

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة سعد دحلب البليدة (1)
Université SAAD DAHLEB-Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie
Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV
Filière : Sciences Biologiques

Thème

**Effets bénéfique des graines de chia dans le traitement de la
steatose hépatique provoquée par un régime cafeteria chez le
lapin ITEL V 2006**

Présenté par :
BOUGUERRA Sirine

Soutenu le : 04/07/2024

OUADAH Maroua

Devant le jury :

Nom	Grade/Lieu	Qualité
Mme KADRI F.	MCA /USDB1	Présidente
Mme KANANE A.	MCB/USDB1	Examinatrice
Mme CHAKHMA A.	MCB/USDB1	Promotrice
Mme ZATRA Y.	MCB/USDB1	Co-promotrice

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

En préambule à ce mémoire nous tenons à remercier **ALLAH** le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes du savoir, et de nous avoir donné la force, la volonté et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Au nom de Bouguerra C et Ouadah M. on tient à exprimer nos sincères gratitude et nos remerciements les plus chaleureux à **Mme CHAKHMA A.** et **Mme ZATRA Y.** pour leur accompagnement précieux tout au long de ce parcours et pour leur engagement infailible en tant qu'encadreurs de ce travail.

On tient à exprimer toute notre gratitude à l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail:

Le Docteur **KADRI F.** présidente de jury et Le Docteur **KANANE A.** examinatrice du mémoire

A notre promotion et à tous nos enseignants en particulier ceux de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Blida.

Enfin nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

Je souhaite exprimer ma gratitude envers mon **cher père** pour son aide précieuse, son soutien tout au long de mes études et surtout pour avoir toujours eu confiance en moi.

À **Ma Chère Maman** : Je vous remercie pour vos prières, votre affection et vos efforts déployés pour moi tout au long de mes études.

À **ma sœur** et à mon **frère cher** :

Je leur suis extrêmement reconnaissant pour leur affection, leur soutien et leurs incitations. Je leur souhaite du succès dans leurs études, la bonne chance et le bonheur durant leur vie

À Ma tante: Khira

Qui m'a accompagné durant ce projet

Du fond du cœur je vous remercie pour vos efforts et votre détermination.

Je

vous souhaite succès et bonheur dans votre vie

A Ma très chère famille et à Ma meilleure amie: Manel

Qui m'a donnée la force et le courage, et qui m'a apporté son soutien et ses incessants encouragements que Dieu la garde et la bénisse.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À Mon Cher père:

Merci pour ton aide qui m'a été si précieuse, ton soutien durant toute ma vie étudiante et surtout pour avoir toujours cru en moi.

À Ma Chère Maman:

Merci pour vos prières, votre affection et vos sacrifices faits pour moi tout au long de ma vie d'études.

À Mes chères sœurs wissam, zineb et khadidja et A Mon cher frère abderrahman:

Je suis très reconnaissant pour leur amour, leur aide et leurs encouragements. Je leur souhaite du succès dans leurs études, la bonne chance et le bonheur Durant leur vie

À Mes sources de motivation Roukia et Noussaiba:

Qui m'a accompagné durant ce projet
Du fond du cœur je vous remercie pour vos efforts et votre détermination. Je vous souhaite succès et bonheur dans votre vie

A Mes proches amies Ihcene, Amina et bouchra:

Qui m'a donnée la force et le courage, et qui m'a apporté son soutien et ses incessants encouragements que Dieu la garde et la bénisse.

Liste des tableaux

Tableau I : Mode opératoire du dosage du cholestérol plasmatique	20
Tableau II : Mode opératoire du dosage des triglycérides plasmatiques	22
Tableau III : Mode opératoire de HDL-Cholestérol	23

Liste des figures

Figure 1 : Stéatose hépatique macrovisculaire	10
Figure 2 : Stéatose hépatique microvisculaire 10	
Figure 3 : Graines de chia	13
Figure 4 : Station expérimentale, bâtiment cunicole, de l'université Saâd dahleb Blida	14
Figure 5 : Méthode de gavage du lapin	17
Figure 6: Variations du poids corporel chez les trois lots après 120 jours	30
Figure 7 : Variation du poids du foie chez les trois lots après 120 jours d'expérimentation	31
Figure 8 : Variation de la glycémie moyenne chez les trois lots après 120 jours d'expérimentation	32
Figure 9: Variation de cholestérolémie moyenne chez le lot témoin, expérimental après 120 jours.	34
Figure 10: Taux de HDL-cholestérol chez les trois lots après 120 jours d'expérimentation	35
Figure 11 : Taux de LDL-plasmatique chez les trois lots après 120 jours d'expérimentation	35
Figure 12 : Variation de triglycéride moyenne chez les trois lots après 120 jours d'expérimentation	36
Figure 13 : Taux de Lipide totaux chez les trois lots après 120 jours d'expérimentation	37
Figure 14 : Variation de l'ASAT moyenne chez les trois lots après 120 jours d'expérimentation.	39
Figure 15 : Variation de l'ALAT moyenne chez les trois lots après 120 jours d'expérimentation	40
Figure 16 : Histologie du foie chez le lot T et C et CC Gx40, Gx100	42
Figure 17 : Histologie du foie chez le lot T et C et CC Gx400. Coloration H.E.	43
Figure 18 : Variation des valeurs de la surface dans les trois lots T, C, CC	44

Liste d'abréviations

4-AAP : 4-amino-antipyrine

ABC : Algerian Company for Biotechnology

ALAT : Alanine aminotransférase

ASAT : Aspartate aminotransférase

CAF : Cafétéria

CHC : Carcinome hépatocellulaire

DAG : Diacylglycérol

GK : Glycérol kinase

GPO : Glycérol phosphate oxydase

HDL: High density lipoprotiens

ITELV : Institu technique d'élevage

LDL: Low density lipoproteins

LPL : Lipoprotéine lipase

NAFLD : Non Alcoholic Fatty Liver Disease

NASH : Non alcoholic steatohepatitis

POD : Peroxydase

TG : Triacylglycérol

TGO : Glutamate-Oxaloacetate-Transaminase

TGP : Glutamate-Pyruvate Transaminase

VLDL : Very low density lipoprotein

Résumé

La présente étude rapporte les effets des graines de chia sur les mécanismes sous-jacents aux altérations biochimiques et tissulaire, de la fonction hépatique, causés par un régime cafeteria. A cet effet, nous avons soumis 21 lapins mâles adultes, pendant 16 semaines, aux différents régimes : régime standard (granulés), cafeteria et cafeteria chia. Les dosages biochimiques, évaluant le bilan lipidique et hépatique, ont été effectués par des méthodes colorimétriques tandis que la glycémie est dosée par un glucomètre. Le foie a fait l'objet d'une étude histo-morphométrique utilisant une coloration à l'hémalum éosine. Les animaux soumis aux différents régimes n'ont pas montré de gains du poids corporel ($p > 0.05$) alors que le poids du foie à montrer une sensibilité au grain de chia ($p = 0,039$).

Une hyperglycémie induite par le régime cafeteria ($p = 0,013$) chez le lot cafeteria et un retour à la normale chez le lot cafeteria chia ($p = 0,020$). Une dyslipidémie a été enregistré chez le lot soumis au régime cafeteria ($p = 0,013$) avec un rétablissement chez le lot cafeteria chia ($p = 0,043$). De même, le bilan hépatique à montrer une perturbation significative ($p = 0,013$), alors que les lapins traités au graines chia présentent un retour aux valeurs initiales ($p < 0,05$). L'aspect morphologique du parenchyme hépatique révèle d'importantes altérations induites par le régime cafétéria représentés essentiellement par ballonnement des cellules hépatique sans retour à l'état initiale chez le lot cafeteria chia.

Le régime cafeteria est un modèle efficace pour induire expérimentalement un désordre métabolique alors que les graines de chia représente une bonne alternative pour remplacer les compléments alimentaires pharmaceutiques pour booster le métabolisme.

Mots clés : stéatose hépatique, régime cafétéria, lapins mâles adultes, les graines de chia, bilan lipidique, la glycémie, enzymes hépatiques, histologie, foie.

Abstract

This study reports the effects of chia seeds on the underlying mechanisms of biochemical and tissue alterations in liver function caused by a cafeteria diet. To this end, we subjected 21 adult male rabbits to different diets for 16 weeks: standard diet (pellets), cafeteria, and cafeteria chia. Biochemical assays evaluating lipid and liver profiles were performed using colorimetric methods, while blood glucose was measured using a glucometer. The liver was subjected to histomorphometric study using hematoxylin-eosin staining. Animals on different diets did not show body weight gain ($p > 0.05$), whereas liver weight showed sensitivity to chia seeds ($p = 0.039$). Hyperglycemia induced by the cafeteria diet ($p = 0.013$) was observed in the cafeteria group with a return to normal in the cafeteria chia group ($p = 0.020$). Dyslipidemia was recorded in the cafeteria group ($p = 0.013$) with recovery in the cafeteria chia group ($p = 0.043$). Similarly, liver profile showed significant disruption ($p = 0.013$), while rabbits treated with chia seeds showed a return to baseline values ($p < 0.05$). The morphological aspect of the hepatic parenchyma revealed significant alterations induced by the cafeteria diet, mainly represented by hepatocyte swelling without return to the initial state in the cafeteria chia group. The cafeteria diet is an effective model for experimentally inducing metabolic disorder, while chia seeds represent a good alternative to replace pharmaceutical dietary supplements to boost metabolism.

Keywords : steatosis of liver, cafeteria diet, adult male rabbits, chia seeds, lipid profile, blood glucose, liver enzymes, histology, liver.

