

## Composés bioactifs

### L'extrait aqueux de *Zygophyllum album* réduit les dommages oxydatifs au niveau des érythrocytes et atténue les marqueurs pro-inflammatoires chez des rats rendus hypercholestérolémiques-diabétiques

*Zygophyllum album* aqueous extract reduces oxidative damage in erythrocytes and attenuates pro-inflammatory markers in hypercholesterolemic-diabetic rats

Yasmina BAHILIL, Djamil KROUF, Nawal TALEB-DIDA

Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, BP 1524 El M'Naouer. 31000 Oran, Algérie.

Auteur correspondant : Incmkrouf@gmail.com

Reçu le 07 juin 2020, Révisé le 22 novembre 2020, Accepté le 06 décembre 2020

**Résumé Introduction.** *Zygophyllum album* (*Z. album*) est utilisée en médecine traditionnelle depuis longtemps, entre autres pour ses activités antidiabétiques. **Objectif.** Evaluer les effets de la supplémentation de l'extrait *Z. album* (*Za*) sur les activités antiradicalaire et anti-inflammatoire, chez des rats rendus hypercholestérolémiques-diabétiques. **Matériel et méthodes.** Des rats mâles Wistar (n=36), pesant 200±10g ont été divisés en trois groupes (n=12). Le 1<sup>er</sup> groupe est rendu hypercholestérolémique (HC) avec un régime enrichi en cholestérol (1%), le 2<sup>ème</sup> groupe est rendu diabétique (D) par injection intrapéritonéale de streptozotocine (35 mg/kg de poids corporel). Le 3<sup>ème</sup> groupe est rendu hypercholestérolémique et diabétique (HC-D). Chaque groupe a été divisé en deux sous groupes (n=6), non traités (HC, D et HC-D) et traités avec 1% d'extrait de *Z. album* (HC-*Za*, D-*Za* et HC-D-*Za*). **Résultats.** A J28, le traitement avec *Z. album* entraîne une diminution des teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) au niveau des érythrocytes chez les groupes HC-*Za* (-44%), D-*Za* (-66%) et HC-D-*Za* (-23%). Une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, glutathion réductase et catalase) est observée chez HC-*Za*, D-*Za* et HC-D-*Za* ( $p < 0,05$ ). Les concentrations plasmatiques des interleukines (IL1 $\beta$  et IL6) sont réduites respectivement, de -44, -50 et -33% et de -49, -38 et -41%, chez les groupes traités. De même, une diminution des teneurs en TNF- $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor- $\alpha$* ), en homocystéine et en protéine-C réactive est notée, après supplémentation de *Z. album* ( $p < 0,05$ ). **Conclusion.** *Z. album* atténue l'attaque radicalaire et améliore le processus anti-inflammatoire, chez le rat hypercholestérolémique-diabétique.

**Mots clés :** Diabète, Hypercholestérolémie, *Zygophyllum album*, Erythrocytes, Stress oxydatif, Inflammation.

**Abstract Introduction.** *Zygodium album* (*Z. album*) is used in traditional medicine for a long time for its anti-diabetic activities. **Objective.** To investigate *Z. album* extract supplementation effects on redox and inflammatory status in hypercholesterolemic-diabetic rats. **Material and methods.** Male Wistar rats (n=36), weighing 200±10g were divided into three groups (n=12). The 1<sup>st</sup> group was hypercholesterolemic (HC) by consuming cholesterol enriched diet (1%). The 2<sup>nd</sup> group was diabetic (D) by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) (35 mg/kg body weight). The 3<sup>rd</sup> group was hypercholesterolemic-diabetic (HC-D). Each group was divided into two subgroups (n=6), untreated (HC, D, HC-D) and treated groups with 1% *Z. album* extract (HC-Za, D-Za and HC-D-Za). **Results.** At d28, *Z. album* treatment lead to a decrease in erythrocytes thiobarbituric reactive substances (TBARS) in HC-Za (-44%), D-Za (-66%) and HC-D-Za (-23%) groups. Increased erythrocytes antioxidant enzymes activities (superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase and catalase) were observed in HC-Za, D-Za and HC-D-Za ( $p<0.05$ ). In plasma, interleukin (IL-1  $\beta$  and IL-6) concentrations were reduced by -44, -50 and -33%, and -49, 38 and -41%, respectively in treated groups. In plasma, a decrease of TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ), homocysteine and protein-C reactive (CRP) was observed in *Z. album* treated groups ( $p<0.05$ ). **Conclusion.** *Z. album* reduces radical attack and improves anti-inflammatory proprieties in hypercholesterolemic-diabetic rats.

**Keywords:** Diabetes, Hypercholesterolemia, Rats, *Zygodium album*, Erythrocytes, Oxidative stress, inflammation.

## Introduction

Les maladies cardiovasculaires (MCV) sont considérées comme la principale cause de morbi-mortalité dans le monde et se rapportent à divers états pathologiques [1]. Différents facteurs de risque prédisposant aux MCV, tels que l'hypercholestérolémie, le diabète, l'obésité, l'hypertension artérielle (HTA) et le vieillissement, conduisent à un dysfonctionnement vasculaire et aux MCV, notamment par le stress oxydatif et inflammatoire [2,3]. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) ainsi que d'autres facteurs du stress oxydatif sont associés aux pathologies cardiovasculaires et inflammatoires [4,5]. En effet, les ERO jouent un rôle clé dans la composante inflammatoire des MCV, où elles induisent la formation d'inflammasomes, qui à leur tour, prennent en charge la sécrétion et la transformation des cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine IL-1 $\beta$  et IL-8 par activation de la caspase-1 [6, 3]. Par ailleurs, des travaux récents ont montré que non seulement les ERO ont le pouvoir de déclencher la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, mais que celles-ci peuvent également induire la production d'ERO [1]. Ainsi, plusieurs études ont rapporté que le stress oxydatif joue un rôle central dans la médiation de la production et de la sécrétion de cytokines pro-

