du foie par rapport aux groupes malades du rein et du cœur.

Résultats et discussion

De plus l'activité de la SOD chez les groupes témoin et nourriture de foie est plus grande par rapport à celles de cœur qui sont à leurs tour inférieurs à celles du rein.

Chez le groupe EEJR on a observé une activité plus élevée de la SOD dans le foie par rapport aux groupes malades du cœur et du rein dont les activités se rapprochent. Cette activité aurait pu augmenter si on avait augmenté la dose administrée aux animaux.

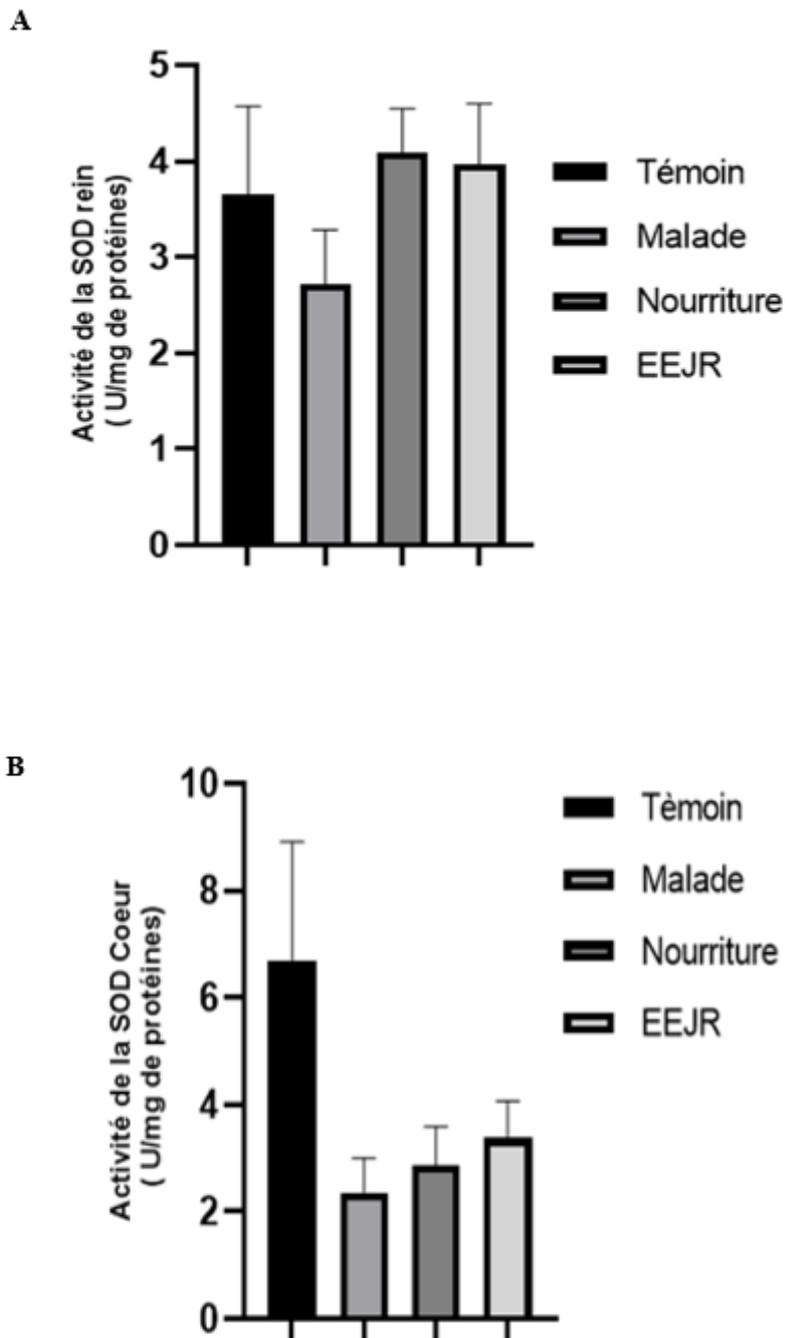


Figure 12. Taux de l'activité de la SOD dans les reins (A) et le cœur (B).

Une étude réalisée par **Wang et al, (2021)** a enregistré une activité de la SOD du foie, chez le groupe témoin égale à 165 U/mg prot et égale à 125 U/mg prot chez le groupe malade atteint d'une stéatose hépatique non alcoolique induite par une consommation élevée à long terme de graisse animale. Dans les groupes traités par l'extrait riche en polyphénols de la cosse verte de noix à différentes doses, les valeurs observées de l'activité de la SOD étaient égales à 148 U/mg prot et à 159 U/mg prot.

D'après l'étude réalisée par **Wang et al, (2020)**, le taux observé chez les souris témoins était équivalent à 99 U/mg prot et un taux de 80 U/mg prot chez le groupe malade atteint des lésions hépatiques induites par un régime riche en fructose. De plus, ceux qui ont été traités avec du polysaccharide de brou vert de noix à différentes doses (200, 400, 800 mg/kg) avaient des activités de SOD égales à 88 U/mg prot, 90 U/mg prot et 95 U/mg prot respectivement.

Les travaux de **Yang et al, (2021)** ont démontré que l'activité de la SOD du foie était de 145 U/mg prot chez le groupe témoin, et de 125 U/mg prot chez le groupe malade atteint de NAFLD induite par un régime riche en graisse.

