

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB Blida -1



Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Biochimie

Thème

Effets protecteurs de l'extrait aqueux de la grenade « *Punica granatum* » sur le profil lipidique et l'histologie de la thyroïde chez le rat wister mâle soumis à une diète hyperlipidique

Réalisé par :

- CHOUCHAOUI Noussaïba
- SAKER Amina

Soutenue publiquement le 10/07/2025 devant le jury d'évaluation composé de :

Nom	Grade/Lieu	Qualité
Mme DJOUAHRA. N	MCB /USDB1	Présidente
Mme ROUAKLF	MCA/USDB1	Examinatrice
Mme BIREM. Z	MCB/USDB1	Promotrice
Mme CHABANE.K	MCB/USTHB	Co-promotrice

Année universitaire : 2024/2025



Remerciements

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant, de nous avoir donné la force et les moyens afin de survivre et de pouvoir terminer ce travail.

On tient tout d'abord à exprimer toutes notre gratitude à l'ensemble des membres du jury.

Madame DJOUAHRAN, Maitre et présidente de jury.

Madame ROUKI, Maitre et examinatrice du mémoire.

Nous vous remercions très sincèrement d'avoir accepté pour évaluer notre travail, c'est un grand honneur pour nous.

Nous remercions très chaleureusement Madame BIREM Z pour son encadrement, son orientation, ses conseils et la disponibilité qu'elle nous a témoignée pour nous permettons de mener à bien ce travail.

Nous remercions madame CHABANE K, pour toute l'aide et le temps qu'elles nous ont consacré.

Nous adressons notre profond remerciement a madame AMARAN, docteur a l'USDB et Madame TARZALID, docteur vétérinaire et professeur à l'USDB, pour nous diriger notre travail.

Nous remercions vont également aux agents et aux employés de la station expérimentale d'USDB pour leur aide et aussi de monsieur Youcef ingénieur de laboratoire PFE et membres de laboratoire d'analyse médicales chiffa

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou

de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous, un grand Merci



Dédicace

Louange à Allah par Sa grâce les bonnes œuvres s'accomplissent, et grâce à Son aide les souhaits se réalisent.

À ceux qui ont été la lumière qui a illuminé mon chemin, le soutien qui a fortifié mon courage, à ceux dont les prières étaient mon secret dans les moments de faiblesse, et dont la satisfaction a guidé chacun de mes pas

À mon cher père,

Toi qui as semé en moi la force et m'as appris que les défis forgent les héros... Tu resteras ma fierté pour toute la vie.

À ma chère mère,

Source de tendresse et de prières, mon doux secret derrière chaque réussite, je te dois toute ma gratitude et tout mon amour, toi, ma patrie que mon cœur ne quittera jamais.

À mon grand-père et ma grand-mère,

Votre bénédiction, votre amour et votre présence dans ma vie sont un trésor inestimable. Cette réussite est aussi le fruit de votre présence dans ma vie.

À mes précieuses sœurs,

Maroua, Assia et Safaa

Compagnonnes de route, rires de ma vie, soutien de mes jours difficiles...

Vous avez toujours été la lumière de mes journées. Merci d'être là.

A toute ma famille Saker

À mes chères amies,

Abir, Ikram, Narimane et Wafa

Partenaires de chemin et de moments partagés, Celles qui m'ont tendu la main quand j'étais sur le point de tomber...

Merci pour vos rires, votre présence et chaque instant sincère vécu ensemble.

Ma chérie mon binôme Noussaiba pour son soutien, et toute sa famille.

A mes collègues de notre spécialités Biochimie.

🎓 À vous tous...

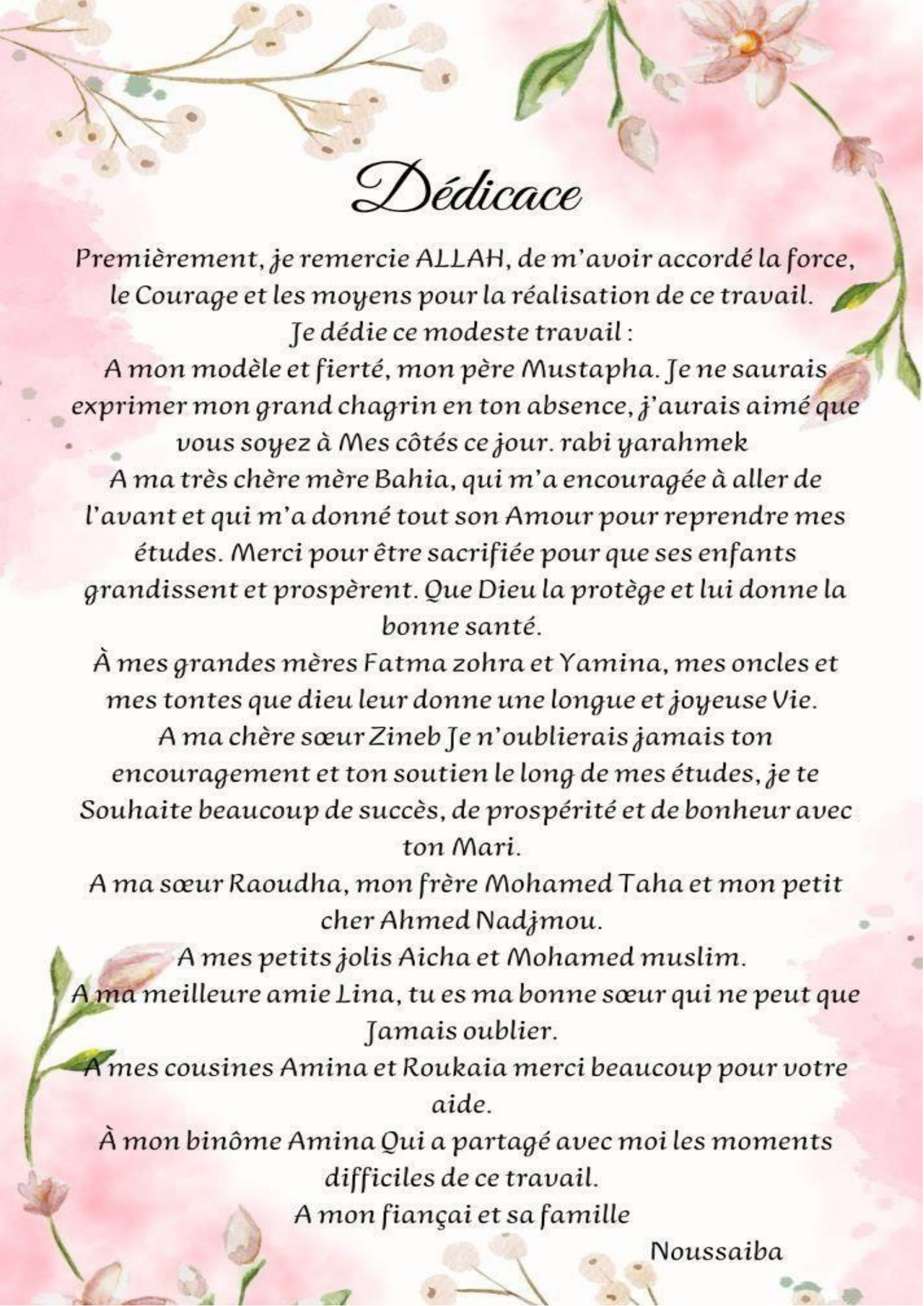
Je dédie cette graduation avec une reconnaissance qui ne peut s'écrire,

Et un amour qui ne s'éteindra jamais.

Vous êtes la plus belle histoire de ce succès.

Je demande à Allah que cet accomplissement soit le début d'un chemin de bien, de bénédictions, et une route vaste vers un avenir rempli de bonheur et de réussite.

Amina



Dédicace

Premièrement, je remercie ALLAH, de m'avoir accordé la force, le Courage et les moyens pour la réalisation de ce travail.

Je dédie ce modeste travail :

A mon modèle et fierté, mon père Mustapha. Je ne saurais exprimer mon grand chagrin en ton absence, j'aurais aimé que vous soyez à Mes côtés ce jour. rabi yarahmek

A ma très chère mère Bahia, qui m'a encouragée à aller de l'avant et qui m'a donné tout son Amour pour reprendre mes études. Merci pour être sacrifiée pour que ses enfants grandissent et prospèrent. Que Dieu la protège et lui donne la bonne santé.

À mes grandes mères Fatma zohra et Yamina, mes oncles et mes tontes que dieu leur donne une longue et joyeuse Vie.

A ma chère sœur Zineb Je n'oublierais jamais ton encouragement et ton soutien le long de mes études, je te Souhaite beaucoup de succès, de prospérité et de bonheur avec ton Mari.

A ma sœur Raoudha, mon frère Mohamed Taha et mon petit cher Ahmed Nadjmou.

A mes petits jolis Aicha et Mohamed muslim.

A ma meilleure amie Lina, tu es ma bonne sœur qui ne peut que Jamais oublier.

A mes cousines Amina et Roukaia merci beaucoup pour votre aide.

À mon binôme Amina Qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.

A mon fiançai et sa famille

Noussaiba

Résumé

L'excès de lipides alimentaires peut entraîner de graves perturbations métaboliques, notamment une dysrégulation hormonale affectant la glande thyroïde. Dans ce contexte, l'objectif principal de notre étude est d'évaluer les effets bénéfiques et protecteurs de l'extrait aqueux de l'écorce du fruit de grenade (*Punica granatum*) sur le profil lipidique et l'architecture structurelle de la glande thyroïde chez des rats Wistar mâles soumis à une diète hyperlipidique. L'étude vise également à quantifier les polyphénols et les flavonoïdes présents dans l'extrait utilisé.

L'expérimentation, réalisée à l'université Saad Dahleb – Blida 1 entre le 1er mars et le 22 juin 2025, a été menée sur 27 rats mâles répartis en trois groupes : un lot témoin (LT) recevant un régime standard, un lot expérimental (LE) soumis à une diète enrichie en huile de noix de coco pendant 10 semaines, et un lot traité (LG), recevant le même régime hyperlipidique pendant 8 semaines, suivi d'un traitement à l'extrait aqueux d'écorce de grenade pendant 2 semaines.

Les analyses phytochimiques ont confirmé la richesse de l'extrait en polyphénols totaux. Les résultats montrent que la diète hyperlipidique a entraîné une prise de poids marquée, une altération histologique de la glande thyroïde (désorganisation folliculaire, vacuolisation cytoplasmique, congestion vasculaire), et une perturbation modérée du profil lipidique. Le traitement par l'extrait de grenade a partiellement restauré l'architecture thyroïdienne, réduit la congestion et amélioré l'aspect des follicules.

Ces résultats confirment le rôle protecteur potentiel de la grenade contre les atteintes métaboliques et histologiques induites par un régime riche en graisses.

Mots clés : *Punica granatum*, Huile de noix de coco, Glande thyroïde, Rat Wistar.

Abstract

Excess dietary lipids can lead to significant metabolic disturbances, including hormonal dysregulation affecting the thyroid gland. In this context, the main objective of our study was to evaluate the beneficial and protective effects of the aqueous extract of *Punica granatum* peel on the lipid profile and structural architecture of the thyroid gland in male Wistar rats fed a high-fat diet. The study also aimed to quantify the polyphenol and flavonoid content of the pomegranate peel extract.

The experiment was conducted at Saad Dahleb University – Blida 1, from March 1st to June 22nd, 2025. A total of 27 healthy male rats were divided into three groups: a control group (LT) fed a standard diet, an experimental group (LE) subjected to a coconut oil-enriched high-fat diet for 10 weeks, and a treated group (LG) receiving the same high-fat diet for 8 weeks followed by a 2-week treatment with the aqueous extract of pomegranate peel.

Phytochemical analysis confirmed the richness of the extract in total polyphenols. The results showed that the high-fat diet induced significant weight gain, histological alterations of the thyroid gland (follicular disorganization, cytoplasmic vacuolization, vascular congestion), and moderate disturbances in the lipid profile. Treatment with pomegranate extract partially restored the thyroid architecture, reduced congestion, and improved follicular morphology.

These findings support the potential protective role of *Punica granatum* against metabolic and histological damage induced by a lipid-rich diet.

Keywords: *Punica granatum*, Coconut oil, Thyroid gland, Wistar rat.

الملخص

يمكن أن يؤدي الإفراط في استهلاك الدهون الغذائية إلى اضطرابات أيضية كبيرة، بما في ذلك خلل في التنظيم الهرموني يؤثر على الغدة الدرقية. في هذا السياق، كان الهدف الرئيسي من دراستنا هو تقييم التأثيرات المفيدة والوقائية للمستخلص المائي لقشرة فاكهة الرمان (*Punica granatum*) على البروفيل الدهني والبنية النسيجية للغدة الدرقية لدى ذكور الجرذان من نوع ويستار الخاضعين لنظام غذائي عالي الدهون. كما هدفت الدراسة إلى تحديد محتوى البوليفينولات والفلافونويدات في مستخلص قشرة الرمان. تم إجراء التجربة في جامعة سعد دحلب – البليدة 1، خلال الفترة من 1 مارس إلى 22 يونيو 2025. وشارك فيها 27 جرذاً ذكراً سليماً تم تقسيمهم إلى ثلاث مجموعات: مجموعة شاهدة (LT) تلقت نظاماً غذائياً عادياً، مجموعة تجريبية (LE) خضعت لنظام غذائي عالي الدهون مخصب بزيت جوز الهند لمدة 10 أسابيع، ومجموعة معالجة (LG) تلقت نفس النظام الغذائي عالي الدهون لمدة 8 أسابيع، تلاها علاج لمدة أسبوعين بمستخلص قشرة الرمان المائي.

أكد التحليل الفيتو كيميائي غنى المستخلص بالبوليفينولات الكلية. أظهرت النتائج أن النظام الغذائي عالي الدهون تسبب في زيادة ملحوظة في الوزن، وتغيرات نسيجية في الغدة الدرقية (تفكك الجريبات، فجوات في السيتوبلازم، احتقان وعائي)، إلى جانب اضطرابات معتدلة في البروفيل الدهني. وقد ساهم العلاج بمستخلص الرمان في استعادة جزئية لبنية الغدة الدرقية، تقليل الاحتقان، وتحسين بنية الجريبات.

تدعم هذه النتائج الدور الوقائي المحتمل لقشرة الرمان ضد الأضرار الأيضية والنسيجية الناتجة عن النظام الغذائي الغني بالدهون.

الكلمات المفتاحية: *Punica granatum*، زيت جوز الهند، الغدة الدرقية، جرذان .