inflammatoires, qui peuvent également être déclenchées par les ERO mitochondriales [7,8], reliant ainsi les ERO avec l'inflammation [9]. De plus, le stress oxydatif est une caractéristique majeure des MCV, même si un lien de causalité n'a pas, jusqu'à présent, été prouvé par des essais cliniques à grande échelle. Cependant, il y a un lien étroit entre le stress oxydatif, l'inflammation et l'apparition et la progression des MCV, qui pourraient constituer le chaînon manquant entre le stress oxydatif et la morbi-mortalité cardiovasculaire [10]. Plusieurs auteurs ont prouvé que la surproduction des ERO est causalement liée au diabète et aux complications diabétiques [11,12]. De plus, des données suggèrent que le stress oxydatif joue un rôle important dans la pathogenèse du diabète [13], le stress oxydatif provoquant une glucotoxicité et une lipotoxicité des cellules  $\beta$ . En effet, des études *in vitro* et *in vivo* ont suggéré que de fortes concentrations de glucose et de lipides sont nocives pour les cellules  $\beta$  [14]. D'autre part, l'inflammation joue un rôle causal et potentiellement primordial dans le développement et l'installation du diabète [15,16]. De plus, des concentrations élevées en biomarqueurs de l'inflammation, tels que le fibrinogène, la protéine C-réactive (CRP) et l'IL-6 ont été associés au profil lipidique athérogène du diabète [17]. Par ailleurs, le dysfonctionnement vasculaire et les facteurs de risque des MCV, tels que l'HTA, l'hypercholestérolémie et les maladies des artères

coronaires sont clairement reliées à des processus inflammatoires [10]. Une augmentation de la production des ERO peut jouer un rôle essentiel dans les réactions inflammatoires chroniques [18].

En 2015, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a favorisé l'utilisation de thérapies alternatives intégrées aux plantes médicinales depuis 1976. Environ 80% de la population mondiale utilise des plantes médicinales à des fins thérapeutiques [19].

Il existe plusieurs espèces de plantes médicinales, populairement utilisées dans le traitement du diabète sucré. Les enquêtes ethnopharmacologiques indiquent que plus de 1200 plantes sont utilisées dans le monde, en médecine traditionnelle, pour leur prétendue activité hypoglycémique [20,21]. Selon Azzi *et al.*, [22] sur 470 diabétiques, 28% des patients n'utilisent que des plantes médicinales comme seul traitement, ou en association avec un traitement conventionnel du diabète, tel que la metformine. Par ailleurs, différentes parties de plusieurs plantes ont des propriétés médicinales exercent un effet bénéfique sur l'hyperlipémie en réduisant les teneurs plasmatiques des lipides totaux, des triglycérides et du cholestérol [23] Cependant, peu d'études se sont intéressées à l'hypercholestérolémie associée au diabète.

Pour son pouvoir antidiabétique, *Zygophyllum album* connu sous le nom vernaculaire de «Agg-aya» est utilisé depuis très longtemps par les autochtones qui consomment principalement ses feuilles en infusion [22]. Des activités antibactériennes et antioxydantes des feuilles *Z. album* ont été notées également [24]. De plus, El Ghoul *et al.*, [25] ont rapporté un effet vasorelaxant et anti-hyperglycémique de l'extrait aqueux des feuilles de *Z. album* chez des souris rendus diabétiques par injection de streptozotocine (STZ).

Peu de travaux sur les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Z. album* sur deux facteurs de risque cardiovasculaire associés hypercholestérolémie et diabète.

Dans cette étude, notre objectif est d'évaluer les effets de la supplémentation de l'extrait aqueux de *Z. album* (1%) dans le régime sur les statuts redox et inflammatoire, chez des rats rendus hypercholestérolémiques et diabétiques.

## Matériel et méthodes

### Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de *Z. album*

Toute la partie aérienne de *Z. album* a été nettoyée avec de l'eau distillée puis séchée et seulement les feuilles ont été finement broyées. Cinquante g de

poudre de feuilles de *Z. album* sont mélangées avec 500 mL d'eau distillée, le mélange est porté à frémissement pendant 45 min puis filtré plusieurs fois. La décoction obtenue est congelée à -70°C, pour être ensuite lyophilisée (Christ, Alpha 1-2 ; LD). Un rendement d'extraction de 30% a été obtenu.

### Animaux et régimes

Des rats mâles Wistar (Institut Pasteur, Alger, Algérie) (n=36), pesant 200±10 g sont utilisés dans cette étude. Les animaux consomment un régime d'entretien (ONAB, Alger/Algérie) contenant 18% de protéines et sont maintenus dans une animalerie dans des conditions environnementales standards (23±1°C, 55±5% d'humidité et un cycle de lumière de 12h (jour/nuit). Les conseils pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire ont été suivis [26]. Sur les 36 rats, 24 sont rendus hypercholestérolémiques (HC) en consommant un régime standard à 20% de caséine et enrichi avec 1% de cholestérol alimentaire et 0,5% d'acide cholique (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) durant 5 semaines. La cholestérolémie moyenne des rats HC était de 5,25±0,43 mmol.L<sup>-1</sup> comparée à la valeur obtenue au temps zéro de l'expérimentation qui était < 3,90 mmol.L<sup>-1</sup>.

Après une nuit de jeûne, l'hyperglycémie est induite chez des rats normo-glycémiques (5,25±0,43 mmol.L<sup>-1</sup>) (n=12), par injection intrapéritonéale d'une dose unique de streptozotocine (STZ) (Sigma, St Louis, USA) à raison de 35 mg/kg de poids corporel. L'hyperglycémie est confirmée 48 heures après injection de STZ, sur un prélèvement sanguin effectué au niveau de la veine caudale en utilisant un glucomètre (One Call Extra, ACON Laboratories, San Diego, USA). Les 12 rats rendus diabétiques (D) ont présenté une hyperglycémie ≥ 7,82 mmol.L<sup>-1</sup> [27].

Parmi les rats rendus hypercholestérolémiques, 12 HC sont rendus diabétiques (HC-D) par injection intrapéritonéale de STZ dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment.

Les groupes de rats expérimentaux sont ensuite répartis en 6 groupes de 6 rats chacun : trois groupes non traités (HC, D et HC-D) et trois groupes traités avec 1g/100g d'extrait aqueux lyophilisé de *Z. album*, (HC-Za, D-Za et HC-D-Za), pendant 28 jours. Le **Tableau I** présente la composition des différents régimes. Les rats reçoivent l'eau et la nourriture *ad libitum*.

### Prélèvements des échantillons

Au 28<sup>ème</sup> jour d'expérimentation, après 12 h de jeûne, les six groupes de rats sont anesthésiés, par injection intrapéritonéale d'une solution de chloral à 10% à raison de 3 mL/kg PC. Le sang est prélevé par ponc-

tion de l'aorte abdominale, collecté dans des tubes contenant de l'éthylène-diamine-acide-tetra-acétique- $\text{Na}_2$  ( $\text{EDTA}-\text{Na}_2$ ) (Sigma, St Louis, Mo) et centrifugé à 1000 x g, pendant 20 min à 4°C. Le plasma est prélevé puis stocké à -70°C jusqu'à son utilisation dans le dosage des marqueurs de l'inflammation et le culot contenant les cellules sanguines subit un lavage puis traité différemment, selon la spécificité de chaque dosage biochimique réalisé ultérieurement.