تُبلغ هذه الدراسة عن تأثير بذور الشيا على الآليات الكامنة وراء التغيرات الكيميائية الحيوية والأنسجة في وظيفة الكبد الناجمة عن نظام غذائي "كافيتيريا". لهذا الغرض، أخضعنا 21 أرنبًا ذكرًا بالغًا لأنظمة غذائية مختلفة لمدة 16 أسبوعًا. تم إجراء الفحوصات الكيميائية الحيوية التي تقيم موازين الدهون والكبد باستخدام طرق لونية، بينما تم قياس نسبة الجلوكوز في الدم بواسطة جهاز قياس الجلوكوز. خضع الكبد لدراسة هستومورفومترية باستخدام تلوين الهيماتوكسيلين-إيوسين. لم تظهر الحيوانات التي خضعت لأنظمة تم تسجيل ارتفاع في نسبة (p=0.039، في حين أظهر وزن الكبد حساسية لبذور الشيا ((p>0.05 غذائية مختلفة زيادة في الوزن (لدى مجموعة الكافيتيريا، مع عودة إلى الحالة الطبيعية لدى (p=0.013 الجلوكوز في الدم ناجم عن نظام "الكافيتيريا" الغذائي (مع (p= 0.013 تم تسجيل اضطراب دهني لدى مجموعة نظام "الكافيتيريا" الغذائي (. (p=0.020 مجموعة "كافيتيريا الشيا" (، بينما أظهرت (p= 0.013 وبالمثل، أظهر ميزان الكبد اضطرابًا كبيرًا (. (p= 0.043 تعافي لدى مجموعة "كافيتيريا الشيا" (وكشف الجانب المورفولوجي لتسريح الكبد عن تغييرات (p < 0.05 الأرانب التي تم علاجها ببذور الشيا عودة إلى القيم الأساسية (كبيرة ناجمة عن نظام "الكافيتيريا" الغذائي، تتمثل أساسًا في انتفاخ الخلايا الكبدية، دون عودة إلى الحالة الأصلية في مجموعة "كافيتيريا الشيا". يُعد نظام "الكافيتيريا" الغذائي نموذجًا فعالًا لإحداث اضطراب استقلابي بشكل تجريبي، بينما تمثل بذور الشيا بديلًا جيدًا لاستبدال المكملات الغذائية الدوائية لتعزيز عملية الأيض. الكلمات المفتاحية: نظام الكافيتيريا الغذائي، الأرانب الذكور البالغة، بذور الشيا، ميزان الدهون، نسبة الجلوكوز في الدم، إنزيمات الكبد، علم الأنسجة، الكبد.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
I-REGIME ALIMENTAIRE.....	3
I.1 Généralités.....	3
I. 1.2 Régime alimentaire mal sain.....	3
I .1.3 Régimes expérimentaux.....	4
I.1.3.1. Régime riche en graisse.....	4
I.1.3.2. Régimes riches en graisses et en sucres.....	5
I .1.3.3. Régime de cafétéria.....	5
I.1.4 Régime expérimental provoquant la stéatose hépatique.....	6
I.1.5. Maladies liées à l'excès alimentaires.....	7
I.2 FOIE.....	7
I.2.1. Stéatoses hépatiques.....	8
I.2.1.1. Stéatose hépatique non-alcoolique.....	8
I.2.1.2 Stéatohépatite non-alcoolique.....	8
I.2.2. Physiopathologie.....	8
I.2.3. Histopathologie.....	9
I.2.3.1. Stéatose macrovisculaire.....	9
I.2.3.2. Stéatose microvisculaire.....	9
I.2.4 Enzymes hépatiques.....	10
I.2.4.1. Transaminase.....	10
I.3. GRAINES DE CHIA	11
I.3.1. Caractéristiques.....	11
I.3.2. Composition en molécules bioactives.....	11
II MATERIEL ET METHODES.....	13
II .1. Matériel.....	13
II.1.1. MATERIEL NON BIOLOGIQUE.....	13
II.1.2. MATERIEL BIOLOGIQUE	13
II.1.2.1. Animaux et condition d'élevage	13

II.1.2.2. Régime alimentaire	14
II.2. METHODES	14
II.2.1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL	15
II.2.1.1. Répartition des lots.....	15
II.2.1.2. Poids corporel.....	16
II.2.1.3. Prélèvement sanguin.....	16
II.2.1.4. Sacrifice et prélèvement des organes.....	16
II.2.2. TECHNIQUE ANALYTIQUE.....	17
II.2.2.1. Dosage des paramètres biochimique.....	17
II .2.2.1.1. Glycémie.....	17
II.2.2.1.2. Dosage des paramètres lipidiques plasmatique.....	17
II.2.2.1.3. Dosage des enzymes hépatique plasmatique.....	21
II .2.3. Technique histologie.....	22
II.2.4. ANALYSE STATISTIQUE.....	25
III RESULTATS ET DISCUSSION.....	27
III. 1. DONNEES PONDERALES.....	27
III .1.1- Poids corporel.....	27
III.1.2- Poids du foie	28
III. 2. DONNEES BIOCHIMIQUES.....	30
III 2.1 Teneurs non-plasmatiques en glycémie	30
III.2.2 Bilan lipidique.....	31
III.2.2.1 Cholestérolémie.....	31
III.2.2.2 HDL-Cholestérol.....	32
III.2.2.3.LDL.....	33
III.2.2.4 Triglycéridémie.....	33
III.2.2.2.5 Lipide totaux.....	34
III.2.3. Bilan hépatique.....	36
III.2.3.1. ASAT	36
III.2.3.2. ALAT.....	36
III.3. HISTO-MORPHOMETRIE	37
III.3.1 Histologie.....	37
CONCLUSION	42
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	43
ANNEXE	

Introduction

Une alimentation adéquate et équilibrée est essentielle pour maintenir une bonne santé (**OMS et FAO, 2003**). L'alimentation apporte principalement des nutriments tels que les protéines, les glucides et les lipides. L'importance réside dans le fait que ces nutriments fournissent une énergie nécessaire au fonctionnement métabolique de base, ainsi qu'à des besoins spécifiques exprimés à l'échelle des tissus, des cellules et des molécules (**Beaufrer et al., 1999**).

Cependant, la malnutrition peut être causée par une quantité de nourriture inadaptée au besoin (apport calorique insuffisant ou, au contraire, excessif) ou par une qualité médiocre (carences nutritionnelles ou excès de graisses...). Il s'agit donc d'une alimentation qui présente un déséquilibre en termes de qualité et/ou de quantité et qui englobe la dénutrition et la surnutrition (**Ceccon., 2016**).

Ainsi, un régime caractérisé par une forte consommation de graisses, d'aliments d'origine animale, sucres raffinés est souvent appelé "régime occidental" (**Popkin, Adair, & Ng, 2011; Popkin, Nielsen, & Bray, 2004**). Ce type de régime est considéré comme un régime déséquilibré, car la répartition des macronutriments n'est pas adaptée aux besoins de l'homme ce qui est associé à une augmentation du stress oxydatif et de l'inflammation chronique, ainsi qu'à des changements biochimiques et métaboliques majeurs, qui déclenchent une série d'événements associés au développement de comorbidités, telles que la résistance à l'insuline (RI), le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires (**Pozza & Isidori, 2018**) et les stéatoses hépatiques (**Simoes et al., 2020**).

En effet, le régime occidental est la cause principale de maladie hépatique dans les pays occidentaux (**Cassard-Doulier et Perlemuter, 2011**). Les lésions hépatiques observées s'étendent de la stéatose isolée, caractérisée par une accumulation de gouttelettes lipidiques dans le cytoplasme des hépatocytes, réversible et bénigne, à la stéatohépatite (NASH), caractérisé par l'apparition d'infiltrats inflammatoires (**Donnelly et al., 2005**) puis à la fibrose, la cirrhose et au carcinome hépatocellulaire (CHC) (**Kleiner et al., 2005**).

Aujourd'hui, les médicaments d'origine naturelle suscitent un regain d'intérêt

simplement parce qu'ils sont perçus comme une médecine verte et que la médecine verte est toujours supposée être sans danger. Dans cette optique, les plantes demeurent une source essentielle de substances précieuses pour la santé humaine. **(Chanda, 2014)**

De nos jours, l'utilisation de graines est très courante et à la mode en tant que compléments alimentaires ayant des effets bénéfiques sur la santé. Effectivement, parmi les plantes les plus appréciées pour ses propriétés nutritionnelles et médicinales exceptionnelles la chia (*Salvia hispanica L.*) qui constitue une alternative à la nourriture végétale. Ses graines sont récemment devenues l'un des ingrédients alimentaires les plus prisés, offrant de nombreux avantages sur la santé **(Motyka et al., 2022)**. Ces effets positifs découlent de divers composés provenant de diverses molécules bioactives, notamment des composés polyphénoliques (acides phénoliques et flavonoïdes), des caroténoïdes et des huiles essentielles. Ces composés ont démontré différentes activités pharmacologiques, telles que l'activité antioxydante, cytotoxique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, hypolipidémique, hypoglycémique et antiproliférative **(Sehrawat et Singh, 2019)**.

À cet effet, nous nous sommes proposés premièrement d'induire un dysfonctionnement métabolique et des altérations histopathologiques au niveau du parenchyme hépatique engendré par une alimentation riche en glucides et lipides type cafétéria. Secondairement, on a utilisé les graines de chia comme complément alimentaire pour traiter les comorbidités associées aux régimes alimentaires déséquilibrés.

Après de brefs rappels bibliographiques, nous présenterons le matériel et les techniques utilisées dans ce travail. Les résultats obtenus seront discutés à la lumière de la littérature et enfin une conclusion générale clôturera ce mémoire.

Rappel

Bibliographie

I-REGIME ALIMENTAIRE

I.1 Généralités

L'adoption d'un régime alimentaire sain tout au long de la vie contribue à prévenir toutes les formes de malnutrition, ainsi qu'un grand nombre de maladies et pathologies non transmissibles. Pourtant, la production croissante d'aliments transformés, l'urbanisation rapide et l'évolution des modes de vie ont provoqué un changement des habitudes alimentaires. Les gens consomment désormais davantage d'aliments très caloriques, riches en graisses, en sucres libres ou en sel/sodium, et beaucoup ne mangent pas suffisamment de fruits, de légumes et de fibres alimentaires, comme celles apportées par les céréales complètes.

La composition exacte d'une alimentation diversifiée, équilibrée et saine varie selon les besoins individuels (par exemple selon l'âge, le sexe, le mode de vie et l'exercice physique), le contexte culturel, les aliments disponibles localement et les habitudes alimentaires. Mais les principes de base de ce qui constitue un régime alimentaire sain demeurent les mêmes (**OMS, 2003**).

I.1.2. Régime alimentaire mal sain

À l'échelle mondiale, les gens consomment des aliments et des boissons plus riches en énergie (riches en sucres et en graisses) et pratiquent moins d'activité physique. Ce mode de vie représente une alimentation malsaine comptent parmi les principaux facteurs de risque de maladies non transmissibles telles que les maladies cardiovasculaires, les accidents vasculaires cérébraux, le diabète, certains cancers et les maladies hépatiques (**OMS, 2024**). Le mode de vie est influencé par l'alimentation, qui représente jusqu'à 4 % de la charge mondiale de morbidité, ce qui en fait l'un des principaux facteurs modifiables.

Cependant, à mesure que le rythme de vie s'accélère, divers produits de restauration rapide et le développement rapide de l'industrie alimentaire ultra-transformée ont inondé le marché. Les aliments ultra-transformés font référence aux aliments qui ont subi un emballage, une transformation et l'ajout de nombreux additifs, conservateurs, assaisonnements et sucres ajoutés. Ces aliments manquent souvent d'une variété de nutriments tels que des fibres, des vitamines et des minéraux, tout en contenant des quantités excessives de sucre, de sel et de graisses malsaines (**Popkin et al., 2021**).

D'autres éléments liés au style de vie qui sont liés à un risque plus élevé de maladie chronique comprennent le tabagisme, l'indice de masse corporelle et le niveau d'exercice physique. Plusieurs recherches ont mis en relation une alimentation malsaine avec des éléments sociodémographiques ou liés au mode de vie. Une alimentation médiocre a été liée à un niveau d'éducation faible, un revenu faible ou une position professionnelle faible, tandis qu'un niveau d'éducation ou une position professionnelle plus élevée ont été liés à une alimentation saine (**Heidi et al., 2016**)

I.1.3. Régimes expérimentaux

Les modèles animaux sont largement utilisés dans la recherche scientifique pour comprendre l'anatomie, la physiologie, la pathologie et la pharmacologie humaines et animales. La sélection des animaux (espèce, lignée, sexe, âge, etc.) et le régime alimentaire qui leur est proposé sont fondamentaux pour l'expérimentation. La littérature a proposé des formulations de régimes pour simuler différents résultats liés à l'obésité et au désordre métabolique.