Liste des abréviations

APGII : la classification phylogénétique des angiospermes de groupe 2

PgUGT : gènes UDP glycosyltransférase

T3 : Triiodothyronine

T4: Thyroxine

TBG: Globuline liant la thyroxine

TRH: Thyrotropin Releasing Hormone

TSH: Thyroid Stimulating Hormone

SCTBP: Soluble Cellular Thyroxine Binding Protein

TG: Triglycerides

CL: Cholestérol total

AlCl₃: trichlorure d'aluminium

RHL: Regime hyperlipidique

AMPK: protéine kinase activée par l'AMP

NEFA : Acide gras non estérifiés

CRP : protéine c-réactive

TNF- α : facteur de nécrose tumorale alpha

TSH : hormone thyroestimuline

Liste des tableaux

Tableau I : Classification botanique du grenadier en 1753 (Wald, 2009).....	4
Tableau II : Classification botanique du grenadier en 2003.....	4
Tableau III : Composés phénoliques présents dans <i>Punica granatum</i> (Singh et al., 2018).....	8
Tableau IV : Protocole d'étude expérimentale (Originale)	18
Tableau V : Compositions chimique d'huile de coco.....	19
Tableau VI : Composés phénoliques de la grenade.....	30

Liste des figures

Figure 1 : Répartition de la grenade dans le monde (Holland et al.,2009)	5
Figure 2 : Anatomie du fruit de grenade typique et de ses arilles (Kumar et al.,2021)	6
Figure 3 : Feuilles	6
Figure 4 : Arbre du Grenadier.....	6
Figure 5 : Ecorce	7
Figure 6 : Fleurs	7
Figure 7 : Fruite.....	7
Figure 8 : Vues antérieures de la glande thyroïde (Tortora et Derrickson, 2018).....	11
Figure 9 : Histologie de la glande thyroïde (Ross et al., 2015).....	13
Figure 10 : Aliment granule distribue, spécial pour les rats (Originale)	17
Figure 11 : Huile de coco utilisée (Originale)	19
Figure 12 : Fruits et écorce de grenade mure, séchée et réduite en poudre (Originale).....	19
Figure 13 : Etapes de macération à froid (Originale)	20
Figure 14 : Pesée des rats à l'aide d'une balance (Originale).....	21
Figure 15 : Administration de l'extrait aqueux de l'écorce de la grenade par gavage (Originale).	21
Figure 16 : Prélèvement (A), collecte (B) et centrifugation (C) du sang (Originale).....	22
Figure 17 : Automate d'analyses biochimiques (Originale).....	22
Figure 18 : Glande thyroïde du rat Wistar mâle (Originale).....	24
Figure 19 : Dosage de polyphénols (Originale).....	24
Figure 20 : Dosages des flavonoïdes (Originale)	25
Figure 21 : Fixation de la glande thyroïde dans le formol à 10% (Originale).	26
Figure 22 : Lavage des cassettes (Originale).....	26
Figure 23 : Mise en bloc (Originale)	27
Figure 24 : Etalement des coupes sur la lame (Originale).....	27
Figure 25 : Obtention des coupes par microtome (Originale)	27
Figure 26 : Batterie de coloration constituée de différents bains de coloration (Originale)...	28
Figure 27 : Prise de photos à l'aide d'une caméra « EurMed » (Originale)	29
Figure 28 : Evolution pondérale chez les rats témoins	30
Figure 29 : Taux plasmatiques du cholestérol total et triglycérides chez les rats Wistar des trois lots	32
Figure 30 : Coupes transversales au niveau de la glande thyroïde des rats Wistar mâles témoins, soumis à la diète hyperlipidique et traités par l'extrait aqueux de grenade Punica granatum	33

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Listes des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Rappels Bibliographique (chapitre 01)

I. Historique 3

II. Origine de la grenade « *Punica protopunica* » 3

III. Classification botanique..... 3

IV. Noms vernaculaires 4

V. Distribution géographique 5

VI. Description botanique..... 6

VII. Constituants chimiques de *Punica granatum*..... 8

VII.1. Métabolites primaires 8

VII.2. Métabolites secondaires..... 8

VIII. Propriétés pharmacologiques 9

VIII.1. Effet Antioxydant..... 9

VIII.2. Effet Anti-inflammatoire 9

VIII.3. Effet antimicrobien..... 10

VIII.4. Effet sur l'obésité 10

Rappels Bibliographique (chapitre 02)

I. Définition 11

II. Anatomie..... 11

III. Histologie..... 12

III.1 Les cellules folliculaires 12

III.2. Les cellules C ou parafolliculaires 13

III.3. Le colloïde..... 13

IV. Les hormones thyroïdiennes 13

V. Les effets des hormones thyroïdiennes 14

VI. Régulation de la fonction thyroïdienne..... 15

VII. Dégradation des hormones thyroïdiennes..... 15

Matériel et Méthodes

I. Modèle expérimental	17
I.1. Période et lieu d'expérimentation	17
I.2. Animaux de laboratoire	17
I.3. Condition d'élevage	17
I.4. Alimentation	17
II. Protocole expérimental.....	18
II.1. Constitution des lots	18
III. Matériel biologique.....	18
III.1. Matériel végétale	18
1.1. Huile de noix de coco	18
1.2. Préparation de l'extrait aqueux de grenade	19
III.2. Comportement des animaux.....	21
IV. Techniques opératoires	21
IV.1. Suivi du poids corporel	21
IV.2. Administration de l'extrait aqueux de grenade	21
IV.3. Prélèvement des échantillons biologiques tissulaires et sanguins.....	22
3.1. Prélèvement sanguin.....	22
3.2. Prélèvement d'organes	23
V. Techniques analytique	24
V.1. Analyse quantitative	24
1.1. Dosages des polyphénols totaux.....	24
1.2. Dosages des flavonoïdes totaux	25
V.2. Technique histologique	25
2.1 Fixation	25
2.2. Lavage et déshydratation.....	26
2.3. Inclusion dans la paraffine.....	26
2.4. Confection des coupes.....	27
2.5. Déparaffinages et Réhydratation	27
2.6. Coloration.....	27
2.7. Montage des lames	28
2.8. Observation microscopique	28
VI. Analyse statistique.....	29

Résultats et Discussion

1. Dosage des polyphénols et flavonoïdes	30
--	----

2. Poids corporel et paramètres biochimiques	30
2.1. Poids corporel	30
2.2. Paramètres biochimiques	32
3. Planche : Histologie de la glande thyroïde	33

Discussion

1. Dosage des polyphénols et flavonoïdes	36
2. Poids corporel et paramètres biochimiques.....	37
2.1. Poids corporel	37
2.2. Paramètres biochimiques	38
3. Histologie de la glande thyroïde	41

Conclusion

Références Bibliographiques

Annex

INTRODUCTION GENERALE

Introduction

La glande thyroïde joue un rôle important dans la régulation du métabolisme lipidique via ses hormones thyroxine (T4) et triiodothyronine (T3), et leurs altérations pouvant aggraver les désordres lipidiques (**Chaker et al., 2017 ; Khatun et al., 2022**).

Les maladies métaboliques, en particulier l'hyperlipidémie et les troubles thyroïdiens, représentent un défi majeur de santé publique dans le monde. L'hyperlipidémie, est une augmentation des taux de lipides sanguins, représentant un facteur de risque significatif pour les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2, et les troubles endocriniens, notamment thyroïdiens (**Wang et al., 2023**).

Actuellement, l'alimentation moderne, est souvent riche en acides gras saturés, provoquant l'augmentation des désordres métabolique, tels que l'obésité, la stéatose hépatique et la dyslipidémie. Les traitements naturels d'origine végétale ont progressé considérablement ces dernières années, ces plantes ont prouvé un effet antioxydant puissant. Le fruit de grenade « *Punica granatum* », cultivé dans les régions méditerranéennes contient une quantité notable de polyphénols, flavonoïdes et tanins hydrolysables, et autres composés possédant des propriétés hypolipidémiant, antioxydante et anti-inflammatoire (**Riaz et al., 2020 ; Mphahlele et al., 2023**).

La famille des Punicacées comprend la grenade (*Punica granatum L.*), son nom provient des mots latins « Pomus » et « granum », signifiant « pomme à grains ». Elle offre de nombreux avantages ou effets bénéfiques nutritionnels et thérapeutiques (**Laghari et al., 2018 ; Guerrero-Solano et al., 2020**). Les graines, le fruit, le jus et l'écorce de la grenade sont riches en composés bioactifs tels que l'acide ellagique, les ellagitanins, la punicalagine, l'acide punique, les flavonoïdes, les anthocyanidines, les anthocyanes, les flavanols œstrogéniques, divers acides gras et les flavones, tous dotés de propriétés thérapeutiques (**Saeed et al., 2018**). L'huile de pépins de grenade est particulièrement appréciée pour sa teneur élevée en acide linoléique, bénéfique pour la santé (**Laghari et al., 2018**). Des recherches récentes indiquent que la grenade pourrait être utilisée comme traitement de diverses maladies et surtout lorsqu'elle est appliquée à différentes concentrations (**Kandylis et Kokkinomagoulos, 2020**).

De nombreuses études antérieures ont montré des effets bénéfiques de l'extrait de grenade, pouvant améliorer le profil lipidique, diminuant le stress oxydatif et protégeant les organes cibles contre les effets néfastes de la diète hyperlipidique chez les rats ou les souris (modèles animaux de laboratoire) (**Li et al., 2021 ; Elfalleh et al., 2022**). L'impact de la grenade sur la glande thyroïde au cours de l'hyperlipidémie provoquée expérimentalement est crucial et reste peu exploré. La glande thyroïde, présente une forte activité métabolique, pouvant être altérée lors du stress oxydatif et aussi au cours des altérations lipidiques (**Abdel- Moneim et al., 2021**).

La présente étude vise à évaluer les effets protecteurs de l'extrait aqueux de la grenade sur le profil lipidique, les paramètres biochimiques et l'architecture histologique de la thyroïde chez le rat Wistar mâle soumis à une diète hyperlipidique. Notre objectif est d'évaluer la capacité thérapeutique de la grenade pour la prévention des complications métaboliques et endocriniennes induites par une alimentation déséquilibrée hyperlipidique.

Rappels bibliographiques

I. Historique

La grenade, mentionnée dans les textes anciens grecs, égyptiens, bibliques et coraniques :3 fois dans le coran, ainsi que dans les traditions populaires méditerranéennes, était vénérée en Égypte comme le fruit des dieux, symbolisant la fertilité et la richesse par son abondance de graines et sa forme ronde (**Ruis, 2015**).

La grenade s'est implantée dans les îles Caraïbes et en Amérique latine, par les conquistadores espagnols, elle n'était pas seulement un symbole de fertilité pour les anciens Égyptiens, mais aussi pour de nombreux autres peuples comme les Bédouins, les Chinois, les Grecs, les Indiens, les Perses et les Romains lors de leurs cérémonies de mariage. Sur un plan pratique, les Égyptiens transformaient ses grains en un vin appelé « shehan » par fermentation (**Benzi, 1999**).

II. Origine de la grenade « *Punica protopunica* »

Punica granatum est un membre apprécié de la famille des Punicaceae, comprenant deux espèce, *Punica granatum* et *Punica protopunica*. La grenade est l'un des plus vieux fruits connus, récolté depuis des millénaires dans le bassin méditerranéen. Légèrement plus lourde qu'une orange, pesant 300 à 350 g, elle mûrit du vert au rouge. Il en existe plus de 2 000 variétés (Wonderful, Mollar, Tendrar, Hicaz.) (**Shaygannia et al., 2016**).

Le grenadier est un arbre fruitier d'Asie, produisant la grenade, cet arbre était à l'origine principalement cultivé en Asie occidentale et centrale. Cependant, la popularité grandissante de ses fruits a entraîné son expansion culturelle dans diverses régions du globe. (<http://www.lesfruitsetlegumesfrais.com>, 2017).

III. Classification botanique

Le grenadier, *Punica granatum* L'été décrit par Carl Von Linné et introduit dans sa classification en 1753. Cette classification encore adoptée est décrite dans le **tableau I** (**Wald, 2009**).

Tableau I : Classification botanique du grenadier en 1753 (Wald, 2009).

Nom botanique	<i>Punicagranatum</i>
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Myrtales
Famille	Punicaceae (Lythraceae)
Genre	Punica
Espèce	<i>Punicagranatum L</i>

Une révision en 2003 a mené à la classification phylogénétique des angiospermes de groupe 2 (APGII), qui organise 457 familles de plantes en 45 ordres. Dans ce système, la position du grenadier est la suivante :

Tableau II : Classification botanique du grenadier en 2003.

Embranchement	Angiospermes
Sous embranchement	Dicotylédones vraies
Classe	Résidées
Ordre	Myrtales
Famille	Lythraceae
Genre	punica
Espèce	<i>Punicagranatum</i>

Ainsi, la classification APGII ne reconnaît plus la famille des Punicacées. Le grenadier est désormais classé dans la famille des Lythracées, qui comprend 30 genres et 600 espèces.

IV. Noms vernaculaires

Le nom de la grenade varie d'un endroit à l'autre en fonction des langues parlées dans chaque pays. **Selon Hmid (2013)**, la nomenclature de la grenade est :

- Nom scientifique : *Punica granatum*
- Nom anglais : Pomegranate
- Nom arabe : romain
- Nom français : Grenadier
- Nom espagnol : Granada

V. Distribution géographique

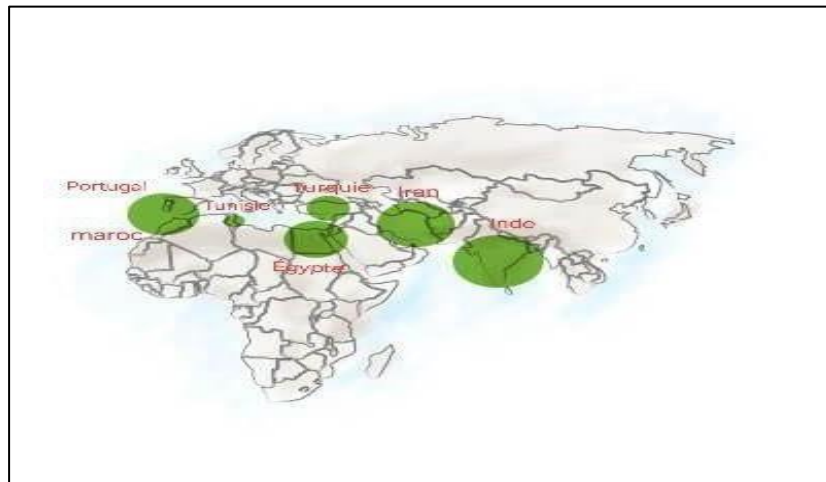


Figure 1: Répartition de la grenade dans le monde (**Holland et al.,2009**)

Le grenadier se cultive beaucoup en Asie centrale, dans les montagnes de l'Himalaya, au Moyen-Orient, au sud-ouest des États-Unis et autour de la mer Méditerranée. Cette plante est d'origine d'Iran et d'Afghanistan (**Shaygannia et al., 2016**). L'Inde est en réalité le plus gros producteur de grenades, plus encore que l'Iran et les États-Unis, mais celles consommées en France proviennent en réalité le plus souvent de Turquie ou d'Espagne. La saison dure d'octobre à mars.

L'Algérie est un acteur majeur dans la production de grenades, malgré des défis techniques et économiques. On y recense diverses variétés, principalement dans le nord subhumide (petits jardins de Kabylie, plaine de la Mitidja - Chlef, Tipaza, Blida, Aïn Defla), mais aussi dans le sud (Ouargla, Adrar, etc.). L'État algérien autorise actuellement quatorze variétés à la production et à la commercialisation (**Meziane et al., 2016**)

VI. Description botanique

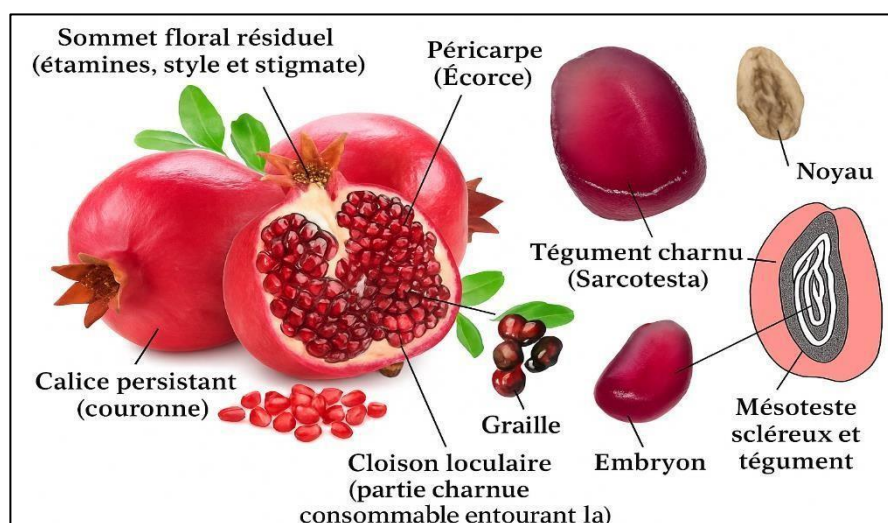


Figure 2 : Anatomie du fruit de grenade typique et de ses arilles (Kumar et al.,2021)

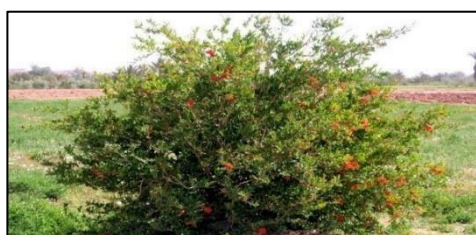


Figure 3 : Arbre du Grenadier



Figure 4 : Feuilles

Le grenadier existe sous forme sauvage ou cultivé, c'est un arbuste buissonnant de 2 à 5 mètres de hauteur. Il se caractérise par son feuillage caduc, son tronc tortueux et sa nature légèrement épineuse (Wald, 2009). D'après Evreïnoff (1957), les rameaux sont grêles parfois épineux. Les feuilles du grenadier se caractérisent principalement par une disposition opposée sur la tige, alternes sur les jeunes pousses ou groupées sur les rameaux courts. Ces feuilles, sans stipules, sont entières, coriaces et brillantes, de forme lancéolée à limbe elliptique allongé mesurant 3 à 8 cm, leur couleur varie du vert foncé (face supérieure, nervure centrale enfoncée et glabre) au vert clair (face inférieure, nervure centrale proéminente et glabre), attachées à la tige par un court pétiole rougeâtre qui mesure 1 à 5 mm sur le dessus (Godet, 1991). La floraison des différentes variétés de grenadier s'étend généralement sur une période de 10 à 12 semaines, voire plus selon le cultivar et l'environnement géographique. (Ben-Arie et Segal, 1984).

Les fleurs poussent à l'aisselle des feuilles, se disposant le plus souvent solitaires ou parfois groupées par deux, se distinguant par leur calice épais et coriace, de forme tubulaire et turbinée, avec six lobes triangulaires. La corolle, d'un rouge vif, est formée de cinq à sept pétales obovales. Ces fleurs, appelées balaustes lorsqu'elles sont encore en boutons, inodores, présentant une saveur sèche, astringente et âpre, laissant une coloration violette dans la salive (**Planchon et Collin, 1875**).