#### Lavage et obtention des érythrocytes

Le culot est lavé puis centrifugé à 2000 x g pendant 10 min à 4°C en présence de tampon PBS ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ : 1,44 g.L<sup>-1</sup>, NaCl: 8 g.L<sup>-1</sup>, KCl: 0,2 g.L<sup>-1</sup>, eau distillée qsp 50 mL), (pH=7,4). L'opération est répétée 3 fois jusqu'à ce que le surnageant soit clair. Après élimination du surnageant, le culot ainsi obtenu contient les érythrocytes.

#### Evaluation de la peroxydation lipidique au niveau des érythrocytes

La susceptibilité des érythrocytes à la peroxydation est déterminée selon la méthode de Quintanilha *et al.*, [28].

Cent  $\mu\text{L}$  d'érythrocytes fraîchement lavés, sont dilués dans 900  $\mu\text{L}$  de tampon PBS contenant 2mmol.L<sup>-1</sup> d'azide de sodium puis incubés en présence de 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (1,15%), pendant 1 h à 37°C [29].

Cette réaction est inhibée avec 1 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 20%. Après centrifugation à 4000 tours/min pendant 10 min, le surnageant correspondant au lysat érythrocytaire est récupéré. 100  $\mu\text{L}$  de BHT (2% dans de l'éthanol) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) et 1mL (TBA) (TBA 0,37% dans du HCl à 0,5 N en concentration finale de TCA à 15%) sont ajoutés au surnageant. Après incubation à 85°C pendant 30 min et refroidissement dans de la glace, les échantillons sont centrifugés à 2000 x g pendant 10 min à 4°C. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 535 nm. Les concentrations des TBARS sont déduites à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec le MDA.

#### Dosage du glutathion réduit (GSH) au niveau des érythrocytes

Le dosage du GSH est basé sur la méthode colorimétrique de Sedlak et Lindsay, [30]. Le principe de cette technique repose sur la réaction d'oxydation

Tableau I. composition des régimes en g/100g de régime<sup>a</sup>

Constituants	HC	D	HC-D	HC-Za	D-Za	HC-D-Za
Caséine <sup>b</sup>	20	20	20	20	20	20
Amidon de maïs <sup>c</sup>	59,	61	59,5	58,5	60	58,5
Saccharose <sup>d</sup>	4	4	4	4	4	4
Huile de tournesol <sup>d</sup>	5	5	5	5	5	5
Cellulose <sup>b</sup>	5	5	5	5	5	5
Mélange minéral <sup>e</sup>	4	4	4	4	4	4
Mélange vitaminique <sup>f</sup>	1	1	1	1	1	1
Cholestérol <sup>b</sup>	1	-	1	1	-	1
Acide cholique <sup>b</sup>	0,5	-	0,5	0,5	-	0,5
Extrait aqueux lyophilisé de <i>Zygophyllum album</i> <sup>g</sup>	-	-	-	1	1	1

HC : Hypercholestérolémique ; HC-Za : Hypercholestérolémique + 1g/100g *Zygophyllum album* (*Z. album*) ; D : Diabétique ; D-Za : Diabétique + 1g/100g *Z. album* ; HC-D : Hypercholestérolémique et diabétique ; HC-D-Za : Hypercholestérolémique et Diabétique + 1g/100g *Z. album*. <sup>a</sup> Les régimes sont iso-énergétiques (1,62 MJ/100 g de régime) et sont donnés sous forme de poudre préparés au

Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique. <sup>b</sup> Sigma-Aldrich Chemie. <sup>c</sup> ONAB, Sidi Bel Abbès, Algerie. <sup>d</sup> Cevital SPA, Béjaïa, Algerie.

<sup>e</sup> UAR 205 B (Villemoisson, 1360, Epinay/S/Orge, France), mélange minéral (mg.kg<sup>-1</sup> de régime) CaHPO<sub>4</sub>, 17200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO<sub>2</sub>, 420; MgSO<sub>4</sub>, 2000; Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 120; FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O, 200; MnSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, 98; CuSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O, 20; ZnSO<sub>4</sub>, 80; CuSO<sub>4</sub>, 80; CuSO<sub>4</sub>,

7H<sub>2</sub>O; KI, 0,32. <sup>f</sup> UAR 200 (Villemoisson, 91360, Epinay/S/Orge, France), Mélange vitaminique (mg/kg de régime) : Vit A 39600 UI; Vit D, 5000UI, Vit B<sub>1</sub>, 40; Vit B<sub>2</sub>, 30; Vit B<sub>3</sub>, 140; Vit B<sub>6</sub>, 20; Vit B<sub>7</sub>, 300; Vit B<sub>12</sub>, 0,1; Vit C, 1600; Vit E, 340; Vit K 3,80; Vit PP, 200; choline, 2720;

Acide folique, 10; Acide paraaminobenzoïque (PAB), 180; Biotine, 0,6; cellulose, qsp, 20 g. <sup>g</sup> Préparé au sein du laboratoire LNCM, comme décrit précédemment.

du GSH par l'acide 5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB), libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB). À 1 mL d'érythrocytes fraîchement lavés sont ajoutés 800 µL d'eau distillée glacée et 200 µL de TCA à 50%. Le mélange est agité pendant 10min et centrifugé à 1200 × g pendant 15min. Après centri-fugation, 400 µL de surnageant correspondant au lysat érythrocytaire sont mélangés avec 800µL de tampon Tris (0,4 mol.L<sup>-1</sup>, pH=8,9) et 20 µL de DTNB (0,01 mol.L<sup>-1</sup>). Après 5 min d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue à λ=412 mn. Les concentrations sont déduites à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec une solution mère de GSH à 25 µmoles

### Défense antioxydante enzymatique

A 2 mL d'érythrocytes fraîchement lavées est ajoutée de l'eau désionisée glacée (1/4 ; V/V) puis centrifugés à 10 000 xg pendant 15min à 4°C. Le surnageant récupéré constitue le lysat érythrocytaire qui servira pour le dosage des enzymes antioxydantes.

### Activité de la superoxyde dismutase (SOD)

L'activité de la SOD (SOD, EC. 1.15.1.1) est mesurée suivant la réduction du chromogène Nitro Bleu Tetrazolium (NTB) en sel de formazan par les anions superoxydes générés suite à l'action de la xanthine oxydase et de l'hypoxanthine (Kit Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). Une unité SOD est définie comme étant la quantité d'enzyme nécessaire à assurer 50% de la dismutation du radical superoxyde. La lecture se fait à une longueur d'onde λ=340 nm.

### Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

La détermination de l'activité de GSH-Px (GSH-Px, EC. 1.11.1.9) s'effectue selon une méthode qui permet de mesurer indirectement l'activité de la GSH-Px par une réaction couplée à la glutathion réductase (GSSH- Red). Le glutathion oxydé (GSSH), produit après réduction de l'hydroxyperoxyde par la GSH-Px est recyclé sous sa forme réduite par la GSSH-Red et le NADPH. L'oxydation du NADPH en NADP<sup>+</sup> se traduit par une diminution de l'absorbance à λ=340 nm. Cette réduction est directement proportionnelle à l'activité de la GSH-Px de l'échantillon (Kit Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA).

### Activité de la Glutathion réductase (GSSH-Red)

L'activité de la GSSH-Red (EC 1.6.4.2) est déterminée

par la mesure du taux d'oxydation du NADPH en présence de glutathion oxydé (GSSH) utilisant un kit (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan, USA). L'oxydation du NADPH en NADP<sup>+</sup> est caractérisée par une diminution de l'absorbance à λ=340 nm proportionnelle à l'activité enzymatique de la GSSH-Red.

### Activité de la Catalase (CAT)

L'activité enzymatique de la CAT (CAT, EC. 1.11.1.6) est mesurée en utilisant un chromogène, le 4 amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole, afin de mesurer le formaldéhyde produit suite à l'action de l'enzyme avec du méthanol en présence d'une concentration optimale de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Kit Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). La lecture se fait à une longueur d'onde λ=540 nm.

### Détermination du TNF-α, des interleukines (IL-1β et IL-6), de la CRP et de l'homocystéine

La détermination des teneurs en TNF-α, IL-1β, IL-6 et CRP plasmatique s'effectue selon des techniques immuno-enzymatiques, Elisa (kits RayBio, Norcross GA, USA) basées sur l'utilisation de 2 anticorps polyclonaux spécifiques à l'antigène présent dans le plasma du rat. La coloration du milieu est directement proportionnelle à la concentration de l'antigène de l'échantillon ou du standard. La réaction est stoppée après addition du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 450 nm. L'homocystéine est évaluée avec la même technique citée ci-dessus (kit Life Span's, Biosciences, Seattle, WA 98121, USA). Les concentrations plasmatiques en TNF-α, IL-1β, IL-6, CRP et homocystéine sont déterminées à l'aide de gammes étalons établies à partir de solutions mères de TNF-α (500 pg.mL<sup>-1</sup>), IL-1β (500 pg.mL<sup>-1</sup>), IL-6 (1000 pg.mL<sup>-1</sup>), CRP (200 mg.mL<sup>-1</sup>) et homocystéine (50 µmol.L<sup>-1</sup>).

### Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de Moyenne ± Erreur Standard (M±ES) de 6 rats par groupe. L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel STATISTICA (Version 10, Statsoft, USA). La comparaison des moyennes de l'effet du traitement avec *Z. album* (HC-Za, D-Za, HC-D-Za) par rapport aux groupes non traités (HC, D, HC-D) a été effectuée par le test de Tukey-Kramer. Les moyennes sont significativement différentes à *p*<0,05. \*HC-Za vs HC. †D-Za vs D. ‡HC-D-Za vs HC-D.

## Résultats

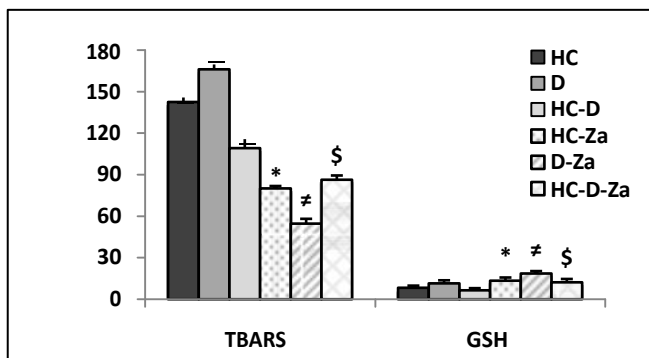
### Évaluation du statut redox érythrocytaire

**Teneurs en TBARS et en GSH**

Une diminution des concentrations en TBARS est notée au niveau des érythrocytes chez les groupes HC-Za vs HC (-44%), D-Za vs D (-66%) et HC-D-Za vs HC-D (-23%). Par ailleurs, le contenu en GSH érythrocytaire est augmenté chez les même groupes HC-Za vs HC (+37%), D-Za vs D (+33%) et HC-D-Za vs HC-D (+46%) (Fig. 1).

**Détermination de l'activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires**

Comparés aux groupes non traités, une élévation de l'activité SOD de +34, +37 et +59%, est notée respectivement, chez les groupes traités HC-Za, D-Za et HC-D-Za (Fig. 2). De même, l'activité GSH-Px est augmentée chez les groupes HC-Za vs HC (+17%), D-Za vs D (+28%) et HC-D-Za vs HC-D (+20%). L'activité GSSH-Red est diminuée chez le groupe D-Za par rapport à D (-28%), inversement, une importante activité est observée chez les groupes HC-Za vs HC (+32

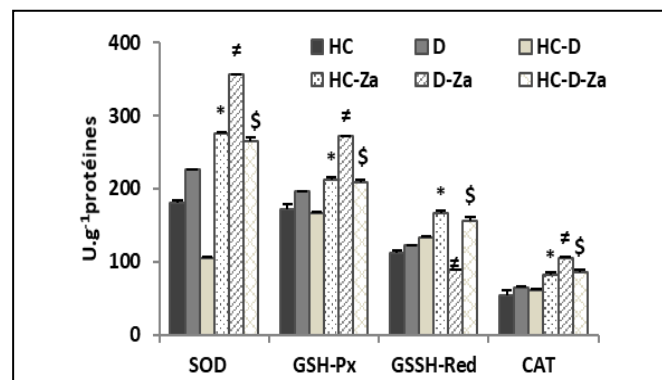


**Fig. 1. Concentrations en TBARS et GSH au niveau des érythrocytes**

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. HC : Groupe Hypercholestérolémique, D : Groupe Diabétique, HC-D : Groupe Hypercholestérolémique-diabétique, HC-Za : Groupe Hypercholestérolémique traité avec l'extrait de Z. album (1 %), D-Za : Groupe Diabétique traité avec l'extrait de Z. album (1 %), HC-D-Za : Groupe Hypercholestérolémique-Diabétique traité avec l'extrait de Z. album (1 %), TBARS : Substances réactives à l'acide thiobarbiturique ; GSH : glutathion réduit. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de Tukey-Kramer. Les moyennes sont significativement différentes à p<0,05 : \*HC-Za vs HC ; #D-Za vs D ; \$HC-D-Za vs HC-D.