Tandis que chez le groupe traité avec de l'extrait de polysaccharide de l'enveloppe verte de noix est de 162 U/mg prot. Les valeurs élevées de l'activité de la SOD dans ces groupes expérimentaux sont probablement liées à la quantité de l'échantillon injecté dans la solution réactionnelle. Néanmoins, le rapport entre les valeurs de l'activité de la SOD des différents groupes est presque similaire aux résultats obtenus dans la présente recherche.

En l'occurrence, les résultats obtenus dans notre étude sont en conformité avec ceux obtenus par **Wang et al, (2021)** ayant enregistré une augmentation de l'activité de la SOD chez le témoin et le traité avec l'extrait riche en polyphénols de la cosse verte de noix et sa diminution chez le groupe malade.

Cette augmentation a été aussi confirmée par **Wang et al, (2020)** où le taux de SOD chez les rats traités avec polysaccharide de brou de noix par rapport au groupe malade. Dans une autre étude menée par **Yang et al, (2021)**, l'augmentation dans les niveaux de SOD a été également observée chez les rats témoins et traité avec polysaccharide de l'enveloppe verte de noix par rapport aux rats malade.

Egalement, cette différence est peut-être influencée par la durée de période du traitement, à la partie utilisée de la plante, à dose journalière de l'extrait de plante administrée ou au protocole utilisé pour la détermination de l'activité de la SOD.

Une autre cause cruciale est liée à la durée et à la manière de conservation des organes des rongeurs. Le foie en tant qu'organe clé du métabolisme et de l'excrétion, est constamment doté de la fonction de détoxification, malencontreusement, différents facteurs peuvent induire divers troubles de cet organe et participent ainsi, à son dysfonctionnement (**Eidi et al., 2013**).

En l'occurrence, des niveaux accrus de radicaux libres peuvent créer une situation dite de stress oxydatif. Ces radicaux libres ce sont des espèces chimiques qui possèdent un électron célibataire sur sa couche périphérique, en la rendant instable.

Lorsque cet électron célibataire se situe sur des atomes d'oxygènes, ils deviennent des espèces réactives de l'oxygène (**Durand et al., 2013**). Pour contrer cette situation, l'organisme possède un certain nombre de défenses enzymatiques contre les radicaux libres.

Parmi elles la SOD qui fait partie de l'investigation poursuivie dans la présente étude.

En effet, 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 (O_2^-) en oxygène moléculaire et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui est converti ensuite en eau (H_2O) par la catalase (**Younus, 2018**). En l'occurrence, dans cette étude le régime riche en gras et en sucre a provoqué une NAFLD, et un stress oxydant, lequel a nettement diminués l'activité de la SOD en comparaison au groupe témoin.

Les enzymes antioxydants comme la SOD et la CAT sont facilement inactivées par les peroxydes lipidiques ou les espèces réactives de l'oxygène, ce qui entraîne une diminution de l'activité de ces enzymes (**Basu, 2003**).

La présente étude a montré que l'administration d'EEJR améliore l'activité de la SOD indiquant que l'action hépato-protectrice de cet extrait incluait la modulation des activités des enzymes antioxydants, ceci suggère que les polyphénols, les flavonoïdes et/ou les tannins hydrolysables contenus dans l'EEJR ont eu un pouvoir sur l'augmentation de l'activité de la SOD contenue dans les trois organes étudiés.

Sachant que les composés phénoliques, sont considérés bénéfiques pour la santé humaine, qui ont un potentiel antioxydants qui leur permettent 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**).

Résultats et discussion

La caféine et la vitamine E, qui agissent comme des antioxydants puissants qui pourrait aider à réduire le stress oxydatif et réduire l'inflammation du foie, qui ont aussi un effet hépato-protecteur en améliorant les enzymes hépatiques afin de traiter les différents troubles métaboliques.

La perte de poids qui est aussi modérée, qui s'accompagne d'une amélioration de la qualité du tissu hépatique, du taux de l'insuline et une amélioration significative de la biochimie du foie. En cas d'échec de ces mesures citées, une chirurgie bariatrique devrait être envisagée avant que le patient ne développe une cirrhose (Pouwels *et al.*, 2022).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels, malencontreusement, elles restent encore sous exploitées dans le domaine médical. Dans l'industrie pharmaceutique, les antioxydants semblent de manière significative contribuer à la prévention et le traitement des pathologies, de ce fait, le développement de nouveaux médicaments à base de ces molécules devrait être à l'ordre de jour.

Au cours de cette étude nous pouvons conclure que l'utilisation des molécules bioactives de *Juglans regia* L. dans le domaine pharmaceutique est d'un grand intérêt dans la le traitement de la NALFD.

En effet, dans la présente étude, l'EEJR a révélé des propriétés antioxydants prouvées par sa puissante action inhibitrice du DPPH. Ces propriétés certainement liées à sa richesse en acide phénolique, en flavonoïde et en tannins hydrolysables. En l'occurrence, l'intérêt porté aux molécules poly-phénoliques de cette plante nous a poussés à évaluer l'activité hépatoprotectrice de l'EEJR par le dosage de l'activité enzymatique de la SOD.