Le fruit possède dans ses différentes parties de nombreux composés chimiques d'une valeur biologique élevée : écorce, membranes blanches, arilles et pépins (**Calin et al., 2005**). Ce fruit est une baie ronde à écorce dure, sa taille est d'une pomme ou d'une orange, son diamètre varie entre de 2 à 12 cm (**Chakass et Carbonnier, 2007**). Il contient en moyenne 600 graines pulpeuses, contenues dans des loges, séparées par des cloisons ténues et nombreuses (**Evreinoff, 1957**), ce fruit est protégé par une enveloppe extérieure robuste, appelée malicorium, qui se caractérise par une couleur vive et lustrée, constituée principalement d'eau (80%). Sa matière sèche contient environ 8% de polysaccharides complexes et solubles d'environ 5%, tels que les pectines et l'hémicellulose. De plus, elle renferme divers m

Minéraux, particulièrement le potassium, calcium, magnésium, phosphore et le sodium (**Spilmon, 2013**).



Figure 5 : écorce



Figure 6 : Fleurs



Figure 7 : fruit

L'écorce de grenade est une source riche en composés bioactifs, notamment en composés phénoliques, qui se présentent sous forme de molécules simples ou de polymères. Elle contient environ 25 % d'ellagitanins, tels que la punicaline, la punicalagine, la corilagine, la granatine A et B (**Lansky et Newman, 2007**). Elle est également riche en flavonoïdes tels que la lutéoline, la quercétine et la punicaline (**Seeram et Schulman, 2006**) et deux acides hydroxy benzoïques importants : l'acide gallique et l'acide ellagique (**Hmid, 2013**), renfermant aussi des acides hydroxy cinnamiques, des dérivés de flavones responsables des

Pigments jaunes, et des anthocyanidines donnant des pigments rouges responsables de la couleur des grenades (Elodiewald, 2009).

VII. Constituants chimiques de *Punica granatum*

VII.1. Métabolites primaires

La grenade *Punica granatum* se distingue par ses principaux métabolites, incluant les acides organiques, les sucres, les protéines, les lipides et les acides aminés. Ces substances fondamentales sont indispensables aux processus vitaux de la plante, tels que la photosynthèse, la respiration, ainsi que sa croissance et son développement. Il est important de noter que la quantité de certains métabolites primaires, comme les sucres et les acides gras, change selon la variété de grenade, ce qui peut avoir des implications bénéfiques pour la transformation alimentaire et la santé. Par ailleurs, la présence de gènes UDP glycosyltransférase (PgUGT) dans le génome de la grenade souligne leur rôle crucial dans la régulation des voies de signalisation et l'équilibre intracellulaire, en catalysant la glycosylation des métabolites (Li et al., 2023).

VII.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires de la grenade (*Punica granatum*) incluent des composés phénoliques comme l'acide ellagique, les flavonoïdes et les anthocyanes (voir Tableau 03). Ces substances sont essentielles pour la défense de la plante, sa résistance au stress et sont à l'origine des nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé associée à la grenade (Guo et al., 2022).

Tableau III : Composés phénoliques présents dans *Punica granatum* (Singh et al., 2018)

Famille des Composés phénoliques	Principaux composés identifiés
Acides phénoliques	Acides chlorogénique, caféique, syringique, sinapique, coumarique, férulique, vanillique, ellagique, gallique et cinnamique
Flavonoïdes	Catéchine, épicatechine, quercétine, anthocyanes, procyanidines, flavonols et flavones
Tanins	Granatine A, granatine B, punicaline, punicalagine, corilagine, gallagydidilactone, pédonculagine et tellimagrandine

La grenade est particulièrement riche en tanins hydrolysables, notamment la punicalagine, qui joue un rôle central dans l'activité antioxydante du fruit. Toutefois, à fortes doses, certains tanins peuvent présenter une certaine toxicité, en interférant avec l'absorption de minéraux essentiels comme le fer et le zinc, ou en provoquant des effets gastro-intestinaux indésirables. Il est donc nécessaire d'en moduler la consommation pour tirer parti de leurs effets bénéfiques tout en limitant les risques potentiels (**Singh et al., 2018 ; Guo et al., 2022**).

VIII. Propriétés pharmacologiques

VIII.1. Effet Antioxydant

Le jus de grenade présente la plus forte concentration en polyphénols, des composés présentant une grande capacité antioxydante (**Angel et al.,2010**). L'efficacité antioxydante des extraits de grenade peut atteindre environ 92%, ce qui leur permet de réduire significativement les radicaux libres et les dommages oxydatifs (**Everton et al.,2020**).

La teneur de grenade en antioxydants surpasse largement celle d'autres fruits réputés pour leurs propriétés antioxydante (**Angel et al.,2010**).

VIII.2. Effet Anti-inflammatoire

L'inflammation constitue la première réponse physiologique de l'organisme, essentielle pour nous défendre contre les lésions et les empoisonnements. Ce système permet de détruire les micro-organismes infectieux, d'éliminer les irritations et de maintenir les fonctions physiologiques normales (**Lee et al., 2010**). Les fractions de grenade bloquent l'activité des enzymes cyclooxygénase et lipoxygénase. La cyclooxygénase joue un rôle majeur dans la transformation de l'acide arachidonique en prostaglandines, des acteurs importants du processus inflammatoire, la lipoxygénase catalyse la conversion de l'acide arachidonique en leucotriènes (**Tomas et al., 2010**).

La grenade pourrait être davantage exploitée pour sa double action bénéfique telles que : prévenir les dommages à l'ADN d'origine chimique et réduire les effets secondaires oxydants induits par la chimiothérapie dans le traitement du cancer, offrant ainsi une alternative phytothérapeutique (**Everton et al.,2020**).

VIII.3. Effet antimicrobien

L'écorce du fruit de *Punica granatum* possède une activité antibactérienne. La combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce, ainsi que leur action synergique, explique cette activité antibactérienne non retrouvée dans d'autres fruits également riches en tanins et alcaloïdes (**Hmid, 2013**).

Les extraits de grenade obtenus à l'aide de différents solvants comme l'eau et l'éthanol, possèdent une activité antimicrobienne marquée. Cette activité est efficace contre une variété de microorganismes importants, notamment *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et des aureus (**Angel et al, 2010**).

Les polyphénols de la grenade manifestent des activités antivirales et antimicrobiennes significatives. Concernant le VIH-1, le jus de grenade renferme des substances qui inhibent sa pénétration dans les cellules. La recherche sur ce complexe a démontré son action bloquante sur l'interaction du virus avec certains récepteurs cellulaires (**Neurath et al., 2004**).

Les extraits riches en polyphénols de grenade exercent une activité contre le virus de la grippe. Le punicalagine ; un tanin hydrolysable caractéristique de la grenade, s'est révélé virucide et capable d'empêcher la multiplication de l'ARN viral (**Haidari et al., 2009**).

VIII.4. Effet sur l'obésité

L'utilisation des feuilles de grenade, notamment dans certains thés verts consommés en Chine, présente des avantages pour la gestion du poids et la santé lipidique. Elles diminuent le poids, réduisent la graisse abdominale et le tissu adipeux, tout en abaissant les taux de cholestérol, de triglycérides et le rapport cholestérol total/HDL (**Robert et Smith, 2014**).

CHAPITRE 2 :

LA GLANDE THYROÏDE

I. Définition

La glande thyroïde, dont l'étymologie grecque *thyreoeides* signifie "en forme de bouclier", est une glande volumineuse dont la fonction principale est la synthèse et la libération d'hormones. Ces dernières sont transportées par la circulation sanguine et distribuées à l'ensemble des tissus de l'organisme (**Sanlaville et Bensillon, 2012**). La thyroïde est une glande endocrine hautement spécialisée, en forme de papillon. Chez l'adulte normal, elle pèse entre 20 et 25 g, étant légèrement plus volumineuse chez l'homme que chez la femme (**Rauch, 2006**). Le volume et le poids de cette glande varient considérablement selon les espèces (**Roger, 2005**) (**Figure 08**).

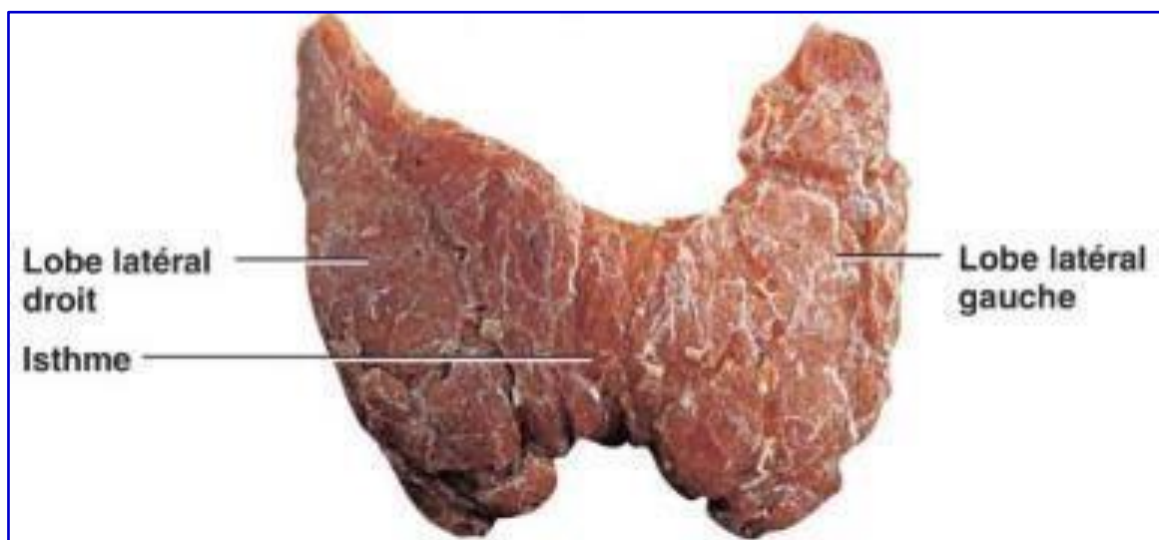


Figure 8 : Vues antérieures de la glande thyroïde (**Tortora et Derrickson, 2018**)

II. Anatomie

La glande thyroïde est située dans la partie antéro-inférieure du cou, s'étendant verticalement de la cinquième vertèbre cervicale (C5) à la première vertèbre thoracique (T1 ou D1). Elle repose en avant des six premiers anneaux de la trachée, immédiatement sous le cartilage thyroïdien, et occupe une position médiale par rapport aux muscles sterno-cléido-mastoïdiens (**Chapuis, 1997 ; Guénard, 1996**). De forme caractéristique en H, elle est constituée de deux lobes latéraux ovoïdes reliés par un isthme. Une structure additionnelle, le lobe pyramidal (ou pyramide de L'alouette), vestige de son développement embryonnaire, peut parfois s'étendre à partir de l'isthme. Sur sa face postérieure se trouvent les quatre glandes parathyroïdes ainsi que les nerfs laryngés récurrents. Cette petite glande mesure

généralement de 5 à 6 cm de hauteur, environ 2 cm de largeur et d'épaisseur, pour un poids moyen de 30 grammes (**Brouet, 2011**).

La thyroïde est une glande très richement vascularisée, principalement par des branches de la carotide externe et de l'artère sous-clavière. Le drainage veineux s'effectue par les veines jugulaires, ramenant le sang vers le cœur. Elle est constituée de deux lobes latéraux reliés par un isthme, qui mesure environ 20 mm de large et de long, pour une épaisseur variant de 2 à 6 mm. Chaque lobe latéral s'étend sur environ 4 cm du pôle supérieur au pôle inférieur, avec une largeur de 15 à 20 mm et une épaisseur de 20 à 39 mm (**Dumont et al., 2005**).

La thyroïde est entourée de deux capsules : une capsule interne, dite « vraie capsule », constituée de tissu conjonctif fibro-élastique, et une capsule externe, appelée « fausse capsule », correspondant à la couche pré trachéale du fascia cervical profond. Cette fausse capsule contient un plexus capillaire profond, qu'il est essentiel de retirer en même temps que la capsule lors d'une thyroïdectomie.

III. Histologie

Sur le plan histologique, la glande thyroïde est principalement constituée de follicules thyroïdiens, unités sphériques tapissées par un épithélium simple cubique ou prismatique selon l'état fonctionnel de la glande. Ces follicules renferment une substance colloïde riche en thyroglobuline, précurseur des hormones thyroïdiennes. Entre les follicules, on retrouve des cellules parafolliculaires ou cellules C, moins nombreuses, responsables de la sécrétion de calcitonine, une hormone impliquée dans la régulation du métabolisme phosphocalcique. Le tissu conjonctif inter folliculaire contient une riche vascularisation et des capillaires lymphatiques (**Figure 09**).

III.1 Les cellules folliculaires

Les cellules folliculaires de la thyroïde forment une barrière étanche autour de la lumière folliculaire grâce à des jonctions apicales serrées. Elles sont responsables de la synthèse et de la sécrétion des hormones thyroïdiennes. Leur morphologie varie selon l'activité fonctionnelle de la glande : elles sont plates en état d'inactivité et prennent une forme cubique, voire cylindrique, en période d'activité (**Brouet, 2011**).

III.2. Les cellules C ou parafolliculaires

Les cellules C, ou cellules parafolliculaires, représentent moins de 0,1 % de la population cellulaire thyroïdienne. Contrairement aux cellules folliculaires, elles ne participent pas à la synthèse des hormones thyroïdiennes. Leur rôle principal est la sécrétion de calcitonine, une hormone hypocalcémiante qui contribue à la régulation du métabolisme phosphocalcique. Par ailleurs, le dosage de la calcitonine constitue un marqueur important dans le diagnostic du carcinome médullaire de la thyroïde (**Brouet, 2011**).

III.3. Le colloïde

Le colloïde est une substance pâteuse, de couleur jaunâtre, localisée dans la lumière des follicules thyroïdiens. Il constitue une réserve extracellulaire des hormones thyroïdiennes sous forme de thyroglobuline iodée. La quantité de colloïde varie en fonction de l'activité fonctionnelle de la glande : elle est plus abondante en période de faible activité et tend à diminuer lors d'une stimulation hormonale accrue (**Brouet, 2011**).

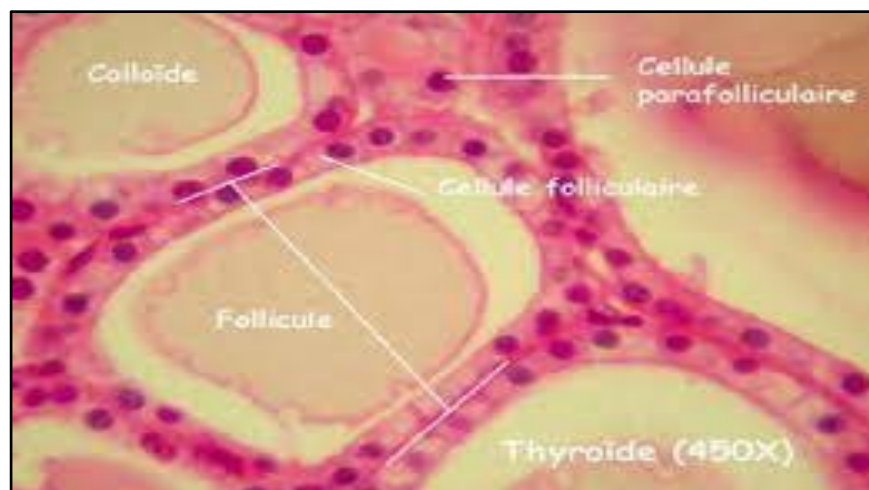


Figure 9 : Histologie de la glande thyroïde (Ross et al., 2015)

IV. Les hormones thyroïdiennes

Les hormones sont des messagers chimiques circulant dans le sang, produits par des cellules spécialisées. Elles régulent des fonctions physiologiques à long terme telles que la croissance, le métabolisme, l'homéostasie et la reproduction. Leur action sur les cellules

Cibles s'exerce notamment par la modulation de l'activité enzymatique, du transport membranaire et de l'expression génique (**Silverthorn, 2007**).

Les cellules folliculaires de la thyroïde produisent deux hormones principales : la triiodothyronine (T3) et la thyroxine (T4), toutes deux dérivées d'une même structure organique de base, la thyronine. Ces hormones diffèrent uniquement par le nombre et la position des atomes d'iode fixés sur leur squelette, constitué de deux cycles phénoliques reliés par un pont diphényl-éther, dérivé de l'acide aminé tyrosine (**Wémeau, 2010**). Elles sont stockées sous forme iodée dans la thyroglobuline, une protéine de haut poids moléculaire présente dans le colloïde folliculaire (**Kamoun, 2003**). Une fois libérées dans la circulation, la T3 et la T4 se lient à un même récepteur nucléaire (TBG), bien que ce dernier présente une affinité plus élevée pour la T3, qui est donc principalement responsable des effets métaboliques dans les cellules cibles (**Campbell, 2007**).