%) et HC-D-Za vs HC-D (+15%).

L'activité CAT est augmentée chez tous les groupes traités avec l'extrait de Z. album, cette élévation est de +29% chez le groupe HC-Za, +38 % chez le groupe D-Za et +28% chez le groupe HC-D-Za.



**Fig. 2. Activités des enzymes antioxydantes érythrocytaires**

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. HC : Groupe Hypercholestérolémique, D : Groupe Diabétique, HC-D : Groupe Hypercholestérolémique-diabétique, HC-Za : Groupe Hypercholestérolémique traité avec l'extrait de Z. album (1 %), D-Za : Groupe Diabétique traité avec l'extrait de Z. album (1 %), HC-D-Za : Groupe Hypercholestérolémique-Diabétique traité avec l'extrait de Z. album (1 %), SOD : superoxyde dismutase ; GSH-Px: glutathion peroxydase ; GSSH-Red: glutathion réductase ; CAT: catalase. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de Tukey-Kramer. Les moyennes sont significativement différentes à p<0,05 : \*HC-Za vs HC ; #D-Za vs D ; \$HC-D-Za vs HC-D.

**Évaluation du statut inflammatoire**

**Interleukine 18 (IL-18) et Interleukine 6 (IL-6)**

Les teneurs en IL-1β et IL-6 sont diminuées chez les groupes traités avec l'extrait de Z. album (Tableau II). En effet, les concentrations de l'IL-1β sont réduites respectivement, de -44, -50 et -33%, chez les groupes HC-Za, D-Za et HC-D-Za ; de même, une diminution des teneurs en IL-6 de -49, -38 et -41%

**Tableau II. Concentrations plasmatiques des marqueurs de l'inflammation**

	HC	D	HC-D	HC-Za	D-Za	HC-D-Za
IL-1β (pg.mL <sup>-1</sup> )	16,22±0,12	18,31±0,43	17,37±0,15	8,73±0,46*	9,06±0,23 <sup>‡</sup>	11,06±0,73 <sup>§</sup>
IL-6 (pg.mL <sup>-1</sup> )	34,42±2,28	32,14±3,41	36,12±2,17	16,11±2,52*	18,75±3,30 <sup>‡</sup>	20,26±2,14 <sup>§</sup>
TNF-α (pg.mL <sup>-1</sup> )	10,11±0,15	12,15±0,16	14,52±0,25	5,06±0,26*	6,66±0,23 <sup>‡</sup>	7,37±0,26 <sup>§</sup>
Homocystéine (μmol.L <sup>-1</sup> )	13,31±0,13	12,35±0,14	18,12±0,12	7,18±0,15*	8,24±0,20 <sup>‡</sup>	8,67±0,13 <sup>§</sup>
CRP (mg.L <sup>-1</sup> )	32,21±1,26	30,53±1,85	43,21±1,33	20,15±0,94*	23,12±1,28 <sup>‡</sup>	26,16±1,35 <sup>§</sup>

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. HC : Groupe Hypercholestérolémique, D : Groupe Diabétique, HC-D : Groupe Hypercholestérolémique-diabétique, HC-Za : Groupe Hypercholestérolémique traité avec l'extrait de Z. album (1 %), D-Za : Groupe Diabétique traité avec l'extrait de Z. album (1 %), HC-D-Za : Groupe Hypercholestérolémique-Diabétique traité avec l'extrait de Z. album (1 %). La comparaison des moyennes est effectuée par le test de Tukey-Kramer. Les moyennes sont significativement

est notée chez ces mêmes groupes.

### **TNF- $\alpha$ , Homocystéine et Protéine C-réactive (CRP)**

Les concentrations plasmatiques du TNF- $\alpha$  sont réduites chez les groupes HC-Za vs HC (-48 %), D-Za vs D (-44 %) et HC-D-Za vs HC-D (-48%). De plus, une réduction des teneurs en homocystéine de -45, -32 et -52% est observée chez les groupes HC-Za vs HC, D-Za vs D et HC-D-Za vs HC-D, respectivement ; de même, les concentrations en CRP sont diminuées de 37, -25 et -38 % chez les mêmes groupes.

## **Discussion**

L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets de la supplémentation de l'extrait aqueux de *Z. album* (1%) dans le régime sur les statuts redox et inflammatoire, chez des rats rendus hypercholestérolémiques et diabétiques.

Le stress oxydatif est un phénomène sous-jacent à l'hypercholestérolémie [31]. Par ailleurs, un lien étroit entre le stress oxydant et le diabète est clairement admis, résultant d'une hyperproduction radicalaire associée à l'hyperglycémie et à une diminution des défenses antioxydantes [32]. Des études ont montré que les piègeurs des radicaux libres et antioxydants disponibles dans les végétaux sont capables de neutraliser les radicaux libres et de ce fait, sont utiles pour prévenir contre les complications du diabète induit expérimentalement dans un modèle de rat [33].

Dans le cadre de notre étude, la consommation d'un régime enrichi en cholestérol (1%) et l'induction du diabète expérimental par injection de STZ entraînent chez le rat, un stress oxydatif caractérisé par une augmentation de la peroxydation lipidique ainsi qu'une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes. En raison de leur forte concentration en O<sub>2</sub> suite à son transport, plusieurs travaux ont montré la sensibilité des érythrocytes au stress oxydatif [34]. De plus, la forte exposition des érythrocytes aux ERO induit une élévation de la lipoperoxydation, des altérations morphologiques et de la déplétion du système antioxydant enzymatique [34]. Ainsi, la peroxydation lipidique est directement liée à la gravité de l'hypercholestérolémie et de l'hyperglycémie permanente. Dans cette étude, l'évaluation du statut oxydant au niveau érythrocytaire, après supplémentation de l'extrait aqueux de *Z. album*, montre une diminution de la peroxydation lipidique, suite à la

réduction des teneurs en TBARS.

À l'inverse, les concentrations en GSH sont augmentées. Cette réduction de la peroxydation lipidique pourrait être due à la stimulation de l'activité de certaines enzymes antioxydante par l'extrait aqueux de *Z. album* ainsi qu'une inhibition de la production des radicaux libres.

Le GSH qui est connu par son puissant pouvoir antioxydant [35], protège non seulement contre les radicaux libres, mais aussi contre les peroxydes [36]. La stimulation de l'augmentation du GSH pourrait être une réponse au contenu phytochimique de l'extrait de *Z. album* qui jouerait un rôle important dans la défense antioxydante.

