

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université SAAD DAHLEB-Blida 1

جامعة سعد دحلب البليدة 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

Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème

Effet du régime cafétéria suivi d'une supplémentation en graines de chia sur le foie et la rate : aspects structuraux et biochimiques

Présenté par

ACHOUR Assala et HAMMOUDA Aicha

Soutenu publiquement le : 09/07/2025

Devant le jury :

Nom et prénom	Grade/Lieu	Qualité
M^{me} SOUR S.	MCA/USDB1	Présidente
M^{me} RAHIM I.	MCA/USDB1	Examinatrice
M^{me} ZATRA Y.	MCB/USDB1	Promotrice
M^{me} CHAKHMA A.	MCB/USDB1	Co-promotrice

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Tout d'abord, nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements à **Mme ZATRA Y. MCB** qui a eu l'amabilité de devenir notre promotrice de mémoire. Nous lui sommes reconnaissants pour son soutien continu tout au long de ce travail, ainsi que pour toute l'aide et le temps qu'elle nous a consacrés. Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude envers **Mme CHAKHMA A. MCB** pour son soutien et ses recommandations, notamment durant la rédaction du mémoire, malgré les circonstances personnelles qui la touchaient.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude envers tous les membres du jury :

Mme SOUR S. MCA à l'université de BLIDA 1 d'avoir accepté de présider ce jury.

Mme RAHIM I. MCA à l'université de BLIDA 1 d'avoir accepté d'examiner ce travail. Nous sommes aussi reconnaissants envers elle pour son aide inestimable, sans laquelle la réalisation de ce travail aurait été ardue.

Nous vous sommes très reconnaissants d'avoir consenti à évaluer ce modeste travail, c'est un grand privilège pour nous.

Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude envers notre chef d'option de la Biologie moléculaire et cellulaire **Mme SAADI L.** pour son soutien et sa contribution administrative qui ont permis la réalisation de ce travail dans les meilleures conditions.

Un grand merci au service d'anatomie pathologique de l'hôpital de Koléa et à l'ensemble du laboratoire d'analyses médicales, tout spécialement **Mme Lamroussi M. et Mme**

Belahouane M.

Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé à l'accomplissement de ce travail, du personnel administratif aux directeurs des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Pour finir, Nous tenons à exprimer notre gratitude envers tous les professeurs que nous avons rencontrés durant notre cheminement, depuis l'école primaire jusqu'à l'université. Sans leur contribution, nous n'aurions jamais atteint ce point.

Dédicace

Je loue Dieu Tout-Puissant pour Ses bienfaits à mon égard et Lui demande la réussite et la droiture dans ce qui L'agrée.

Je dédie ce travail :

À mes chers parents,

*À ma précieuse mère **Houria Brahmi**, mon étoile et mon pilier, toi qui n'as jamais ménagé tes efforts pour que j'en sois là aujourd'hui. Je t'offre ce modeste travail en espérant qu'il soit un humble témoignage de reconnaissance pour ta patience et ton dévouement.*

*À mon cher père **Mohamed**, qu'Allah lui accorde Sa miséricorde. Je prie pour que ce travail soit une aumône continue en ton nom et qu'il contribue à faire vivre ton souvenir parmi les bienheureux.*

*À mes frères **Abdel moncef** et **Ahmed mustapha**, merci pour votre présence, votre soutien et vos encouragements constants.*

*À mes tantes **Meriem**, **Saliha** et **Oum El Kheir Brahmi**, merci d'avoir toujours été là pour moi, pour vos encouragements et votre soutien sans faille.*

*À mes amies **Ahlam** et **Anfal**, sans qui les moments difficiles n'auraient pu être surmontés.*

*À ma chère binôme **Aïcha**, nous avons traversé tant d'épreuves ensemble. J'espère que ce travail est le fruit à la hauteur de nos efforts.*

À tous ceux qui m'ont soutenue et encouragée.

À moi-même, qui ai cru, persévéré et travaillé avec acharnement.

Assala

Dédicace

*À Dieu tout-puissant, source de toute connaissance et de force,
Je dédie ce travail en reconnaissance de Son infinie miséricorde.*

*À mon cher père **Hammouda Rabah**,
Merci pour tes sacrifices, ton soutien inébranlable et ton amour silencieux.
Que Dieu te garde en santé et te protège. Je t'aime papa.*

*À ma tendre mère **Bentaïba Fatima Zahra**,
Ton amour, ta patience et tes prières m'ont portée dans chaque étape.
Que Dieu te comble de bonheur. Je t'aime maman.*

*À mes frères **Rami, Aymen et Khalil**,
Merci pour votre soutien, votre présence et vos encouragements constants.*

*À mes sœurs **Latifa et Tasnim**,
Vous êtes ma joie, mes étoiles lumineuses. Je vous aime.*

*À mon amie fidèle **Rihab**,
Ta présence et ton soutien m'ont été précieux. Merci d'être là.*

*À ma chère collègue **Assala**,
Merci pour ton soutien moral, ta patience et ta précieuse collaboration tout au long de ce
projet de recherche.*

*À tous ceux qui m'ont accompagnée de près ou de loin,
Merci du fond du cœur.*

Et surtout, merci à moi-même d'avoir cru en moi.

Aïcha

Résumé

Face aux préoccupations sanitaires mondiales croissantes liées aux régimes alimentaires occidentaux, l'utilisation du régime de type cafétéria comme modèle expérimental s'est imposée afin d'explorer ses effets potentiels, notamment à l'échelle moléculaire, sur les systèmes biologiques. Cette étude expérimentale vise à évaluer les altérations histomorphométriques de la rate, les paramètres hématologiques ainsi que le statut de stress oxydatif hépatique, chez 14 lapins adultes exposés à un régime cafétéria avec ou sans graines de chia. L'histomorphométrie de la rate a été réalisée à l'aide d'une coloration à Hémalum-éosine et le logiciel Axio vision, tandis que le dosage des marqueurs du statut oxydatif tissulaire a été effectué par méthode colorimétrique. Les animaux des différents lots n'ont pas montré de variations du poids corporel ($P > 0,05$). En revanche, une augmentation, du poids absolu ($P=99,94\%$; $P=0,07$) et du poids relatif de la rate ($154,17\%$; $P=0,02$) dans le lot cafétéria. Par ailleurs, le poids absolu et relatif de la rate, dans le lot cafétéria chia, a montré une diminution de 40% bien que cette réduction ne soit pas significative ($P > 0,05$). L'aspect histomorphométrique de la rate, du lot cafétéria, a montré une augmentation de l'épaisseur de la capsule conjonctive, une réduction de la zone de la pulpe rouge (18 % ; $p=0,014$), une expansion marquée de la pulpe blanche (128% ; $p=0,000$) par rapport au lot témoin. Par ailleurs, une augmentation du nombre et de la taille des follicules lymphoïdes secondaires (4,5% ; $p>0,05$) et une expansion de la surface des centres germinatifs (56,6% ; $p=0,021$) ont été observées en comparaison au lot cafétéria chia. En revanche, les graines de chia ont contribué à restaurer partiellement la surface de la pulpe rouge (16% ; $p=0,015$) et à réduire celle de la pulpe blanche (51% ; $p=0,000$). L'hématogramme a révélé une élévation de tous les paramètres hématologiques étudiés (globules rouges, hémoglobine, plaquettes, globules blancs totaux, granulocytes et agranulocytes) dans le groupe cafétéria ($p < 0,001$). En revanche, ces différents paramètres ont présenté une baisse significative dans le groupe cafétéria chia ($p < 0,05$). L'évaluation des marqueurs du stress oxydatif hépatique chez les lapins cafétéria a révélé une augmentation des taux de MDA (73,7 % ; $p=0,000$) et une baisse de l'activité de la catalase (59,7% ; $p=0,000$). Dans le lot cafétéria chia on a enregistré une baisse de MDA (47 % ; $p=0,000$) et une augmentation de catalase (43,3 % ; $p=0,002$). Cette étude met en évidence l'impact négatif du régime cafétéria sur la fonction hépatique et immunitaire et confirme les propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes des graines de chia contre les troubles liés à une alimentation déséquilibrée.

Mots-clés : lapin mâle , régime cafétéria, graines de chia, rate, hémogramme, stress oxydatif

Summary

In light of growing global health concerns associated with Western dietary patterns, the cafeteria diet has emerged as a valuable experimental model for exploring its potential effects, particularly at the molecular level, on biological systems. This experimental study aims to assess histomorphometric alterations in the spleen, hematological parameters, and hepatic oxidative stress status in 14 adult male rabbits exposed to a cafeteria diet with or without chia seed supplementation. Spleen histomorphometry was performed using Hematoxylin and Eosin staining and Axio Vision software, while tissue oxidative status markers were quantified using a colorimetric method. No significant changes, in body weight were observed among the different groups ($P > 0.05$). However, the cafeteria group showed an increase in absolute spleen weight ($P = 99.94\%$; $P = 0.07$) and relative spleen weight (154.17% ; $P = 0.02$). On the other hand, the cafeteria + chia group exhibited a 40% reduction in absolute and relative spleen weight, although this decrease was not statistically significant ($P > 0.05$).

Histomorphometric analysis of the spleen in the cafeteria group revealed thickening of the connective tissue capsule, a reduction in red pulp area (18% ; $p = 0.014$), and a marked expansion of white pulp (128% ; $p = 0.000$) compared to the control group. Furthermore, an increase in the number and size of secondary lymphoid follicles (4.5% ; $p > 0.05$) and an expansion in the area of germinal centers (56.6% ; $p = 0.021$) were observed in comparison to the cafeteria + chia group. Conversely, chia seeds partially restored the red pulp area (16% ; $p = 0.015$) and reduced the white pulp area (51% ; $p = 0.000$). The hemogram revealed a significant elevation in all studied hematological parameters (red blood cells, hemoglobin, platelets, total white blood cells, granulocytes, and agranulocytes) in the cafeteria group ($p < 0.001$). In contrast, these parameters showed a significant decrease in the cafeteria + chia group ($p < 0.05$). Evaluation of hepatic oxidative stress markers in cafeteria-fed rabbits indicated increased MDA levels (73.7% ; $p = 0.000$) and decreased catalase activity (59.7% ; $p = 0.000$). In the cafeteria + chia group, MDA levels decreased (47% ; $p = 0.000$), and catalase activity increased (43.3% ; $p = 0.002$). This study highlights the detrimental impact of the cafeteria diet on hepatic and immune functions and confirms the anti-inflammatory and antioxidant properties of chia seeds in mitigating disorders associated with an imbalanced diet.