En régulant la vitesse à laquelle le glucose est transformé en énergie et en chaleur, les hormones thyroïdiennes jouent un rôle fondamental dans le métabolisme de l'organisme. Leur action s'étend à la quasi-totalité des cellules, qui dépendent de cette énergie pour assurer leurs fonctions. De plus, ces hormones sont essentielles au développement et à la croissance normale des tissus, notamment ceux du système nerveux et du système génital (**Marieb, 2008**).

La calcitonine joue un rôle essentiel dans le métabolisme osseux en inhibant l'activité des ostéoclastes, cellules responsables de la résorption osseuse. Elle agit ainsi comme un antagoniste de la parathormone, contribuant à maintenir l'équilibre phosphocalcique de l'organisme (**Guyton et Hall, 2021**).

V. Les effets des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes exercent de multiples effets sur l'organisme, en régulant à la fois le développement, la croissance et la différenciation cellulaire. Elles :

- ✚ Stimulent la consommation d'oxygène et accélèrent le métabolisme basal ;
- ✚ Potentialisent les effets du système nerveux sympathique ;
- ✚ Favorisent le catabolisme du glycose et mobilisent les réserves lipidiques ;

- + Fournissent l'énergie nécessaire à la synthèse des protéines et facilitent la production hépatique de cholestérol ;
- + Favorisent le fonctionnement musculaire ;
- + Stimulent la sécrétion des sucs digestifs ;
- + Permettent le fonctionnement normal des organes génitaux et stimulent la lactation chez la femelle.
- + Améliorent l'hydratation cutanée et stimulent l'activité sécrétrice de la peau.

VI. Régulation de la fonction thyroïdienne

La fonction thyroïdienne est régulée par un axe hypothalamo-hypophyso

-thyroïdien, sous le contrôle d'un mécanisme de rétro-inhibition exercé par la forme libre des hormones thyroïdiennes (T3 et T4).

La TRH (Thyrotropin Releasing Hormone), sécrétée par l'hypothalamus, stimule la libération de la TSH (Thyroid Stimulating Hormone) par l'antéhypophyse, laquelle agit directement sur la glande thyroïde pour induire la synthèse et la sécrétion des hormones T3 et T4 (**Ortiga-Carvalho et al., 2016**).

La TSH agit à plusieurs niveaux du processus de l'hormonosynthèse thyroïdienne :

- Elle stimule la capture de l'iode, l'iodation de la thyroglobuline, la pinocytose du colloïde, l'hydrolyse de la thyroglobuline et la libération des hormones ;
- Elle régule l'expression génique et la synthèse de la thyroglobuline ;
- Elle agit également comme facteur trophique en stimulant la croissance et la vascularisation de la glande thyroïde (**Pérez-Martin, 2007**).

VII. Dégradation des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes sont principalement dégradées au niveau du foie et des reins, selon deux mécanismes principaux :

- La dégradation de la chaîne latérale alanyl, qui conduit à la formation de dérivés tels que les acides triiodothyroacétique et tétraiodothyroacétique, de nature pyruvique et acétique ;
- Des réactions de conjugaison, notamment la glucuro- et sulfo-conjugaison, facilitant leur excrétion. Environ 15 % des dérivés hormonaux sont ainsi éliminés par les selles.

À l'intérieur des cellules, les hormones thyroïdiennes se lient à une protéine de transport intracellulaire, la **SCTBP** (Soluble Cellular Thyroxine Binding Protein). Elles subissent ensuite une désamination, une décarboxylation et une oxydation, donnant naissance à des métabolites iodés tels que l'acide triiodothyroacétique et tétraiodothyroacétique. Ces composés subissent une désiodation ; l'iode libéré est soit excrété dans les urines, soit recyclé par la glande thyroïde (**Hazard et Perlemuter, 1990**).

Matériel et méthodes

PARTIE EXPERIMENTALE :

I. Modèle expérimental

I.1. Période et lieu d'expérimentation

Notre expérimentation a été réalisée au niveau de la station d'expérimentation animale, située à l'université Saad Dahleb, Blida-1, durant la période allant du mois de Mars au mois d'Avril, au cours de l'année 2025.

I.2. Animaux de laboratoire

Notre étude a été effectuée sur 27 rats Wistar mâles, représentant un modèle essentiel pour la recherche scientifique, ces animaux sont issus de l'Institut Pasteur (Alger), leur âge atteint 3 mois et avec un poids corporel moyen situant entre 200 g et 250g. Tous ces rats étaient en bonne santé.

I.3. Condition d'élevage

Les 27 rats sont placés dans des cages individuelles et sont soumis à une période d'adaptation d'environ une semaine. Ces animaux sont pesés chaque semaine.

I.4. Alimentation

Les rats sont nourris d'aliment granulé, distribué chaque matin, en raison de 30 g pour chaque rat, la nourriture est mise dans des mangeoires métalliques, équipant chacune des cages d'élevage. Cet aliment spécial pour rats émanait de l'unité de fabrication de l'aliment de bétail de Khemis el Khechna (Boumerdes). Cette nourriture est produite à base de maïs, tourteaux et coques de soja, calcium, phosphates.



Figure 10 : Aliment granule distribue, spécial pour les rats (*Originale*).

II. Protocole expérimental

II.1. Constitution des lots :

Tableau IV : Protocole d'étude expérimentale (Originale)

Au cours de cette étude, les 27 rats sont repartis en 3 lots différents :		
Lot témoin (LT)	Lot expérimental (LE)	Lot grenade (LG)
• 7 rats témoin : recevant 30g d'aliment standard, Pendant 8 semaines. Après ils sont gavé par l'eau distillée (1ml/Kg) durant 2 semaines.	• 10 rats expérimentaux : nourris de la diète hyperlipidique ; constituée de 30g de granulé + 3g d'huile de coco/ jour, pendant 8 semaines. Après ils subissent un gavage d'eau distillée (1ml/Kg) pendant 2 semaines.	• 10 rats traités par l'extrait aqueux de l'écorce de grenade : ces animaux Consommant d'abord la diète hyperlipidique ; 30g de granulés + 3g d'huile de coco/jour pendant 8 semaines. Puis, après 8 semaines du régime hyperlipidique, ces rats sont traités par gavage de l'extrait aqueux de l'écorce de grenade (dose : 1g/kg, un volume de 1ml/Kg) et recevant aussi 30g d'aliment standard pendant 2 semaines.

III. Matériel biologique

III.1. Matériel végétale :

1.1. Huile de noix de coco :

L'huile de noix de coco « coconut oil » en anglais, est une huile végétale, originaire de l'Asie du Sud-est et de la Polynésie, elle est caractérisée par une abondance de lipides bénéfiques et une teneur élevée en acide laurique. L'huile utilisée dans cette expérimentation est du marque (RAKA) qui est fabriqué au Pakistan.

L'huile de coco présente différents aspects selon la température, tels que solide, semi-solide et liquide. Elle est produite à partir du coprah, la partie blanche située à l'intérieur de la noix de coco. A propos de notre étude, nous avons utilisé 3g l'huile de coco / jour, pour chaque rat expérimental.

Tableau V : Compositions chimique d'huile de coco

Valeur Nutritionnelle	Par portion (8.3g)	Par 100 g
Energie (calories)	126 kcal	900 kcal
Matières grasses totales	14g	100g
Acides gras saturés	13g	93.1g
Acides gras mono-insaturés	0.7g	5.4g
Acides gras polyinsaturés	0.2g	1.5g

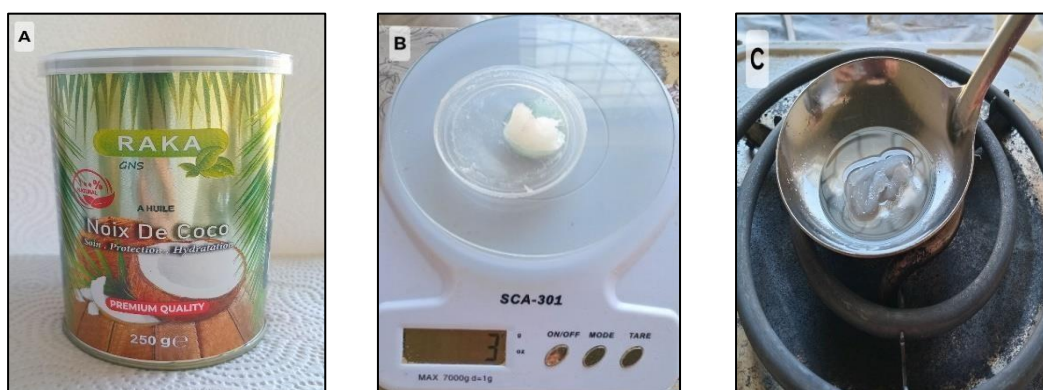


Figure 11 : Huile de coco utilisée (Originale).

A : Graisse de coco, **B** : Pesée de la graisse de Coco, **C** : Huile de coco.

1.2. Préparation de l'extrait aqueux de grenade

Pour le traitement, nous avons choisi l'écorce de la grenade comme matériel végétal. De ce fait, nous avons acheté des grenades fraîches, dont l'écorce était rouge, ce fruit a été collecté le mois de Février 2025, au niveau de la région côtière de Tipaza. Ensuite, ces fruits ont été pelés, séchés et broyés par un broyeur électrique pour obtenir la poudre fine de grenade.

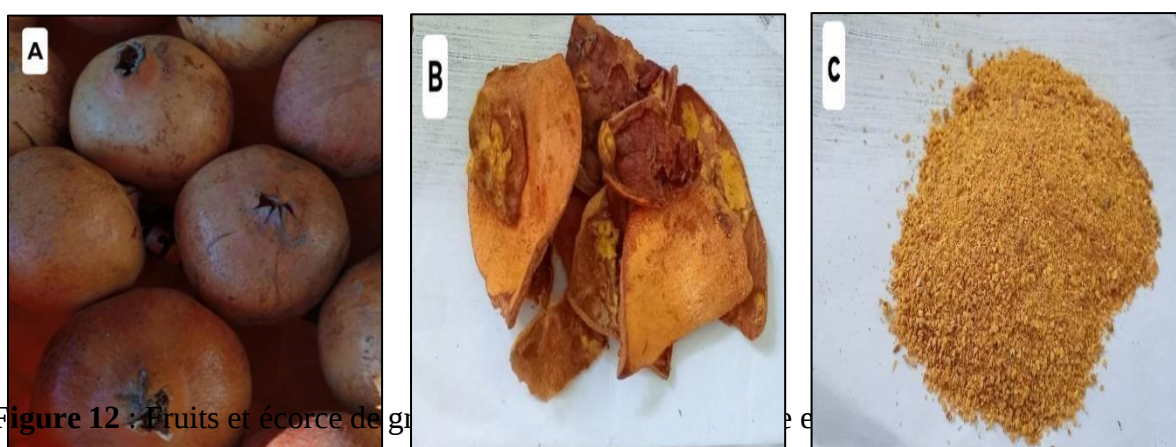


Figure 12 : Fruits et écorce de grenade

A : Fruit de grenade à l'état frais et mûr, **B : Ecorce** de grenade séchée, **C : Poudre** de l'écorce séchée

1.2.1. Méthodes d'études

A-Extraction par macération à froid

Nous avons procédé une macération à froid sur la poudre de grenade, pour cela nous avons suivi les étapes suivantes :

- Une quantité de 2g de la poudre de grenade est utilisé.
- Un volume de 20 ml d'eau distillée est ajouté à la matière végétale, puis ce mélange est agité doucement à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 24 heures.
- La solution est filtrée sur un papier filtre wattman, ensuite le 1^{er} filtrat est récupéré.
- Nous avons additionné 20 ml d'eau distillée au macéra, puis cette solution est agitée pendant 24 heures, en utilisant l'agitateur magnétique, et nous avons filtré la solution pour récupérer le 2^{ème} filtrat.
- Le macéra est utilisé pour exécuter une troisième et dernière macération, suivant les mêmes étapes précédentes.
- Puis le 3^{ème} filtrat est récupéré puis ajouté au 1^{er} et 2^{ème} filtrat, l'ensemble est versé dans un flacon en verre, bien enveloppé par un papier aluminium et conservé dans le réfrigérateur pendant 24 heures.
- Ensuite nous avons mis l'extrait aqueux dans une étuve à 40° jusqu'à l'évaporation.



Figure 13 : Etapes de macération à froid (Originale)

(A) : pesée de la poudre de grenade à l'aide d'une balance de précision, **(B)** : agitation de la solution contenant la poudre et l'eau distillée à l'aide de l'agitateur magnétique, **(C)** : filtration de la solution en utilisant papier wattmen et récupération du filtrat dans

l'erenmeyer, (D) : l'extrait aqueux est conservé dans flacon bien bouché et enveloppé par du papier aluminium.

III.2. Comportement des animaux

Les rats expérimentaux soumis à la diète hyperlipidique présentent des signes du stress, tels que la diarrhée, une diminution de poids corporel.

IV. Techniques opératoires

IV.1. Suivi du poids corporel

Les rats sont pesés une fois par semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation, c'est à dire pendant **10** semaines.



Figure 14 : Pesée des rats à l'aide d'une balance (Originale)

IV.2. Administration de l'extrait aqueux de grenade :

Après 8 semaines d'expérimentation, les 10 rats expérimentaux ont reçu entre [0.3ml et 0.4ml] de l'extrait aqueux d'écorce de grenade, selon l'équation suivante :

1ml d'extrait aqueux $\longrightarrow$ 1000g poids corporel de l'animal, par voie orale « gavage », le matin, après un jeûne de 12 heures et cela pendant 2 semaines. **Karim-Beguir (2022).**



Figure 15 : Administration de l'extrait aqueux de l'écorce de la grenade par gavage (Originale).

IV.3. Prélèvement des échantillons biologiques tissulaires et sanguins

3.1. Prélèvement sanguin

A la fin de l'expérimentation, qui a duré 10 semaines, les rats des 3 lots sont mis à un jeûne pendant 12 heures et cela la veille du sacrifice. Le lendemain, ces animaux sont pesés, puis sacrifiés, par saignement, le matin, entre 9 heures et 12 heures, au niveau du laboratoire de taxonomie de l'université Saad Dahleb Blida-1. Immédiatement le sang était recueilli dans des tubes héparines et EDTA.



Figure 16 : Prélèvement (A), collecte (B) et centrifugation (C) du sang (Originale)

(A) : Sacrifice par saignement, (B) : récolte du sang, (C) : centrifugation du sang

Le sang était centrifugé dans une centrifugeuse, ensuite le plasma est récupéré puis mis dans des Eppendorf, placés dans le réfrigérateur à température 4°C. Le dosage des paramètres biochimiques tels les triglycérides (TG) et le cholestérol total (CT) a été effectué au niveau du laboratoire d'analyse, localisé à l'hôpital de la région de Chiffa, wilaya de Blida. Ce dosage a été réalisé par un automate d'analyses biochimiques (BIOELABAS-160).



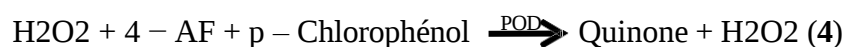
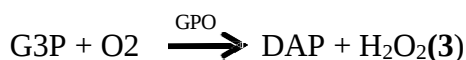
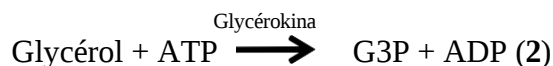
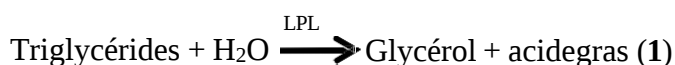
Figure 17 : Automate d'analyses biochimiques (Originale)

3.1.a. Dosage des paramètres biochimiques plasmatiques (Cholestérol total et triglycéride) :

Le cholestérol total a été mesuré par une méthode colorimétrique enzymatique (kit QuimicaClinicaAplicada SA). Selon les réactions suivantes :



La mesure des TG a été réalisée entièrement par voie enzymatique, sous l'action d'une lipase en utilisant la méthode colorimétrique enzymatique (kit QuimicaClinicaAplicada SA). Selon les réactions suivantes :



La forme simple du cholestérol et des triglycérides reliés avec un chromogène mesurable par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505 nm pour donner une concentration proportionnelle à la concentration du cholestérol et des triglycérides.

3.2. Prélèvement d'organes

Nous avons fait la dissection des rats le matin, ensuite nous avons prélevé la glande thyroïdienne, localisée sur la trachée plus précisément sur le larynx, formée de deux lobes droit et gauche (**Figure**), puis celle-ci est placée dans une cassette, qui est plongée dans le formol dilué à 10 %, contenu dans un flacon en verre bien bouché.