Dans le présent travail le dosage des métabolites secondaires présent dans l'extrait a montré un taux élevé des phénols totaux et des flavonoïdes ainsi qu'un fort pouvoir inhibiteur du radical DPPH qui confirme une puissante activité antioxydants. Egalement, on a pu observer une augmentation du taux de la SOD chez les rats traités par notre extrait.

En outre, on constate que le régime riche en gras et en sucre peut perturber l'équilibre du système de défense antioxydants, en induisant un stress oxydatif, entraînant ainsi une inhibition de l'activité de la SOD. Les flavonoïdes réduisent l'accumulation des triglycérides dans les cellules, la fragmentation de l'ADN et l'afflux des cytokines inflammatoires TNF- α et IL-8 et inhibent de la lipogénèse et améliorent le catabolisme des acides gras. Les polyphénols préviennent le stress oxydatif, favorisent la bêta-oxydation des acides gras et modulent la résistance à l'insuline ce qui pourrait moduler la lipogénèse de novo en agissent sur l'activité des enzymes lipogénique et en améliorant l'expression des protéines lipolytiques.

Par conséquent, l'évaluation de la propriété traitante de la NAFLD par l'action de l'EEJR a donné un effet bénéfique. D'après les résultats obtenus, nous pouvons déduire que l'EEJR est riche en substances biologiquement actives qui lui confèrent un grand intérêt d'ordre pharmacologique dans le traitement de la NAFLD.

Perspectives :

- Il serait intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques et biologiques de cette plante afin d'isoler les molécules responsables des activités observées. Les futures études devraient se concentrer sur les effets de l'EEJR sur les maladies alcooliques du foie, lesquelles ressemblent à certains égards à la NAFLD.
- Evaluer l'effet de l'EEJR sur d'autres activités enzymatiques à savoir, la catalase, le glutathion, et la glutathion peroxydase.

*Références
bibliographiques*

Adams LA., Angulo P. Treatment of non-Alcoholic fatty liver disease. *Postgraduate medicine*; 2006, 82: 315-322.

Aganga AA., Mosase KW. Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*; 2001, 91: 107-113.

Alkhouri N., Lopez R., Berk M., Feldstein AE. Serum retinol-binding protein 4 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of clinical gastroenterology*; 2009, 43: 985.

Al-sakini N. Anatomy of the heart. *Medicine*; 2022, 317-321.

Al-wadaan M., Abu Taha N. Utility and importance of walnut *Juglans regia* Linn: A review. *African journal of microbiology research*; 2011, 5796-5805.

Amaral JS., Seabra RM., Andrade PB., Valenato P., Pereira JA., Ferreres F. Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaves. *Food chemistry*; 2004, 88: 373-379.

Arcan I., Yemenicioğlu A. Activité antioxydante et contenu phénolique des noix fraîches et sèches avec ou sans le tégument. *Journal of food compositions and analysis*; 2009, 22: 184-188.

Armstrong MJ., Adams LA., Canbay A. Extrahepatic complications of non alcoholic fatty liver disease. *Hepatology*; 2014, 59: 1174-97.

Balasundram N., Sundram K., Samman S. Composés phénoliques dans les plantes et sous-produits agro-industriels : activité antioxydants, occurrence et utilisations potentielles. *Chimie alimentaire*; 2006, 99: 191-203.

Barone R. Anatomie comparée des mammifères domestique. Paris: Vigot. 2^{ème} édition; 1984: 879.

Basu S. Carbone tetrachloride-induced lipid peroxydation : eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology*; 2003, 189:113-27.

Baudin B. Oxidative stress and antioxidant protections. *Revue francophone des laboratoires*; 2020, 22-30.

Baulande S. Polymorphismes génétiques de l'adiponutrine et stéatose hépatique. *Medicine science*; 2009, 25: 130-132.

Bessaguet F., Desmoulière A. Le foie. *Actualités Pharmaceutiques*; 2021, 60(605): 59-61.

Bessaguet F., Desmoulière A. Les reins. *Actualités pharmaceutiques*; 2020, 59: 57-60.

Bhatia K., Rahman S., Ali M., Raisuddin S. *In vitro* antioxidant activity of *Juglans regia* L. bark extract and its protective effect on cyclophosphamide-induced urotoxicity in mice. *Redox report* ; 2006, 11: 273-9.