Keywords: An adult male rabbit , cafeteria diet, chia seeds, spleen, hemogram, oxidative stress

ملخص

في مواجهة المخاوف الصحية العالمية المتزايدة المرتبطة بالنظم الغذائية الغربية، أصبح استخدام النظام الغذائي من نوع الكافيتريا كنموذج تجريبي أمراً ضرورياً لاستكشاف آثاره المحتملة، لا سيما على المستوى الجزيئي، على النظم البيولوجية. تهدف هذه الدراسة التجريبية إلى تقييم التغيرات النسيجية في الطحال، والمؤشرات الدموية، وحالة الإجهاد التأكسدي الكبدي، لدى 14 أرنباً بالغاً تعرضوا لنظام غذائي من نوع الكافيتريا مع أو بدون بذور الشيا. تم إجراء القياس النسيجي للطحال باستخدام تلوين الهيمالون-إيوزين وبرنامج Axio vision، بينما تم قياس مؤشرات حالة الأوكسدة النسيجية بطريقة لونية. لم تظهر الحيوانات التي خضعت للأنظمة الغذائية المختلفة أي تغيرات في وزن الجسم ($P > 0,05$). في المقابل، لوحظت زيادة في الوزن المطلق ($99,94\%$ ؛ $P=0,07$) وكذلك في الوزن النسبي للطحال ($154,17\%$). ($P=0,02$) في مجموعة الكافيتريا. علاوة على ذلك، أظهر الوزن المطلق والنسبي للطحال في مجموعة الكافيتريا التي تناولت الشيا انخفاضاً بنسبة 40% ، على الرغم من أن هذا الانخفاض غير ذي دلالة إحصائية. ($P > 0,05$) أظهر المظهر النسيجي للطحال في المجموعة التي تناولت وجبات الكافيتريا زيادة في سماكة الكبسولة الضامة، وانخفاضاً في منطقة اللب الأحمر ($P=0,014$ ؛ 18%) وتوسعاً ملحوظاً في اللب الأبيض (128% ؛ $p=0,000$) مقارنة بالمجموعة الضابطة. علاوة على ذلك، لوحظت زيادة في عدد وحجم الجريبات اللمفاوية الثانوية ($4,5\%$ ؛ $p > 0,05$) وتوسع في مساحة مراكز التكاثر ($56,6\%$ ؛ $p=0,021$) مقارنة بمجموعة الكافيتريا التي تناولت الشيا. في المقابل، ساهمت بذور الشيا في استعادة جزء من مساحة اللب الأحمر (16% ؛ $p=0,015$) وتقليل مساحة اللب الأبيض (51% ؛ $p=0,000$) أظهرت فحوصات الدم ارتفاعاً في جميع المعلمات الدموية التي تمت دراستها (الكريات الحمراء، الهيموجلوبين، الصفائح الدموية، الكريات البيضاء الكلية، الخلايا الحبيبية والخلايا غير الحبيبية) في المجموعة التي خضعت لنظام الكافيتريا. ($p < 0,001$) في المقابل، أظهرت هذه المعلمات المختلفة انخفاضاً ملحوظاً في المجموعة التي تناولت حمية الكافيتريا والشيا. ($p < 0,05$) كشفت تقييم علامات الإجهاد التأكسدي الكبدي في الأرانب التي تغذت على حمية الكافيتريا عن زيادة ملحوظة في مستويات MDA ($73,7\%$ ؛ $p=0,000$) وانخفاض في نشاط الكاتالاز ($59,7\%$ ؛ $p=0,000$) أدى استهلاك بذور الشيا إلى عكس هذه المعادلة حيث سُجل انخفاض في MDA (47% ؛ $p=0,000$) وزيادة في نشاط الكاتالاز ($43,3\%$ ؛ $p=0,002$) تسلط هذه الدراسة الضوء على التأثير السلبي لنظام الكافيتريا على وظائف الكبد والجهاز المناعي وتؤكد الخصائص المضادة للالتهابات والمضادة للأوكسدة لبذور الشيا ضد الاضطرابات المرتبطة بنظام غذائي غير متوازن.

الكلمات المفتاحية: أرنب ذكر بالغ، نظام الكافيتريا، بذور الشيا، الطحال، تعداد الدم، الإجهاد التأكسدي

Liste des tableaux

Tableau 1	Composants nutritionnels et bioactifs des graines de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.)	9
Tableau I.1	Composition du régime standard et du régime cafétéria Standard	Annexes

Liste des figures

Figure 1	Représentation schématique de la rate (a) vue antérieure, (b) structure histologique	4
Figure 2	Les principales voies de génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS) dans les environnements cellulaires	6
Figure 3	Schéma des voies de chevauchement entre le foie et la rate lors d'une lésion hépatique	8
Figure 4	Grains de Chia	9
Figure 5	Mindray-bc-30-auto-hematology-analyzer-500x500	15
Figure 6	Variations du poids corporel chez lapin des trois lots.	19
Figure 7	Variations du poids de la rate chez lapin.	20
Figure 8	Coupes histologiques transversales au niveau de rate des lapins des trois lots	21
Figure 9	Coupes histologiques transversales au niveau des pulpes blanches des lapins	22
Figure 10	Coupes histologiques transversales au niveau du capsule splénique des lapins	23
Figure 11	Variation de la surface de la pulpe rouge (PR) chez les trois lots.	25
Figure 12	Variation des valeurs de la surface de la pulpe blanche de la rate chez les trois	25
Figure 13	Variation la surface de follicules lymphoïdes secondaire de la rate chez les trois lots.	26
Figure 14	Variation des valeurs de la surface du centre germinatif de follicules lymphoïdes secondaire de la rate chez les trois lots.	26
Figure 15	Épaisseur de la capsule splénique chez les trois lots des lapins.	27
Figure 16	Taux d'érythrocytes, hémoglobine et plaquettes sanguines chez les trois lots.	28
Figure 17	Les taux de globules blancs sanguins ($\times 10^9/L$) chez les trois lots.	28
Figure 18	Les Pourcentages des granulocytes sanguins (Neutrophile (Neu ; Eosinophile (Eos) ; Basophile (Bas)) chez les trois lots.	29
Figure 19	Taux sanguins des Agranulocytes (Lymphocytes (Lym) et Monocytes (Mon)) chez les trois lots.	29
Figure 20	Taux de malondialdéhyde hépatique chez les trois lots.	30
Figure 21	Activité catalase (CAT) hépatique chez les trois lots.	30

Liste des abréviations

- **ALA** : Acide α -lipoïque
- **AR** : Artériole centrale pulpaire
- **Bas** : Basophile
- **BSA** : Bovine Serum Albumin
- **C** : Cafétéria
- **CAF** : Régime cafétéria
- **CAT** : Activité catalase
- **CC** : Cafétéria + Chia
- **CSP-A**: Chia seed polysaccharid active
- **Eos** : Eosinophile
- **FL I** : Follicules lymphoïdes primaires
- **FL II** : Follicules lymphoïdes secondaire
- **FNS** : Analyses des paramètres hématologiques
- **GB** : Globules blancs
- **GPx** : Glutathion Peroxydases
- **GR** : Globules rouges
- **HGB** : Hémoglobine
- **HNE** : 4-hydroxy-2-nonéanal,
- **IL-1 β** : Interleukine-1 β
- **IL-6** : Interleukine-6
- **Lym**: Lymphocytes
- **MDA** : Malondialdéhyde
- **Mid** : Middle-sized cells « Cellules de taille moyenne : Monocytes, Basophile et eosinophile»
- **Mon** : Monocytes
- **MZ** : Zone marginale
- **NAFLD** : Stéatose hépatique non alcoolique
- **Neu** : Neutrophile
- **NO** : Oxyde nitrique,
- **PALS** : Gaine lymphoïde périartériolaire
- **PB** : Pulpe blanche
- **PLT** : Plaquettes Sanguins
- **PR** : Pulpe rouge
- **RNS** : Espèces réactives de l'azote
- **ROS** : Espèces réactives de l'oxygène
- **SDS** : Dodécylsulfate de sodium
- **SOD** : Superoxyde dismutase
- **T** : Témoin
- **TBA** : Acide thiobarbiturique
- **TNF- α** : Facteur de nécrose tumorale alpha

Sumamaire

Introduction	1
I. Rappel bibliographique	
I.1. RÉGIME CAFÉTÉRIA	3
II.2. L'INFLAMMATION SYSTÉMIQUE	3
I.2.1. La rate	4
I.2.2. Tissu sanguine	4
I.3. STRESS OXYDATIF	5
I.3.1. System Pro-oxydants / anti-oxydants.....	5
I.3.2. Stress oxydatif au tissu hépatique	6
I.4. AXE FOIE-RATE	7
I.5. GRAIN DE CHIA	9
II. Matériel et Méthodes	
II.1. MATERIEL	11
II.1.1. Matériel non biologique	11
II.1.2. Matériel biologique	11
II.2. METHODS	12
II.2.1. Technique histo-morphométrique	12
II.2.1.1. Technique histologiques	12
II.2.1.2. Etude morphométrique	14
II.2.2. Hémogramme	14
II.2.2.1. Appareillage	14
II.2.2.2. Principe de mesure	15
II.2.3. Etude biochimique	16
II.2.3.1. Préparation de l'homogénat tissulaire	16
II.2.3.2. Dosage des protéines	16
II.2.3.3. Dosage des marqueurs de stress oxydatif	16
II.2.4. Analyse statistique	17
III. Résultats et Discussion	
III.1. RESULTAS	19

III.1.1. VARIATIONS PONDÉRALES	19
III.1.2. HISTO-MORPHOMETRIE DE LA RATE.....	20
III.1.3. PARAMETRES HEMATOLOGIQUES (FNS)	27
III.1.4. MARQUEURS DU STRESS OXYDATIF.....	30
III.2. DISCUSSION	31
III.2.1. Poids corporel	31
III.2.2. Poids et histo-morphométrie de la rate	32
III.2.3. Hémogramme.....	34
III.2.4. Statut oxydatif hépatique	36
Conclusion et perspectives.....	38
Références bibliographiques.....	40

Introduction

Au cours des dernières décennies, le monde a été témoin d'un changement majeur dans les habitudes alimentaires. En effet, de nos jours, de nombreuses personnes délaissent les aliments sains et privilégient la restauration rapide (**Parmanand et al., 2020**). Ce mode alimentaire est appelé communément régime occidental ou bien malbouffe (junk food), caractérisé par une forte consommation d'aliments ultras transformés, riches en sucres, en graisses saturées et en sel et additifs. Ce mode alimentaire a des effets délétères bien documentés sur la santé favorise ainsi l'obésité, le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires et certains cancers, en raison de son impact négatif sur le métabolisme, l'inflammation et le stress oxydatif (**Hassan et al., 2020 ; Mishra, 2023 ; Redondo-Flórez et al., 2024**).

Parmi les organes les plus sensibles à ce dysfonctionnement, le foie qui est un organe essentiel pour le métabolisme et la détoxification. La consommation régulière de junk food, riche en graisses, sucres et aliments ultra-transformés, favorise le stress oxydatif hépatique, un facteur clé dans le développement de la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) et d'autres maladies du foie (**Shuai et al., 2024**). Il induit également à un stress oxydatif dû à l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et à la réduction de la capacité des antioxydants endogènes tels que la catalase et la glutathion peroxydase (**Tursun et al., 2024**). Les expérimentations animales montrent bien que l'exposition à une alimentation de type junk food, même dès la gestation et l'allaitement (**Fowkes et al., 2010**), aggrave l'accumulation de graisses dans le foie, la réponse au stress oxydatif et la résistance à l'insuline (**Althobaiti et al., 2022**).

La rate, centre immunitaire important, est également affectée dans le contexte de l'inflammation chronique résultant de ce régime. Elle grossit en raison de l'activation excessive du tissu lymphoïde blanc, avec des changements évidents dans la composition du sang tels que la leucocytose, reflétant une réponse immunitaire excessive (**Lamas et al., 2002**). En effet, des études chez l'animal montrent que les régimes riches en lipides provoquent une augmentation de la taille de la rate (splénomégalie), une élévation des cytokines pro-inflammatoires et un stress oxydatif accru dans les cellules immunitaires, ce qui affaiblit la fonction immunitaire et aggrave l'inflammation (**Maji et al., 2022**).