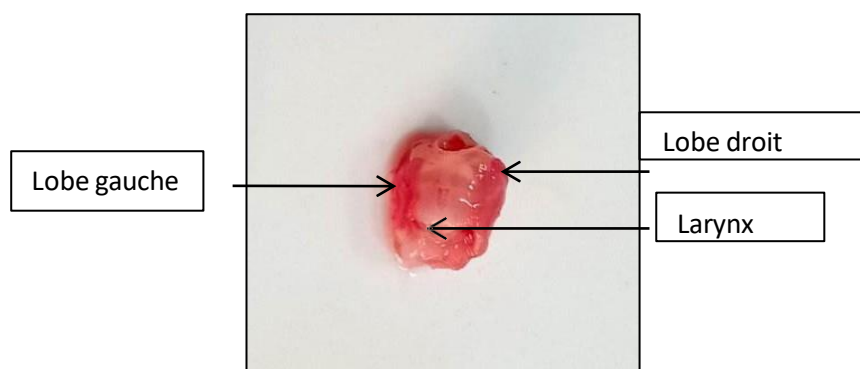


Figure 18 : La glande thyroïde du rat Wistar mâle (Originale)

V. Techniques analytique

V.1. Analyse quantitative

1.1. Dosages des polyphénols totaux

Le mode opératoire que nous avons suivi a été établie par **Singleton et Rossi, (1965)** ;

Singleton et al. (1999). Un volume de 200 μ l de l'extrait aqueux de grenade est mélangé avec 200 μ l de Folin-Ciocalteu, puis incubation á température ambiante pendant 5 minutes. Ensuite ajouter 800 μ l de carbonate de sodium á 2%. L'ensemble est incubé á l'abri de la lumière á température ambiante pendant 2 heures. La lecture est effectuée contre un blanc á l'aide d'un spectrophotomètre Ultra-violet (UV) á **760 nm**.

Nous avons déduit la dose de polyphénols par la courbe d'étalonnage, déjà préparée. Chaque échantillon est répété trois fois.



Figure 19 : Dosage de polyphénols (Originale).

1.2. Dosages des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) ; (Bahorum et al., 1996). Un volume de 1 ml de l'extrait aqueux de grenade est introduit dans un tube à essai et ajouter 1 ml de trichlorure d'aluminium à 2% dans l'eau distillée. Après 10 minutes d'incubation à température ambiante. La lecture est effectuée contre un blanc. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde **415nm** en utilisant un spectrophotomètre **UV**. Nous avons déduit la dose de flavonoïdes par la courbe d'étalonnage, déjà préparée. Chaque échantillon est répété trois fois.



Figure 20 : Dosages des flavonoïdes (Originale).

V.2. Technique histologique

C'est une technique qui permet d'obtenir des coupes minces de la glande thyroïde.

Nous avons réalisé cette technique au niveau du laboratoire, service de cytologie, Centre Hospitalo-universitaire, Hussein Dey, Alger. Cette technique comprend plusieurs étapes successives :

2.1 Fixation

La fixation a été réalisée afin d'immobiliser les cellules dans un état proche de leur état vivant et de les conserver. L'organe ainsi récupéré a été mis dans des microcassettes qui sont numérotés par rapport aux rats. Ces cassettes sont immédiatement plongées dans du Formol à 10 %.



Figure 21: Fixation de la glande thyroïde dans le formol à 10% (Originale).

2.2. Lavage et déshydratation

Les glandes thyroïdes contenues dans les cassettes sont rincées dans l'eau, déshydratées par immersion successive dans six bains d'alcool de concentrations croissantes (70 °, 90 ° et 100°), avec une heure pour chacun bain, suivie de quatre bains de xylène et cela pendant 1 heure pour chaque bain.



Figure 22 : lavage des cassettes (Originale)

2.3. Inclusion dans la paraffine

C'est une étape d'imprégnation. Nous avons déplacé les échantillons dans des cassettes à l'aide d'une pince souple, puis nous les avons placés dans des moules en inox de taille adaptée, et préalablement les remplis de paraffine préchauffée. L'ensemble est refroidi afin de solidifier le prélèvement suivant l'orientation choisie. Le bloc sera démoulé afin d'obtenir une masse ferme et facile à découper.



Figure 23 : Mise en bloc (Originale).

2.4. Confection des coupes

Pour réaliser les coupes, un microtome est utilisé. La première étape consiste à vérifier la solidité du bloc de paraffine. Une fois sa stabilité assurée, le bloc est fixé sur le porte- bloc du microtome, puis orienté de manière appropriée pour permettre une découpe optimale.

Les coupes obtenues sont ensuite délicatement déposées sur un bain-marie, puis transférées sur des lames en verre.



Figure 24 : Obtention des coupes par microtome **(Originale)**

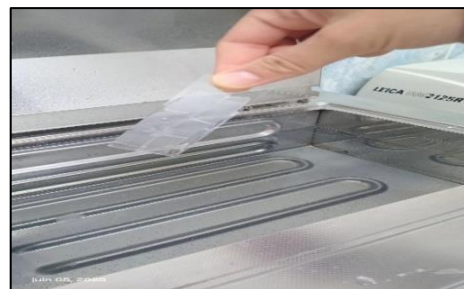


Figure 25 : Etalement des coupes sur la lame **(Originale)**

2.5. Déparaffinages et Réhydratation

Pour préparer les lames à la coloration, il est essentiel de les déparaffiner. Cela se fait en les plongeant dans un bain de xylène pendant 30 minutes.

Après le déparaffinage, les lames sont réhydratées. Pour ce faire, elles sont d'abord placées dans une étuve pendant 5 minutes, puis immergées dans un bain d'alcool pendant 10 minutes. Le processus se termine par un rinçage à l'eau courante.

2.6. Coloration

La coloration utilisée est celle de tri-chrome de Masson. Elle a pour but de différencier les constituants tissulaires. Dans ce cas, les lames sont trempées successivement dans les bains suivants :

- Coloration à l'hématoxyline de Haris pendant 45 secondes, cette étape permet la coloration du noyau.
- Rincer à l'eau courante pendant 5 minutes.

- Coloration à la fuchsine ponceau pendant 30 secondes et rincer rapidement.
- Coloration à l'aide d'acide phosphomolibdique pendant 5 minutes. Coloration par le vert lumière pendant 3 minutes et 30 secondes et rincer rapidement par l'eau.

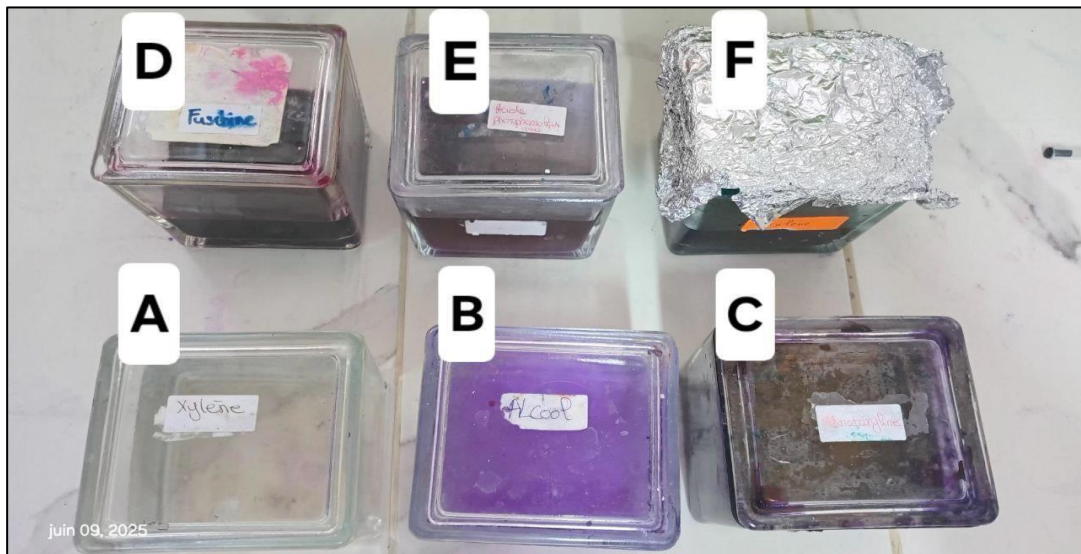


Figure 26 : Batterie de coloration constituée de différents bains de coloration (**Originale**)

A : Xylène, **B :** Alcool, **C :** Hématoxyline de Haris, **D :** Fuschine Ponceau, **E :** Acide molybdique, **F :** Vert lumière.

2.7. Montage des lames

Les lames colorées doivent être protégées pour rendre possible leur examen microscopique et leur conservation sans risque d'altération dans ce but : nous avons recouvert les lames par des lamelles couvre-objet à l'aide d'une colle, appelée Eukit.

2.8. Observation microscopique

Les lames, une fois préparées de cette manière, sont prêtes à être observées au microscope optique, attaché à une caméra de type Euroscan, en utilisant les grossissements suivants : $10 \times 4 = 40$, $10 \times 10 = 100$ et $10 \times 40 = 400$. Les images sont immédiatement détectées et enregistrées sur un micro-ordinateur, puis utilisées pour une étude histopathologique.



Figure 27 : Prise de photos à l'aide d'une caméra « EurmMed » (Originale)

VI. Analyse statistique :

L'analyse statistique des données telles que le poids vif et paramètres biochimiques (TG, CT) ainsi les présentations graphique et histogramme des résultats sont effectuées à l'aide d'un logiciel Graph Pad Prism version 10.

La validité statistique des différences est calculée selon le test paramétrique, celui de Student, qui s'utilise pour comparer deux échantillons indépendants.

La moyenne arithmétique des valeurs individuelles est calculée pour chaque paramètre, suivie par la valeur de l'erreur standard liée à la moyenne : Moyenne $\pm$ ESM.

Résultats et Discussion

Résultats

1. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

Tableau VI : Composés phénoliques de la grenade

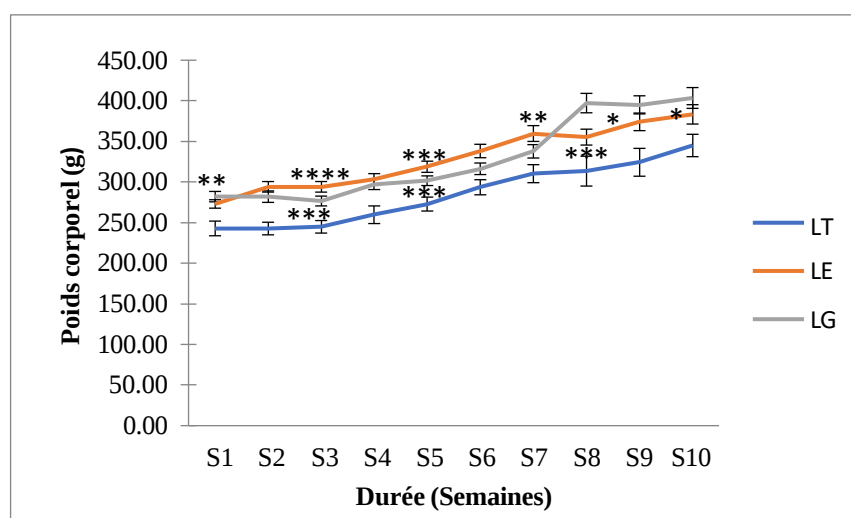
Composés phénoliques	
Polyphénols micro EAG/mg MS	2126,35 ± 79,68
Flavonoïdes micro EQ/mg MS	0,6648 ± 0,010

L'extrait aqueux de grenade *Punica granatum* contient une quantité de polyphénols 2126,35 ± 79,68micro EAG/mg MS, pour ce qui est flavonoïdes, le dosage affiche une quantité de 0,6648 ± 0,010micro EQ/mg MS

2. Poids corporel et paramètres biochimiques

L'évolution du poids corporel ainsi les paramètres biochimiques (TG : triglycérides et CT : cholestérol total) sont mesurés les rats Wistar des trois lots (LT : rats témoin, LE : rats soumis à la diète hyperlipidique et LG : rats traités par l'extrait aqueux de grenade).

2.1. Poids corporel



[LE Vs LT], [LG Vs LE] : P* < 0,05, P** < 0,01, P*** < 0,001, P**** < 0,0001, P***** < 0,00001. LT : lot témoin, LE : lot expérimental, LG : lot traité par l'extrait aqueux de grenade.

Figure 28 : Evolution pondérale chez les rats des trois lots.

Les animaux témoins (LT) montrent un gain de poids progressif enregistrant 8,60% à la première semaine de l'expérimentation, puis celui-ci atteint 7,24% à la troisième semaine. Ces animaux affichent une élévation d'environ 14,93%, 21,72 et 50% durant la cinquième semaine, la septième semaine et la huitième semaine. Enfin, ces rats atteignent un gain de poids considérable, marquant 67,42% à la dixième semaine.

Les animaux nourris de la diète enrichie en l'huile de noix de coco (LE) pendant dix semaines affichent un gain de poids notable et plus rapide environ 19, 21% à la première semaine. Celui-ci atteint 33,004%, à la troisième semaine. Ces rats présentent une augmentation considérable de gain de poids corporel marquant respectivement ; 45,89%, 72,49% et 51,97% durant la 5^{ème}, 7^{ème} et la 9^{ème} semaine de la diète hyperlipidique. A la fin du régime hyperlipidique le gain de poids enregistre 53,28%.

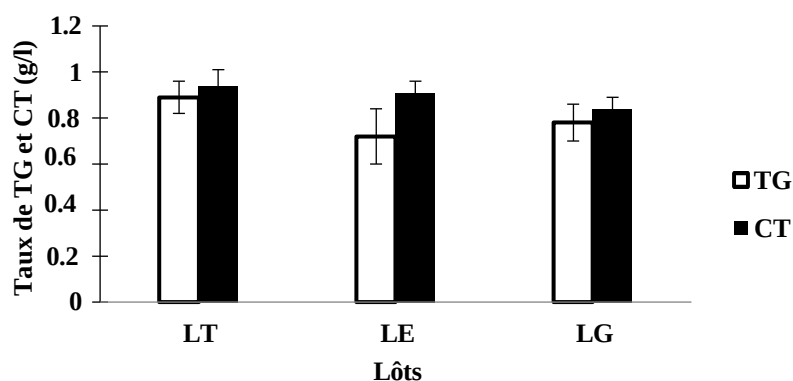
Les rats soumis à la diète hyperlipidique pendant huit semaines (LG) présentent un gain de poids important aussi plus rapide affichant 25,78% au cours de la première semaine. Ce dernier marque 23,37% durant la troisième semaine. Au cours de la cinquième et septième semaine, les gains de poids atteignent respectivement 34,52%, 50,67%. Au cours du traitement par l'extrait aqueux de grenade c'est à dire la 9^{ème} et 10^{ème} semaine le gain de poids augmente notablement notant respectivement 76,18% et 79,75%.

Au cours de la 1^{ère} semaine de la diète hyperlipidique, le poids corporel augmente de manière très significative ($p < 0,01$) chez les animaux du lot **LE** par rapport au lot témoin, puis l'augmentation devient très hautement significative ($0 < 0,0001$) à la 3^{ème} semaine et hautement significatif ($0 < 0,001$) au cours de la 5^{ème} semaine. Cette élévation évolue en très significative ($p < 0,01$) à la 7^{ème} semaine. Enfin, la hausse se maintient significative ($p < 0,05$) respectivement au cours de la 8^{ème}, 9^{ème} et 10^{ème} semaine du régime hyperlipidique (**Figure 28**).

Pareillement, à la 1^{ère} semaine du régime hyperlipidique, le poids corporel augmente de manière non significative ($p < 0,05$) chez les rats du lot LG par rapport au lot LT. L'augmentation devient très significative ($p < 0,01$) au cours de la 3^{ème} et 5^{ème} semaine du régime hyperlipidique. A la huitième semaine, le poids augmente de manière hautement significative ($0 < 0,001$) (**Figure 28**).

Au cours de la 9^{ème} et 10^{ème} semaine de traitement par l'extrait aqueux de grenade, le poids corporel des rats du lot LG augmente de manière non significative ($p > 0,05$) par rapport aux animaux du lot LE (**Figure 28**).

2.2. Paramètres biochimiques



[LE Vs LT], [LG Vs LE] : $P > 0,05$. LT : lot témoin, LE : lot expérimental, LG : lot traité par l'extrait aqueux de grenade.

Figure 29 : Taux plasmatiques du cholestérol total et triglycérides chez les rats Wistar des trois lots.

Le taux de triglycérides plasmatique diminue chez les animaux soumis à la diète enrichie en l'huile de noix de coco (LE) pendant 8 semaines, cette baisse enregistre **-19%**, elle est non significative ($p < 0,05$) par rapport aux rats témoins (LT). L'extrait aqueux de la grenade *Punica protopunica* provoque une augmentation du taux de triglycérides plasmatique par rapport aux animaux soumis à la diète hyperlipidique, cette augmentation affiche **+8.33%**, celle-ci est non significative ($p < 0,05$) (**Figure 29**).