I.1.3.1. Régime riche en graisse

Les régimes riches en graisses (High Fat Diet : HFD) contiennent généralement environ 32 à 60 % de calories provenant des graisses. Ce type de régime est utilisé pour générer des modèles de rongeurs obèses. La première description d'une telle intervention nutritionnelle remonte aux années 1940. Des études ultérieures ont révélé que les régimes HFD favorisent l'hyperglycémie et la résistance à l'insuline dans tout le corps, et de nombreux chercheurs ont examiné leurs effets sur la physiologie musculaire et hépatique ainsi que sur la transduction du signal de l'insuline. Sur la base de cette expérience, il est généralement admis que les régimes HFD peuvent être utilisés pour générer un modèle de rongeur valide pour le syndrome métabolique, avec résistance à l'insuline (**Oakes et al., 1997 ; Ahren et al., 1999 ; Lingohr et al., 2002**), ainsi qu'une stéatose hépatique (**Yaqoob et al., 1995**). Aujourd'hui, Les régimes les plus fréquemment prescrits sont les régimes hypercaloriques permet de prise de poids pour retrouver un poids de santé. Il a pour objectif de stimuler l'appétit, d'intégrer des aliments à densité énergétique faible.

I.1.3.2. Régimes riches en graisses et en sucres

Les régimes riches en graisses et/ou en sucre (High Fat (HF)/High Sugar (HS)) ou la combinaison des deux ont été le moyen privilégié pour induire l'obésité et ses pathologies associées (**Kleinert et al., 2018**). Ce type de régime a une grande validité apparente car il induit les mêmes conséquences métaboliques que celles observées chez l'homme, par exemple l'obésité, le syndrome métabolique et un phénotype insulino-résistant. Dans les modèles utilisant des régimes HF/HS, les animaux sont nourris avec des granulés contenant une teneur élevée en nutriments associés à l'obésité, tels que les graisses, le sucre, l'huile et/ou les glucides (**Small et al., 2018**). Ce modèle présente l'avantage majeur, par rapport à d'autres régimes visant à entraîner l'obésité, de permettre à l'expérimentateur de gérer tous les nutriments et l'énergie qu'un animal reçoit. Par exemple, en utilisant un HF/HS, il est possible d'évaluer la quantité, le pourcentage et le type de protéines, de minéraux et de vitamines présents dans chaque granulé, et donc la quantité consommée par chaque animal (**Reinehr, 2018**).

Toutefois, un désavantage important des régimes HF/HS réside dans leur incapacité à reproduire le comportement humain réel. Il est rare que les humains consomment les mêmes aliments ultra transformés avec le même taux de sucre et/ou de graisse que ceux présents dans les pellets HF/HS. Plutôt que cela, ils se nourrissent souvent de produits nocifs en raison de leur saveur, de leur texture, de leur nouveauté et de leur diversité (**McCrickerd et Forde, 2016**).

I.1.3.3. Régime de cafétéria

Les chercheurs ont débuté l'utilisation des régimes CAF pour l'étude de l'obésité dans les années 1970, mais leur popularité a augmenté au cours de la dernière décennie (**Sclafani et Springer, 1976**), l'objectif est de permettre aux animaux de laboratoire d'avoir un accès illimité à une alimentation diversifiée qui comprend des aliments que les humains consomment comme de la malbouffe. Le modèle possède une validité conceptuelle et apparente exceptionnelle. On l'appelle également « régime malbouffe », « régime de supermarché » ou « régime occidental ». Il est important de récapituler les propriétés orosensorielles (telles que l'odeur et la texture) et l'appétence des aliments qui favorisent la surconsommation. En utilisant le régime CAF, les causes métaboliques et comportementales de la consommation de malbouffe sont les mêmes chez les rongeurs et les humains, car les deux partagent la même étiologie (**Kenny, 2011**).

Le modèle CAF semble également avoir une validité évidente en tant que modèle contre l'obésité. On a démontré non seulement qu'il entraîne une augmentation du poids corporel et l'obésité, mais qu'il entraîne également un syndrome métabolique, des symptômes graves du diabète, une inflammation du foie et d'autres troubles métaboliques (**Gomez et al., 2016**). Le régime CAF produit en effet une hyperphagie chez les rongeurs, tout comme celle observée chez les humains consommant de la malbouffe (**Goularte et al., 2012**).

I.3.4 Régime expérimental provoquant la stéatose hépatique

Plusieurs études ont évalués les régimes alimentaires des rongeurs qui provoquent l'hépatostéatose et, dans une certaine mesure, la progression vers la NASH (**Anstee et al., 2006**). Un moyen simple et efficace d'induire la NAFLD chez les rongeurs via l'alimentation consiste à restreindre les nutriments essentiels, tels que la choline et la méthionine, qui sont nécessaires au bon métabolisme des lipides hépatiques. Les mécanismes des lésions hépatiques causées par la restriction de la choline ont été élucidés et incluent des effets sur la synthèse des phospholipides, la sécrétion de lipoprotéines et le stress oxydatif du réticulum endoplasmique (**Corbin et Zeisel, 2012**). Chez le rat, les régimes dépourvus de choline induisent la NAFLD en 10 semaines, ce qui comprend la stéatose, l'inflammation et la fibrose (**Fujita et al., 2010**). Les régimes alimentaires déficients en choline altèrent également la fonction mitochondrial (**Hensley et al., 2000 ; Teodoro et al., 2008**).

Les régimes déficients en méthionine et en choline sont également utilisés pour étudier la NAFLD et produire un phénotype plus grave sur une période de temps plus courte (**Lau et al., 2017**). Ces régimes contiennent généralement plus de 40 % de saccharose et 10 % de matières grasses sous forme d'huile de maïs (**Ibrahim et al., 2016**), ce qui accentue le trafic des lipides hépatiques en favorisant la lipogenèse de novo. Les régimes déficients en méthionine et en choline sont utiles pour l'étude de la progression de la NAFLD vers la NASH, car l'inflammation, l'apoptose des hépatocytes et la fibrose sont plus susceptibles de se développer que lorsque les souris suivent un régime riche en graisses (**Lau et al., 2017**).

Une deuxième façon d'induire la NAFLD chez les rongeurs consiste à ajouter quelque chose en excès à l'alimentation, comme de la graisse, du cholestérol ou du saccharose. Les régimes riches en graisses sont couramment utilisés et contiennent entre 45 % et 75 % des calories sous forme de graisse, la majorité étant du saindoux. Les rongeurs nourris avec un régime riche en

graisses développent à la fois l'obésité et la stéatose et deviennent résistants à l'insuline (**Lau et al., 2017**), et il a été démontré que la résistance hépatique à l'insuline précède le dépôt de graisse dans les tissus périphériques (**Samuel et al., 2004**). De plus, une alimentation riche en graisses chez les souris était associée à une intolérance au glucose, à une augmentation de la leptine et à un métabolisme lipidique dérégulé (**Schattenberg et Galle, 2010**).

I.1.5 Maladies liées à l'excès alimentaires

La surconsommation d'aliments hautement palatables, riches en gras et en sucre appelé régime occidental, en anglais *Western diet*, a fait l'objet de nombreuses discussions dans le domaine de la nutrition. Il s'agit d'un régime alimentaire moderne caractérisé par une consommation élevée d'aliments transformés et raffinés, de viandes rouges et transformées, de sucres ajoutés et de graisses saturées et trans, ainsi que par une faible consommation de fruits, de légumes, de grains entiers et de noix. Les aliments transformés sont des aliments qui ont été modifiés par rapport à leur état naturel, généralement pour augmenter leur durée de conservation ou améliorer leur goût. Ce mode d'alimentation contribue au développement de nombreuses maladies chroniques, notamment l'obésité, les maladies cardiovasculaires, l'hypertension, les accidents vasculaires cérébraux, le diabète de type 2, le syndrome métabolique, certains cancers et peut-être certaines maladies neurologiques. De plus, une condition médicale, lorsqu'elle est présente, contribue souvent au développement d'autres conditions médicales, telles que l'impact de l'obésité ou de l'excès de poids/graisse corporelle comme facteur de risque de maladies telles que le diabète de type 2, la NAFL (**Mouzaki, M. ; Allard, 2012**), l'hypertension, le syndrome métabolique et certains cancers (**Gropper, 2024**).

I.2. FOIE

Le foie est un organe noble qui assure des fonctions vitales, situé dans la partie supérieure droite de la cavité abdominale. Le parenchyme hépatique est organisé en lobules (unité fonctionnelle du foie), comportant différents types de cellules : les hépatocytes (90%) : assurent les grandes fonctions hépatiques, les cellules de Kupffer: impliquées dans la réponse inflammatoire et les cellules étoilées (stellaires) qui assurent le stockage des lipides et des

vitamines liposolubles, et participent à la synthèse de la matrice extracellulaire (**SEMRA, 2021**). Le foie n'est pas épargné, pouvant également souffrir de cette situation avec le développement potentiel d'une maladie appelée maladie stéatosique non-alcoolique du foie (NAFLD) caractérisée par un excès de graisse intra-hépatique (**Francque et al., 2018**).

II.2.1. Stéatoses hépatiques

La stéatose hépatique est définie par un excès de graisse au sein des cellules du parenchyme hépatique (les hépatocytes), à savoir plus de 5 % du poids du foie ou plus de 5% des hépatocytes chargés de gouttelettes lipidiques à l'histologie. L'accumulation de graisse au sein du foie, principalement sous forme de triglycérides, Les deux sources principales d'apport d'acides gras libres dans la circulation (et donc dans le foie) sont l'alimentation et la lipolyse des triglycérides stockés au niveau du tissu adipeux (**Lanthier et al., 2014**).

I.2.1.1. Stéatose hépatique non-alcoolique

La nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) est un ensemble de pathologies qui se définit par une accumulation de lipides, supérieur à 5% du poids du foie, sans qu'une consommation excessive d'alcool soit en cause. La forme la plus courante de stéatose hépatique (**Sanches et al., 2015**).

I.2.1.2. Stéatohépatite non-alcoolique

La stéatohépatite non-alcoolique (NASH) ou stéatohépatite non-alcoolique, est définie par l'association d'une stéatose et d'une activité inflammatoire qui comprend une infiltration de cellules inflammatoires (dont des macrophages, des lymphocytes, voire des cellules polynucléaires neutrophiles) (**Bedossa et Patel, 2016**). Il s'agit d'une forme plus sévère de NAFLD caractérisée par une souffrance des hépatocytes (appelée ballonnisation) (**Lanthier, 2018**).