Face à ces multiples changements pathologiques, il existe un intérêt croissant pour les solutions préventives d'origine naturelle, en particulier les aliments d'origine végétale riches en composés bioactifs. Parmi ces aliments, les graines de chia (*Salvia hispanica L.*) retiennent l'attention en raison de leur richesse en fibres, en acides gras essentiels, en polyphénols et en

protéines bioactives. La recherche a montré que ces composés peuvent contribuer à abaisser la tension artérielle, à combattre l'inflammation, à réduire le stress oxydatif et à améliorer les indices métaboliques (**Grancieri et al., 2022**). Le chia "*Salvia hispanica L.*" est une graine ancienne annuelle originaire du Mexique (**Ferreira et al., 2015**). La consommation croissante des graines de Chia dans l'alimentation humaine est une tendance actuelle et de plus en plus répandue à travers le monde. De nombreux chercheurs ont prouvé que l'ingestion de graines de Chia réduit le taux de cholestérol, régule les réactions glycémiques et insulinémiques (**Scain et al., 2009**), stimule le fonctionnement de l'intestin et joue un rôle de prévention des maladies cardiovasculaires (**Vuksan et al., 2007**). On peut expliquer ces effets bénéfiques pour la santé par ses composants, notamment ces huiles, ses fibres alimentaires et ses composés antioxydants.

Par conséquent, cette étude vise à évaluer l'effet du régime cafétéria sur de multiples troubles, notamment : l'inflammation, le stress oxydatif et le dysfonctionnement du foie et de la rate et à tester le rôle protecteur potentiel des graines de chia contre ces effets néfastes.

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

*Rappels
bibliographiques*

I.1. RÉGIME CAFÉTÉRIA

Le régime cafétéria est un modèle alimentaire utilisé principalement dans la recherche animale pour simuler les effets d'une alimentation occidentale riche en aliments transformés, gras et sucrés, similaires à ceux consommés par l'humain (par exemple, chips, biscuits, charcuteries (**Vanhoose et al., 2011 ; De Macedo et al., 2016 ; Lalanza, 2020**). Ce régime est particulièrement efficace pour induire une prise de poids rapide, une augmentation de la masse grasse et des troubles métaboliques tels que l'hyperglycémie, l'hyperinsulinémie, la résistance à l'insuline et l'inflammation du foie et des tissus adipeux, dépassant souvent les effets d'un simple régime riche en graisses (**Vanhoose et al., 2011 ; Hayes et al., 2016 ; Buyukdere et al., 2019**). Sur le plan comportemental, il modifie les habitudes alimentaires, réduit la valeur hédonique d'autres récompenses et peut altérer la mémoire spatiale et la fonction hippocampique (**Morris et al., 2015 ; Schaab et al., 2019 ; Lalanza, 2020**). Le régime cafétéria perturbe également la régulation de l'appétit et active les circuits de la récompense dans le cerveau, favorisant des comportements de type addictif et la surconsommation (**De Macedo et al., 2016**). Il provoque un stress oxydatif dans le tissu adipeux, ce qui peut contribuer à l'inflammation chronique et à la perturbation de la signalisation de l'insuline (**Hayes et al., 2016**). Chez les jeunes animaux, une exposition à ce régime pendant l'adolescence entraîne des troubles métaboliques et inflammatoires persistants, même si certains effets cognitifs peuvent être réversibles lors d'un retour à une alimentation standard (**Leime et al., 2020**). Enfin, le régime cafétéria influence la production, la sécrétion et la clairance de l'insuline, en modifiant l'expression et l'activité de l'enzyme de dégradation de l'insuline, ce qui peut contribuer à l'apparition d'un état pré-diabétique (**Ardévol et al., 2011 ; Protzek et al., 2013**). Ce modèle est donc considéré comme particulièrement pertinent pour étudier l'obésité et les maladies métaboliques associées à l'alimentation moderne.

I.2. INFLAMMATION SYSTÉMIQUE

L'inflammation systémique est une réponse immunitaire généralisée qui survient lorsque les signaux pro-inflammatoires sont activés de manière chronique dans l'ensemble de l'organisme, et non localement au site d'une infection ou d'une lésion (**Zotova et al., 2016**).

Le processus inflammatoire systémique, en tant que réponse coordonnée de l'organisme face aux stimuli nocifs, implique l'activation et la mobilisation de différentes structures immunitaires. Parmi elles, la rate occupe une place centrale en tant qu'organe lymphoïde

secondaire (**Bronte, 2023**), modifiant également le profil des cellules immunitaires circulantes (**Lumeng, 2011**). Ce remodelage du tissu sanguin reflète l'état inflammatoire global (**de Heredia et al., 2012**).

I.2.1. Rate

La rate est le plus grand organe du système lymphatique, elle fait partie du système immunitaire (**Zhao et al., 2015**), mais également des systèmes hématologique (**Kapila et al., 2023**). Elle est un organe lymphoïde secondaire surveille le sang plutôt que la lymphe, et répond aux antigènes qui s'y trouvent. Et elle a une origine mésenchymateuse (**Patterson et al., 2000**).

La pulpe splénique, également appelée parenchyme splénique est divisée en deux régions fonctionnellement distinctes (**Lewis et al., 2019**) : la pulpe rouge contient un réseau de sinus veineux et de cordons spléniques (cordons de Billroth), riches en macrophages, responsables de la filtration du sang et élimination des globules rouges vieillis ou anormaux par phagocytose (**Lewis et al., 2019**). Et la pulpe blanche, tissu lymphatique entoure les artères centrales et contient des follicules lymphoïdes riches en lymphocytes B et T qui s'activent et production d'anticorps, en particulier lors de l'infection (**Zhao et al., 2015**).

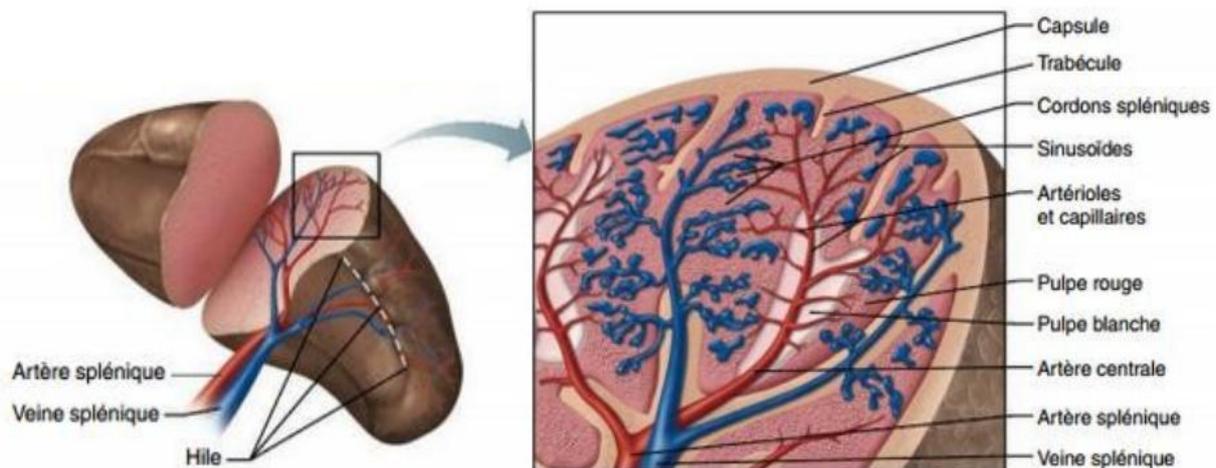


Figure 1 : Représentation schématique de la rate (a) vue antérieure, (b) structure histologique (**Marieb et Hoehn, 2019**).

I.2.2. Tissu sanguine

Le sang, qui représente 7 à 8 % du poids corporel total (**Boussarie, 1999**), joue un rôle central dans le transport des cellules immunitaires vers les sites d'inflammation. Il véhicule

également les médiateurs inflammatoires ainsi que d'autres composants immunitaires tels que les anticorps et les éléments du complément (**Canu et al., 2021**). En situation inflammatoire, la moelle osseuse ainsi que la rate sont stimulées pour produire ces cellules immunitaires circulantes. On peut notamment distinguer :

- **Neutrophiles** : Ils constituent la première ligne de défense lors de l'inflammation aiguë (**Rizo-Téllez, 2024**).
- **Monocytes et macrophages** : Les monocytes circulent dans le sang et migrent vers les tissus en cas d'inflammation, où ils se différencient en macrophages, caractérisé par la sécrétion de cytokines telles que le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 (**Dash et al., 2024**).
- **Lymphocytes T** : Les lymphocytes T CD4+ peuvent se différencier en sous-types pro-inflammatoires Th1 et Th17 (**Langrish et al., 2005**).
- **Lymphocytes B** : En plus de produire des anticorps, les lymphocytes B agissent comme cellules présentatrices d'antigènes et sécrètent des cytokines pro-inflammatoires (**Bao, 2014**).
- **Cellules dendritiques** : Elles assurent le lien entre l'immunité innée et adaptative en présentant des antigènes aux lymphocytes T (**Jiménez-Cortegana et al., 2024**).
- **Cellules NK (Natural Killer)** : Elles détruisent les cellules infectées ou anormales et sécrètent de l'IFN- γ , renforçant ainsi le microenvironnement inflammatoire (**Feng et al., 2023**).

I.3. STRESS OXYDATIF

Le stress oxydatif se définit généralement comme un déséquilibre entre la production excessive et/ou l'élimination insuffisante de molécules hautement réactives, telles que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives de l'azote (RNS) (**Johansen et al., 2005**). Les ROS/RNS induisent l'oxydation et la dégradation des macromolécules cellulaires telles que l'ADN, les protéines et les lipides, entraînant des lésions impliquées dans le développement de nombreuses pathologies, notamment les cancers, les maladies cardiovasculaires, infectieuses et neurodégénératives (**Jadeja et al., 2017**).

I.3.1. System pro-oxydants / anti-oxydants

Les pro-oxydants comprennent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS), qu'elles soient radicalaires ou non radicalaires (**figure 2**). Ces espèces sont produites à partir de l'oxygène (O₂) et de l'azote (N), par des sources exogènes comprennent la lumière

UV, les radiations ionisantes, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool, les aliments malsains et certains médicaments et les sources endogènes les plus importantes sont les mitochondries, le réticulum endoplasmique, les peroxysomes, le NADPH oxydase et d'autres sources enzymatiques et non-enzymatiques (Abdelazim, 2024).

La dégradation des radicaux superoxydes est contrôlée par des systèmes de défense antioxydants, qui repose sur trois lignes complémentaires. La première ligne de défense, la plus puissante, est assurée par des enzymes antioxydantes (telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et les glutathion peroxydases (GPx), qui neutralisent directement les espèces réactives de l'oxygène (ERO) avant qu'elles ne causent des dommages. La deuxième ligne de défense est constituée d'antioxydants exogènes issus de l'alimentation, (notamment les vitamines C et E, ainsi que des oligo-éléments comme le zinc et le sélénium, jouant un rôle important dans le piégeage des radicaux libres. Enfin, la troisième ligne de défense, considérée comme la plus faible, intervient après l'oxydation ; elle comprend des enzymes de réparation ou d'élimination des biomolécules altérées telles que l'enzyme DNA glycosylase est capable de reconnaître et d'exciser des bases oxydées telles que la 8-oxoguanine, contribuant ainsi à la réparation de l'ADN endommagé et à la prévention des mutations (Jomova et al., 2024).