La concentration plasmatique du cholestérol diminue de **-9%** chez les rats du lot témoin (LT), cette baisse est non significative ($p < 0,05$). Le gavage de l'extrait aqueux de *Punica protopunica* induit une baisse de la cholestérolémie d'environ **-16%**, cette baisse est non significative ($p < 0,05$) (**Figure 29**).

3. Planche : Histologie de la glande thyroïde

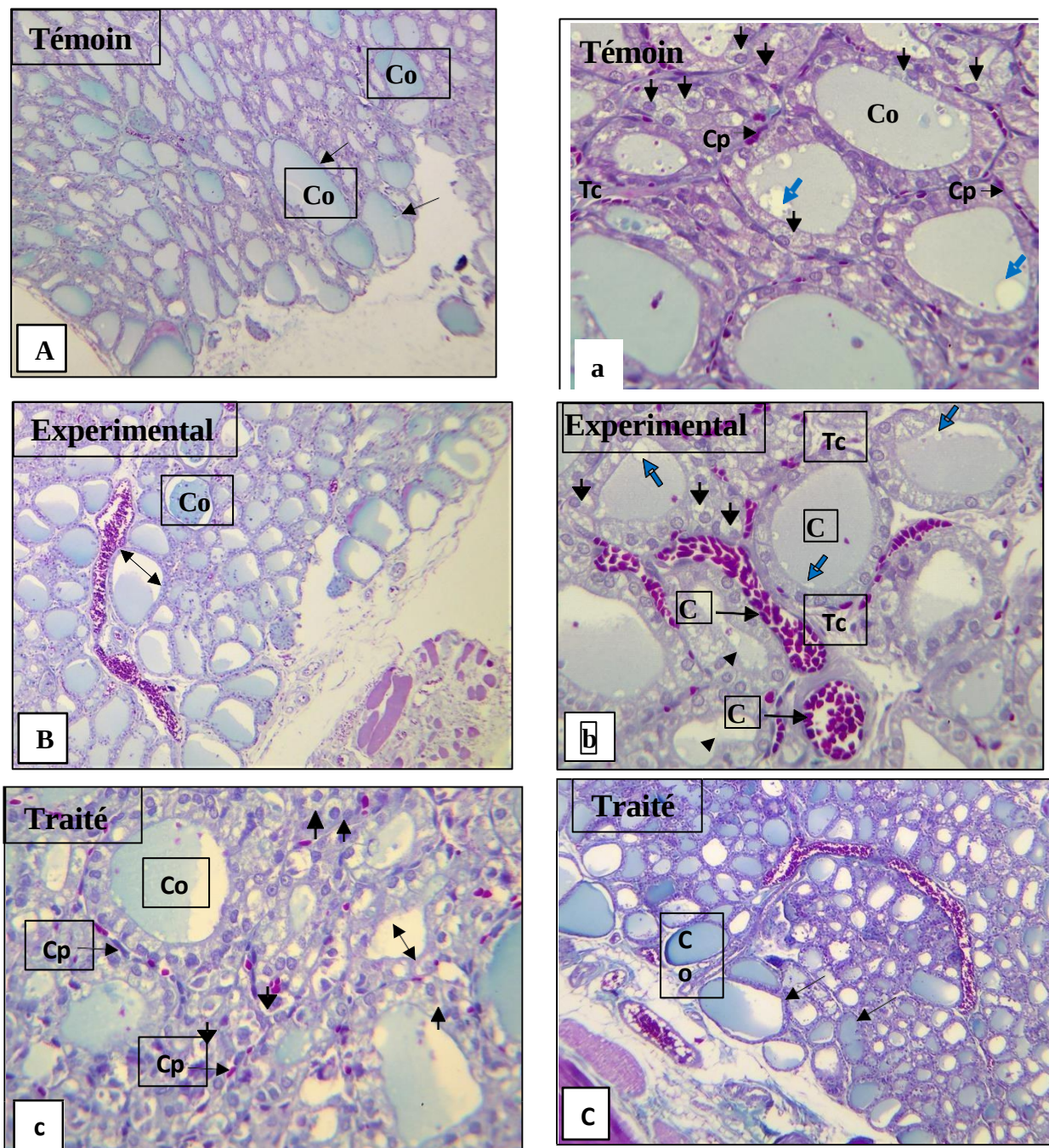


Figure 30 : Coupes transversales au niveau de la glande thyroïde des rats Wistar mâles témoins, soumis à la diète hyperlipidique et traités par l'extrait aqueux de grenade *Punica granatum*. (Originale)

Coloration trichrome de Masson, Photographies **A, B, C** : **GRx40**. Photographies **a, b, c** : **GRx400**

Planche

Photographie A : Coupe transversale de la glande thyroïde de l'animal témoin, coloration trichrome de Masson. → (flèche noire) : follicule thyroïdien, **Co** : colloïde, **GRx40**.

Photographie a : Coupe transversale de la glande thyroïde de l'animal témoin, coloration trichrome de Masson. → (flèche noire épaisse) : cellules parafolliculaires, → (flèche bleue épaisse) : vacuoles de résorption, **Tc** : tissu conjonctif, **Cp** : capillaire sanguin très fin, **Co** : colloïde, **GRx400**.

Photographie B : Coupe transversale de la glande thyroïde de l'animal soumis à la diète hyperlipidique ou expérimental, coloration trichrome de Masson. → (flèche noire) : follicule thyroïdien, **Co** : colloïde, ↔ (flèche de deux sens) : colloïde partiellement utilisé, **GRx40**

Photographie b : Coupe transversale de la glande thyroïde de l'animal soumis à la diète hyperlipidique ou expérimental, coloration trichrome de Masson. → (flèche noire épaisse) : cellules parafolliculaires, → (flèche bleue épaisse) : vacuoles de résorption : vacuolisation **Tc** : tissu conjonctif, **Cp** : capillaire sanguin très dilaté et gorgé du sang, **Co** : colloïde, tête de la flèche noire : follicule déformé **GRx400**.

Photographie C : Coupe transversale de la glande thyroïde de l'animal traité par l'extrait aqueux de grenade *Punica granatum*, coloration trichrome de Masson. → (flèche noire) : follicule thyroïdien, **Co** : colloïde, **GRx40**.

Photographie c : → (flèche noire épaisse) : cellules para folliculaires, **V** : vacuolisation, **Cp** : capillaire sanguin très fin, **Co** : colloïde, ↔ (flèche de deux sens) : colloïde totalement utilisé, **GRx400**.

Histopathologie de la glande thyroïde

L'examen microscopique de la glande thyroïde des rats Wistar témoins montre un parenchyme thyroïdien, constitué de lobules, délimités par du tissu conjonctif, chaque lobule renferme de multiples follicules thyroïdiens, avec des espaces inter folliculaires trop serrés, les follicules apparaissent sous différentes tailles, petits, moyens et gros follicules (**Figure A**).

Au fort grossissement, le follicule thyroïdien contient une couche de cellules folliculaires entourant le colloïde d'aspect homogène, coloré en vert, contenant des vacuoles de résorption. Les thyrocytes ou cellules folliculaires, de forme cubique ou prismatique, contenant un noyau arrondi central, le cytoplasme contient des granulations, des cellules claires se trouvent dispersées entre les thyrocytes, ou en amas entre les follicules. Les cellules parafolliculaires contiennent un gros noyau contenant un nucléole visible, le cytoplasme présente un aspect très clair, renfermant de fines granulations, entre les follicules s'observent des fibroblastes et de très fins capillaires sanguins de type fenestré, contenant des globules rouges (**Figure a**).

Le tissu thyroïdien des rats Wistar mâles soumis à la diète hyperlipidique révèle des modifications structurales importantes : une désorganisation de la structure des lobules, des espaces inter folliculaires larges, représentées par une hyperplasie cellulaire (**Figure B**), des follicules déformés, avec colloïde d'aspect hétérogène de petite quantité, certains follicules sont vides, des thyrocytes désorganisées de forme cubique, des cellules claires ou parafolliculaires avec vacuolisation du cytoplasme, des capillaires sanguins très dilatés et congestionnés contenant des lymphocytes indiquant une inflammation, du tissu conjonctif désorganisé très lâche, formant ainsi une fibrose. (**Figure b**).

La coupe transversale de la glande thyroïde des rats traités par l'extrait aqueux de grenade « *Punica granatum* » illustre des changements notables : structure lobulaire identique à celle des animaux témoins, des follicules de différentes tailles, identiques à ceux des témoins, l'espace inter folliculaire plus étroit, certains capillaires sont congestionnés (**Figure c**). Au fort grossissement, le follicule est constitué de colloïde, partiellement et parfois totalement utilisé par les thyrocytes pour la synthèse des hormones T3 et T4, les cellules ont une forme cubique et parfois prismatique comparables à celles des animaux témoins, le cytoplasme de certaines cellules folliculaires contient des vacuolisations. Pareillement, le cytoplasme des cellules parafolliculaires est totalement dégranulé, des zones nécrotiques s'observent au niveau du parenchyme thyroïdien, aussi de fins capillaires fenêtrés, révélés par la présence des cellules endothéliales et des globules rouges dans la lumière.

Discussion :

1. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux de l'écorce de *Punica granatum* a révélé une teneur élevée en composés phénoliques, estimée à **2126,35 ± 79,68 µg EAG/mg** de matière sèche, ainsi qu'une teneur modérée en flavonoïdes de **0,6648 ± 0,010 µg EQ/mg MS**. Ces résultats confirment la richesse de l'écorce de grenade en composés bioactifs, notamment les polyphénols, connus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et hypolipémiantes. La forte teneur en polyphénols dans l'extrait aqueux s'explique par la bonne solubilité des tanins hydrolysables (comme la punicalagine) dans l'eau, ce qui en fait des cibles facilement extractibles par des solvants polaires.

Par ailleurs, **Li et al. (2006)** ont obtenu une teneur en polyphénols d'environ **2531,8 ± 32,4 µg EAG/mg** dans un extrait méthanolique d'écorce de grenade, soit une concentration légèrement supérieure à celle de notre étude. Pareillement, **Zahin et al. (2010)** ont rapporté une teneur en polyphénols de **2178 mg EAG/100 g** et en flavonoïdes de **328 mg EQ/100 g** dans l'extrait méthanolique de l'écorce de *Punica granatum*. Bien que le solvant d'extraction soit différent (méthanol ou eau), les résultats restent comparables, ce qui suggère que l'extrait aqueux est également capable d'extraire efficacement certains métabolites secondaires.

Cependant, la légère supériorité des extraits méthanoliques est attendue, car le méthanol, en tant que solvant organique polaire, est connu pour sa capacité à solubiliser à la fois les polyphénols et une plus grande diversité de composés phénoliques à poids moléculaire variable.

Les travaux de **Zarfeshany et al. (2014)** ont rapporté que l'extrait hydroalcoolique de *Punica granatum* contenait des polyphénols d'environ **278,9 ± 6,6 mg EAG/g**, une valeur nettement inférieure à celle obtenue dans notre extrait aqueux. Cette différence pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la nature du solvant utilisé (eau dans notre cas, hydroalcoolique), la méthode d'extraction, ou encore l'origine géographique et la variété du fruit utilisé. La composition biochimique d'une plante est en effet fortement influencée par des facteurs environnementaux comme le climat, le sol, ou encore le stade de maturité au moment de la récolte.

Cette variation est cohérente avec les observations de la littérature, qui indiquent que les solvants organiques comme le méthanol sont généralement plus efficaces pour extraire les

composés phénoliques que les solvants aqueux. Néanmoins, l'eau reste un solvant de choix dans les contextes thérapeutiques, alimentaires ou pharmaceutiques, car elle est non toxique, économique, et écologique. Son utilisation permet aussi d'éviter les résidus de solvants organiques dans les extraits destinés à un usage humain.

Concernant les flavonoïdes, la concentration mesurée dans notre extrait aqueux (**$0,6648 \pm 0,010 \mu\text{g EQ/mg}$**) est relativement faible. Les études antérieures de **Siddiqui et al. (2011)** ont noté des teneurs plus élevées, atteignant **$2,35 \pm 0,14 \mu\text{g EQ/mg}$** dans un extrait éthanolique de l'écorce de grenade. Cette différence s'explique par le fait que les flavonoïdes, en particulier les aglycones, sont généralement moins solubles dans l'eau que dans les solvants organiques, ce qui limite leur extraction dans des conditions aqueuses.

De manière générale, ces différences de dosage peuvent être attribuées à divers paramètres : la nature du solvant, la durée et la température d'extraction, les caractéristiques botaniques de la plante, son origine géographique ainsi que le moment de la récolte. **Viuda-Martos et al. (2010)** ont souligné l'impact de ces facteurs dans la variabilité des teneurs en composés bioactifs, rapportant des concentrations de polyphénols allant de 1600 à plus de 3000 $\mu\text{g EAG/mg}$ selon les conditions expérimentales. Par ailleurs, des protocoles non standardisés entre les études peuvent également contribuer aux écarts observés, notamment dans les méthodes de dosage et d'étalonnage.

Ainsi, bien que notre extrait aqueux d'écorce de grenade présente une teneur notable en polyphénols, la faible concentration en flavonoïdes met en évidence les limites de l'extraction aqueuse pour certains types de métabolites secondaires. Cela souligne l'importance du choix du protocole d'extraction en fonction des objectifs thérapeutiques visés. Par exemple, pour des applications ciblant les propriétés antioxydantes générales, un extrait aqueux riche en tanins peut être suffisant ; mais pour des effets anti-inflammatoires ou vasculoprotecteurs liés aux flavonoïdes, l'utilisation de solvants organiques ou de techniques mixtes pourrait s'avérer nécessaire.

2. Poids corporel et paramètres biochimiques

2.1. Poids corporel

Dans la présente étude, les rats soumis à une diète hyperlipidique (lots LE et LG) ont présenté une prise de poids significative, bien plus marquée que les animaux témoins (lot LT). Cette augmentation peut s'expliquer par l'enrichissement du régime en acides gras saturés, en

particulier ceux de l'huile de noix de coco, qui favorisent l'accumulation des triglycérides dans les tissus adipeux et stimulent la lipogenèse hépatique, tout en diminuant la dépense énergétique (**Panchal et Brown, 2011**). Les acides gras saturés ont en effet la particularité d'être rapidement stockés dans les adipocytes plutôt que métabolisés, ce qui contribue à un excédent énergétique et à une hypertrophie du tissu adipeux. Dès la première semaine, les rats du lot LE ont affiché un gain de poids de 19 à 21 %, atteignant 72,49 % à la 7^e semaine. Ces résultats montrent une réponse métabolique rapide à la surcharge lipidique, caractéristique d'une résistance à la leptine, une hormone qui régule la satiété. Lorsque cette hormone cesse d'agir efficacement, l'organisme continue de consommer de la nourriture malgré des réserves suffisantes, ce qui favorise une hyperphagie et empêche la mobilisation des graisses stockées. Cette résistance favorise une hyperphagie et une accumulation excessive de graisses (**Hariri et Thibault, 2010 ; Wang et al., 2020**).

Des résultats similaires ont été rapportés par **Buettner et al. (2007)**, où les rats soumis à un régime riche en graisses pendant 10 semaines ont vu leur poids augmenter de 50 à 60 %. Cette étude a démontré que l'excès de graisses saturées perturbe la sensibilité à l'insuline, favorisant le stockage des lipides dans le tissu adipeux. La résistance à l'insuline empêche une utilisation efficace du glucose par les cellules, obligeant l'organisme à recourir aux lipides pour le stockage énergétique, ce qui accentue la masse grasse. De plus, ces régimes entraînent une modification de l'expression des gènes impliqués dans la régulation énergétique, accentuant la prise de poids. Notamment, l'activation de gènes lipogéniques et l'inhibition de gènes liés à la β -oxydation favorisent un déséquilibre métabolique en faveur du stockage.

Panchal et Brown (2011) ont observé un gain de poids de 65 % chez des rats nourris avec une diète contenant 60 % de graisses pendant huit semaines. Ils expliquent cette prise de poids par l'activation des enzymes lipogéniques et l'inhibition de l'oxydation des acides gras, ce qui conduit à une augmentation nette du tissu adipeux viscéral. Le tissu adipeux viscéral, en plus d'être métaboliquement actif, sécrète des cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-6, qui aggravent la résistance à l'insuline et maintiennent un état inflammatoire chronique délétère pour le métabolisme global. Cette accumulation lipidique est également associée à une inflammation métabolique, qui aggrave la résistance à l'insuline.