- Bimakr M., Abdul Rahman R., Saleena Taip F., Ganjloo A., Salleh L., Selamat J., Hamid A., Zaidul SM.** Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Menthaspicata* L.) leaves. *Food and Bioproducts Processing*; 2011, 89: 67-72.
- Blumenthal M.** Herbal medicine expanded commission E. Monographs. American Botanical Council. 1^{ère} édition; 2000: 519.
- Boizot N., Charpentier JP.** Methode rapide d'évaluation du contenu en composés phenoliques des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de l'institut national de recherche agronomique* ; 2006: 79-82.
- Borreani G., Peiretti PG., Tabacco E.** Evolution of yield and quality of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* scop.) in the spring growth cycle. *Agronomie*; 2003, 23: 193-201.
- Boursier J.** NASH. *POST'U*; 2019, 120: 1640-1645.
- Bradford MM.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* ; 1976, 72: 248-254.
- Bremer B., Bremer K., Chase MW., Fay MF., Reveal J.L., Soltis DE., Soltis PS., Stevens PF.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical journal of the linnean society*; 2009, 161: 105-121.
- Caussy C., Reeder SB., Sirlin CB., Loomba R.** Noninvasive, quantitative assessment of liver fat by MRI-PDFF as an end point in NASH trials. *Hepatology*; 2018, 68(2): 763-772.
- Charytoniuk T., Drygalski K., Konstantynowicz-Nowicka K., Berk K., Chabowski A.** Alternative treatment methods attenuate the development of NAFLD: A review of resveratrol molecular mechanisms and clinical trials. *Nutrition*; 2016, 108-117.
- Chitturi S., Abeygunasekera S., Farrell GC., Holmes-Walker J., Hui JM., Fung C., Karim R.** NASH and insulin resistance: insulin hyper secretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology*; 2002, 35:373-379.
- Cintesun S., Ozman Z., Kocyigit A., Mansuroglu B., Kocacaliskan I.** Effects of walnut (*Juglans regia* L.) kernel extract and juglone on dopamine levels and oxidative stress in rats. *Food bioscience*; 2023, 51: 2212-4292.
- Crawford A., Fassett RG., Geraghty DP., Kunde DA., Ball MJ., Robertson LK., Coombes JS.** Relationships between single nucleotide polymorphisms of antioxidants enzymes and disease. *Gene*; 2012, 89-103.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N.** Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry* ; 2006, 97: 654-660.

Durand D., Damon M., Gobert M. Oxidative stress in farm animals : General aspects. *Cahier de nutrition et de diététique*; 2013, 48: 218-224.

Ebrahimzadeh MA., Nabavi SF., S M Nabavi. Anti hemolytic activity and mineral contents of *Juglans regia* L. flowers. *European review for medical and pharmacological Sciences*; 2013, 17: 1881-1883.

Eidi A., Zarringhalam J., Mortazavi P., Rezazadeh S., Olamafar S. Hepato protective effect of *Juglans regia* extracts against CCL4-induced oxydative damage in rats. *Pharmaceutical biology*; 2013, 51: 558-565.

El Wilcken D. Physiology of the normal heart. *Surgery Oxford*; 2018, 48-51.

Eshraghian A. High prevalence of non alcoholic fatty liver disease in the middle east life style and dietary habits. *Hepatology*; 2017, 65.

Farooq A., Hussain Z., Bhat TA., Naseer B., Shafi F. Walnut fruit : Impact of ethylene assisted hulling on *in vitro* antioxidant activity, polyphenols, PUFAs, amino acids and sensory attributes. *Food chemistry*; 2023, 404: 134763.

Gaggini M., Morelli M., Buzzigoli E. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients*; 2013, 5: 1544-60.

George A., Cobbold J. Non- Alcoholic fatty liver disease. *Medicine*; 2023, 336-341.

Gerschman R., Gilbert DL., Nye SW. Oxygen poisoning and X – irradiation : a mechanism in common. *Science*; 1954, 119: 623-626.

Girzu M., Carnat A., Privat A M., Fialip J., Carnat AP., Lamaison JL. Sedative effect of walnut leaf extract and Juglone, an isolated constituent. *Pharmaceutical biology*; 1998, 280-286.

Gnanadesigan M., Ravikumar S., Anand M. Hepatoprotective activity of *Ceriops decandra* (Griff.) Ding Hou mangrove plant against CCl₄ induced liver damage. *Journal of Taibah university for science*; 2017, 11: 450-457.

Gueutin V., Deray G., Isnard-Bagnis C. Physiologie rénale. *Bulletin du cancer*; 2012, 99: 237-49.

Gupta A., Behl T., Panichayupakaranan P. A review of phytochemistry and pharmacology profile of *Juglans regia*. *Obesity medicine*; 2019, 16.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne JO., Charlier C., Chapelle JP. The oxydant stress. *Revue médicale de Liege*; 2007, 62: 628-638.

Harman D. A theory based on free radical and radiation chemistry. *The journal of gerontology*; 1956, 11: 298-300.

Hélénon O., Dekeyser E., Correas JM. Exploration par écho-Doppler de la vascularisation rénale et de l'appareil urinaire normaux et pathologiques. *Néphrologie and thérapeutique*; 2008, 4(5): 350-376.