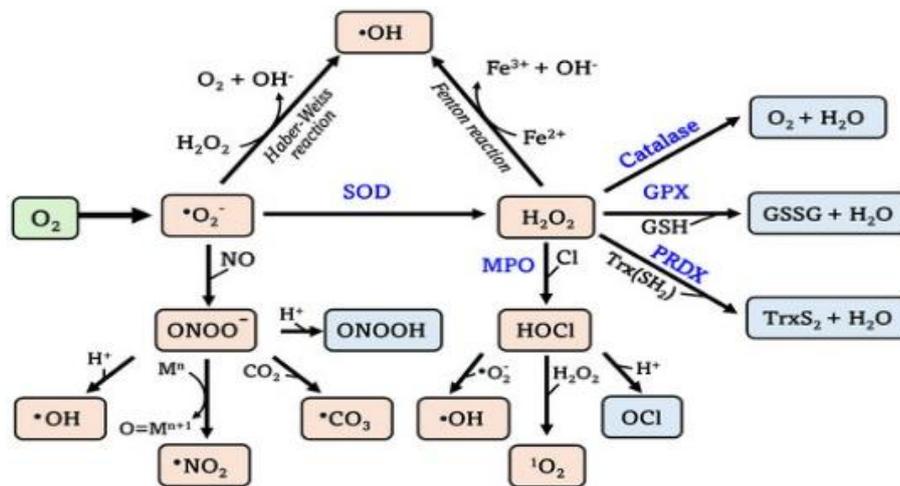


Figure 2 : Les principales voies de génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS) dans les environnements cellulaires (Kozlov et al., 2024)

GPX, glutathion peroxydase ; GSH, glutathion réduit ; GSSG, glutathion disulfure ; MPO, myéloperoxydase ; PRDX, peroxyredoxine ; SOD, superoxyde dismutase ; Trx (SH₂) et TrxS₂, thioredoxine réduite et oxydée

I.3.2. Stress oxydatif et tissu hépatique

En raison de son rôle central dans le métabolisme et la détoxification, qui génère naturellement des ROS, et de son exposition à des agressions externes comme l'alcool, les

drogues, les virus et les toxines environnementales, le foie constitue une cible privilégiée des attaques des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS). Toutefois, il joue également un rôle essentiel dans la défense antioxydante grâce à la production d'enzymes endogènes telles que la catalase. Cette enzyme, fortement concentrée dans le foie (**Toyomizu et al., 1992**) agit en décomposant le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), un ROS potentiellement toxique, en eau et en oxygène selon l'équation suivante :



Cependant, en condition de stress oxydatif, l'activité de la catalase et d'autres enzymes antioxydantes peut être compromise, laissant place à une accumulation excessive d'espèces réactives. Ces dernières peuvent alors endommager divers constituants cellulaires hépatiques, notamment : Les protéines : par oxydation des résidus d'acides aminés, altérant leur structure et fonction. Les glucides : à travers des réactions de glycation avancée, modifiant leur métabolisme. L'ADN : provoquant des mutations et cassures de brins simples ou doubles. Les lipides : en déclenchant une peroxydation lipidique particulièrement délétère (**Sies et al., 2017**).

Un exemple typique est l'attaque des acides gras polyinsaturés dans les membranes cellulaires par le radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$), ce qui conduit à la formation de produits de peroxydation lipidique tels que : Le 4-hydroxy-2-nonéanal (HNE), le malondialdéhyde (MDA) (**Shimizu et al., 2012**). Ce dernier, le MDA, est couramment utilisé comme biomarqueur fiable du stress oxydatif, car sa concentration augmente proportionnellement avec les dommages oxydatifs dans les tissus.

Par ailleurs, la persistance d'un stress oxydatif chronique peut entraîner une inflammation hépatique, une fibrose, voire évoluer vers des pathologies plus sévères telles que la stéatohépatite non alcoolique (NAFLD) ou la cirrhose (**Allameh et al., 2023**).

I.4. AXE FOIE-RATE

La rate et le foie sont étroitement liés à travers la veine porte et les interactions immunitaires formant ce qu'on appelle l'axe foie-rate, un acteur clé dans la régulation de l'inflammation hépatique et du processus de régénération (**Brummer et al., 2025**). La veine porte est un vaisseau sanguin majeur qui transporte le sang provenant du tube digestif, y compris de la rate, vers le foie. Ce sang est riche en nutriments, mais contient également des cellules immunitaires et des médiateurs inflammatoires (**Carneiro et al., 2019**). En cas de lésion hépatique, telle qu'une hépatectomie partielle ou une inflammation chronique, le foie

active des mécanismes de régénération. Au cours de ce processus, des cellules immunitaires stockées dans la rate comme les monocytes et les cellules NKT migrent via la circulation portale vers le foie. Selon le contexte immunitaire, ces cellules peuvent favoriser la réparation tissulaire ou, au contraire, aggraver les lésions (Tarantino et al., 2013).

Dans un contexte de réponse immunitaire équilibrée, la rate exerce un rôle bénéfique en sécrétant des médiateurs bioactifs, tels que les cytokines et les facteurs de croissance, et en recrutant des cellules immunitaires qui régulent l'inflammation et soutiennent la régénération hépatique (Elchaninov et al., 2025). En revanche, en présence d'une inflammation systémique ou locale non contrôlée, la rate peut avoir un effet négatif, en produisant des cytokines inhibitrices comme le TGF- β 1, qui freinent la prolifération des hépatocytes et favorisent le développement d'une fibrose au lieu d'une réparation fonctionnelle du foie (Ravaioli et al., 2021).

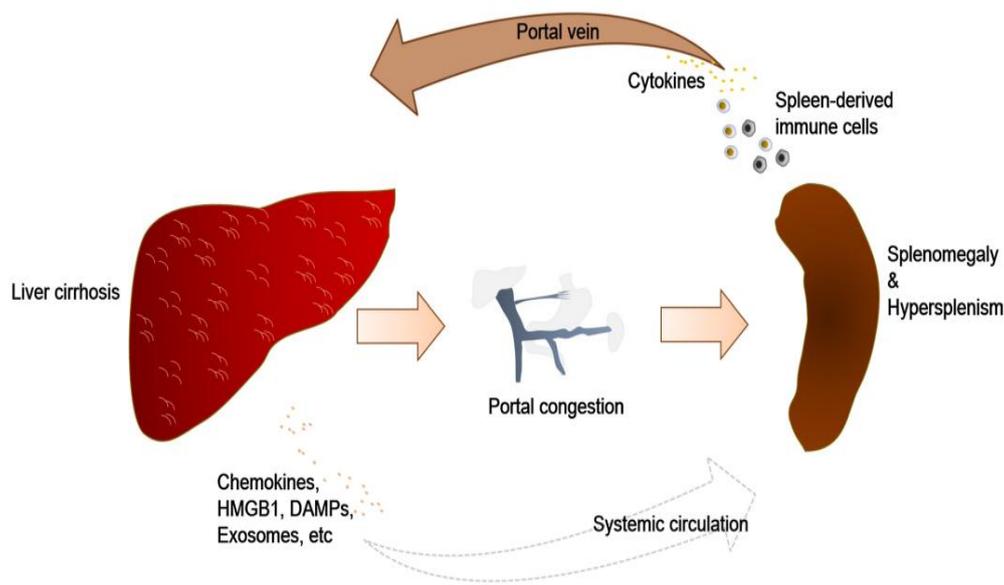


Figure 3 : Schéma des voies de chevauchement entre le foie et la rate lors d'une lésion hépatique (Li et al., 2023).

Lors d'une lésion hépatique, les cellules immunitaires dérivées de la rate et les cytokines peuvent être transportées vers le foie lésé *via* le flux sanguin portal. Dans le même temps, les lésions hépatiques contribuent également à l'hypertension portale qui conduit à la congestion du système porte et peut entraîner une splénomégalie et un hypersplénisme. Le foie endommagé peut également libérer des chimiokines ou DAMPs tels que HMGB1 ou des exosomes dans la circulation, ce qui entraîne l'activation et/ou la migration des splénocytes.

I.5.GRAIN DE CHIA

Les graines de chia, scientifiquement connues sous le nom de *Salvia hispanica L.*, (**figure 4**) sont des plantes annuelles à floraison estivale, riches en huile, qui appartiennent à la famille des Lamiacées. Originaires d'Amérique centrale, elles ont été traditionnellement utilisées en médecine populaire avant de connaître un regain d'intérêt au cours des dernières années en raison de leur richesse nutritionnelle et de leur teneur en composés bioactifs (**Knez Hrnčič et al., 2019**). De nombreuses études ont montré que les graines de chia sont riches en acides gras essentiels - en particulier en acide alpha-linolénique (ALA, oméga-3) - ainsi qu'en fibres alimentaires, en protéines végétales, en antioxydants naturels, en vitamines (notamment B et E) et en minéraux tels que le calcium, le magnésium et le zinc (**Amato et al., 2017**) (**tableau 1**).



Figure 4 : Grains de Chia (**Zia-ud-Din et al., 2021**)

Tableau 1 : Composants nutritionnels et bioactifs des graines de chia (*Salvia hispanica L.*)

Composant	Quantité (par 100 g)	Composant	Quantité (par 100 g)
Vitamines :	L	Minéraux :	L
A	54 µg	Calcium	631 mg
E	0,5 mg	Magnésium	335 mg
C	1,6 mg	Phosphore	860 mg
B1	0,62 mg	Potassium	407 mg
B3	8,83 mg		
Glucide :	42 g	Lipides totaux :	31 g
Protéines :	17 g		
Composés phénoliques :	L	Acides gras :	L
Acide caféique	27 µg	Acide α -linoléique (Ω -3)	63,79 %
Quercétine	0,17 µg	Acide linoléique (Ω -6)	18,89 %
Kaempférol	0,013 µg	Acide oléique	7,35 %
Génistine	3,4 µg	Acide palmitique	0,34 %

Les études expérimentales sur les suppléments de graines de chia chez des animaux soumis à un régime cafétéria ont révélé que, grâce à leur richesse en composés polyphénoliques (tels que la quercétine et l'acide chlorogénique) et en vitamine E, les graines de chia présentent de fortes propriétés antioxydantes (**Çetin et al., 2022**). Ces composés contribuent à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et à réduire le stress oxydatif, un mécanisme central dans les troubles métaboliques liés à l'obésité (**Marineli et al., 2015**).

Les graines de chia exercent un effet protecteur contre la lipo-toxicité induite par l'accumulation excessive d'acides gras libres, notamment dans le foie et les tissus adipeux. Ce rôle est en grande partie attribué à l'ALA, capable de : réduire les triglycérides et le cholestérol plasmatique, stimuler l'oxydation des acides gras dans le foie et les muscles, améliorer la sensibilité à l'insuline, et atténuer l'inflammation (**Ferreira et al., 2020**).

Matériel
et
Méthodes

La présente étude s'inscrit dans la continuité d'un travail antérieur réalisé en 2024 sur le lapin mâle adulte de la souche synthétique dite ITELV 2006 (*Oryctolagus cuniculus*), soumis à un régime de type cafétéria avec supplémentation en graines de chia. Il nous a été proposé de prolonger cette recherche par une étude complémentaire, réalisée sur le même matériel biologique, portant spécifiquement sur l'analyse histo-morphométrique de la rate, analyse des données hématologique ainsi qu'une analyse du statut oxydatif hépatique.

Ce travail a été mené sur une période de quatre mois, de février à mai 2025. L'analyse histologique a été réalisée au laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital de Koléa. L'analyse des paramètres biochimiques ont été effectués à l'Université Saad Dahlab 1.

Ce travail de recherche a pour objectifs de :

- Évaluer les altérations induites par le régime de type cafétéria au niveau de la structure tissulaire de la rate, des paramètres inflammatoires sanguins et du statut oxydatif hépatique.
- Examiner le potentiel correcteur des graines de chia face à ces altérations.

II.1. MATERIEL

II.1.1. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé dans cette étude, tels que les verreries, les solutions et les réactifs, sont détaillés en **annexe I**.