Des auteurs ont rapporté une réduction des concentrations en GSH qui semble être liée directement à l'activité de la GSH-Px, du fait que le GSH est un substrat et cofacteur de la GSH-Px. La glycation associée au diabète peut inactiver l'activité de la GSH-Px en bloquant le site actif de l'enzyme [37].

Par ailleurs, le traitement avec l'extrait de *Z. album* diminue les teneurs plasmatiques en glucose [38], conduisant à la réduction de la glycation, ce qui entraîne une importante augmentation du taux de GSH et de l'activité de la GSH-Px. D'autre part, une amélioration de l'activité des enzymes antioxydantes des érythrocytes est notée dans notre étude, avec une augmentation des activités de la SOD et de la CAT, ainsi que celles de la GSH-Px et de la GSSH-Red chez tous les groupes traités avec l'extrait de *Z. album* (HC-Za, D-Za et HC-D- Za). Zidan *et al.*, [39], ont rapporté, au niveau des érythrocytes, une diminution des teneurs en TBARS et une augmentation des activités SOD et CAT ; alors que les activités GSH-Px et GSSH-Red demeurent similaires chez des rats soumis à un régime enrichi en cholestérol et traité avec l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea*. De même, Berzou *et al.*, [40] ont observé que dans les érythrocytes, les concentrations des TBARS tendent à diminuer et les activités SOD et CAT à augmenter tandis que les activités GSH-Px et GSSH-Red restent similaires, après traitement avec l'extrait aqueux de *Zygophyllum gaetulum* chez des rats soumis à un régime enrichi en cholestérol (1%). L'effet protecteur de l'extrait de *Z. album* pourrait s'expliquer par sa capacité à réduire le niveau de stress oxydatif avec l'inhibition de la production des ERO. L'élévation de l'activité de la SOD avec l'extrait de *Z. album* suggère une élimination importante des O<sup>2•-</sup> et, par conséquent, une inhibition de la formation de radical hydroxyle (•OH) ce qui peut protéger les érythrocytes contre leurs effets nocifs. La SOD peut également convertir les O<sup>2•-</sup> en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui est décomposée en

H<sub>2</sub>O par la GSH-Px et la CAT. Le screening phytochimique de *Z. album* a révélé la présence de flavonoïdes [24], connus pour leurs effets antioxydants et leurs rôles dans la captation des radicaux libres prévenant ainsi la peroxydation des lipides. L'effet bénéfique de *Z. album* contre le stress oxydatif pourrait être corrélé à la présence de ces composants bioactifs. Chez le rat hypercholestérolémique, diabétique ou hypercholestérolémique-diabétique traités avec l'extrait aqueux de *Z. album*, le système de défense antioxydante semble être efficace dans les érythrocytes. Cet extrait est donc capable de réduire la peroxydation des lipides et, par conséquent, de prévenir les dommages induits par le stress oxydatif. L'inflammation associée à l'hypercholestérolémie et au diabète suscite de plus en plus d'intérêts, en raison de son implication dans le processus athérosclérotique et le développement des MCV [41]. La sécrétion de cytokines comme la TNF- $\alpha$  et l'IL-6 par le tissu adipeux aggrave la résistance à l'insuline et la lipolyse pouvant accroître la production de glucose et des lipoprotéines de très faible densité (VLDL) dans le foie et renforcer ainsi l'insulinorésistance dans les muscles. Par ailleurs, la production du TNF- $\alpha$  est augmentée par l'inflammation hépatique et adipocytaire [42]. Le TNF- $\alpha$  dérive principalement du tissu adipeux et contribue au dysfonctionnement endothélial et à la résistance à l'insuline, aussi bien, chez l'Homme que chez le rat [43,44]. Les mécanismes d'action du TNF- $\alpha$  ne sont pas encore bien élucidés mais il a été suggéré une diminution de l'ARNm de GLUT4 et une réduction du récepteur IRS (*Insulin Receptor Substrate*) [45].

Notre étude a bien mis en évidence, l'effet négatif de l'hypercholestérolémie, du diabète ainsi que leur association sur le statut inflammatoire, chez les rats puisqu'une augmentation des teneurs circulantes en CRP, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 et en homocystéine, a été notée. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Yadav *et al.*, [46] qui ont montré qu'un régime enrichi en cholestérol induit chez le rat Wistar, une inflammation systémique *via* une augmentation des marqueurs pro-inflammatoires. En effet, une synthèse accrue du TNF- $\alpha$  et de l'IL-6 est observée, ce qui pourrait être due à l'augmentation du stress oxydatif par l'intermédiaire des cellules immunitaires activées [46]. Il est bien établi que le cholestérol provoque une inflammation et les métabolites oxydés du cholestérol peuvent prendre part à la stimulation

de l'expression des marqueurs de l'inflammation [47]. De plus, l'homocystéine agit contre l'inflammation induite -par le cholestérol *in vivo* chez le rat. Cet effet pourrait être médié par un processus lié à l'activateur du plasminogène tissulaire [47]. Par ailleurs, les travaux de Feriani *et al.*, [48] ont également montré que, chez le rat, l'induction du diabète expérimental par la deltaméthrine, entraîne une inflammation avec des teneurs élevées en CRP et TNF- $\alpha$ .

Notre étude montre des teneurs réduites en CRP, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et IL-6 ainsi qu'en homocystéine, après traitement avec l'extrait aqueux de *Z. album*. Ces résultats convergent avec ceux obtenus par Feriani *et al.*, [48] qui ont rapporté que l'extrait éthanolique de *Z. album* entraîne une réduction de l'inflammation qui se manifeste par une diminution des teneurs en CRP et TNF- $\alpha$  chez le rat diabétique. En outre, l'extrait aqueux lyophilisé de *Anvillea radiata* a montré une forte activité anti-inflammatoire chez des souris nourries avec un régime riche en lipides [49]. Ceci suggère que l'apport en composés polyphénoliques de l'extrait de *Z. album* dans le régime semble être bénéfique dans la limitation du développement de l'inflammation systémique. En effet, les composés polyphénoliques ont été identifiés dans diverses espèces de plantes exerçant des effets protecteurs contre l'inflammation [50]. En effet, des études récentes ont rapporté que des extraits de plantes peuvent avoir une double utilisation, anti-hyperglycémique et anti-inflammatoire [51], ou pourraient être utilisés comme traitements hypolipémiants agissant probablement sur des voies cellulaires impliquées dans l'expression de l'adipogénèse [52]. Par ailleurs, les travaux de Kim *et al.*, [53] ont montré que les flavonoïdes possèdent une activité anti-inflammatoire, aussi bien, *in vitro* que *in vivo* *via* l'inhibition de la production des IL-1 $\beta$ , IL-6 et TNF- $\alpha$ . L'extrait éthanolique des feuilles de *Crateva nurvala* exerce également, en raison de sa richesse en flavonoïdes, un effet anti-inflammatoire remarquable, chez le rat présentant des lésions d'ischémie/reperfusion rénales [54]. Les flavonoïdes expriment leur activité anti-inflammatoire, en partie, par la modulation de l'expression des gènes pro-inflammatoires tels que la cyclo-oxygénase-2, les oxydes nitriques synthases et plusieurs cytokines [54].