Dans le lot LG de notre étude, les rats ont aussi montré une augmentation rapide du poids corporel (jusqu'à 79,75 % à la 10^e semaine), malgré la mise en place d'un traitement par l'extrait aqueux de grenade à partir de la 9^e semaine. Cette absence d'effet significatif du traitement peut être due au retard de l'administration, alors que l'obésité était déjà bien

installée. À ce stade, les dérèglements hormonaux et métaboliques sont souvent irréversibles à court terme, limitant l'impact des interventions antioxydantes tardives. En effet, **Lei et al. (2007)** ont démontré que l'extrait de feuilles de grenade, administré en prévention dès le début d'un régime gras, permettait de réduire le gain de poids de plus de 30 %. Ce résultat est attribué à la capacité des polyphénols à activer les voies AMPK, réduisant ainsi la synthèse des acides gras et favorisant leur oxydation. L'AMPK agit comme un régulateur central de l'énergie cellulaire, activant la combustion des graisses et inhibant leur stockage. En revanche, lorsque le traitement est instauré après l'installation de l'obésité, les effets sont plus limités, comme dans notre cas.

Une autre étude, menée par **Ghorbani et al. (2014)**, a évalué l'effet de l'huile de graines de grenade sur des rats obèses induits par une diète à 45 % de graisses. Ils ont observé une augmentation de poids de 57 % chez les rats non traités, contre une réduction significative chez les animaux recevant l'extrait. Cette réduction s'explique par la présence d'acides gras polyinsaturés et de composés phénoliques, qui réduisent la lipogenèse, améliorent la sensibilité à l'insuline, et régulent les gènes impliqués dans le stockage des graisses. Ces molécules agissent en synergie pour restaurer l'homéostasie métabolique en favorisant la dégradation des lipides et en limitant leur accumulation.

Enfin, les animaux témoins (lot LT), ayant reçu un régime standard, montrent une prise de poids modérée (67,42 % à la 10^e semaine), correspondant à une croissance physiologique normale sans surcharge métabolique. L'absence d'excès lipidique évite les perturbations endocriniennes observées dans les groupes hyperlipidiques, telles que la résistance à la leptine ou à l'insuline. Leur métabolisme énergétique est ainsi resté équilibré, avec une régulation normale de la satiété, de l'utilisation des substrats énergétiques, et de la masse corporelle.

Ces comparaisons montrent clairement que la nature du régime alimentaire, le moment de l'intervention thérapeutique, et la composition en polyphénols et flavonoïdes des extraits végétaux jouent un rôle clé dans la modulation du poids corporel. L'efficacité d'un traitement antioxydant comme l'extrait de grenade dépend donc de la précocité de son administration et de la durée du traitement, comme l'ont confirmé plusieurs travaux antérieurs. L'action préventive est bien plus efficace que l'approche curative tardive dans les troubles métaboliques induits par une alimentation riche en graisses.

2.2. Paramètres biochimiques

Le cholestérol joue un rôle physiologique fondamental dans l'organisme, en intervenant notamment dans la structure des membranes cellulaires, la synthèse des hormones stéroïdiennes, de la vitamine D et des acides biliaires. Cependant, lorsqu'il est présent en excès, il peut perturber l'homéostasie lipidique et favoriser l'apparition de troubles métaboliques. Il agit un peu comme un « agent bloquant » : en s'accumulant, il perturbe le fonctionnement de certaines enzymes digestives appelées lipases, notamment la lipoprotéine lipase (LPL), responsable de l'hydrolyse des triglycérides présents dans les lipoprotéines circulantes. Ces enzymes sont normalement chargées de décomposer les graisses dans le sang pour permettre leur captation et leur utilisation par les tissus périphériques (muscles, foie, tissu adipeux). Lorsque cette activité enzymatique est altérée, la dégradation des triglycérides est ralentie, ce qui prolonge leur présence dans la circulation sanguine. Ainsi, les lipides (principalement les VLDL et les chylomicrons) s'accumulent sous forme de lipoprotéines, entraînant une élévation du taux global de lipides circulants (**Aarati et al., 2015**).

Dans l'expérience un régime riche en cholestérol a conduit à une augmentation des triglycérides plasmatiques (TG), bien que cette élévation ne soit pas significative sur le plan statistique. Les triglycérides constituent une forme de stockage énergétique à long terme dans l'organisme, mais leur excès dans le plasma est un marqueur de déséquilibre métabolique, souvent associé à une surcharge lipidique, une insulino-résistance ou une stéatose hépatique. Ils sont transportés dans le sang sous forme de lipoprotéines (VLDL notamment), car les graisses, hydrophobes par nature, ne peuvent circuler librement dans un environnement aqueux comme le plasma. Une alimentation riche en cholestérol stimule la lipogenèse hépatique, augmentant ainsi la synthèse endogène des triglycérides. Ce processus est principalement régulé par des facteurs de transcription lipogéniques tels que SREBP-1c, qui activent l'expression des enzymes clés impliquées dans la synthèse des acides gras et leur estérification. Parallèlement, l'excès de cholestérol peut également inhiber la dégradation des triglycérides en réduisant l'activité de la lipoprotéine lipase ou en favorisant l'accumulation de VLDL riches en TG.

En somme, le cholestérol agit à la fois comme un inducteur de la production des triglycérides et comme un inhibiteur de leur dégradation, ce qui explique leur accumulation progressive dans le sang. Cette situation reflète un déséquilibre entre l'apport, la synthèse, l'utilisation et l'élimination des lipides, un facteur clé dans le développement de la dyslipidémie et de ses complications associées (**Yang et al., 2006**).

3. Etude histologique de la glande thyroïde

Chez les animaux qui se nourrissent de la diète enrichie en l'huile de noix de coco, la glande thyroïde subit des modifications importantes. Ses petits follicules deviennent irréguliers, avec dominance de gros follicules remplis d'une substance gélatineuse très étirée colloïde. Ces altérations traduisent une hypo-activation de la glande, suggérant une réduction de l'activité de synthèse et de sécrétion hormonale. Les thyrocytes sont petits et parfois aplatis, signe d'une faible activité cellulaire. En effet, dans un état normal, les thyrocytes sont cubiques et actifs, traduisant un échange constant avec le colloïde pour produire les hormones thyroïdiennes. L'aplatissement des cellules indique un ralentissement fonctionnel.

Ces observations sont similaires à celles d'**El-Sayed et Ibrahim (2020)**, qui ont aperçu des follicules remplis de colloïde et des cellules folliculaires aplaties au niveau de la thyroïde des rats nourris de la diète enrichie en lipides. Ce type de remaniement histologique est fréquemment associé à un état d'hypothyroïdie fonctionnelle ou subclinique.

Dans notre étude, les altérations histo-morphologiques observées au niveau de la glande thyroïde des rats soumis à une diète hyperlipidique (RHL) sont similaires à celles rapportées chez des rats hypothyroïdiens, comme le décrivent **Karawya et al. (2015)**. Ces changements traduisent une atteinte structurelle notable de la glande, probablement liée à un déséquilibre du métabolisme lipidique. L'accumulation excessive de lipides peut perturber la fonction mitochondriale et le stress du réticulum endoplasmique, altérant la synthèse hormonale.

De plus, **Han et al. (2012)** ont mis en évidence des altérations comparables chez la souris, confirmant ainsi l'impact délétère du régime hyperlipidique. Ces auteurs soulignent que l'association d'un régime riche en lipides à un excès d'iode provoque des lésions thyroïdiennes plus sévères que l'excès d'iode seul, suggérant un effet synergique néfaste sur la fonction et la structure thyroïdienne.

Chez les animaux ayant reçu une alimentation hyperlipidique, on observe également des cellules folliculaires contenant des noyaux pycnotiques, anormalement petits et foncés, signe de dégénérescence cellulaire. La vacuolisation du cytoplasme observée simultanément reflète une souffrance cellulaire intense. Ces deux anomalies histologiques sont typiques d'un processus apoptotique ou nécrotique en cours. Ces altérations peuvent être liées à la lipotoxicité, un effet toxique des lipides en excès dans l'organisme, souvent observé en situation d'obésité.

Dans nos coupes histologiques, une fibrose (accumulation anormale de tissu conjonctif), une dilatation des capillaires sanguins ainsi qu'une congestion vasculaire ont été mises en évidence. Ces signes indiquent un état inflammatoire chronique localiser, accompagné d'un remodelage tissulaire. Ces altérations sont cohérentes avec les observations d'**Engin (2017)**, qui a décrit que les lipides en excès, lorsqu'ils ne sont pas correctement stockés dans les gouttelettes lipidiques, s'accumulent dans les tissus non adipeux et perturbent leur homéostasie cellulaire.

Les modifications histologiques observées au sein de la glande thyroïde des rats soumis à une diète hyperlipidique, telles que l'infiltration adipocytaire, la fibrose, la congestion, l'infiltration des lymphocytes et la dégénérescence cellulaire, peuvent être interprétées comme des manifestations de lipotoxicité. Cette notion est appuyée par les travaux de **Weinberg (2006)**, qui explique que, dans un contexte d'obésité, la toxicité cellulaire est principalement due à l'accumulation d'acides gras non estérifiés à longue chaîne (NEFA) et de leurs dérivés toxiques, notamment les céramides et diacylglycérols. Ces composés s'accumulent lorsque l'estérification des acides gras est altérée et que la dégradation des triglycérides devient inefficace (**Schröder et Kaufman, 2005**).

Selon **El-Sayed et Ibrahim (2020)**, le nombre de mastocytes est étroitement lié à la fibrose, à l'inflammation macrophagique et à l'activation des cellules endothéliales dans le tissu adipeux en situation d'obésité. Ces observations sont soutenues par **Divoux et al. (2012)**, qui ont rapporté une augmentation significative du nombre de mastocytes dans le tissu adipeux des patients obèses. Ces cellules immunitaires, en sécrétant de l'histamine, des cytokines et d'autres médiateurs pro-inflammatoires, contribuent à un état inflammatoire chronique et à la dégradation progressive des tissus.

Les coupes histologiques de la glande thyroïde des rats traités par l'extrait aqueux de *Punica granatum* ont révélé des améliorations structurelles marquées par une meilleure organisation des follicules, des thyrocytes plus actifs (de forme cubique), une vacuolisation réduite, des capillaires moins congestionnés et une absence de fibrose. Tous ces signes indiquent une restauration partielle de la fonction thyroïdienne. Cette action bénéfique peut être attribuée aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de la grenade, qui permettent de neutraliser les radicaux libres et de réguler les voies de signalisation cellulaires impliquées dans le stress oxydatif.

Des études antérieures ont montré que l'extrait aqueux d'écorce de grenade (*Punica granatum*) possède des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et hypolipémiants puissantes (Reddy et al., 2014 ; Zarfeshany et al., 2014 ; Jafri et al., 2019). Par exemple, Jafri et al. (2019) ont démontré que l'administration orale d'extrait d'écorce de grenade chez des rats soumis à un stress oxydatif entraînait une réduction significative des marqueurs inflammatoires comme le TNF- α et la CRP, ainsi qu'une amélioration du profil lipidique. De plus, Reddy et al. (2014) ont montré que cet extrait, riche en polyphénols, en particulier en flavonoïdes et en tanins, protège les tissus contre les dommages oxydatifs induits par un excès de lipides.

Par ailleurs, plusieurs travaux ont montré que l'extrait aqueux de grenade, riche en composés phénoliques comme les ellagitannins, exerce des effets positifs sur le métabolisme lipidique. En effet, sa consommation entraîne une diminution des taux postprandiaux de triglycérides et d'acides gras libres (NEFA), favorisant ainsi l'orientation du métabolisme vers l'oxydation des lipides plutôt que leur stockage (Lei et al., 2021 ; Akhtar et al., 2020). Cette régulation lipidique pourrait également influencer indirectement l'axe thyroïdien en réduisant la stimulation de la TSH et en stimulant la sécrétion des hormones thyroïdiennes, notamment la T3 et la T4. Ces résultats suggèrent un potentiel thérapeutique de la grenade dans la prévention des troubles métaboliques et hormonaux liés à une alimentation riche en graisses.

Ceci laisse suggérer que le traitement par l'extrait aqueux de *Punica granatum* pourrait corriger les altérations structurelles et fonctionnelles induites au niveau de la glande thyroïde par une diète hyperlipidique. Grâce à sa richesse en antioxydants et en polyphénols, la grenade semble exercer un effet protecteur sur le tissu thyroïdien et améliorer le profil lipidique. Toutefois, des études complémentaires sont nécessaires pour mieux élucider les mécanismes d'action précis de cet extrait et confirmer ses effets à long terme.

Conclusion

Conclusion :

La diète supplémentée de l'huile de noix de coco a induit chez les rats mâles Wistar des modifications importantes marquées par une augmentation significative du poids corporel et une baisse non significative des taux plasmatiques du cholestérol total et des triglycérides. Également la glande thyroïde a subi des altérations structurales considérables, des lobules désorganisés, renfermant des follicules déformés, ses cellules folliculaires et parafolliculaires sont désorganisées, contenant des vacuolisations cytoplasmiques, le colloïde présente un aspect hétérogène, certains follicules sont dépourvus de colloïde, des capillaires sanguins fenestrés dilatés et congestionnés, infiltration des lymphocytes, des zones nécrotiques, des noyaux pycnotiques, une fibrose.

L'extrait aqueux de grenade *Punica granatum* est très riche en composés poly phénoliques et aussi notant une quantité modérée en flavonoïdes, donc l'écorce de grenade est un véritable réservoir de polyphénols, améliorant le profil lipidique, agissant efficacement sur la cholestérolémie, induisant par la suite sa diminution. La triglycéridémie augmente non significativement, illustrant le gain de poids chez ces animaux.

En revanche, le traitement par gavage de l'extrait aqueux de grenade a restauré efficacement l'architecture structurelle du parenchyme thyroïdien, éclairant l'effet antioxydant des polyphénols et flavonoïdes. Ces composés bioactifs diminuent l'inflammation au niveau du tissu thyroïdien, ces effets protecteurs sont notés par des capillaires sanguins fins moins congestionnés, une régression de l'infiltration des lymphocytes, donc ces molécules bioactives exercent des effets bénéfiques protecteurs anti-inflammatoires.

En Perspectives :

Afin d'approfondir ces résultats et mieux comprendre les mécanismes d'action de l'extrait aqueux de grenade, il serait pertinent et intéressant dans l'avenir de :

- Effectuer une étude histochimique sur la glande thyroïde, mettant en évidence ses altérations fonctionnelles.
- Réaliser une étude histologique au niveau des organes cibles, notamment le foie, les reins, ou le tissu adipeux, afin de mieux comprendre les effets systémiques.

- Effectuer un dosage des hormones thyroïdiennes comme la FT3, FT4, aussi des hormones hypophysaires (TSH) pour corréler les modifications histologiques avec le statut endocrinien.
- Isoler et caractériser les molécules bioactives spécifiques telles que l'acide ellagique, les punicalagine, etc., responsables de l'activité observée.
- Utiliser un effectif d'animaux plus important incluant des femelles.
- Tester différentes quantités d'huile de coco,
- Augmenter la dose de l'extrait aqueux de grenade, en prolongeant la durée d'exposition et en changeant aussi la voie d'administration, utilisant la voie d'injection intrapéritonéale

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

« A »

Ángel C S., Ángel A., & Carbonell Barrachina. (2010). Jus de grenade cultivée en Espagne (punicalagine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade, dans l'alimentation fonctionnelle du futur), p. 13–34.

Abdel-Moneim A.E. & al. (2021). Thyroid gland as a target of oxidative stress in metabolic syndrome: Protective role of natural antioxidants. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **28** :31788–31798.

Akhtar S., Ismail T., Fraternale D., & Sestili P. (2020). Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. *Food. Chem.*, **320**:126-131.

« B »

Ben Arie R., & Segal N. (1984). The maturation and ripening of the 'Wonderful' pomegranate. *Agric. Sci.*, **109** :898–902.

Benzi F. (1999). L'histoire des plantes en Méditerranée : art et botanique. Éd. Actes Sud, 175 p.

Brouet C. (2011). Les pathologies thyroïdiennes : enquêtes sur le ressenti des Patients. Thèse de docteur en pharmacie. Université d'Henri Poincaré-Nancy 1. France. 152 pages.

Buettner R., Scholmerich J., & Bollheimer L. C. (2007). High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity.*, **15**(4) : 798–808.

« C »

Calin S.A., & Carboneli B.A.A. (2005). La grenade cultivée en Espagne. Punicalagine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans l'aliment fonctionnelle du fruit. Université Miguel Hernandez (EDS), Murcia, Espagne, 77 p.

Campbell N. A., & Reece J.B. (2007). Biologie, chapitre 05 : Anatomie et physiologie animales. France : Pearson Edition. 1400 Pages.

Chakass M. A., & Carbonnier J. M. C. (2007). Étude palynologique de trois variétés du grenadier (*Punicagranatum*) au Liban. *Acta Botanica Gallica.*, **154**:27–42.