II.1.2. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans cette étude provient de lapins mâles adultes ayant fait l'objet d'une expérimentation d'une durée de quatre mois. Pour cela, nous avons utilisé un effectif de 14 prélèvements répartis comme suit : témoin ($n = 3$), cafétéria ($n = 6$) et cafétéria + chia ($n = 5$). Par ailleurs, un effectif de trois animaux par lot a été utilisé pour l'analyse du stress oxydatif hépatique.

- Le premier groupe (témoin : **T**) a reçu une alimentation standard (les granulés) durant toute la période expérimentale.

- Le deuxième groupe (Cafétéria : **C**) a été soumis à un régime de type cafétéria pendant trois mois.

- Le troisième groupe (Cafétéria + Chia : **CC**) a reçu le même régime cafétéria, suivi d'une supplémentation en graines de chia au cours du quatrième mois.

L'organe prélevé destiné pour l'analyse structurale est la rate fixée dans du formol à

10%. Pour l'évaluation du statut oxydatif, un fragment hépatique conservé par congélation dans du sérum physiologique.

II.2. METHODS

II.2.1. Technique histo-morphométrique

II.2.1.1. Technique histologiques

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.2.1.1.1. 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 l'hyaloplasme et les organites. Elle est une étape importante dans la réalisation des techniques de préparation des échantillons histologiques.

Les organes les fragments tissulaires sont plongés dans un volume du formol à 10% 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.2.1.1.2. 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 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 xylène, solvant de la paraffine. La durée du premier bain et

de 24 heures, le second bain est d'une durée illimitée.

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

- Le premier bain est composé de xylène -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 de la rate 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.2.1.1.3. Confection des coupes

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

II.2.1.1.4. 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.2.1.1.5. 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 xylène 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.2.1.1.6. 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 xylène 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 xylène et enfin observées au microscope photonique équipé d'une caméra (Optika).

II.2.1.2. Etude morphométrique

L'analyse morphométrique a été réalisée à l'aide du logiciel **AxioVision Rel 4.8** sur des images obtenues à partir de coupes histologiques de chaque lot expérimental, dans le but de déterminer la surface de la pulpe blanche, son pourcentage, ainsi que les dimensions de la capsule.

À cet effet, des mesures répétées ont été effectuées pour chacun des paramètres suivants :

- Le périmètre de la pulpe blanche et du centre germinatif de chaque follicule lymphoïde,
- La surface de la pulpe rouge.
- L'épaisseur de la capsule

Toutes les mesures ont été calibrées à l'aide d'une lame micrométrique, permettant d'obtenir les résultats en micromètres (μm).

II.2.2. Hémogramme

L'hémogramme est effectué par un automate équipé de compteur optique ou électronique capable d'évaluer le nombre d'érythrocytes et de leucocytes, de doser l'hémoglobine, et enfin de calculer l'hématocrite et les constantes érythrocytaires.

II.2.2.1. Appareillage

Nous avons utilisé le BC-30 comme analyseur d'hématologie et un compteur en trois parties pour une utilisation diagnostic in vitro en laboratoire clinique.

II.2.2.2. Principe de mesure

II.2.2.2.1. Mesure de globules blancs (GB) / globules rouges (GR) /Plaquettes

Ils sont mesurés par la méthode de l'impédance, l'analyseur aspire un volume d'échantillon le dilue avec un volume de solution conductrice et délivre la dilution à l'unité de dosage où une paire d'électrodes est positionnée des deux côtés de l'ouverture pour créer une alimentation à courant constant. Comme les cellules sont de mauvaises conductrices, lorsque chaque particule de l'échantillon dilué passe à travers l'ouverture sous la pression négative constante, un changement transitoire de la résistance en courant continu entre les électrodes se produit, il en résulte une impulsion électrique mesurable proportionnelle à la taille des particules qui franchissent successivement l'ouverture ; une série d'impulsions est produite entre les électrodes. Le nombre d'impulsions générées indique le nombre de particules passées à travers l'ouverture et l'amplitude de chaque impulsion est proportionnelle au volume de chaque particule. Les lyses et les diluants modifient la taille de chaque type de GB de diverses manières et à des moments différents. Les GB sont ainsi séparés en 3 parties de la plus grande taille à la plus petite : lymphocytes, cellules de taille moyenne (y compris les monocytes éosinophiles, basophiles) et granulocytes ; le pourcentage de chacune est calculé comme suit :

- $\text{Lymph}\% = [\text{PL} / (\text{PL} + \text{PM} + \text{PG})] \times 100$
- $\text{Mid}\% = [\text{PM} / (\text{PL} + \text{PM} + \text{PG})] \times 100$
- $\text{Gran}\% = [\text{PG} / (\text{PL} + \text{PM} + \text{PG})] \times 100$



Figure 5: mindray-bc-30-auto-hematology-analyzer-500x500

II.2.2.2. Mesure de l'hémoglobine

L'hémoglobine (Hb) est déterminée par la méthode colorimétrique, l'échantillon dilué est livré au bain de comptage de GB où il est mélangé à des bulles avec une quantité de lyse qui brise les globules rouges et convertit l'hémoglobine en un complexe d'hémoglobine. Une lampe LED est montée sur un côté du bain et émet un faisceau de lumière monochromatique avec une longueur d'onde centrale de 530-535 nm. La lumière est reçue par un capteur optique monté sur le côté opposé. Le signal de tension est amplifié, mesuré et comparé aux lectures de références (lecture de diluant seulement) et le Hg (g / L) sont mesurés et calculés automatiquement.

$$\text{Hg (g / L)} = \text{constant} \times \text{Ln (Blank photocurrent / sample photocurrent)}$$

II.2.3. Etude biochimique

II.2.3.1. Préparation de l'homogénat tissulaire

L'homogénat tissulaire a été préparé à partir de tissu hépatique avec 10 volumes de tampon phosphate PO₄ (50mM, pH 7.2) contenant 0,5% de Triton x100, mélangés à l'aide d'un homogénéisateur SS2 avec un pilon en Téflon à 800 rpm et à 4 °C. Cette étape a été suivie par trois cycles de congélation et de décongélation, et une centrifugation de 20 minutes à 10000 g/4 °C. Les surnageants sont récupérés et conservés à -20 °C, jusqu'à utilisation.

II.2.3.2. Dosage des protéines

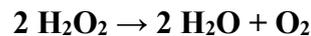
La méthode colorimétrique de Bradford a été utilisée pour mesurer la concentration des protéines hépatiques dans cette étude en raison de sa rapidité, de sa simplicité et de sa précision (**Kruger, 2009**). Cette méthode repose sur l'interaction du bleu de Coomassie G250 avec les protéines de l'échantillon (l'homogénat hépatiques), Ce qui est responsable de la coloration bleue du mélange, absorbant à 595 nm. Les concentrations des protéines sont déterminées à l'aide d'une courbe d'étalonnage construite avec la protéine BSA (Bovine SerumAlbumin) à 0.1% (solution protéique (**Bradford, 1976**)).

II.2.3.3. Dosage des marqueurs de stress oxydatif

Dans cette étude, nous avons examiné deux marqueurs biochimiques du stress oxydatif dans les homogénats hépatiques :

- Un marqueur antioxydant : **la catalase (CAT)**.
- Un marqueur pro-oxydant : **le malondialdéhyde (MDA)**.
- **Dosage de l'activité catalase**

La catalase est une enzyme peroxydase présente principalement dans les peroxysomes des cellules eucaryotes et est structurellement composée de quatre sous-unités. Cette enzyme catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), produit lors de diverses fonctions cellulaires et précurseur de radicaux hydroxyles hautement réactifs, en eau H₂O et en oxygène O₂ (**Rasheed, 2024**).



L'activité catalase a été mesurée l'ajoutant de 500 µL de H₂O₂ à 10 µL d'homogénat tissulaire et 990 µL de phosphate de potassique (PO₄). La réaction a débuté immédiatement après l'ajout de H₂O₂. L'activité catalase a été mesurée par la diminution de l'absorbance pendant 3 minutes à 240 nm. Elle a été exprimée en U/min/mg de protéines (**Cohen et al., 1970**).

- **Dosage du taux de malondialdéhyde (MDA)**

Malondialdéhyde (MDA) est un produit et un indicateur de l'oxydation des lipides. La méthode repose sur la mesure de l'intensité de la couleur rose produite par la réaction de l'acide thiobarbiturique (TBA) avec le MDA à 532 nm. Le mélange réactionnel contenait : 100 µL d'homogénat hépatique, 375 µL d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,8 %, 375 µL d'acide acétique à 20 % pH 3.5, 50 µL de dodécylsulfate de sodium (SDS) à 8,1 % et 100 µL d'eau distillée. Le mélange a été incubé à 95-100 °C pendant 1 heure, puis trempé dans un bain de glace pour arrêter immédiatement la réaction, puis centrifugé à 3 000 g pendant 10 minutes à 4 °C. La densité optique du surnageant a été mesurée à 532 nm et les résultats ont été exprimés en nmoles/mg de protéine (**Ohkawa et al., 1979**).

II.2.4. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de moyennes ± ESM. La normalité est vérifiée pour toutes les séries. Les graphes sont tracés grâce au l'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 :
$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Σx : Somme des valeurs individuelles

n: nombre de valeurs

Erreur Standard à la Moyenne (E.S.M) :
$$ESM = \frac{\delta}{\sqrt{n}} \quad \text{avec} \quad \delta = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

δ : Écart type

x_i : Valeurs individuelles

Coefficient de corrélation:
$$r = \frac{P}{\delta_x \delta_y}, \quad P = \frac{1}{n} \sum x_i y_i - \bar{x} \bar{y}$$

$$(\delta_x)^2 = \frac{1}{n} \sum (y_i - \bar{y})^2, \quad (\delta_y)^2 = \frac{1}{n} \sum (x_i - \bar{x})^2$$

x_i et y_i : valeur individuelle comparées.

\bar{x} et \bar{y} : moyenne des valeurs individuelles 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 = n1 + n2 - 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
et
perspectives

Dans cette étude, nous avons évalué les effets d'un régime hypercalorique et hyperlipidique de type cafétéria sur les fonctions spléniques et hépatiques de lapins mâles adultes, ainsi que le rôle protecteur potentiel d'une supplémentation en graines de chia. Le régime étudié, connu pour induire des désordres métaboliques, a été analysé à travers des paramètres morphologiques, hématologiques et biochimiques, ainsi que des observations histologiques.

Les résultats obtenus mettent en évidence les effets délétères du régime cafétéria, notamment sur :

- **La rate** : Une hypertrophie significative de l'organe a été observée, accompagnée d'une modification de l'organisation de la pulpe blanche et la pulpe rouge, traduisant ainsi une réponse immunitaire accrue.
- **Paramètres hématologiques** : Une élévation notable des paramètres hématologiques a été mise en évidence, suggérant une stimulation de l'hématopoïèse.
- **Le foie** : Un déséquilibre du statut oxydatif hépatique, avec une élévation marquée du taux de malondialdéhyde (MDA) et une diminution de l'activité de la catalase, traduisant un stress oxydatif important.

Ces altérations sont caractéristiques d'un état inflammatoire systémique et d'un stress oxydatif aggravé, en lien avec l'obésité induite par le régime déséquilibré.

En revanche, la supplémentation en graines de chia a permis d'atténuer plusieurs de ces perturbations :

- Une réduction de l'hypertrophie splénique, une amélioration de la structure histologique de la rate, tant au niveau de la pulpe blanche que la pulpe rouge.
- Une régulation partielle des paramètres hématologiques.
- Une restauration de l'équilibre oxydatif hépatique, suggérant un effet antioxydant efficace notable.