I.2.2. Physiopathologie

La NASH est considérée comme la manifestation la plus sévère histologiquement de la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD), définie comme une accumulation de graisses dans

le foie représentant plus de 5% du poids du foie. La stéatose hépatique non alcoolique englobe différentes affections, allant de la stéatose hépatique à la SHNA, une affection qui se caractérise par une accumulation de lipides qui entraîne une inflammation et des lésions cellulaires hépatiques, pouvant entraîner la cirrhose (**Powell et., 2021**).

I.2.3. Histopathologie

Les composants histologiques clés de la NASH sont la stéatose, le ballonnement des hépatocytes et l'inflammation lobulaire ; la fibrose ne fait pas partie de la définition histologique de la NASH. Cependant le degré de fibrose lors d'une biopsie hépatique (stade) est considérée comme étant un facteur prédictif dans le pronostic, tandis que le degré d'inflammation et de nécrose (grade) ne le sont pas. (**Douglas et al 2012**).

On distingue deux type de stéatose, en fonction de la morphologie et de la taille des gouttelettes lipidiques : la stéatose microvisculaire et la stéatose macrovisculaire (**Brunt., 2001**).

I.2.3.1. Stéatose macrovisculaire

Est la plus fréquente, où les gouttelettes de stéatose refoulent le noyau en périphérie de la cellule et peuvent à l'extrême provoquer la formation de Kyste graisseux (**Emile., 2010**).

I.2.3.2. Stéatose microvisculaire

Est rare, où le noyau reste central et/ou les vacuoles sont très petites et elles peuvent être difficiles à voir. Certaines étiologies en sont plus volontiers à l'origine : stéatose aigue Figure

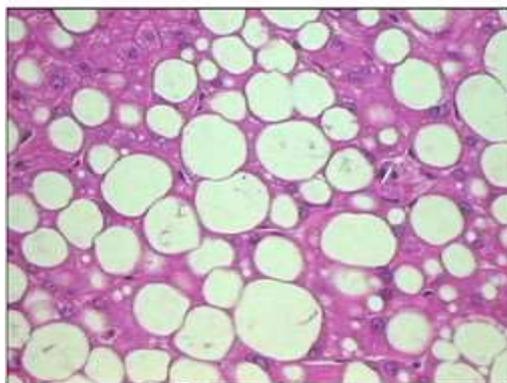


Figure 1 : stéatose hépatique macrovisculaire (Centre Hépto-Biliaire, 2014)

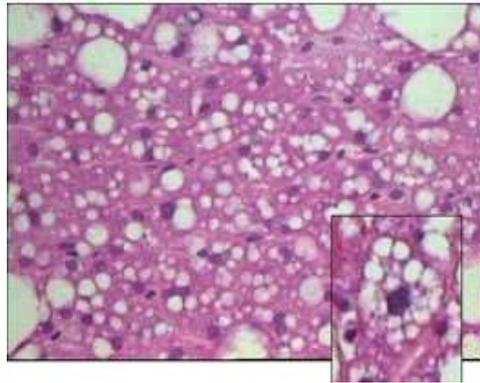


Figure 2 : stéatose hépatique microvisculaire (Centre Hépto-Biliaire, 2014)

I.2.4. Enzymes hépatiques

I.2.4.1. Transaminases

Les transaminases sont des enzymes présentes dans le cœur, le foie, les reins et le muscle. Elles jouent un rôle important dans le métabolisme des protéines. Les transaminases jouent un rôle crucial dans la synthèse des protéines. Les acides aminés sont les éléments de base des protéines, et la réaction catalysée par les transaminases est l'un des premiers pas pour la synthèse de nouvelles protéines. Les transaminases sont donc essentielles pour la croissance et la réparation des tissus, ainsi que pour le maintien de la fonction cellulaire normale. Leur rôle principal est de catalyser la conversion des acides aminés en composés appelés cétoacides. Cette réaction est essentielle pour la synthèse de nombreuses protéines et la production d'énergie dans les cellules. On les appelle aussi les aminotransférases. On distingue :

- Aspartate-aminotransférase (ASAT) ou anciennement appelés transaminase glutamo-oxaloacétique (TGO).
- (alanine-aminotransférase (ALAT) ou anciennement (transaminase glutamo-pyruvique) : essentiellement dans les cellules du foie (TGP).

Il n'existe pas de corrélation entre le degré d'élévation des taux d'enzymes hépatiques et le profil histologique. Contrairement à ce qui se passe dans l'hépatite alcoolique, les taux d'ALT tendent à être plus élevés que les taux d'AST (**Deschenes, 2002**).

I.3. GRAINES DE CHIA

I.3.1. Caractéristiques

Les graines comestibles du Chia proviennent d'une plante herbacée annuelle (*Salvia hispanica L.*) appartenant à la famille des lamiacées. Elle est originaire du centre du Mexique jusqu'au nord du Guatemala. Cette plante peut atteindre 1m de hauteur. Ses feuilles striées, portées par un pétiole, mesurent 4 à 8 cm de longueur et 3 à 5 cm de largeur (**Munoz et al., 2013**). Ses tiges sont quadrangulaires, ses fleurs blanches ou bleues sont bisexuées, de 3–4 mm de diamètre, poussant en verticilles à l'extrémité des pousses. Après avoir soufflé excessivement, le chia forme des fruits ronds, contenant de nombreuses petites graines de forme ovales de 2 mm de longueur et 1 mm de largeur (**Da silva et al., 2014**). La surface de la graine est lisse, brillante, de couleur allant du blanc au gris au brun, avec des taches noires irrégulièrement disposées (**Di sapio et al., 2012**). Le parfum des graines est doux, elles ont un léger gout de noisette imperceptible.

I.3.2. Composition en molécules bioactives

Les graines de chia se voient attribuer une valeur nutritive élevée, notamment grâce à leur teneur élevée en fibres alimentaires et en graisses. En termes de teneur en fibres alimentaires, les graines de chia dépassent les fruits secs, les céréales ou les noix (**Figure**). Le profil des acides gras est particulièrement intéressant. Il se caractérise par une teneur élevée en acides gras polyinsaturés, principalement en acide linoléique (ALA). Les acides linoléique, oléique et palmitique sont présents en moindre quantité. Les graines de chia ont une plus grande teneur en acides oméga-3 que les graines de lin. Les graines de chia sont également une bonne source de protéines végétales. Les analyses de la composition en acides aminés ont confirmé la présence de 10 acides aminés exogènes (essentiels), parmi lesquels les teneurs les plus élevées étaient pour l'arginine, la leucine, la phénylalanine, la valine et la lysine. Les protéines des graines de chia sont également riches en acides aminés endogènes (non essentiel), principalement les

acides glutamique et aspartique, l'alanine, la sérine et la glycine. Les graines de chia sont sans gluten et peuvent donc être consommées par les patients cœliaques. De plus, les graines de chia fournissent de nombreux minéraux, phosphore, calcium, potassium et du magnésium trouvé en plus grande quantité. Des études ont également confirmé la présence de certaines vitamines, principalement la vitamine B1, la vitamine B2 et la niacine. Les graines de chia sont également une riche source de groupes particulièrement intéressants de phytoconstitués caractérisés par une activité biologique élevée comme les polyphénols. Par ailleurs, il a été constaté que les graines de chia contiennent également des tocophérols : tocophérol (8 mg/kg de lipides), α -tocophérol (422 mg/kg de lipides) et β -tocophérol (15 mg/kg de lipides) (**Kulczyński et al., 2019**). Parmi la diversité des composés qui peuvent être présents dans toutes les variétés de graines de chia, les antioxydants sont sans aucun doute parmi les plus importants. Les antioxydants présents dans le chia sont de nature phénolique et peuvent être sous forme libre ou liés aux sucres par des liaisons glycosidiques, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau. Les composés phénoliques les plus importants sont les acides chlorogénique et caféique, et les flavanols myricétine, quercétine et kaempférol (**Valdivia-López et Tecante, 2015**). Les composés polyphénoliques sont les complexes les plus importants qui contribuent à l'activité antioxydante des graines de chia. Il est bien connu qu'ils ont la capacité de piéger les radicaux libres, de chélater les ions et de donner des hydrogènes (**Felício et al., 2017**).



Figure 3 : Graines de chia (à gauche) et graines de chia après trempage (à droite) (**Din et al., 2021**)

MATERIEL

ET

METHODES

La présente étude a été réalisée au niveau de la station expérimentale de l'université Saâd Dahleb Blida1, dans le bâtiment cunicole. L'expérimentation animale a porté sur le lapin mâle adulte de la souche synthétique dite ITELV 2006, sur une période de six mois, du septembre 2023 au mars 2024. L'étude histologique a été réalisée au niveau du laboratoire d'anatomo-pathologie de l'hôpital de Kolêa, les dosages biochimiques ont été réalisés au niveau du laboratoire PFE de la faculté SNV de Blida 1 et le laboratoire d'analyses biochimiques de l'hôpital de Meftah.

Ce travail de recherche a pour objectif de :

D'abord, c'est de provoquer un désordre de la fonction hépatique par soumission de l'animal à un régime type cafétéria.

En second lieu, recherché les effets bénéfiques des graines de chia dans le traitement des dysfonctionnements hépatiques.



Figure 4 : Station expérimentale, bâtiment cunicole, de l'université Saâd dahleb Blida1

II.1. MATERIEL

II.1.1. MATERIEL NON BIOLOGIQUE

Le matériel non biologique utilisé dans la présente étude, comme : verreries appareillage, solutions et réactifs, sont résumés dans annexe 1.

II.1.2. MATERIEL BIOLOGIQUE

II.1.2.1. Animaux et condition d'élevage

Notre étude a été réalisée sur des lapins mâles adultes, avec un effectif de $n = 21$. L'ensemble des animaux provienne de la souche synthétique dite ITLEV qui a été créé à partir de la souche INRA 2666 sélectionnée pour sa prolificité (GACEM et BOLET, 2005).

L'âge des animaux au début de l'expérimentation est 15 mois et d'un poids corporel compris entre 2,9 et 3,7 kg. Dès le premier jour de l'expérimentation, les animaux ont été pesés et placés dans des cages individuelles (**figure 1; annexe 1**) et chaque cage est équipée d'une mangeoire individuelle ainsi qu'un système d'abreuvement automatique permettant d'avoir de l'eau *ad libitum*. Les lapins ont été soumis à une période d'acclimatation, d'environ une semaine, dans une cellule destinée à l'engraissement pour qu'ils s'adaptent aux nouveaux régimes et aux manipulateurs, afin d'éviter la perturbation des animaux qui peut être un facteur modulant les résultats.

Au cours de toute l'expérimentation, les animaux ont été soumis à une température ambiante de 17-28°C et à un régime photopériodique, cycle lumière /obscurité, naturel selon les saisons (conception de la cellule avec une toiture en plaque éternit translucides assurant une ventilation naturelle du bâtiment et permettant en même temps le passage de la lumière).

Toutes les expériences ont été menées conformément à la législation algérienne de la protection des animaux d'expérimentation utilisées à des fins scientifiques [loi n°12 - 235/2012; décret n°10-90].