Chaudhari S. M., & Desai U.T. (1993). Effects of plant growth regulators on flower sex in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Indian. J. Agr. Sci.*, **63**(1) :34–35.

Chapuis Y. (1997). Anatomie du corps thyroïde. EMC Endocrinologie-Nutrition.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S115519419710244X>.

« D »

Divoux A., Moutel S., & Poitou C. (2012). Mast cells in human adipose tissue: link with morbid obesity, inflammatory status, and diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab* ; **97(9)** :29–63.

Dumont J.E., Maenhaut C., & Roger P.P. (2005). Régulation physiologique et pathologique de la prolifération et de la différenciation des cellules thyroïdiennes par la thyroïdostimuline (TSH) et d'autres facteurs. *Phys. Rev.*, **85(3)** :803–869.

« E »

Evreinoff V. (1957). Contribution à l'étude du Grenadier. Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée.

Elfalleh W. & al. (2022). Biological activities and phytochemical composition of Tunisian pomegranate peels. *J. Food. Meas. Charact.*, **16(1)**:198–208.

El-Sayed S.M. & Ibrahim H.M. (2020). Effect of high-fat diet-induced obesity on thyroid gland structure in female rats and the possible ameliorating effect of metformin therapy. *PUBMED*; **79**:476-488

Engin A.B. (2017). What is lipotoxicity? *Adv. Exp. Med. Biol.*; **960**: 197–220.

« G »

Godet J. (1991). Arbres et arbustes aux quatre saisons. Les guides pratiques du naturaliste. Éditions Delachaux et Niestlé.

Guerrero-Solano J. A., Jaramillo-Morales O. A., Velázquez-González C., O-Arciniega D., Castañeda-Ovando A., Betanzos-Cabrera G. & Bautista M. (2020). Pomegranate as a potential alternative of pain management: a review. *Plants.*, **9(4)** :419.

Guo L. H., Ge D. P., Yuan R. E. N, Dong J. M., Zhao X. Q & al. (2022). L'analyse comparative et l'identification des métabolites secondaires entre les grenades sauvages et cultivées du Tibet (*Punica granatum* L.) en Chine. *J. Agr. Int.*, **21(3)** :736- 750.

Guo, H., Ling, W., Wang, Q., Liu, C., Hu, Y., & Xia, M. (2022). Pomegranate polyphenols and their biological actions. *Nutrients*, **14(6)**, 1200.

Guyton, A. C., and Hall, J. E. (2021). Traité de physiologie médicale (14e éd.). Elsevier Masson

Ghorbani A., Rakhshandeh H., & Sadeghnia H. R. (2014). Potentiating effect of pomegranate seed oil on weight reduction in high-fat diet-induced obese rats. *Physiol. Pharm.*, **18(1)**:49–56.

«H »

Haidari M., Ali M., Casscell S.W., &Madjid M. (2009). Pomegranate (*Punica granatum*) purified polyphenol extract inhibits influenza virus and has a synergistic effect with oseltamivir. *Phyt. Med.*

Han H., Xin P., &Zhao L. (2012). Excess iodine and high-fat diet combination modulates lipid profile, thyroid hormone, and hepatic LDLr expression values in mice. *Biol. Trace. Elem. Res*; **147(13)**:233–239.

Hariri N., & Thibault L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nut. Res. Rev.*, **23(2)**:270–299.

Hazard J., &Perlemuter L. (1990). Endocrinologie. 3ème édition. Masson, Paris

Hmid I. (2013). Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punicagranatum*) : caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais. Thèse de Doctorat, Maroc, 180 p.

Holland D., Hatib K., & Bar-Ya'akov I. (2009). Pomegranate: Botany, Horticulture, *Breeding*. In: Janick, J. (Ed.), Horticultural Reviews, Vol. 35, pp. 127–191. Wiley-Blackwell.

« J »

Jafri L., Aslam B., Jamil A., & Qadir A. (2019). Protective effects of Punica granatum (pomegranate) peel extract against oxidative stress and inflammation in rats. *BMC Complement. Altern. Med.*, **19**:343.

Jafri L., Aslam B., Javed K., & Khan M. M. (2019). A comprehensive review on the pharmacological profile of *Punica granatum* (pomegranate). *J. Drug. Delivery. Therapeutics*. **9(4-s)**:161–168.

« K »

Kamoun P., Lavoinnie A., De Verneuil H., Darmon M., &Demotes-MainardJ. (2003). Biochimie et biologie moléculaire, chap 29 : Molécules informatives. Paris France : Edition Flammarion. *Méd.. Sci.*, 472.

Kandylis P., & Kokkinomagoulos E. (2020). Food applications and potential health benefits of pomegranate and its derivatives., *Foods.*, **9(2)**:122.

Karim-Beguir, A. (2022). Évaluation de l'effet hépato protecteur d'extrait hydroalcoolique d'écorce de Punica granatum L. chez des rats Wistar. Mémoire, Université de Médicament (UMC).

Kumar M., Chandra R., & Shukla A. K. (2021). Pomegranate (*Punica granatum* L.) anatomy and its potential health benefits: A review. *J. Pharm and Phytochemistry.*, **10(1)**: 1963–1970.

Khatun, S. & al. (2022). Impact of high-fat diet on thyroid hormone homeostasis and metabolic profile in experimental models. *Nutr. Metab. Insights.*, **15**:1–12.

Karawya F., Zahran N., & Azzam E. (2015). Is water fluoridation a hidden cause of obesity? Histological study on thyroid follicular cells of albino rats. *Egypt. J. Histol.*; **38(3)**:547–557.

« L »

Lansky E.P., & Newman R.A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J. Ethn. pharmacol.*, **77**:177–206.

Laghari Z H., Mahesar S. A., Sherazi S. T. H., Memon S. A., Mugheri G. A., Shah S. N. Panhwar, T. & Chang, A. S. (2018). Quality evaluation of pomegranate waste and extracted oil. *Inter. Food. Res. J.*, **25(3)**:1295-1299.

Lansky E. P., & Newman R. A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J. Ethnopharm.*, **109(2)**:177–206.

Lee C.J., Chen L.G., Liang W.L., & Wang C.C. (2010). Anti-inflammatory effects of *Punica granatum* Linne in vitro and in vivo. *Food. Chem.*, **118** :315–322.

Lei F., Zhang X. N., Wang W., Xing D. M., Xie W. D., Su H., & Du L. J. (2021). Evidence of anti-obesity and lipid-lowering effects of pomegranate leaf extract in high-fat diet-induced obese mice. *Inter. J. Obesity.*, **45(1)**:126–136.

Li Y., & al. (2021). *Protective effects of Punica granatum peel polyphenols against high-fat diet-induced metabolic disorders in mice.* *Food. Sci. Nutr.*, **9(8)**:4375–4385.

Li Y., Guo C., Yang J., Wei J., Xu J., & Cheng S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food. Chem.*, **96(2)**:254–260.

Li G., Li J., Qin G., Liu C., Liu X. & al. (2023). Caractérisation et analyse de l'expression de la famille UDP glycosyltransférase chez la grenade (*Punicagranatum* L.). *Horticulture.*, **9(1)** :119.

« M »

Mariebe M. (2008). Biologie humaine, Chapitre 09 : le système endocrinien. Paris: Pearson Edition France. 631 Pages.

Mphahlele, R.R. & al. (2023). Phenolic composition and antioxidant potential of pomegranate peel extracts: A comparison between extraction techniques. *J. Funct. Foods*, **105**:105303.

Mirmiran P., Fazeli M. R., Asghari G., Shafiee A., & Azizi F. (2014). Effect of pomegranate seed oil on hyperlipidaemic subjects: A double-blind placebo-controlled clinical trial. *British. J. Nut*, **111**(6):926–932.

« N »

Neurath A.R. & al. (2004). *Punica granatum* (Pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC Infectious Diseases.*, **4**:41.

« O »

Ortiga-Carvalho T. M., Chiamolera M. I., Pazos-Moura C. C., & Wondisford F. E. (2016). Hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Comprehensive Physiology.*, **6**(3):1387-428.

« P »

Panchal S. K., & Brown L. (2011). Rodent models for metabolic syndrome research. *J. Biomed. Biotech.*, 351982.

Planchon G., & Collin E. (1875). Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale. Librairie F. Savy, in Wald E. (2009).

« R »

Rauch R.L. (2006). Taschenlehrbuch histologie. Éditeur : Thieme Georg Verlag. De Boeck. 752 pages.

Reddy M. K., Gupta S. K., Jacob M. R., Khan S. I., & Ferreira D. (2014). Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum L.* *Planta. Medica*, **70**(05):461–467.

Riaz A. & al. (2020). *Pomegranate (Punica granatum L.) peel extracts as natural antioxidants in meat products.* *Antioxidants.*, **9**(6) :486.

Roger T. (2005). *Anatomie comparée des animaux de laboratoire : système nerveux, organes des sens et glandes endocrines.* Éditions Vétérinaires (Éditrégion), **4** :1–13.

Robert E. Smith (2014). Pomegranate: botany, postharvest treatment, biochemical composition and health effects. Nova Science Publishers, p. 23–24.

Ruis A.R. (2015). Pomegranate and the mediation of balance in early medicine. *Critical Food Studies.*, **15**:22–33.

« S »

Saeed M., Naveed M., Bibi J., Kamboh A. A., Arain M. A., Shah Q. A., Alagawany M., El-Hack M. E. A., Abdel-Latif M. A., Yatoo M. & Tiwari, R. (2018). The promising pharmacological effects and therapeutic/medicinal applications of *Punica Granatum L.* (Pomegranate) as a functional food in humans and animals. *Recent Patents on Inflammation & Allergy. Drug. Discovery.*, **12(1)** :24-38.

Sanlaville C.H., & Bensilon C.H. (2012). La physiologie endocrinienne et reproductrice, la glande thyroïde. In : physiologie médicale. 3^{ème} édition. Italie. 301-315

Schmidt C. (s.d.). Thyroïde, les solutions naturelles. Naturopathe Lyon - Cédric Schmidt. Consulté le 1 juillet 2025. Schröder, M., & Kaufman, R. J. (2005). ER stress and the unfolded protein response. *Mutation Research*, 569(1–2), 29–63.

Seeram N., & Schulman R. (2006). Pomegranate: Ancient roots to modern medicine. Ed. Taylor & Francis, 244 p.

Shaygannia E., Bahmani M., Zamanzad B., & Rafieian Kopaei M. (2016). A review study on *Punica granatum L.* *J. Evidence-Based Complem. Altern. Med*, **21(3)** :221–227.

Siddiqui M. Z., & al. (2011). Antioxidant activity of *Punica granatum* peel extract. *J. Medic Plants. Res*, **5(20)**:5083–5089.

Silverthorn D.U. (2007). Physiologie humaine, une approche intégrée, chap 7 : les hormones 4^e Ed. Paris : Pearson Edition France. 992 Pages.

Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2018). Bioactive compounds in pomegranate (*Punica granatum L.*) and their health benefits. *Food Chemistry*, **261**, 75–86.

Spilmon M. (2013). Intérêt de la grenade dans la prévention nutritionnelle de l'ostéoporose : rôle des fractions lipidiques et polyphénoliques, approches physiologiques, cellulaires et moléculaires. Thèse de Doctorat, France, 173 p.

Singh B., Singh JP., Kaur A., & Singh N. (2018). Composés phénoliques comme composés phytochimiques bénéfiques dans la grenade (*Punicagranatum L.*) peel : une revue. *Chim. alim.*, **261** :75-86.

« T »

Tomás I., Henderson B., Diz P., & Donos N. (2010). In vivo oral biofilm analysis by confocal laser scanning microscopy: methodological approaches. In: Méndez-Vilas A., Díaz J. (Eds.), *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*.

Tortora G.J., & Derrickson B. (2018). Anatomie et physiologie. Belgique : De Boeck supérieur. 1 240 pages.

« V »

Valea E.P., Rodrigues do Rego L., Pureza D.D.N., de Barros Silva P.G., Oliveira de Sousa F.F., & al. (2020). Cytogenetic and toxicological effects of Punica granatum Linnaeus fruit peel hydroethanolic extract in mice. *South Afr. J. Botany*.

Viuda-Martos M., Fernández-López J., & Pérez-Álvarez J. A. (2010). Pomegranate and its many functional components as related to human health: a review. *Compre. Rev. Food. Sci. Food. Safety.*, **9(6)** : 635–654.

« W »

Wald E. (2009). Le Grenadier (*Punicagranatum*) : Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Thèse de Doctorat, France, 158 p.

Wang, J. & al. (2023). Hyperlipidemia and thyroiddysfunction: A bidirectional association and implications for management. *Front. Endocrinol.*, **14** :1149087.

Wang J., Zhang L., Wang X., Dong L., & Li X. (2020). High-fat diet-induced obesity leads to decreased leptin sensitivity and hypothalamic inflammation in rats. *Front Endocrinol.*, **11**: 568002.

Weinberg J.M. (2006). Lipotoxicity. *Kidney. Int*;**70(9)** :1560–1566.

Wémeau, J.L. (2010). Les maladies de la thyroïde. Edition Elsevier Masson. p.3, 186, 5, 9

« Z »

Zarfeshany A., Asgary S., & Javanmard S.H. (2014). Potent health effects of pomegranate. *Advanced. Biomed. Res*,**3**:100.

Site web:

Les fruits et légumes frais - Interfel. Grenade :

<http://www.lesfruitsetlegumesfrais.com/fruitslegumes/fruits-exotiques-ettropicaux/grenade/carte-identite>. Consulté le 16/05/2017.

ANNEXES

N°	Titre du tableau	Page
I	Classification botanique du grenadier en 1753 (Wald, 2009)	4
II	Classification botanique du grenadier en 2003.	4
III	Composés phénoliques présents dans Punicagranatum (Singh et al., 2018)	8
IV	Protocole d'étude expérimentale (Originale)	18
V	Compositions chimiques d'huile de coco	19

N°	Titre de la figure	Page
1	Répartition de la grenade dans le monde (Holland et al.,2009)	5
2	Anatomie du fruit de grenade typique et de ses arilles (Kumar et al.,2021)	6
3	Feuilles	6
4	Arbre du Grenadier	6
5	Écorce	7
6	Fleurs	7
7	Fruite	7
8	Vues antérieures de la glande thyroïde (Tortora et Derrickson., 2018)	11
9	Histologie de la glande thyroïde (Ross et al.,2015)	13
10	Aliment granule distribue, spécial pour les rats (Originale).	17
11	Huile de coco utilisée (Originale).	19
12	Fruits et écorce de grenade mure, séchée et réduite en poudre (Originale).	19
13	Etapes de macération à froid (Originale)	20
14	Pesée des rats à l'aide d'une balance (Originale)	21
15	Administration de l'extrait aqueux de l'écorce de la grenade par gavage (Originale).	21
16	Prélèvement (A), collecte (B) et centrifugation (C) du sang (Originale)	22
17	Automate d'analyses biochimiques (Originale)	22
18	La glande thyroïde du rat Wistar mâle (Originale)	24
19	Dosage de polyphénols (Originale).	24
20	Dosages des flavonoïdes (Originale).	25
21	Fixation de la glande thyroïde dans le formol à 10% (Originale).	25
22	Lavage des cassettes (Originale)	26
23	Mise en bloc (Originale).	26
24	Étalement des coupes sur la lame (Originale)	27
25	Obtention des coupes par microtome (Originale)	27
26	Batterie de coloration constituée de différents bains de coloration (Originale)	28
27	Prise de photos à l'aide d'une caméra « Eurmed » (Originale)	29
28	Taux plasmatiques du cholestérol total et triglycérides chez les rats Wistar des trois lots.	32
29	Coupes transversales au niveau de la glande thyroïde des rats Wistar mâles témoins, soumis à la diète hyperlipidique et traités Par l'extrait aqueux de grenade <i>Punica granatum</i> .	32
30	Coupes transversales au niveau de la glande thyroïde des rats Wistar mâles témoins, soumis à la diète hyperlipidique et traités par l'extrait aqueux de grenade <i>Punica granatum</i> . (Originale)	33

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB Blida -1



Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Biochimie

Thème

Effets protecteurs de l'extrait aqueux de la grenade « *Punica granatum* » sur le profil lipidique et l'histologie de la thyroïde chez le rat wistar mâle soumis à une diète hyperlipidique

Réalisé par :

- CHOUCHAOUI Noussaiba
- SAKER Amina

Soutenue publiquement le 10/07/2025 devant le jury d'évaluation composé de :

Nom	Grade/Lieu	Qualité
Mme DJOUAHRA. N	MCB /USDB1	Présidente
Mme ROUAKLF	MCA/USDB1	Examinatrice
Mme BIREM. Z	MCB/USDB1	Promotrice
Mme CHABANE.K	MCB/USTHB	Co-promotrice

Année universitaire : 2024/2025

Mme Rouaki
Rouaki