Pour confirmer ces données et approfondir les mécanismes impliqués, plusieurs perspectives de recherche sont envisageables :

- **Augmenter la taille de l'échantillon** : Étendre l'étude à un plus grand nombre de lapins afin de renforcer la robustesse statistique des résultats.
- **Études histochimiques et immunohistochimiques** : Explorer en détail l'expression de marqueurs inflammatoires et apoptotiques dans les tissus spléniques et hépatiques.
- **Suivi à long terme** : Déterminer si les effets bénéfiques des graines de chia se maintiennent au-delà de la période expérimentale.

- Étudier l'effet dose-dépendant de la supplémentation en graines de chia pour identifier la concentration optimale à effet protecteur maximal.

En poursuivant ces travaux, il serait possible d'élargir la compréhension des effets du régime de type cafétéria sur les organes lymphoïdes, et d'évaluer plus précisément le potentiel thérapeutique des graines de chia comme alternative nutritionnelle préventive.

*Références
bibliographiques*

- 1- Abdelazim, A. M., & Abomughaid, M. M. (2024). Oxidative stress: an overview of past research and future insights. *All Life*, 17(1). 17 (1): 2316092 <https://doi.org/10.1080/26895293.2024.2316092>
- 2- Allameh, A., Niayesh-Mehr, R., Aliarab, A., Sebastiani, G., & Pantopoulos, K. (2023). Oxidative Stress in Liver Pathophysiology and Disease. *Antioxidants*, 12(9): 1653. <https://doi.org/10.3390/antiox12091653>
- 3- Altunkaynak, B., Ozbek, E., & Altunkaynak, M. (2007). A stereological and histological analysis of spleen on obese female rats, fed with high fat diet. *Saudi medical journal*, 28 (3): 353- 357
- 4- Antonio, P., Isela, S., & Elind, A. (2023). Hypercaloric Cafeteria Diet-Induces Obesity, Dyslipidemia, Insulin Resistance, Inflammation and Oxidative Stress in Wistar Rats. *J Exp Life Sci*. 13:17–23. doi: 10.21776/ub.jels.2023.013.01.03
- 5- Ardévol, A., Blay, M., Pallarès, V., Castell-Auví, A., Pinent, M., & Cedó, L. (2011). The effects of a cafeteria diet on insulin production and clearance in rats. *British Journal of Nutrition*, 108: 1155–1162. <https://doi.org/10.1017/S0007114511006623>
- 6- Attinà, G., Triarico, S., Romano, A., Maurizi, P., Mastrangelo, S., & Ruggiero, A. (2021). Role of Partial Splenectomy in Hematologic Childhood Disorders. *Pathogens*, 10 (11): 1436. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111436>
- 7- Asghar, A., Akhtar, T., Batool, T., Khawar, M., Nadeem, S., Mehmood, R., & Sheikh, N. (2021). High-fat diet-induced splenic, hepatic, and skeletal muscle architecture damage: cellular and molecular players. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 476: 3671 - 3679. <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04190-6> .
- 8- Aziz, T., Ihsan, F., Khan, A., Rahman, S., Zamani, G., Alharbi, M., Alshammari, A., & Alasmari, A. (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 <https://doi.org/10.18388/abp.2020.6621>
- 9- Bao, Y., & Cao, X. (2014). The immune potential and immunopathology of cytokine-producing B cell subsets: a comprehensive review. *J Autoimmun. Journal of Autoimmunity*, 55: 10–23. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2014.04.001>
- 10- Batista, A., Quitete, F., Peixoto, T., Almo, A., Monteiro, E., Trindade, P., Zago, L., Citelli, M., & Daleprane, J. (2023). Chia (*Salvia hispanica* L.) oil supplementation ameliorates liver oxidative stress in high-fat diet-fed mice through PPAR- γ and Nrf2 upregulation. *Journal of Functional Foods*. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105462>
- 11- Boussarie, D. (1999). Hématologie des rongeurs et lagomorphes de compagnie. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 152(2) : 209–216. https://www.persee.fr/doc/bavf_0001-4192_1999_num_152_2_11501
- 12- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2): 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- 13- Brummer, C., Singer, K., Renner, K., Bruss, C., Hellerbrand, C., Dorn, C., Reichelt-Wurm, S., Gronwald, W., Pukrop, T., Herr, W., Banas, M., & Kreutz, M. (2025). The spleen-liver axis supports obesity-induced systemic and fatty liver inflammation via MDSC and NKT cell enrichment. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 601: 112518. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2025.112518>.

- 14- Bronte, V., & Pittet, M. J. (2023). The Spleen in Local and Systemic Regulation of Immunity. *Immunity*, 56(5): 1152. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.04.004>
- 15- Budzianowski J, Pieszko K, Burchardt P, Rzeźniczak J, Hiczkiewicz J. 2017. The Role of Hematological Indices in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Disease Markers*, 1-9. doi: <https://doi.org/10.1155/2017/3041565>.
- 16- Buyukdere, Y., Gulec, A., & Akyol, A. (2019). Cafeteria diet increased adiposity in comparison to high fat diet in young male rats. *PeerJ* 7: e6656. <https://doi.org/10.7717/peerj.6656>.
- 17- Canu, M.-H., Bérézowski, V., Duriez, P., Langlet, C., Mariot, P., & Pétrault, O. (2021). Fiche 17. Le tissu sanguin. In *Physiologie humaine* (46–47). Paris : Dunod. <https://doi.org/10.3917/dunod.canu.2021.02.0046>
- 18- Carneiro, C., Brito, J., Bilreiro, C., et al. (2019). All about portal vein: a pictorial display to anatomy, variants and physiopathology. *Insights Imaging*, 10(1): 38. <https://doi.org/10.1186/s13244-019-0716-8>.
- 19- Çetin, C., Akyol, A., & Ayaz, A. (2022). Effect of chia seed (*Salvia hispanica L.*) consumption on adiposity parameters in rats exposed to cafeteria diet. *Proceedings of the Nutrition Society*, 81(OCE3): E81. doi:10.1017/S0029665122001069.
- 20- Cohen, G., Dembiec, D., & Marcus, J. (1970). Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Analytical Biochemistry*, 34(1): 30–38. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(70\)90083-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(70)90083-7)
- 21- Dash, S. P., Gupta, S., & Sarangi, P. P. (2024). Monocytes and Macrophages: Origin, Homing, Differentiation, and Functionality during Inflammation. *Heliyon*, 10(8): e29686. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29686>
- 22- De Falco, B., Amato, M., & Lanzotti, V. (2017). Chia seeds products: an overview. *Phytochemistry Reviews*, 16(4): 745–760. <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9511-7>
- 23- De Heredia, F. P., Gómez-Martínez, S., & Marcos, A. (2012). Obesity, inflammation and the immune system. *Proceedings of the Nutrition Society*, 71(2): 332–338. <https://doi.org/10.1017/S0029665112000092>
- 24- de Macedo, I., de Freitas, J., & Da Silva Torres, I. (2016). The Influence of Palatable Diets in Reward System Activation: A Mini Review. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016: <https://doi.org/10.1155/2016/7238679>
- 25- De São José, V., Grancieri, M., Toledo, R., Mejia, E., Da Silva, B., & Martino, H. (2023). A bioactive compound digested chia protein is capable of modulating NFκB mediated hepatic inflammation in mice fed a high-fat diet. *Food research international*, 175: 113740. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113740>.
- 26- de Souza Ferreira, C., de Sousa Fomes, L. d. F., Santo da Silva, G. E., & Rosa, G. (2015). Effect of chia seed (*Salvia hispanica L.*) consumption on cardiovascular risk factors in humans: a systematic review. *Nutrición Hospitalaria*, 32(5): 1909–1918
- 27- Elchaninov, A., Vishnyakova, P., Gantsova, E., et al. (2025). Cellular effects of splenectomy on liver regeneration after 70% resection. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 13: 1561815. <https://doi.org/10.3389/fcell.2025.1561815>
- 28- Etim NN, Williams ME, Akpabio U, Offiong EEA. 2014. Hematological Parameters and Factors Affecting Their Values. *Agric Sci.*, 2(1): 37-47. doi: 10.12735/as.v2i1p37

- 29- Ferreira, M. D. R., Oliva, M. E., Aiassa, V., & D'Alessandro, M. E. (2020). *Salvia hispanica* L. (chia) seed improves skeletal muscle lipotoxicity and insulin sensitivity in rats fed a sucrose-rich diet by modulating intramuscular lipid metabolism. *Journal of Functional Foods*, 66: Article 103802. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103802>
- 30- Feng, L., Huang, F., Y., & Tang, J. (2021). The Effect of High-Fat Diet and Exercise Intervention on the TNF- α Level in Rat Spleen. *Frontiers in Immunology*, 12: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.671167>.
- 31- Fowkes, R., Simbi, B., Stickland, N., & Bayol, S. (2010). A maternal "junk food" diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic Fatty liver disease in rat offspring. *Endocrinology*, 151 4: 1451-61. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1192>.
- 32- Gabe, M. (1968). *Techniques histologiques*. Masson.
- 33- George, B., Richard, M., & Alfred, T. (2023). Body Weight, Hematological and Biochemical Parameters of Wistar Albino Rats Fed with Chia Seed Concentrate. *European Journal of Medicinal Plants*. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2023/v34i111167>.
- 34- Grancieri, M., Agrizzi Verediano, T., Sant'Ana, C. T., de Assis, A., Toledo, R. L., Gonzalez de Mejia, E., & Martino, H. S. D. (2022). Digested protein from chia seed (*Salvia hispanica* L.) prevents obesity and associated inflammation of adipose tissue in mice fed a high-fat diet. *PharmaNutrition*, Article 100298
- 35- Gupta, S., Gupta, R., Gupta, A., Foysal, M., & Krishnani, K. (2025). Chia (*Salvia hispanica*) Seed Oil Modulates the Haemato-Immunological Response, Antioxidative Status and Cytokine Gene Expression of Tropical Freshwater Teleost, *Labeo rohita*. *Biology*, 14. <https://doi.org/10.3390/biology14010095>.
- 36- Hanahan, D., Demopoulos, C., Liehr, J., & Pinckard, R. (1980). Identification of platelet activating factor isolated from rabbit basophils as acetyl glyceryl ether phosphorylcholine. *The Journal of biological chemistry*, 255 (12): 5514-5516. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)70658-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)70658-9).
- 37- Haque, R., Islam, K., Paul, S., Chowdhury, F., Bary, M., Nayan, S., Rafia, S., Islam, M., Hassan, S., Chowdhury, A., Sharmin, N., Dina, S., & Raihan, S. (2024). Supplementation of *Salvia hispanica* L. seed ameliorated liver function enzymes, hyperlipidemia, and oxidative stress in high fat diet fed Swiss albino mice. *Phytomedicine Plus*. <https://doi.org/10.1016/j.phyflu.2024.100576>.
- 38- Harapko, T. (2019). Structural changes of the spleen in experimental obesity. *Reports of Morphology*. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25\(2\)-04](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2019-25(2)-04).
- 39- Hassan, S., Arora, G., Bhateja, S., & Prathyusha, F. (2020). Impact of junk food on health. *Journal of Management Research and Analysis*. <https://doi.org/10.18231/j.jmra.2020.012>.
- 40- Hayes, N., Johnson, A., Wilkerson, M., Sampey, B., Troester, M., & Makowski, L. (2016). Cafeteria diet-induced obesity causes oxidative damage in white adipose. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 473(2): 545-550. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.03.113>
- 41- Hausmann, J. (2019). Targeting cytokines to treat autoinflammatory diseases. *Clinical immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2018.10.016>.
- 42- Hwang, I., Uddin, M., Pak, E., Kang, H., Jin, E., Jo, S., Kang, D., Lee, H., & Ha, H. (2019). The impaired redox balance in peroxisomes of catalase knockout mice accelerates nonalcoholic