## Conclusion

Il apparait que l'extrait aqueux de *Z. album* exerce un effet bénéfique dans la prévention ou le traitement du stress oxydant au niveau des érythrocytes et



de l'inflammation engendrés par l'hypercholestérolémie et le diabète, deux facteurs de risque majeurs des maladies cardiovasculaires.

## Remerciements

Cette étude entre dans le cadre d'un Programme National de Recherche en Sciences fondamentales (PNR-ANDRS Code 8/u310/1058) financé par l'Agence Thématique de Recherche en Sciences de la Santé (ATRSS).

## Conflit d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts en relation avec cet article.

## Références

- Perrini M., D'Oria R., Natalicchio A., Perrini S., Laviola L., Giordino F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular Pharmacology* 2018;100: 1-19.
- Hulsmans M., Holvoet P. The vicious circle between oxidative stress and inflammation in atherosclerosis. *J Cell Mol Med* 2010;14: 70-8.
- Münzel T., Camici G., Maack C., Bonetti N., Fuster V., Kovacic J. Impact of Oxidative Stress on the Heart and Vasculature Part 2 of a 3-Part Series. *J Am Coll Cardiol* 2017;70: 212-29.
- Keane KN., Cruzat VF., Carlessi R., de Bittenco Jr P., Newsholme P. Molecular events linking oxidative stress and inflammation to insulin resistance and b-cell dysfunction. *Oxid Med Cell Longev* 2015;2015: 181643.
- Bjørklund G., Chirumbolo S. Role of oxidative stress and antioxidants in daily nutrition and human health. *Nutrition* 2017;33: 311-21.
- Li H., Horke S., Förstermann U. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2014;237: 208-19.
- Bulua AC., Simon A., Maddipati R., Pelletier M., Park H., Kim KY. Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS). *J Exp Med* 2011; 208: 519-33.
- Zhou R., Yazdi AS., Menu P., Tschopp J. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature* 2011;469: 221-5.
- Patti ME., Corvera S. The role of mitochondria in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2010;31: 364-95.
- Daiber P., Kossmann S., Münzel T., Daiber A. Redox regulation of cardiovascular inflammation-immunomodulatory function of mitochondrial and Nox-derived reactive oxygen and nitrogen species. *Free Radic Biol Med* 2017;109: 48-60.
- Chattopadhyay M., Khemka VK., Chatterjee G., Ganguly A., Mukhopadhyay S., Chakrabarti S. Enhanced ROS production and oxidative damage in subcutaneous white adipose tissue mitochondria in obese and type 2 diabetes subjects. *Mol Cell Biochem* 2015;399: 95-103.
- Kanikarla-Marie P., Jain SK. Role of Hyperketonemia in Inducing Oxidative Stress and Cellular Damage in Cultured Hepatocytes and Type 1 Diabetic Rat Liver. *Cell Physiol Biochem* 2015;37: 2160-70.
- He L., He T., Farrar S., Ji L., Liu T., Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiol Biochem* 2017;44: 532-53.
- Marik PE. Endocrinology of the Stress Response During Critical Illness. In: Ronco C, Bellomo R, Kellum JA, Ricci Z, editors. *Critical Care Nephrology (Third Edition)*. Philadelphia: Content Repository Only. 2019. p.446-54.e4.
- Goldfine AB., Shoelson SE. Therapeutic approaches targeting inflammation for diabetes and associated cardiovascular risk. *J Clin Invest* 2017; 127: 83-93.
- Saltiel AR., Olefsky JM. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *J Clin Invest* 2017;127: 1-4.
- Liese AD., Ma X., Ma X., Mittleman MA., The NS., Standiford DA. et al. Dietary Quality and Markers of Inflammation: No Association in Youth with Type 1 Diabetes in the Search for Diabetes in Youth Study. *J Diabetes Complications* 2017;32: 179-84.
- Colina-Coca C., González-Peña D., de Ancos B., Sánchez-Moreno C. Dietary onion ameliorates antioxidant defense, inflammatory response, and cardiovascular risk biomarkers in hypercholesterolemic Wistar rats. *J Funct Foods* 2017;36: 300-9.
- Bading Taika B., Bouckandou M., Souza A., Boubou HP., MacKenzie LS., Lione L. An overview of anti-diabetic plants used in Gabon: Pharmacology and Toxicology. *J Ethnopharmacol* 2018;216: 203-28.
- Bedekar A., Shah K., Koffas M. Natural products for type II diabetes treatment. *Adv Appl Microbiol* 2010;71: 21-73.