II.1.2.2. Régime alimentaire

Deux régimes alimentaires ont été utilisés dans cette étude:

a) Régime standard de laboratoire: c'est les granulés, un régime alimentaire régulier et certifié pour les lapins, est utilisé en tant que régime de contrôle. Cet aliment est fourni par l'unité de fabrication de l'aliment de bétail (Ouchefoun, Khemis Elkhachena, Wilaya de Boumerdes), dont la composition se trouve en **annexe 1; figure 2; tableau 2**

b) Régime cafeteria: les différentes composantes de ce régime sont achetées en supermarché (**Figure 9; Annexe 1**).

Ce régime correspond à 6 variétés d'aliments (chips, chocolat, différents types de biscuits, gaufres, cachir). La composition de chaque aliment est représentée en **tableau 1 annexe 1** d'après les informations indiquées par le fournisseur.

Le régime cafétéria est un type de régime qui a été utilisé pour son impact sur l'obésité chez les animaux en expérimentation. Les études ont montré que ce type de régime peut

induire l'obésité en déclenchant l'hyperphagie, ce qui signifie que les lapins consomment plus de nourriture que nécessaire (**Charles Desmarchelier, 2010**).

c) **Graines de chia** : achetés en supermarché (**Figure 10, Annexe1**), utilisées comme complément alimentaire au cours de cette expérimentation.

II.2. METHODES

II.2.1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

II.2.1.1. Répartition des lots

Tous les lapins ont été soumis à un régime standard, à base de granulés, pendant une période d'adaptation de 2 mois. Ensuite, les animaux ont été identifiés et divisés au début d'expérimentation en deux lots (7 lapins pour le lot témoin et 14 lapins pour le lot cafeteria) selon le régime qui sera administré.

- **Lot témoin (T)** : a reçu un régime standard composé de 150g de granulés par jour pendant toute l'expérimentation.
- **Lot cafétéria (C)** : il comporte, au départ, 14 lapins. Après une période d'adaptation, ce lot a reçu un régime composé, quotidiennement, de 33% de granulés (c.à.d 50 g) et 67% de régime cafétéria (c.à.d 100 g) pendant une période de 3 mois. Les 67% du menu cafeteria est composé de chips, biscuits (différents modèles), gaufres (différents modèles), chocolat (différent goûts) et cachir.

Afin de maintenir un menu varié et provoquer ainsi une hyperphagie, les cinq aliments de collation fournis aux lapins ont été remplacés quotidiennement par cinq autres variétés. Les aliments utilisés, pour composer le menu, ont été choisis à l'avance et répartis de telle sorte que les pourcentages de lipides, glucides et protéines varient peu d'un menu à l'autre.

Après les trois mois d'expérimentation, les lapins du lot cafeteria (n = 14) ont été partagés et identifiés en deux lots : un lot cafeteria (C) avec n = 7 et un lot cafeteria chia (CC) avec n = 7.

- **Lot cafétéria +chia (CC)** : à la fin du 3ème mois du régime cafeteria, les graines de chia ont été administré à raison de 5% de la ration alimentaire. Ce lot a reçu quotidiennement et pendant un mois, le régime cafeteria habituel à 95% (143 g), et les graines de chia à 5% (7 g). Les grains de chia ont été administrer au lapin par

gavage dans de l'eau. Ceci consiste à introduire une seringue sans aiguille derrière les incisives et injecté progressivement la solution.



Figure 5 : Méthode de gavage du lapin (photo originale)

II.2.1.2. Poids corporel

Afin de contrôler l'évolution du poids corporel, les animaux ont été pesés régulièrement de manière mensuelle à l'aide d'une balance électronique de marque **ASSILI** d'une capacité de 30 kg.

II.2.1.3. Prélèvement sanguin

Pour l'analyse des paramètres biochimiques, des prélèvements sanguins sont effectués, mensuellement sur les lapins à jeun 12h avant le prélèvement (**Figure 7**), au niveau de la veine latérale de l'oreille. Le sang est prélevé sur des tubes héparine de lithium et des tubes EDTA codifiés pour chaque lapin. Après centrifugation à 3000 t pendant 15 minutes dans une centrifugeuse réfrigérée, les échantillons de plasma ont été repartis en aliquotes et conservés à -20°C jusqu'à la réalisation des différents dosages.

II.2.1.4. Sacrifice et prélèvement des organes

Au terme de l'expérimentation, les animaux ont été sacrifiés par saignée, l'animal est posé en décubitus dorsal avec les pattes écartées. L'ensemble des tissus adipeux inguinal, mésentérique, et rétro-péritonéal ont rapidement été prélevés et pesés. L'organe cible, le foie, est prélevé, pesé puis fixé dans du formol à 10% pour l'étude histopathologique.

II.2.2. TECHNIQUE ANALYTIQUE

II.2.2.1. Dosage des paramètres biochimique

II.2.2.1.1. Glycémie

On a utilisé un glucomètre « BIONIME GM550» pour mesurer la concentration du glucose dans le sang. On met une goutte de sang prélevé à partir de la veine latérale de l'oreille de lapin dans la bandelette de la lecture de la glycémie, et la dose de la glycémie est affichée après 5 secondes.

II.2.2.1.2. Dosage des paramètres lipidiques plasmatique

Dans cette étude, on utilise des kits de dosages commerciaux de la marque « Algerian Company for Biotechnology » (ABC) pour mesurer les paramètres lipidiques et hépatiques.

A) Cholestérolémie totale

➤ Principe

Le dosage des taux sérique de cholestérol est un indice important de la fonction hépatique (**Algerian Company for Biotechnology**)

Utilisation de la méthode colorimétrique le cholestérol présente dans l'échantillon forme un composé colore, suivant les réactions ci-dessous :

1. Les esters de cholestérol sont hydrolyse par le cholestérol esterase en cholestérol et en acides gras libre



2. Le cholestérol libre, y compris celui présent au départ, et ensuit oxyde en cholest-4-en-3-one et peroxyde d'hydrogène par le cholestérol oxydase



3. Le peroxyde d'hydrogéné combiné au phénol et a la 4-Amino-antipirine (4-AAP) en présence de peroxydase (POD) pour forme un chromophore de colore rouge mesurable a 546nm



L'intensité de la couleur rouge produite est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol dans l'échantillon

➤ Mode opératoire

On commence par pipeter dans les tubes à essai 1 mL de blanc plus 10 µL de l'échantillon, après on mélange et on incube pendant 5 minutes à 37 °C ou 10 min à 10-15 °C. La lecture de l'absorbance du standard ou de l'échantillon est faite contre le blanc réactif dans les 30 min à longueur d'onde égale à 340 nm.

Tableau I : mode opératoire du dosage du cholestérol plasmatique

	R	Standard	Échantillon
R	1mL	1mL	1mL
Eau distillée	10µL	-----	-----
Standard	-----	10µL	-----
Échantillon	-----	-----	10µL

➤ Calcul

$$\text{Conc. Cholestérol (g/L)} = \frac{A \text{ Echantillon}}{A \text{ ST}} \times 2$$

A : Absorbance

ST : standart

2 : Concentration du standard en g/L.

B) Triglycidémie

Les triglycirides sont les principaux lipides présents dans le plasma humain. Les autres sont le cholestérol, les phospholipides et les acides gras non estérifiés, ils sont formes par l'estérification du glycérol et des acides gras. (**Algerian Company for Biotechnology**)

➤ Principe

Une méthode colorimétrique a été utilisée pour ce dosage. Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un composé coloré, selon les réactions suivantes :

Les triglycérides sont d'abord hydrolysés en glycérol par la lipoprotéine lipase (LPL), qui est ensuite phosphorylé en glycérol -3- phosphate par l'ATP sous l'action de glycérol kinase. Pour former le dihydroxyacétone phosphate et le peroxyde d'hydrogène ;

l'oxydation du glycérol-3-phosphate est catalysée par la glycérol phosphate oxydase (GPO). Le peroxyde d'hydrogène induit un couplage oxydatif du 4-chlorophénol et de la 4-aminoantipyrine (4-AAP) en présence de peroxydase (POD), pour former un chromophore rouge mesurable à 546 nm.

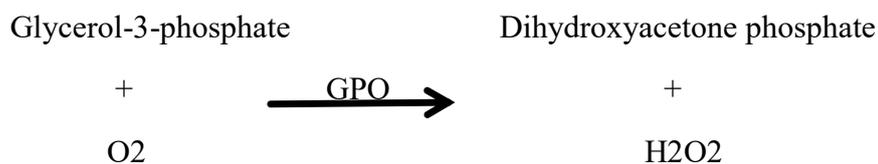
1. Les triglycirides sont hydrolysés par lipoprotéine lipase (LPL) en glycérol



2. Le glycérol est ensuite phosphorylé en glycérol-3-phosphate par l'ATP, la réaction est catalysée par la glycérol Kinase.



3. L'oxydation du glycérol-3-phosphate est catalysée par la glycérol phosphate oxydase (GPO) pour former du dihydroxyacetone phosphate et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)



4. En présence de la peroxydase (POD), le peroxyde d'hydrogène provoque le couplage oxydatif du 4-Chlorophénol et de la 4-Aminoantipyrine (4-AAP) pour former un chromophore de couleur rouge mesurable à 546 nm



➤ Mode opératoire

En commençant par pipeter dans des tubes à essai 1 mL de blanc réactif plus 10 µL de l'échantillon, après on mélange et on incube pendant 5 minutes à 37° C ou 10 min à 10-15°C.

La lecture de l'absorbance du standard ou de l'échantillon est faite contre le blanc réactif dans les 30 min à longueur d'onde égale à 340nm.

Tableau II: Mode opératoire du dosage des triglycérides plasmatiques.

	Blanc	Standard	Échantillon
Réactive	1mL	1mL	1mL
Standard	-----	10µL	-----
Échantillon	-----	-----	10µL

➤ **Calcul**

$$\text{Conc. Triglyceride (g/L)} : \frac{A \text{ Échantillon}}{A \text{ ST}} \times 2$$

A : Absorbance

ST : Standart

2 : Concentration du standard en g/L

C) HDL-cholestérol

a- Principe

Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et faible densité (LDL) du sérum ou plasma sont précipités par le phosphotungstate en présence d'ions magnésium. La fraction du cholestérol HDL est déterminée, après centrifugation, le surnageant contient les lipoprotéines de haute densité HSL qui seront dosées par le réactif cholestérol. (Algerian Company for Biotechnology)

b- Mode opératoire

Le sérum ou le plasma peuvent être utilisés, les seuls anticoagulants acceptables étant l'EDTA et l'héparine. Les échantillons sont stables pendant 7 jours à 2-8°C et 4 jours à 20-25°C.

1ère étape

- Pipeter 500 µl de réactif et 200 µl de l'échantillon dans des tubes de centrifugation.
- Mélanger et incubé à température ambiante pendant 10 minutes.

- Centrifuger à 4000 tr/min pendant 10 minutes.

R	500µl
ECHANTILLON	200µl

2ème étape

- Pipeter 1 ml d'eau distillée et 50 µl de surnageant de l'échantillon dans des tubes à essai.
- Mélanger et incuber à 37°C pendant 5 minutes ou à 20-25°C pendant 10 minutes.