- Highleyman L., Franciscus A.** Introduction au foie. *HCSP Publications version 1*; 2004, 145-148.
- Idilman IS., OzdenizI., Karcaaltincaba M.** Hepatic steatosis: Etiology, Patterns, and Quantification. *Semin ultrasound CT MR*; 2016, 37(6): 501-510.
- Ighodaro OM., Akinloye OA.** First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathion peroxidase (GPX) : Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*; 2018, 54: 287-293.
- Joanny Menvielle-Bourg F.** La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phétothérapie*; 2005, 3: 118-121.
- Kale A., Shah S., Gaikwad SA., Mundhe K., Deshpande N., Salvekar J.** Elements from stem bark of orchard tree – Juglans regia. *International journal of chem tech research*; 2010, 2: 548- 550.
- Kedare SB., Singh RP.** Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*; 2011, 48(4): 412-422.
- Khadhri A., Aouadhi C., Husein N., Masson E., Pizzi A.** Characterization of essential oil composition of Juglans regia bark comparison of secondary metabolites and biological activities of its extracts. *Open access research journal of biology and pharmacy*; 2022, 4: 60-68.
- Kim MY., Choi SW.** Can walnut serve as a magic bullet for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Applied sciences*; 2021, 11(1): 218.
- Kirschvink N., De Moffarts B.et Lekeux P.** The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The veterinary journal*; 2008, 177(2): 178-191.
- Klotz F., Nicolas X., Debonne JM., Garcia JF., Andreu JM.** Kystes hydatiques du foie. *Hépatologie*; 2000, 16.
- Kondapally RSS., Kaptoge STA.** Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *The new england journal of medicine*; 2011, 364:829-841.
- Konerman MA., Jones JC., Harrison SA.,** Pharmacotherapy for NASH: Current and emerging. *Journal of hepatology*; 2018, 68(2): 362-375.
- Kouider H., Mohammed B., Mohammed M., Abdelkader O., Abdelkarim R.** Importance des plantes médicinales pour la population rurale du parc nationale de djebel aissa (sud-ouest Algérie). *Lejeunia, revue de botanique*; 2019, 1-12.
- Lacour B., Belon JP.** Physiologie. *Elsevier Masson*; 2015, 416.
- Liu YM., Xu YP., Gao JM., Yang XP., Liu YS.** Analysis of volatile components from leaves of Juglans regia by GC/MS. *Acta botanica boreali-occidentalia sinica*; 2007, 24:1100-1102.

Lonardo A., Lombardini S., Scaglioni F., Carulli L., Ricchi M., Ganazzi D., Adinolfi LE., Ruggiero G., Carulli N., Loria P. Hepatic steatosis and insulin resistance: does etiology make a difference? *Journal of hepatology*; 2006, 44: 190-196.

Lonardo A., Nascimbeni F., Mantovani A., Targher G. Hypertension, diabetes, atherosclerosis and NASH: Cause or consequence? *Journal of hepatology*; 2018, 68(2): 335-52.

Loomba R., Abraham M., Unalp A. Association between diabetes, family history of diabetes, and risk of nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Hepatology*; 2012, 56: 943-51.

Loomba R., Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nature reviews gastroenterology and hepatology*; 2013, 10(11): 686.

Losada-Barreiro S., Bravo-Diaz C. Free radicals and polyphenols : The redox chemistry of neurodegenerative disease. *European journal of medicinal chemistry*; 2017, 379-402.

Luczak S., Swiatek L., Zadernowski R. Phenolic acids in leaves and pericarpium of walnut *Juglans regia* L. *Acta poloniae pharmaceutica*; 1989, 46: 494-499.

Ma X., Deng D., Chen W. Inhibitors and activators of SOD, GSH-Px and CAT. In: *Inhibiteurs et activateurs d'enzymes. Turquie : Murat Senturk*, 2017: 268.

Mahawar K., Ramnarain D. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): A review pathophysiology, clinical management and effects of weight loss. *Endocrine disorders*; 2022, 22: 63.

Manning WE. The classification within the juglandaceae. *Missouri botanical garden press*; 1978, 65: 1058-1087.

Marchesini G., Bugianesi E., Forlani G., et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*; 2003, 37: 917-23.

Marklund S., Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European. journal of biochemistry*; 1974, 47 : 469-474.

Masek A., Latos-Brozio M., Chrzescijanska E., Podsedek A. Polyphenolic profile and antioxidant activity of *Juglans regia* L. leaves and husk extracts. *Forests*; 2019, 10(11): 988.

Mikolasević I., Orlic L., Franjic N., Hauser G., Stimac D., Milic S. Transient elastography (FibroScan R) with controlled attenuation parameter in the assessment of liver steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease - Where do we stand? *World journal of gastroenterology*; 2016, 22(32): 7236-51.

Mole, S., Waterman P.G. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies II. *Techniques for biochemically defining tannins. Oecologia*; 1987, 72 : 148-156.

Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (Dpph) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin journal of science and technology*; 2003, 26: 211-21.

Moore BJ. From sugar to liver fat and public health: systems biology driven studies in understanding non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis. *Proceedings of the nutrition society*; 2019, 78: 290-304.

Munteanu IG., Apetrei C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences*; 2021, 22:3380.

Noumi E., Snoussi M., Trabelsi N., Hajlaoui H., Ksouri R., Valentin E., Bakhrouf A. Anti bacterial, anti candidal and antioxidant activities of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts. *Journal of medicinal plants research*; 2011, 5: 4138-4146.

Oppedisano F., Muscoli C., Musolino V., Carresi C., Macrì R., Giancotta C., Bosco F., Maiuolo J., Scarano F., Paone S., Nucera S., Zito MC., Scicchitano M., Ruga S., Ragusa M., Palma E., Tavernese A., Mollace R., Bombardelli E., Mollace V. The protective effect of *cynara cardunculus* extract in diet-induced NAFLD: Involvement of OCTN1 and OCTN2 Transporter Subfamily. *Nutrients*; 2020, 12: 1435.

Panli T., Li J., Xiang Q., Beihui H. Natural flavonoids: Potential therapeutic strategies for non-alcoholic fatty liver disease. *Frontiers in Pharmacology*; 2022, 13: 10.