- fatty liver disease through endoplasmic reticulum stress. *Free radical biology & medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.12.025>.
- 43- Jadeja, R. N., Devkar, R. V., & Nammi, S. (2017). Oxidative Stress in Liver Diseases: Pathogenesis, Prevention, and Therapeutics. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 8341286. <https://doi.org/10.1155/2017/8341286>
- 44- Jiménez-Cortegana, C., Palomares, F., Alba, G., Santa-María, C., de la Cruz-Merino, L., Sánchez-Margalet, V., & López-Enríquez, S. (2024). Dendritic cells: the yin and yang in disease progression. *Frontiers in Immunology*, 14: 1321051. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1321051>
- 45- Joubert, M., Ingaramo, P., Oliva, M., & D'Alessandro, M. (2022). Salvia hispanica L. (chia) seed ameliorates liver injury and oxidative stress by modulating NrF2 and NFκB expression in sucrose-rich diet-fed rats. *Food & function*. <https://doi.org/10.1039/d2fo00642a>.
- 46- Kapila, V., Wehrle, C. J., & Tuma, F. (2025). Physiology, Spleen. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537307/>
- 47- Karahan, I., Tursun, S., Alçıgır, M., Çınar, M., & Şahin, Y. (2024). Cafeteria diet can cause systemic inflammation and oxidative damage in the various tissues. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 17: 81 - 91. <https://doi.org/10.3233/MNM-230068>.
- 48- Khalid, W., Arshad, M., Aziz, A., Rahim, M., Qaisrani, T., Afzal, F., Ali, A., Ranjha, M., Khalid, M., & Anjum, F. (2022). Chia seeds (*Salvia hispanica* L.): A therapeutic weapon in metabolic disorders. *Food Science & Nutrition*, 11: 3 - 16. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3035>.
- 49- Knez Hrnčič, M., Ivanovski, M., Cör, D., & Knez, Ž. (2019). Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.): An Overview-Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. *Molecules*, 25(1): 11. <https://doi.org/10.3390/molecules25010011>
- 50- Kruger, N. J. (2009). The Bradford method for protein quantitation. In *The protein protocols handbook*, 17–24. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-198-7_4
- 51- Kozlov, A. V., Javadov, S., & Sommer, N. (2024). Cellular ROS and antioxidants: Physiological and pathological role. *Antioxidants*, 13(5): 602. <https://doi.org/10.3390/antiox13050602>
- 52- Kulczyński, B., Kobus-Cisowska, J., Taczanowski, M., Kmiecik, D., & Gramza-Michałowska, A. (2019). The Chemical Composition and Nutritional Value of Chia Seeds—Current State of Knowledge. *Nutrients*, 11: <https://doi.org/10.3390/nu11061242>.
- 53- Lamas, O., Martínez, J. A., & Martí, A. (2002). T-helper lymphopenia and decreased mitogenic response in cafeteria diet-induced obese rats. *Nutrition Research*, 22(4–5): 496–507.
- 54- Langrish, C. L., Chen, Y., Blumenschein, W. M., et al. (2005). IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *Journal of Experimental Medicine*, 201(2): 233–240. <https://doi.org/10.1084/jem.20041257>
- 55- Leime, C., Nicolas, S., Hoban, A., et al. (2020). Enduring effects of an unhealthy diet during adolescence on systemic but not neurobehavioural measures in adult rats. *Nutritional Neuroscience*, 25: 657–669. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2020.1796041>
- 56- Lewis, S. M., Williams, A., & Eisenbarth, S. C. (2019). Structure and function of the immune system in the spleen. *Science Immunology*, 4(33): eaau6085. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aau6085>

- 57- Li, L., Duan, M., Chen, W., Jiang, A., Li, X., Yang, J., & Li, Z. (2023). The spleen in liver cirrhosis: Revisiting an old enemy with novel targets. *Hepatology International*, 17(1): 24–37. <https://doi.org/10.1007/s12072-022-10396-w>
- 58- Malafaia, G. (2016). Cafeteria Diet Associated with the Chronic Stress Does Not Alter Biochemical and Hematological Parameters in Wistar Rats., 1:1-8. <https://doi.org/10.24966/OWL-7372/1000006>.
- 59- Maji, B., Mukherjee, S., Das, D., Bhattacharjee, A., & Banerjee, A. (2022). Dietary food additive monosodium glutamate with or without high-lipid diet induces spleen anomaly: A mechanistic approach on rat model. *Open Life Sciences*, 17: 22 - 31. <https://doi.org/10.1515/biol-2022-0004>.
- 60- Marieb, E. N., & Hoehn, K. (2019). *Anatomie et physiologie humaines*. 9^{ème} éd.
- 61- Martoja, R., & Martoja, M. (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson.
- 62- Marineli, R. D. S., Lenquiste, S. A., Moraes, É. A., & Maróstica, M. R. Jr. (2015). Antioxidant potential of dietary chia seed and oil (*Salvia hispanica* L.) in diet-induced obese rats. *Food Research International*, 76 (3): 666–674. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.039>
- 63- Mewes, J., Gasparin, F., Yoshida, T., Da Silva, M., Natali, M., Bizerra, P., Utsunomiya, K., Gilgioni, E., Mito, M., Mantovanelli, G., De Souza, B., Klosowski, E., Ishii-Iwamoto, E., Constantin, J., & Constantin, R. (2019). The Role of Mitochondria in Sex-Dependent Differences in Hepatic Steatosis and Oxidative Stress in Response to Cafeteria Diet-Induced Obesity in Mice. *Nutrients*, 11: <https://doi.org/10.3390/nu11071618>.
- 64- Mishra, S. (2023). Consumption of Junk Foods and Risk of Type 2 Diabetes: A Review. *International Journal of Horticulture, Agriculture and Food science*. <https://doi.org/10.22161/ijhaf.7.2.2>.
- 65- Mihafu, F., Kiage, B., Kimang'a, A., & Okoth, J. (2020). Effect of chia seeds (*Salvia hispanica*) on postprandial glycaemia, body weight and hematological parameters in rats fed a high fat and fructose diet. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14, 1752-1762. <https://doi.org/10.4314/IJBCS.V14I5.20>.
- 66- Morris, M., Westbrook, F., Reichelt, A., & Maniam, J. (2015). Dietary-induced obesity disrupts trace fear conditioning and decreases hippocampal reelin expression. *Brain, Behavior, and Immunity*, 43: 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.07.005>
- 67- Murray, P. (2005). The primary mechanism of the IL-10-regulated antiinflammatory response is to selectively inhibit transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 24: 8686-91. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0500419102>.
- 68- Motyka, S., Skała, E., Ekiert, H., & Szopa, A. (2023). Health-promoting approaches of the use of chia seeds. *Journal of Functional Foods*. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105480>.
- 69- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2): 351–358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
- 70- Oliva, M., Ingaramo, P., Joubert, M., Ferreira, M., & D'Alessandro, M. (2021). Effects of *Salvia hispanica* L. (chia) seed on blood coagulation, endothelial dysfunction and liver fibrosis in an experimental model of Metabolic Syndrome. *Food & function*. <https://doi.org/10.1039/d1fo02274a>.

- 71- Orchard, M., Kagey-Sobotka, A., Proud, D., & Lichtenstein, L. (1986). Basophil histamine release induced by a substance from stimulated human platelets. *Journal of immunology*, 136 6: 2240-4 . <https://doi.org/10.4049/jimmunol.136.6.2240>.
- 72- Patterson, K. D., Drysdale, T. A., & Krieg, P. A. (2000). Embryonic origins of spleen asymmetry. *Development*, 127(1): 167–175. <https://doi.org/10.1242/dev.127.1.167>
- 73- Parmanand, U., Ritu, K., Sheela, D., & Kavita, S. (2020). Role of Junk Food On Infertility In The Present Era. 03: 249-260. <https://doi.org/10.47223/irjay.2020.3907>
- 74- Prathyusha P, Kumari BA, Suneetha WJ, Srujana MNS. 2019. Chia seeds for nutritional security. *J Pharmacognosy and Phytochem.*, 8(3): 2702-2707. www.phytojournal.com
- 75- Pistol, G., Bulgaru, V., Grosu, I., Ciupitu, A., & Țăranu, I. (2024). The effect of a diet containing grape seed meal on inflammatory and antioxidant markers in spleen of weaned piglets. *Archiva Zootechnica*, 27: 75 - 89. <https://doi.org/10.2478/azibna-2024-0016>.
- 76- Protzek, A., Santos, G., Costa-Júnior, J., Rezende, L., Boschero, A., Ferreira, S., Brandimarti, P., & Carneiro, M. (2013). Cafeteria diet inhibits insulin clearance by reduced insulin-degrading enzyme expression and mRNA splicing. *The Journal of Endocrinology*, 219(2): 173–182. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0177>
- 77- Ravaioli, M., Brandi, G., Siniscalchi, A., et al. (2021). Heterotopic segmental liver transplantation on splenic vessels after splenectomy with delayed native hepatectomy after graft regeneration: A new technique to enhance liver transplantation. *American Journal of Transplantation*, 21(2): 870–875. <https://doi.org/10.1111/ajt.16222>
- 78- Rasheed, Z. (2024). *Therapeutic potentials of catalase: Mechanisms, applications, and future perspectives*. *International Journal of Health Sciences (Qassim)*, 18(2): 1–6.
- 79- Redondo-Flórez, L., Martín-Rodríguez, A., Clemente-Suárez, V., Tornero-Aguilera, J., & Beltrán-Velasco, A. (2023). Global Impacts of Western Diet and Its Effects on Metabolism and Health: A Narrative Review. *Nutrients*, 15. <https://doi.org/10.3390/nu15122749>.
- 80- Ridker, P. (2019). Anticytokine Agents: Targeting Interleukin Signaling Pathways for the Treatment of Atherothrombosis. *Circ Res*. 124(3): 437-450. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313129.
- 81- Rizo-Téllez, S. A., & Filep, J. G. (2024). Beyond host defense and tissue injury: the emerging role of neutrophils in tissue repair. *Am J Physiol Cell Physiol*. 326 (3) : C661–C683. doi:10.1152/ajpcell.00652.2023
- 82- Saad, S. (2020). L'activité antioxydante des graines d'avocat sur l'immunosuppression induite par la cyclosporine chez le rat., 36 : 99-116. <https://doi.org/10.21608/jhe.2020.116421>
- 83- Sabir, U., Irfan, H. M., Alamgeer, Ullah, A., Althobaiti, Y. S., Alshehri, F. S., & Niazi, Z. R. (2022). Downregulation of hepatic fat accumulation, inflammation and fibrosis by nerolidol in purpose-built Western-diet-induced multiple-hit pathogenesis of NASH animal model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 150:112956. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112956>
- 84- Salvi, M., Battaglia, V., Brunati, A., La Rocca, N., Tibaldi, E., Pietrangeli, P., Marcocci, L., Mondovì, B., Rossi, C., & Toninello, A. (2007). Catalase Takes Part in Rat Liver Mitochondria Oxidative Stress Defense*. *Journal of Biological Chemistry*, 282: 24407 - 24415. <https://doi.org/10.1074/jbc.M701589200>.
- 85- Scain, S.F., Friedman, R., & Gross, J.L. (2009). A structured educational program improves metabolic control in patients with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Diabetes Educ*. 35(4): 603-611. doi: 10.1177/0145721709336299 .