Lecture

- Lire l'absorbance de l'échantillon contre le blanc réactif dans les 60 minutes suivant la préparation.

Cette procédure assure la stabilité des échantillons et une préparation précise pour des résultats fiables.

Tableau III: Mode opératoire de HDL Cholestérol

	Blanc	Echantillon
Eau distillée	50µl	
Surnageant de l'échantillon		50 µl
R (ACB- Cholestérol)	1ml	1ml

c- Calcul

$$\text{Conc. HDL Cholestérol (g/l)} = A \text{ échantillon} \times 5.7$$

D) Calcule du LDL-cholestérol et des lipides totaux

Le calcul du taux de cholestérol LDL repose sur l'équation de **Friedewald**, qui prend en compte les niveaux de cholestérol total, de cholestérol HDL-cholestérol et de triglycérides plasmatiques selon l'équation suivante (**Algerian Company for Biotechnology**) :

$$\text{LDL- cholestérol} = \text{cholestérol total} - \text{cholestérol HDL} - (\text{Triglycérides} / 5)$$

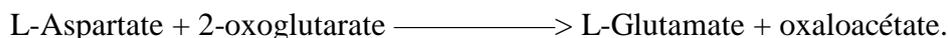
Les lipides totaux (LT) plasmatiques sont estimés par la formule de Rylander et al. (2006) :

$$\text{Lipides totaux (en g/L)} = (\text{Cholestérol total}) \times 2,56 + (\text{Triglycérides}) \times 0,87$$

II.2.2.1.3. Dosage des enzymes hépatique plasmatique

A) Dosage de l'aspartate amino-transférase (ASAT/TGO)

* L'aspartate aminotransférase (ASAT/GOT) catalyse la transformation de l'aspartate en oxaloacétate:



* Par la réaction couplée de la malate déshydrogénase (MDH) et de la coenzyme relative (NADH), l'oxaloacétate est réduit en malate avec la coenzyme d'oxydation.



Le suivi de la réaction se fait en mesurant la vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm due à l'oxydation du NADH en NAD⁺. **(Algerian Company for Biotechnology)**

B- Dosage d'ALAT

* L'alanine aminotransférase (ALAT/ GPT) catalyse la transformation l'alanine en pyruvate:



* par la réaction couplée de la lactate déshydrogénase (LDH) et de la coenzyme relative (NADH), le pyruvate endogène est réduit rapidement et complètement pendant l'incubation, de sorte qu'il n'interfère pas avec la réaction. **(Algerian Company for Biotechnology)**



II.2.3. Technique histologie

La confection des coupes histologiques, permet l'observation des tissus au microscope photonique après une coloration spécifique. Elles comportent plusieurs étapes, rapportées essentiellement dans **Martoja et Martoja (1967) et Gabe (1968)**.

II.2.3.1 Fixation

C'est une étape primordiale qui permet d'immobiliser et de conserver les structures cellulaires et tissulaires dans un état aussi proche que possible du vivant.

L'agent fixateur solidifie le gel protéique qui circule entre les mailles du réseau membranaire limitant le hyaloplasme et les organites. Elle est une étape importante dans la

réalisation des techniques de préparation des échantillons histologiques.

Les organes ou le fragment tissulaire sont plongés dans un volume de forme aldéhyde environ 60 fois supérieur à celui de l'organe, pendant 24 heures. Après fixation, les organes sont transférés dans un liquide conservateur (Alcool 70°) jusqu'à l'étape suivante.

Chaque pièce est accompagnée d'une étiquette portant toutes les indications utiles.

II.2.3.2 Inclusion dans la paraffine

L'inclusion a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Elle consiste à enfermer le fragment tissulaire dans une cassette, en plastique, portant toutes les indications utiles, à la suite de plusieurs étapes qui comprennent:

- **Déshydratation:** La déshydratation a pour but d'éliminer l'eau des tissus afin d'être remplacée par la paraffine, car cette dernière est hydrophobe. Les cassettes contenant le fragment tissulaire à étudier sont mises dans cinq bains successifs d'éthanol de degrés croissants, jusqu'à l'absolu: 70° (1 bain), 96° (2 bains), 100° (2 bains) pendant 30 minutes chacun. La paraffine étant insoluble dans l'eau mais soluble dans les hydrocarbures benzéniques (benzène, toluène, xylène ou butanol).

- **Eclaircissement:** Il permet l'élimination complète des traces d'alcool et l'imprégnation par deux bains de butanol, solvant de la paraffine. La durée du premier bain est de 24 heures, le second bain est d'une durée illimitée.

- **Imprégnation à la paraffine:** Cette étape consiste à éliminer le butanol et le remplacer par la paraffine. Les fragments tissulaires sont placés successivement dans trois bains dans l'étuve à 58°C :

- le premier bain est composé de butanol-paraffine (v/v) pendant 1 heure,

- les deux autres bains composés de paraffine pure (La durée du premier bain est de 4heures, le second bain reste une nuit).

- **Mise en blocs de paraffine :**

Dans cette étape, on utilise des moules en métal (tissus-TEK111) et des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrites les indications de la pièce traitée. La paraffine fondue est versée dans les moules légèrement préchauffés (à 45°C). La pièce à inclure est orientée selon le plan de coupe transversal initié lors du prélèvement des surrénales et déposée dans

la paraffine. On pose ensuite la cassette correspondante sur le moule. Le bloc est refroidi rapidement sur une plaque réfrigérée.

Environ 15 min plus tard, le bloc a, complètement, durci. Détaché du moule, il est prêt à être débité au microtome.

II.2.3.3 Confection des coupes

Le bloc de paraffine est placé sur le microtome (SLEE Medical GmbH/ Type Cut5062, Germany) préalablement réglé à 20µm, afin d'éliminer le surplus de paraffine par rabotage. Lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupe, on ajuste l'épaisseur à 5µm pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans.

II.2.3.4. Etalement des coupes

Sur une lame à bords rodés, les indications de l'organe sont portées à l'aide d'un crayon. A l'aide d'aiguilles, les rubans obtenus sont déposés sur des lames contenant de l'eau distillée et disposées sur une plaque chauffante réglée à 40°C. Après étalement des coupes, les lames sont mises dans l'étuve à 37°C pendant une nuit pour augmenter l'adhérence des coupes aux lames de verre.

II.2.3.5 Coloration

Elle a pour but d'établir le contraste naturel des coupes et de rendre les différents constituants cellulaires et tissulaires plus évidents. La coloration topographique effectuée est le Hémalum éosine.

Avant coloration, les coupes doivent être déparaffinées et réhydratées. Le toluène est utilisé pour le déparaffinage (2 bains de 5 min). La réhydratation est obtenue par passages successifs dans des alcools de degré décroissant (2 bains dans l'alcool à 100°, 1 bain à 96°, et 1 bain à 70°) pendant 5 min chacun.

II.2.3.6 Montage et observation

Une fois colorées, les lames doivent de nouveau être déshydratées par passages dans des bains d'alcool de concentration croissante (70°, 96°, puis 100°), un bain chacun pendant 5 min, et enfin dans 2 bains de toluène pendant 5 min. Le montage est

l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une substance appropriée (Eukitt) au colorant utilisé, une lamelle de verre sur l'échantillon histologique. Les lames sont ensuite nettoyées au toluène et enfin observées au microscope photonique Zeiss.

II.2.4. ANALYSE STATISTIQUE

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de moyennes \pm ESM. La normalité est vérifiée pour toutes les séries. Les graphes sont tracés par Excel. La validité statistique des différences est calculée par l'ANOVA à une voie et le test de Student en utilisant le logiciel SPSS. Le test Tukey est utilisé pour la comparaison *post hoc* entre les groupes expérimentaux. La significativité des différences est retenue au taux de 5%.

- *Moyenne arithmétique (x) des valeurs individuelles*

$$x = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Σx : Somme des valeurs individuelles

n : nombre de valeurs

- *Erreur Standard à la Moyenne (E.S.M)*

$$ESM = \frac{\delta}{\sqrt{n}} \quad \text{avec} \quad \delta = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x)^2}{n-1}}$$

δ : Écart type

x_i : Valeurs individuelles

- *Coefficient de corrélation*

$$r = \frac{p}{\delta x \delta y} \quad p = \frac{1}{n} \sum x_i y_i - xy$$

$$(\delta x)^2 = \frac{1}{n} \sum (x_i - x)^2 \quad (\delta y)^2 = \frac{1}{n} \sum (y_i - y)^2$$

x_i et y_i : valeur individuelle comparées

x et y : moyenne des valeurs individuelle comparées

- *Validité statistique*

La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative si la probabilité « p », lue en fonction du nombre de degrés de liberté ($d.d.l = n_1 + n_2 - 2$) est égale

ou inférieure à 5%.

Si $p > 0,05$: différence non significative (ns).

Si $0,01 < p < 0,05$: différence significative (*).

Si $0,001 < p < 0,01$: très significative (**).

Si $p < 0,001$: hautement significative (***)).

* *

*

Conclusion

Un certain nombre de perturbations métaboliques surviennent en réponse à la consommation d'un régime alimentaire occidental riche en graisses. Ces perturbations métaboliques peuvent inclure le développement progressif de l'hyperglycémie, de l'hyperinsulémie, de l'obésité, du syndrome métabolique, et les stéatoses hépatiques. Le modèle de régime cafeteria pour l'expérimentation animale imite le mieux les habitudes alimentaires humaines que d'autres modèles. L'utilisation du chia, en raison de ses propriétés médicinales et nutritionnelles, pour prévenir et traiter les comorbidités liées à une alimentation déséquilibrée est de plus en plus utilisée.

Dans cette étude préliminaire, nous avons d'abord suggéré d'induire un dysfonctionnement métabolique et des altérations histopathologiques au niveau du parenchyme hépatique en raison d'une alimentation riche en glucides et lipides de type cafétéria. Les grains de chia ont été utilisés comme complément alimentaire pour traiter les comorbidités liées aux régimes alimentaires déséquilibrés.

Au terme de cette étude il ressort :

- ✓ Aucun changement du poids corporel n'a été observé.
- ✓ Le régime cafeteria entraîne une augmentation du poids du foie tandis que les graines de chia le diminuent.
- ✓ Le régime cafeteria perturbe la glycémie, tandis que la consommation de graines de chia permet de la rétablir à la normale.
- ✓ Une dyslipidémie installée par le régime cafeteria et une correction après une consommation des graines de chia.
- ✓ Le régime cafeteria perturbe le bilan hépatique et le bilan hépatique, alors que la consommation des graines de chia aide à les rétablir.
- ✓ Installation de la stéatose hépatique sans inflammation sans correction par les graines de chia.

En perspectives, il serait intéressant de compléter cette étude par :

- ✓ Augmentation de la durée d'expérimentation animale.
- ✓ Extraction et dosage de certains paramètres lipidiques hépatique triacylglycérol (TAG) et de diacylglycérol (DAG)).
- ✓ Recherche de certains marqueurs de l'inflammation tissulaire comme TNF- α ,
- ✓ Augmentation du nombre des individus expérimentés.