Pariente A. Diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterologie clinique et biologie*; 2009, 33: 413-24.

Perry J., Shin DS., Getzoff ED. The structural biochemistry of the superoxide dismutase. *Biochimica et biophysica acta*; 2009, 1804: 245-62.

Pietta PG. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*; 2000, 63: 1035-1042.

Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. Evaluation de l'effet antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*; 2009, 4: 25-39.

Pouwels S., Sakran N., Graham Y., Leal A., Pintar T., Yang W., Kassir R., Singhal R., Mahawar K., Ramnarain D. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss. *BMC endocrine disorders*; 2022, 22: 63.

Quilliot D., Bohme P., Ziegler O. La stéato-hépatite non alcoolique. Influence de la nutrition, de la physiopathologie au traitement. *Post'U*; 2011, 35-46.

Ravisankar P., Pravallika D., Anjali G., Vidya VS., Anvith PS., P, anchumarthy Pragna. Fatty Liver Disease in-Depth Analysis. *Indo american journal of pharmaceutical research*; 2015, 5(11): 2231-6876.

Rosa AC., Corsi D., Cavi N.,Bruni N., Dosio F. Superoxide dismutase administration : a review of proposed human uses. *Molecules*; 2021, 26: 1844.

Ryszard A., Gary A D., Ronald B P. Antibacterial activity of tannin constituents from *Phaseolus vulgaris*, *Fagopyrum esculentum*, *Corylus avellana* and *Juglans nigra*. *Fitoterapia*; 2008, 79: 217-219.

Salvoza N., Giraudi PJ., Tribelli C., Rosso N. Natural compounds for counter acting nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): Advantages and limitations of the suggested candidates. *International journal of molecular sciences*; 2022, 23: 2764.

Santos A., Barrosa L., Calhelha RC., Dueñasb M., Carvalho AM., Santos Buelgab C., et Ferreira I., 2013. Leaves and decoction of *Juglans regia* L.: different performances regarding bioactive compounds and in vitro antioxidant and antitumor effects. *Industrial crops and products*; 2013, 51: 430-436.

Schwindl S., Kraus B., Heilmann J. Phytochemical study of *Juglans regia* L. leaves. *Phytochemistry*; 2017, 144: 58–70.

Shah TI., Sharma E., Ahmad G. *Juglans regia* Linn: A Phytopharmacological Review. *World journal of pharmaceutical sciences*; 2014, 2321-3086.

Shetty SN., Mengi S., Vaidya R., Vaidya ADB. A study of standardized extract of *Picrorhiza Kurroa* Royle ex Benth in experimental nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Ayurveda & Integrative Medicine*; 2010, 1: 203-210.

Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *American journal of medicine*; 1991, 91: 31S-38S.

Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental physiology*; 1997, 82 : 291-295.

Sigleton VI, Rossi Ja. Colorimetry Of Total Phenolicwithphosphomolybdic-Phosphotungstic acid reagents. *American journal of encology and viticulture*; 1965, 16:144-158.

Speliotes EK., Massaro JM., Hoffmann U. Fatty liver is associated with dyslipidemia and dysglycemia independent of visceral fat: the Framingham. *Heart study hepatology*; 2010, 51: 1979-87.

Stahr PL., Grewal R., Eckert GP., Keck CM. Investigating nanocrystals with tailor-made sizes for the prevention and treatment of alzheimer's disease. *Drug delivery and translational research*; 2021, 11: 659-674.

Su S., Ma Z., Wu H., Xu Z., Yi H. Oxidative stress in diabetic kidney disease. *Life sciences*; 2023, 322, 12661.

Suzuki A., Angulo P., Lymp J., Sauver SJ., Muto A., Okada T. Chronological development of elevated aminotransferases in a nonalcoholic population. *Hepatology*; 2005, 41(1): 64-71.

Tarantino G., Conca P., Basile V., Gentile A., Capone D., Polichetti G., Leo E. A prospective study of acute drug-induced liver injury in patients suffering from non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology research*; 2007, 37: 410-415.

Tominaga K., Fujimoto E., Suzuki K., Hayashi M., Ichikawa M., Inaba Y. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in children and relationship to metabolic syndrome, insulin resistance, and waist circumference. *Environmental health and preventive Medicine*; 2009, 14: 142-149.

Tosun M., Ercisli S., Sengul M., Ozer H., Polat T., Ozturk E. Antioxidant properties and total phenolic content of eight salvia species from Turkey. *Biological research*; 2009, 42: 175-18

Tsuneto A., Hida A., Sera N., Imaizumi M., Ichimaru S., Nakashima E. Fatty liver incidence and predictive variables. *Hypertension research*; 2010, 33(6): 638-43.

Vernon G., Baranova A., Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Alimentary pharmacology and therapeutics*; 2021, 34: 274-285.

Wang G., Han Q., Yan X., Feng L., Zhang Y., Zhang R., Zhang Y. Polyphenols-rich extracts from walnut green husk prevent non-alcoholic fatty liver disease, vascular endothelial dysfunction and colon tissue damage in rats induced by high-fat diet. *Journal of functional food*; 2021, 87: 104853.