- 86- Schaab, E., Giovenardi, M., Porawski, M., et al. (2019). Food Selection of Cafeteria Diet Affects Memory Dysfunction Related to Obesity. *Neurochemical Research*, 44: 1869–1877. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02821-5>
- 87- Shimizu, I., Shimamoto, N., Saiki, K., Furujo, M., & Osaw, K. (2012). Lipid Peroxidation in Hepatic Fibrosis. *InTech*. <https://doi.org/10.5772/46180>
- 88- Shin, S., Cho, H., Song, S., Bae, J., Im, S., Hwang, I., Ha, H., & Song, D. (2019). Ablation of catalase promotes non-alcoholic fatty liver via oxidative stress and mitochondrial dysfunction in diet-induced obese mice. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 471, 829 - 843. <https://doi.org/10.1007/s00424-018-02250-3>.
- 89- Shuai, J., Zhang, Q., Fu, L., Huang, H., Zhang, S., Zhang, X., Jiang, Y., & Wang, S. (2024). Dietary dicarbonyl compounds exacerbated immune dysfunction and hepatic oxidative stress under high-fat diets in vivo.. *Food & function*. <https://doi.org/10.1039/d3fo05708a>
- 90- Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86, 715–748. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>
- 91- Snoeren, E., & Lanza, J. (2020). The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 122, 92–119. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.11.003>
- 92- Tarantino, G., Scalera, A., & Finelli, C. (2013). Liver-spleen axis: intersection between immunity, infections and metabolism. *World Journal of Gastroenterology*, 19(23), 3534–3542. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i23.3534>
- 93- Toyomizu, M., Kirihara, D., Tanaka, M., Hayashi, K., & Tomita, Y. (1992). Dietary protein level alters oxidative phosphorylation in heart and liver mitochondria of chicks. *British Journal of Nutrition*, 68(1), 89–99. <https://doi.org/10.1079/BJN19920069>
- 94- Tursun, S., Şahin, Y., Alçiğir, M. E., Çınar, M., & Karahan, İ. (2024). Cafeteria diet can cause systemic inflammation and oxidative damage in the various tissues. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 1, 81–91. <https://doi.org/10.3233/mnm-230068>
- 95- Ullah, A., Ali, M., Raza, A., et al. (2016). Assessment of risk factors associated with type 2 diabetes mellitus in Pakistan. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 14(4), e36559.
- 96- Vanhoose, A., Muehlbauer, M., Winfield, H., et al. (2011). Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 19, 1109–1117. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.18>
- 97- Vuksan, V., Jenkins, A. L., Brighenti, F., & Vidgen, E. (2007). Beneficial effects of a low-glycemic index diet in overweight and obese patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized trial. *Canadian Medical Association Journal*, 176(3), 344–352.
- 98- Ward, J., Reznik, G., & Garner, F. (1980). Proliferative Lesions of the Spleen in Male F344 Rats Fed Diets Containing P-Chloroaniline. *Veterinary Pathology*, 17, 200 - 205. <https://doi.org/10.1177/030098588001700208>.
- 99- Xiao, Z., Yan, C., Jia, C., Li, Y., Li, Y., Li, J., Yang, X., Zhan, X., & , C. (2023). Structural characterization of chia seed polysaccharides and evaluation of its immunomodulatory and antioxidant activities. *Food Chemistry: X*, 20. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.101011>.
- 100- Zhao, L., Liu, L., Guo, B., & Zhu, B. (2015). Regulation of adaptive immune responses by guiding cell movements in the spleen. *Frontiers in Microbiology*, 6, 645. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00645>

101- Zotova, N. V., Chereshev, V. A., & Gusev, E. Yu. (2016). Systemic inflammation: Methodological approaches to identification of the common pathological process. *PLoS ONE*, *11*(5), e0155138. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155138>

102- Zia-ud-Din, Alam, Mukhtar, Ullah, Hidayat, Shi, Dean, Xu, Bin, Li, Haiteng, & Xiao, Chaogeng. (2021). Nutritional, phytochemical and therapeutic potential of chia seed (*Salvia hispanica* L.): A mini-review. *Food Hydrocolloids for Health*, *1*, 100010. <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2021.100010>

Annexes

I.1. Matériel utilisé pour l'analyse histologique



Figure 1: Rate de lapin



Figure 2: Bloc de paraffine



Figure 3: Hotte à flux laminaire



Figure 4: Appareil de coloration automatique des lames



Figure 5: Plaque réfrigérante



Figure 6: Montage

I



Figure 7: Appareil d'inclusion automatique



Figure 8: autoclave



Figure 9: examen micros



Figure 10: Bain marie



Figure 11: machine d'enrobage de tissus de paraffine



Figure 12: Microtom

I.2. Matériel utilisé pour l'analyse morphométrique



Figure 13 : Documentation des coupes histologiques à l'aide d'une caméra numérique connectée au microscope

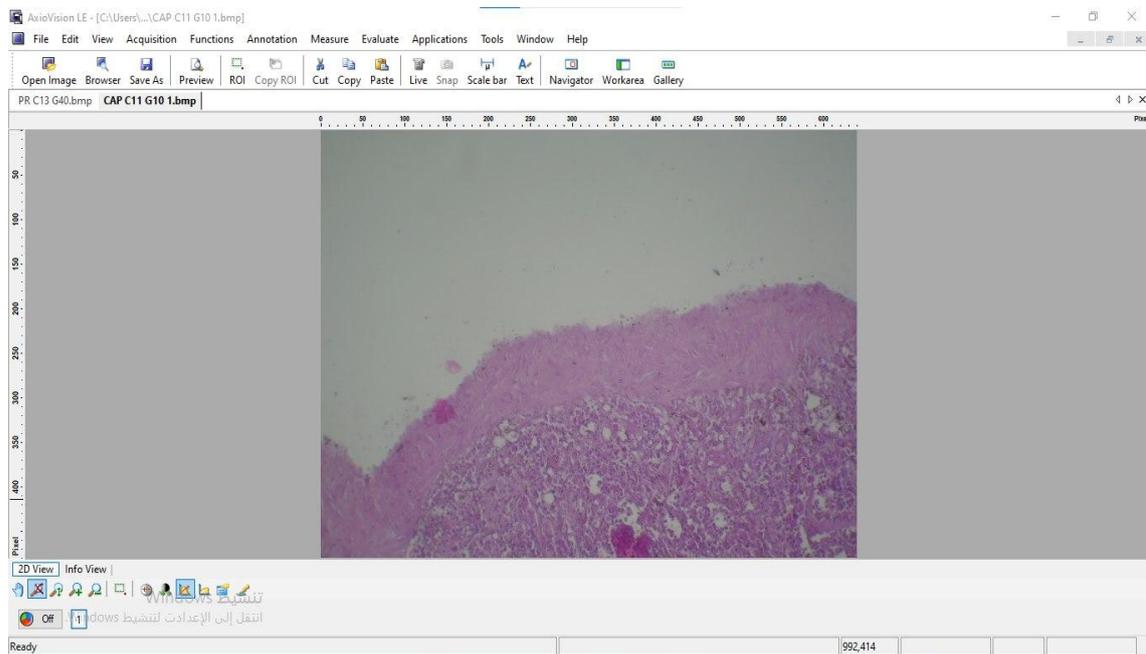


Figure 14 : Une page d'Axion vision

I.3. Matériel utilisé pour l'étude du stress oxydatif



Figure 21 : Papier PH



Figure 22 : micropipette



Figure23 : Homogénéisateur



Figure 24 : Agitateur Vortex



Figure 25 : pH-mètre



Figure 26 : Bain marie



Figure 27 : Centrifugeuse



Figure 28 : Balance



Figure 29 : Agitateur



Figure 30 : Spectrophotomètre

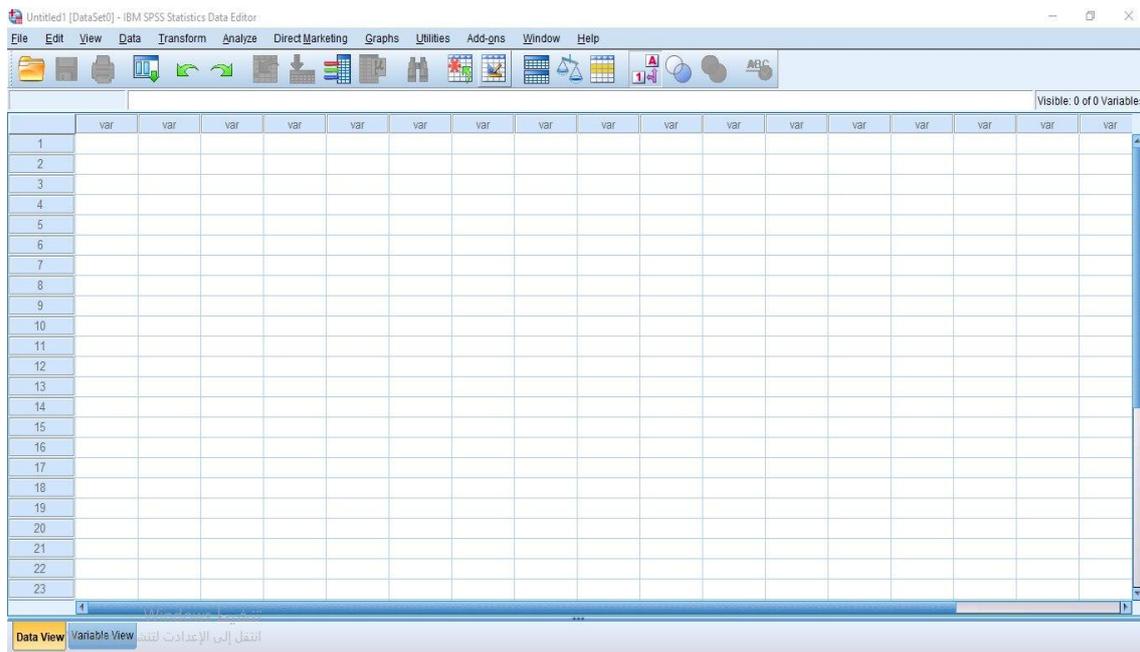


Figure 31: : Une page de SPS

Tableau 1 : Composition du régime standard et du régime cafétéria Standard

	Standard (aliment d’engraissement lapin pellet)	Régime cafétéria
Menu	Mais, tourteaux de soja, issues, calcium, coques de soja, phosphates, C.M.V 1% lapin	<ul style="list-style-type: none"> - Chips MAHBOL - Gaufrette CHERCHAL, VAG’S DOR, BIMO - Chocolat PRIMA - Gateau BRINO, MAJOR, ORO - CACHIR BELLAT

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université SAAD DAHLEB-Blida 1

جامعة سعد دحلب البلدية 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

Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème

Effet du régime cafétéria suivi d'une supplémentation en graines de chia sur le foie et la rate : aspects structuraux et biochimiques

Avis favorable

Présenté par

D^r RAHIM I **ACHOUR Assala et HAMMOUDA Aicha**

Soutenu publiquement le : 09/07/2025

Devant le jury :

Nom et prénom	Grade/Lieu	Qualité
M ^{me} SOUR S.	MCA/USDBI	Présidente
M ^{me} RAHIM I.	MCA/USDBI	Examinatrice
M ^{me} ZATRA Y.	MCB/USDBI	Promotrice
M ^{me} CHAKHMA A.	MCB/USDBI	Co-promotrice

Année universitaire : 2024/2025