Référence :

- 1 Ahren, B., Gudbjartsson, T., Al Amin, A. N., et al (1999) Islet perturbations in rats fed a high-fat diet. *Pancreas* 18 : 75–83.
- 2 Angulo P (2010). Long-term mortality in nonalcoholic fatty liver disease: is liver histology of any prognostic significance? *Hepatology* 2010 ;51 :373–5. Erratum in : *Hepatology* 2010 May ;51(5) :1868. .
- 3 Aref, M., FaragAllah, E.M., Goda, N.I.A (2024). Chia seeds ameliorate cardiac disease risk factors via alleviating oxidative stress and inflammation in rats fed high-fat diet. *Sci Rep* 14, 2940
- 4 Arias-Mutis, O.J., Marrachelli, V.G., Ruiz-Sauri, A., Alberola ,A., Morales, J.M., Such-Miquel, L., Zarzoso, M. (2017). Development and characterization of an experimental model of diet-induced metabolic syndrome in rabbit. *PLoS One*, 12(5), e0178315.
- 5 Ayerza, R., Jr., & Coates, W. (2007). Effect of dietary α -linolenic fatty acid derived from chia when fed as ground seed, whole seed and oil on lipid content and fatty acid composition of rat plasma. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 51(1), 27–34. 10.1159/000100818
- 6 Aziz, T., Ihsan, F., Khan, A. A., ur Rahman, S., Zamani, G. Y., Alharbi, M., ... & Alasmari, A. F. (2023). Assessing the pharmacological and biochemical effects of *Salvia hispanica* (Chia seed) against oxidized *Helianthus annuus* (sunflower) oil in selected animals. *Acta Biochimica Polonica*, 70(1), 211-218.
- 7 Bedossa P (2017) Pathology of non-alcoholic fatty liver disease. *LiverInt*37(1) :85–89.
- 8 Brissot P, Buffet C (2022). Le foie stéatosique non alcoolique : un défi de santé publique. Rapport de l'Académie nationale de médecine
- 9 Burra P, Becchetti C, Germani G (2020) NAFLD and liver transplantation : disease burden, current management and future challenges. *JHEP Rep* 2(6): 100192
- 10 Cardenas. (2017). Régime hypercalorique : bien composer ses menus pour prendre du poids sans risque. Consulté le 2001.
- 11 Carrol,J.F., Dwyer, T.M., Grady,A.W., Reinhart,G.A.,Montani,J.-P., Cockrell,K., Mizelle,H.L.(1996).Hypertension , cardiac hypertrophy,and neurohumoral activity in a new animal model of obesity .*American journal of physiology-Heart and Circulatory Physiology* ,271(1),H373-H378.
- 12 Ceccon, E. (2016). Dénutrition de l'adulte hospitalisé : évaluation et conséquence. Thèse de Doctorat en médecine. Université Paris DIDERONT-PARIS7.France.
- 13 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE et al (2018) The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the Americanassociationfor the studyofliverdiseases. *Hepatology* 67(1):328–357.
- 14 Chicco, A. G., D'Alessandro, M. E., Hein, G. J., Olive, M. E. & Lombardo, Y. B (2009). Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in α -linolenic acid improves adiposity and normalizes hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *Br. J. Nutrit.* 101, 41–50.
- 15 Citelli, M., Fonte-Faria, T., Vargas-Silva, S., & Barja-Fidalgo, C. (2016). Dietary supplementation with chia (*Salvia hispanica* L.) oil reduces the complications caused

- by high fat diet-induced obesity. The FASEB Journal, 30, 907–20. 10.1096/fasebj.30.1_supplement.907.20
- 16** Cohen JA, Kraplan MM (1979). The SGOT/SGPT ratio – An indicator of alcoholic liver disease. *Dig Dis Sci* 1979 ;24 : 835-838.
- 17** Creus A, Benmelej A, Villafa N, Lombardo YB. (2017). Dietary Salba (*Salvia hispanica* L.) improves the altered metabolic fate of glucose and reduces increased collagen deposition in the heart of insulin-resistant rats. *Prostaglandins, Leukotrienes and essential fatty acids*, 121: 30-39.
- 18** Creus, A., Ferreira, M. R., Oliva, M. E., & Lombardo, Y. B. (2016). Mechanisms involved in the improvement of lipotoxicity and impaired lipid metabolism by dietary alpha-linolenic acid rich *Salvia hispanica* L. (Salba) seed in the heart of dyslipemic insulin-resistant rats. *Journal of Clinical Medicine*, 5(2).
- 19** da Silva, B. P., Toledo, R. C. L., Grancieri, M., Moreira, M. E. D. C., Medina, N. R., Silva, R. R., ... Martino, H. S. D. (2018). Effects of chia (*Salvia hispanica* L.) on calcium bioavailability and inflammation in Wistar rats. *Food Research International*, 116, 592–599.
- 20** De Paula Dias Moreira, L., Enes, B. N., de São José, V. P. B., Toledo, R. C. L., Ladeira, L. C. M., Cardoso, R. R., da Silva Duarte, V., Hermsdorff, H. H. M., de Barros, F. A. R., & Martino, H. S. D. (2022). Chia (*Salvia hispanica* L.) Flour and Oil Ameliorate Metabolic Disorders in the Liver of Rats Fed a High-Fat and High Fructose Diet. *Foods* (Basel, Switzerland), 11(3), 285.
- 21** Dickens B, Sassanpour M, Bischoff EL (2023). L'effet des graines de sur le cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL). *Cureus.* ; 15(6) : e40360.
- 22** Dickens B, Sassanpour M, Bischoff EL. The Effect of Chia Seeds on High-Density Lipoprotein (HDL) Cholesterol. *Cureus.* 2023 ;15(6): e40360. Published 2023 Jun 13.
- 23** Dorothee LE Mballa,1 Fanta SA Yadang 2 Lauve RY Tchokouaha Désiré P. Djomeni Dzeufiet , et Gabriel A. Agbor Jean R. Mba, Armelle D. Tchamgoue , Emmanuel M. Biang, Alembert T. Tchinda(2021)Modifications métaboliques et cardiovasculaires induites par le régime alimentaire de la cafétéria chez le rat : le rôle de l'extrait de feuille de *Piper nigrum*
- 24** Enes, B. N., Moreira, L. P., Silva, B. P., Grancieri, M., Lúcio, H. G., Venâncio, V. P., Mertens-Talcott, S. U., Rosa, C. O. B., & Martino, H.S.D. (2020). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) effects and their molecular mechanisms on unbalanced diet experimental studies: A systematic review. *Journal of Food Science*, 85(2), 226–239. 10.1111/1750-3841.15003
- 25** Farooqui, A. A. (2015). High calorie diet and the human brain (pp. 193-218). New York, NY, USA : Springer
- 26** Felício M.R., Silva O.N., Gonçalves S., Santos N.C., Franco O.L. (2017) Peptides with dual antimicrobial and anticancer activities. *Frontiers in Chemistry*, 5, 5
- 27** Henri GIN. (2005). Service de nutrition-diabétologie CHU de BORDEAUX. Maladies métaboliques. Hôpital du Haut-Leveque - 33600 PESSAC.
- 28** Hepatol J (2016). European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), European Association for the Study of

- Obesity (EASO) (2016) EASL-EASD-EASO clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. 64(6) :1388–1402.
- 29 Indian J Pharmacol. Kumar S, Alagawadi KR, Rao MR (2011) Effect of *Argyrea speciosa* root extract on cafeteria diet-induced obesity in rats. *Apr* ;43(2) :163-7..
- 30 Jaume F. Lanza a, Eelke MS (2021) Le régime cafétéria : un protocole standardisé et ses effets sur les comportements NSnoereneurosciences et revues biocomportementales 122) 92-119
- 31 LE Mballa, D., Yadang, F. S., Tchamgoue, A. D., Mba, J. R., Tchokouaha, L. R., M. Biang, E., ... & Agbor, G. A. (2021). Cafeteria Diet-Induced Metabolic and Cardiovascular Changes in Rats : The Role of Piper nigrum Leaf Extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021(1), 5585650.
- 32 Lingohr, M. K., Buettner, R., Rhodes, CJ (2002) Pancreatic bêta-cell growth and survival: a role in obesity-linked type 2 diabetes. *Trends Mol Med*. 8 : 375–384.
- 33 Merzouk S., M.Saker, K.Briksi, N.Soulimane, H.Merzouk, B.Guermouche, A.Yahia Berrouiguet, A.Hichami, NA.Khan, M.Narce (2008). N-3 polyunsaturated fatty acids modulate in vitro T-cell function in diabetic patients. *Lipids*. 43 : 485-497,
- 34 Minuk GY (1998). Canadian Association of Gastroenterology Practice Guidelines : Evaluation of abnormal liver enzyme tests, *Can J of Gastroenterology* 1998 ; 12 : 416-422.
- 35 Murag S, Ahmed A, Kim D (2021) Recent epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease. *Gut Liver* 15(2) :206–216.
- 36 Oakes, N. D., Cooney, G. J., Camilleri, S., Chisholm, D. J., Kraegen, EW (1997) Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding. *Diabetes* 46 : 1768–1774.
- 37 OMS et FAO. (2003). L'alimentation et la nutrition (prévention des maladies chroniques) ;
- 38 Poudyal, H., Panchal, S. K., Waanders, J., Ward, L., & Brown, L. (2012). Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese rats. *The Journal of nutritional biochemistry*, 23(2), 153-162.
- 39 Poudyal, H., Panchal, S. K., Ward, L. C., & Brown, L. (2013). Effects of ALA, EPA and DHA in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(6), 1041–1052.
- 40 Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med* 2000 ; 342 : 1266-1271.
- 41 Rafiq N, Younossi ZM (2009). Nonalcoholic fatty liver disease: a practical approach to evaluation and management. *Clin Liver Dis* 2009 ;13 :249–66.
- 42 Rahim MA, Imran, M., Khan, MK, Ahmad, MH et Ahmad, RS (2022), Impact des conditions opératoires de séchage par pulvérisation sur l'efficacité de l'encapsulation, la qualité oxydative et l'évaluation sensorielle des mélanges d'huiles de chia et de poisson. *Journal de transformation et de conservation des aliments*.
- 43 Rahman Ullah & M. Nadeem1 & A. Khaliq J. Hussain M. Imran & S. Mehmood & A. Javid (2016) Les régimes à base de chia ont considérablement réduit les niveaux de