Wang G., Zhang Y., Zhang R., Pan J., Qi D., Wang J., Yang X. The protective effects of walnut green husk polysaccharide on liver injury, vascular endothelial dysfunction and disorder of gut microbiota in high fructose-induced mice. *International journal of biological macromolecules*; 2020, 162: 92-106.

Wang Y., Branicky R., Noe A., Hekimi S. Superoxide dismutases : Dual roles in controlling ROS damage and regulating Ros signaling. *Journal of cell biology*; 2018, 217: 1915-1928.

Wellen KE., Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *Journal of clinical Investigation*; 2005, 115(5): 1111-1119.

Whitaker RH. Anatomy of the heart. *Medicine*; 2018, 423-426.

Wong VWS., Wong GLH., Yeung DKW., Lau TKT., Chan CKM., Chim AML. Incidence of nonalcoholic fatty liver disease in Hong Kong: a population study with paired proton-magnetic resonance spectroscopy. *Journal of hepatology*; 2015, 62(1):182-9.

Yamazaki K., Tahara S., Ohyama T., Kuroi K., Nakabayashi T. SOD1 gains pro-oxidants activity upon aberrant oligomerization: change in enzymatic activity by intramolecular disulfide bond cleavage. *Scientific reports*; 2022, 11750.

Yang X., Wang G., Wang J., Zhong D., Zhang R., Zhang Y., Feng L., Zhang Y. Walnut green husk prevent obesity, chronic inflammatory responses, non alcoholic fatty liver disease and colonic tissue damage in high-fat diet fed rats. *International journal of biological macromolecules*; 2021, 182: 879-898.

Younossi Z., Tacke F., Arrese M., Chander Sharma B., Mostafa I., Bugianesi E., Wai-Sun Wong V., Yilmaz Y., George J., Fan J., Vos MB. Global perspectives on nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*; 2019, 69: 2672-2682.

Younossi ZM., Koenig AB., Abdelatif D., Fazel Y., Henry L., Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*; 2016, 64(1): 73-84.

Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International journal of health sciences*; 2018, 12: 88-93.

Zelko IN., Mariani T., Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family : a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution and expression. *Free radical biology and medicine*; 2002, 33: 337-349.

Zhang Z., Liao L., Moore J., Wu T., Wang Z. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Jugans regia* L.). *Food Chemistry*; 2009, 113: 160-165.

Zhao M., Jiang ZT., Liu T., Li R. Flavonoids in *Juglans regia* L. leaves and evaluation of in vitro anti oxidant activity via intracellular and chemical methods. *The Scientific World Journal*; 2014, 2014: 6.

Zhou YJ., Li YY., Nie YQ., Huang CM., Cao CY. Natural course of nonalcoholic fatty liver disease in southern China: a prospective cohort study. *Journal of digestive diseases*; 2012, 13(3): 153-60.

ANNEXES :

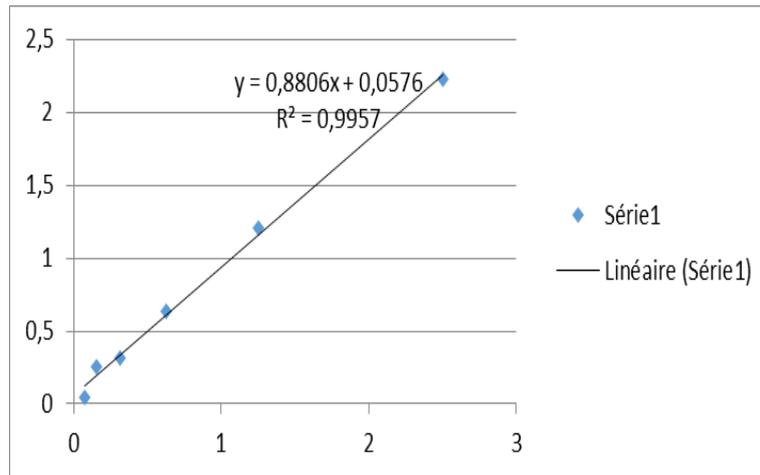


Figure N°13 : Droite étalonnage de l'acide gallique.

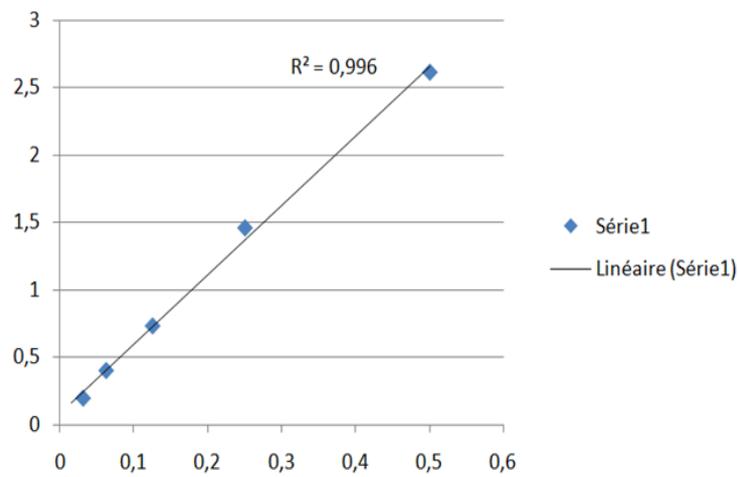


Figure N°14 : Droite d'étalonnage du dosage de la quercétine.

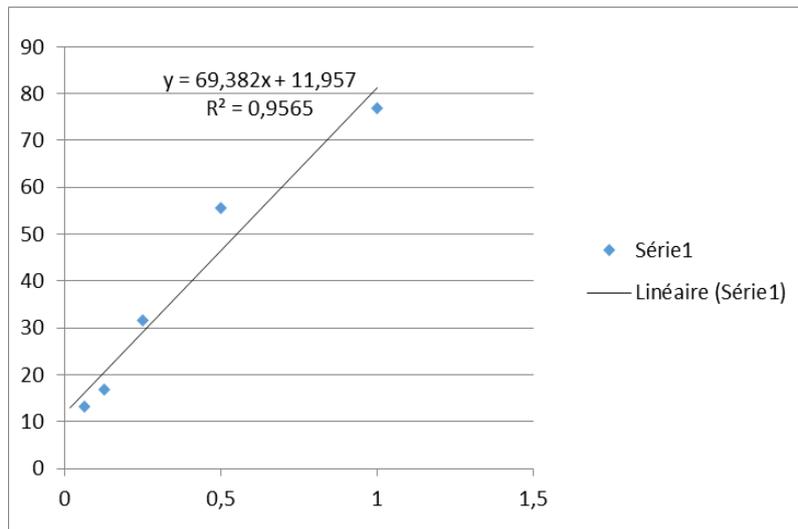


Figure N°15 : Droite étalonnage pour dosage des DPPH.

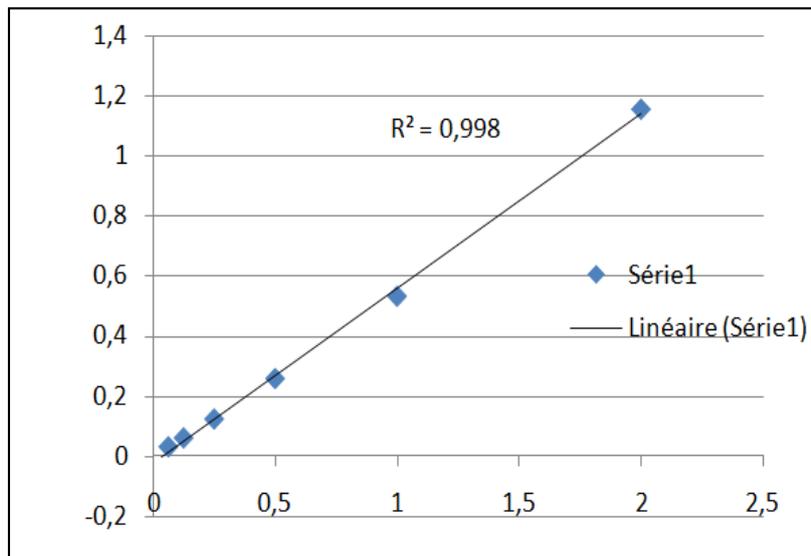


Figure N°16 : Droite d'étalonnage de dosage de l'acide tanique.

Résumé :

Juglans regia L. est une plante très utilisée pour le traitement de diverses pathologies en médecine traditionnelle. Le but de la présente étude est d'évaluer son effet traitant de l'extrait éthanolique sur un modèle animal souffrant d'une stéatose hépatique non alcoolique (NALFD), qui a été induite par un régime riche en gras et en sucre.

Le screening phytochimique de l'extrait a révélé la présence de quelques molécules bioactives, tel que les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les tannins hydrolysables. Une activité antioxydants a été enregistrée sur le radical libre DPPH. En ce qui concerne l'évaluation de l'activité de la SOD, les résultats obtenus indiquent une diminution de son activité chez le groupe malade dans les différents organes (Foie, rein, et cœur). Par contre l'EEJR a pu exercer un effet traitant de la NAFLD en augmentant le statut antioxydants hépatique.

Les résultats de cette étude suggèrent que l'extrait possède un potentiel thérapeutique pour le traitement de la NALFD, en l'occurrence induite par sa richesse en molécules bioactives.

Mots clés : *Juglans Regia* L., activité antioxydants, NAFLD, stress oxydatif, superoxyde dismutase.

Summary :

Juglans regia L. is a plant widely used for the treatment of various pathologies in traditional medicine. The aim of the present study is to evaluate its effect of ethanolic extract on an animal model with non-alcoholic fatty liver disease (NALFD), which was induced by a diet high in fat and sugar.

The phytochemical screening of the extract revealed the presence of some bioactive molecules, such as total polyphenols, flavonoids, hydrolyzable tannins. Antioxidant activity was recorded on the free radical DPPH. Regarding the evaluation of the activity of SOD, the results obtained indicate a decrease in its activity in the sick group in the different organs (liver, kidney, and heart). On the other hand, JREA may have exerted a treating effect on NAFLD by increasing liver antioxidant status.

The results of this study suggest that the extract has therapeutic potential for the treatment of NALFD, in this case induced by its richness in bioactive molecules.

Keywords : *Juglans Regia* L., antioxidant activity, NAFLD, oxidative stress, superoxide dismutase.