- triacylglycérol et augmenté la teneur en cholestérol HDL Perspectives nutritionnelles et thérapeutiques du Chia (*Salvia hispanica* L.) : une revue
- 44** Riazi K, Azhari H, Charette JH et al (2022) The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 7(9) :851–861.
- 45** Rossi AS, Oliva ME, Ferreira MR, Chicco A, Lombardo YB (2013). Dietary chia seed induced changes in hepatic transcription factors and their target lipogenic and oxidative enzyme activities in dyslipidaemic insulin-resistant rats. *British Journal of Nutrition.* ;109(9) :1617-1627.
- 46** Sampey B.P., Vanhoose A.M., Winfield H.M., Freerman A.J., Muehlbauer M.J., Fueger P.T., Newgard C.B., Makowski L (2011). Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation : Comparison to high-fat diet. *Obesity.* ;19 :1109–1117.
- 47** Simoes ICM, Karkucinska-Wieckowska A, Janikiewicz J, et al(2020). *Western Diet Causes Obesity-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease Development by Differentially Compromising the Autophagic Response. Antioxidants (Basel).* 2020 ;9(10):995. Published 2020 Oct 15.
- 48** Tavares Toscano L, Tavares Toscano L, Leite Tavares R, da Oliveira Silva CS, Silva AS. Chia induces clinically discrete weight loss and improves lipid profile only in altered previous values. *Nutr Hosp.* 2014 ;31(3):1176-1182. Published 2014 Dec 14.
- 49** Toscano, L. T., Toscano, L. T., Tavares, R. L., da Silva, C. S. O., & Silva, A. S. (2015). Chia induces clinically discrete weight loss and improves lipid profile only in altered previous values. *Nutricion hospitalaria*, 31(3), 1176-1182.
- 50** Valdivia-López M.A., Tecante A. (2015) : A Review of Native Mexican Seed and its Nutritional and Functional Properties. *Advances in Food and Nutrition Research*). Chia (*Salvia hispanica* L.), 75 :53-75. /
- 51** Valenzuela, R., Barrera, C., González-Astorga, M., Sanhueza, J. & Valenzuela, A (2014). Alpha linolenic acid (ALA) from rosacarina, sachainchi and chia oils may increase ALA accretion and its conversion into n-3 LCPUFA in diverse tissues of the rat. *Food Funct.* 5, 1564–1572.
- 52** Valenzuela, R., Barrera, C., González-Astorga, M., Sanhueza, J. & Valenzuela, A (2014). Alpha linolenic acid (ALA) from rosacarina, sachainchi and chia oils may increase ALA accretion and its conversion into n-3 LCPUFA in diverse tissues of the rat. *Food Funct.* 5, 1564–1572.
- 53** Vuksan V, Choleva L, Jovanovski E, Jenkins AL, Au-Yeun GF, Dias AG, Duvnjak L. (2017). Comparaison of flax (*linum usitatissimum*) and Salba-chia (*Salvia hispanica* L.) seed son postprandial glycemia and satiety in health individuals: A randomized, controlled, crossover study. *European journal of clinical Nutrition*, 71(2), 234-238.
- 54** Waruguru, P. (2023). Systematic evaluation of the impact of chia seeds on weight loss. *Journal of Medical and Health Sciences (JMHS)*, 2(1), 87–98.

- 55** Willett WC (1998a) Is dietary fat a major determinant of body fat ? *Am J Clin Nutr* 67(3) : 556S-562. Willett WC (1998b) Dietary fat and obesity: an unconvincing relation. *Am J Clin Nutr* 68(6) : 1149-1150.
- 56** Yaqoob, P., Sherrington, E. J., Jeffery, N. M., et al (1995) Comparison of the effects of a range of dietary lipids upon serum and tissue lipid composition in the rat. *Int J Biochem Cell Biol.* 27 : 297–310.
- 57** Zeeni N, Daher C, Fromentin G, Tome D, Darcel N, Chaumontet C (2013). Un régime de cafétéria modifie la réponse au stress variable chronique chez les rats. *Stress* ; 16(2) :211-9.

Annexe 1

Identification et marquage

Les lapins sont classés de manière spécifique, chaque cage est marquée par une étiquette qui montre une abréviation qui correspond au type de lot.



Figure 1 : marquage des lapin (photo originale)



Figure 2 : aliment des lapins, bouchons et composition (photo originale)



Figure 3 : kits commercial de triglycérique et cholestérol (photo originale).

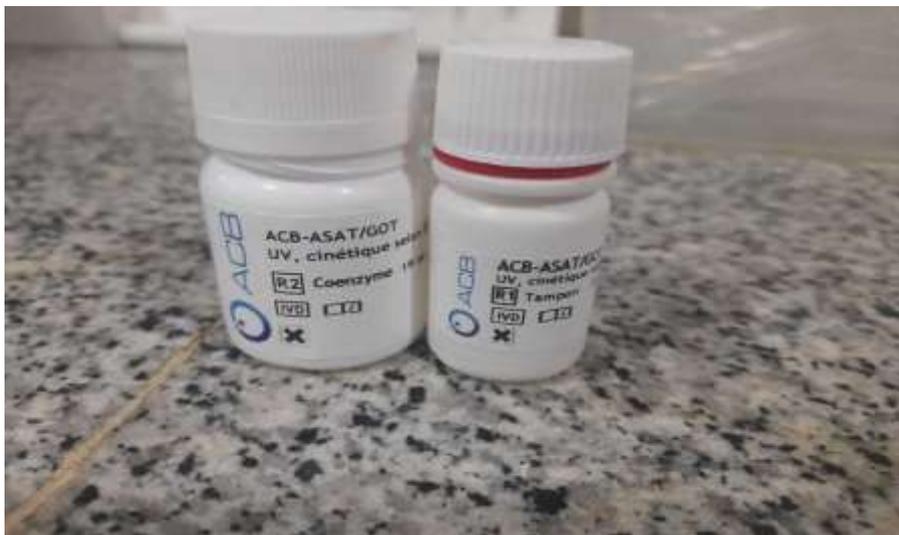


Figure 4 : kits commerciale de l ASAT et de ALAT (photo originale).



Figure 5 : Le spectrométrie



Figure 6 : Micropipette



Figure 7 : incubation des échantillons à 37°



Figure 8 : Classification des tubes



Figure 9 : Régime cafeteria (photo originale)



Figure 10 : les graines de chia

Tableau 1 : Valeurs nutritionnelles moyennes dans 100 g.

	Valeurs énergétique	Lipides	Glucides	Protéines	Fibres	Sel
Chocolat maxon	576,55	36,83	57,42	3,85	ND	0,13
Cherchell pops	270	1,1	60	5,01	ND	ND
Céréale céregale	384	1	88	5,4	1	0,25
Gaufrette coupore	606,84	42,32	5,98	4,51	ND	ND
Gaufrette saumam	605	25	67	8	ND	0,07
Biscuit petit beurre	411,13	11,18	65,83	11,79	0,1	0,1
Chips mahboul	581,5	38,7	51,32	5,03	1,33	1,33
Chips vag d'or	530	34	47	6	0,59	0,59

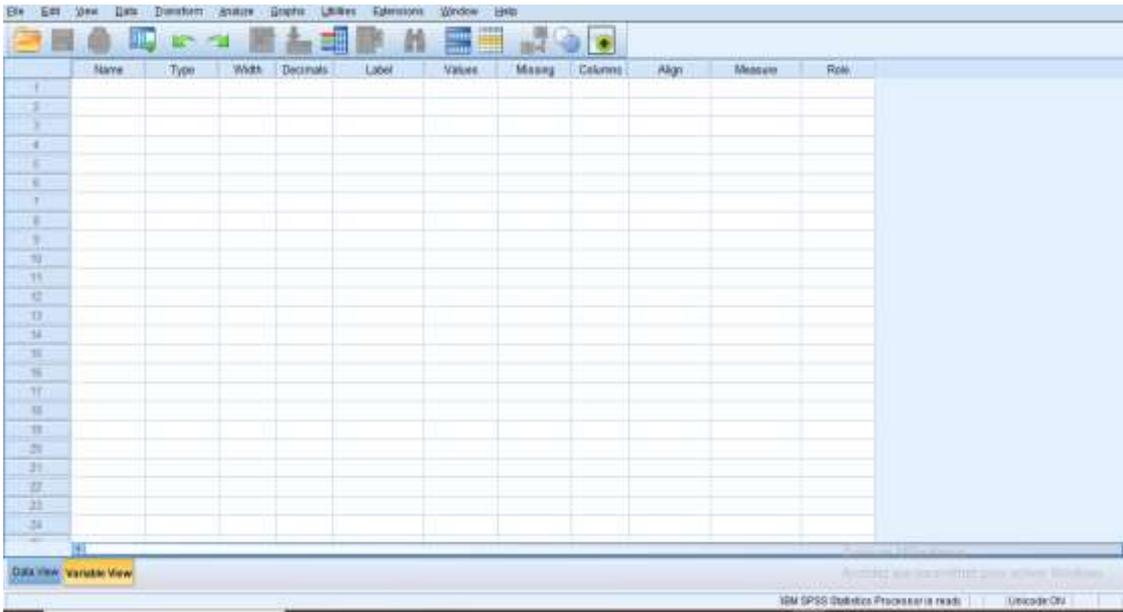


Figure 1 : Une page vide de SPSS

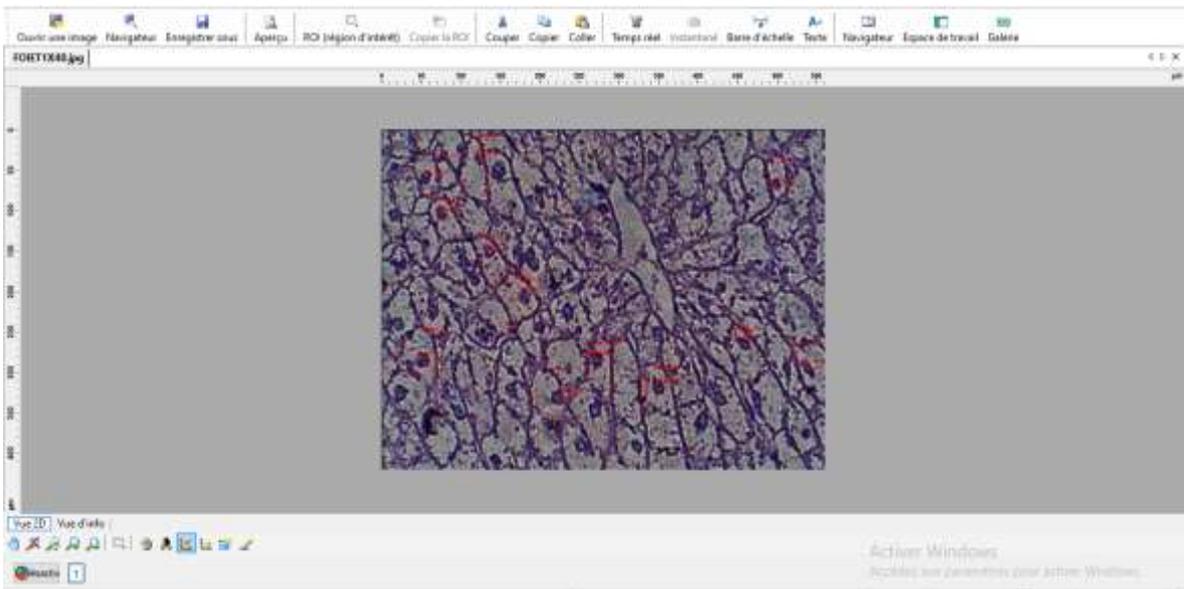


Figure 2 : Une page d'Axio vision