21. Achi NK., Ohaeri OC., Ijeh II., Eleazu C. Modulation of the lipid profile and insulin levels of streptozotocin induced diabetic rats by ethanol extract of *Cnidocolus aconitifolius* leaves and some fractions: Effect on the oral glucose tolerance of normoglycemic rats. *Biomed Pharmacother* 2017;86: 562-9.
22. El-Sayyad HIH., Elmansi AA., Bakr EH. Hypercholesterolemia induced ocular disorder: Ameliorating role of phytotherapy. *Nutrition* 2015; 31: 1307-16.
23. Belmimoun A., Meddah B., Sid Elarbi K., Sonnet P. Phytochemical study of *Zygophyllum album* extract. *Int J Eng Sci Manag Res* 2017; 4:1-10.
24. El Ghoul J., Ben-Attia M. Vasorelaxant Effects of Aqueous Extract of *Zygophyllum Album* and Antihyperglycemic Activities in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *J Diabetes Metab* 2014; 5:426-32.
25. Council of European Communities. Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. Official J1987 L358 of 18-12-1986; Corrigendum Official J. L117 of 05-05-1987. <http://data.europa.eu/eli/dir/1986/609/oj>
26. Zhang M., Lv X., Li J., Meng Z., Wang Q., Chang WG. et al. Sodium caprate augments the hypoglycemic effect of berberine via AMPK in inhibiting hepatic gluconeogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2012;363: 122-30.
27. Quintanilha AT., Packer L., Davies JM., Racanelli TL., Davies KJ. Membrane effects of vitamin E deficiency: bioenergetic and surface charge density studies of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann NY Acad Sci* 1982;39: 32-47.
28. Brown JM., Grosso MA., Terada LS., Beehler CJ., Toth KM., Whitman GJ. et al. Erythrocytes decrease myocardial hydrogen peroxide levels and reperfusion injury. *Am J Physiol* 1989;256: H584-H8.
29. Sedlak J., Lindsay RH. Estimation of total protein bound and non-protein sulfhydryl groups in tissues with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968;25: 192-205.
30. Schultz-Moreira AR., Olivero-David R., Vázquez-Velasco M., González-Torres L., Benedí J., Bastida S., Sánchez-Muniz FJ. Protective effects of sea spaghetti-enriched restructured pork against dietary cholesterol: effects on acyl-esterase and lipoprotein profile and composition of growing rats. *J Med Food* 2014;17: 921-8.
31. Zein S., Rachidi S., Hininger-Favier I. Fer, stress oxydant et diabète gestationnel. *Médecine Mala -dies Métaboliques* 2013;7: 144-8.
32. Ezuruike UF., Prieto JM. Review: The Use of Plants in the Traditional Management of Diabetes in Nigeria: Pharmacological and Toxicological Considerations. *J Ethnopharmacol* 2014;155: 857-924.
33. Okamoto T., Gohil K., Finkelstein EI., Bove P., Akaike T., Vander Vliet A. Multiple contributing roles for NOS2 in LPS-induced acute airway inflammation in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;286: L198-209.
34. Giustarini D., Colombo G., Garavaglia ML., Astori E., Portinaro NM., Reggiani F. et al. Assessment of glutathione/glutathione disulphide ratio and S-glutathionylated proteins in human blood, solid tissues, and cultured cells. *Free Radic Biol Med* 2017;112: 360-75.
35. Giustarini D., Galvagni F., Donne ID., Milzani A., Severi FM., Santucci A., Rossi R. N-acetylcysteine ethyl ester as GSH enhancer in human primary endothelial cells: a comparative study with other drugs. *Free Radic Biol Med* 2018; 126: 202-9.
36. Fournet M., Bonté F., Desmoulière A. Glycation Damage: A Possible Hub for Major Pathophysiological Disorders and Aging. *Aging Dis* 2018;9: 8806900.
37. Bahlil Y., Krouf D., Taleb-Dida N. *Zygophyllum album* aqueous extract reduces glycemia and ameliorates lipid profile and oxidative damage in hypercholesterolemic-diabetic rats. *Nutr Food Sci* 2019;49: 141-57.
38. Zidan Y., Bouderbala S. Bouchenak M. *Portulaca oleracea* aqueous extract reduces oxidative stress in erythrocytes and tissues, in rats fed enriched-cholesterol diet. *J Exp Integr Med* 2016;6: 21-5.
39. Berzou S., Krouf D., Dida N., Taleb-Senouci D., Guenzet A. Effects of *Zygophyllum gaetulum* Aqueous Extract on Erythrocytes Lipid Peroxidation and Paraoxonase1 Activity in Hypercholesterolemic Rats. *Int J Pharmacog Phytochem Res* 2016;8: 1689-94.
40. Magnuson A., Fouts J., Booth A., Foster M. Obesity-induced chronic low-grade inflammation: Gastrointestinal and adipose tissue crosstalk. *Integr Obesity Diabetes* 2015;1: 103-8.
41. Choi JJ., Park MY., Lee HJ., Yoon DY., Lim Y., Hyun JW. et al. TNF- $\alpha$  increases lipogenesis via JNK and PI3K/Akt pathways in SZ95 human sebocytes. *J Dermatol Sci* 2012; 65:179-88.
42. Amírez-Alvarado MM., Sánchez-Roitz C. Tumor necrosis factor- $\alpha$ , insulin resistance, the lipoprotein metabolism and obesity in humans. *Nutr Hosp* 2012;27: 1751-7.

43. Yida Z., Imam MU., Ismail M., Ismail N., Ideris A., Abdullah MA. High fat diet-induced inflammation and oxidative stress are attenuated by N-acetylneuraminic acid in rats. *J Biomed Sci* 2015;22: 1-10.
44. Nieto-Vazquez I., Fernández-Veledo S., Krämer DK., Vila-Bedmar R., Garcia-Guerra L., Lorenzo M. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch Physiol Biochem* 2008;114: 183-94.
45. Yadav R., Khan SH., Mada SB., Meena S., Kapila R., Kapila S. Consumption of Probiotic Lactobacillus fermentum MTCC:5898-Fermented Milk Attenuates Dyslipidemia, Oxidative Stress, and Inflammation in Male Rats Fed on Cholesterol-Enriched Diet. *Probiotics Antimicro Prot* 2018; pp.1-10.
46. Pirchl M., Ullrich C., Sperner-Unterweger B., Humpel C. Homocysteine has anti-inflammatory properties in a hypercholesterolemic rat model *in vivo*. *Mol Cell Neurosci* 2012; 49: 456-63.
47. Feriani A., Hachani R., Kaabi B., Ncir M., El Feki A., Allagui MS. Protective effects of *Zygophyllum album* extract against deltamethrin-induced hyperglycemia and hepato-pancreatic disorders in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2016;94: 1202-10.
48. Kandouli C., Cassien Ma., Mercier A., Delehedde C., Ricquebourg E., Stocker P. et al. Antidiabetic, antioxidant and anti-inflammatory properties of water and n-butanol soluble extracts from Saharian *Anvillea radiata* in high-fat-diet fed mice. *J Ethnopharmacol* 2017;207: 251-67.
49. Sreeja PS., Arunachalam K., de Oliveira Martins DT., da Silva Lima JC., Balogun SO., Pavan E. et al. *Sphenodesme involucrate* var. *paniculata* (C.B. Clarke) Munir: chemical characterization, antinociceptive and anti-inflammatory activities of methanol extract of leaves. *J Ethnopharmacol* 2018;225: 71-80.
50. Heyman L., Axling U., Blanco N., Sterner O., Holm C., Berger K. Evaluation of beneficial metabolic effects of berries in high-fat fed C57BL/6J mice. *J Nutr Metab* 2014;2014: 1-12.
51. Lee IS., Kim DY., Choi BY. Antioxidative activity of blueberry leaf extract prevents high-fat induced obesity in C57BL/6 mice. *J Cancer Prev* 2014;19: 209-15.
52. Kim HP., Son KH., Chang HW., Kang SS. Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. *Pharmacol Sci* 2004; 96: 229-45.
53. Choucry MA., Khalil MNA., El Awdan SA. Protective action of *Crateva nurvala* Buch. Ham extracts against renal ischaemia reperfusion injury in rats *via* antioxidant and anti-inflammatory activities. *J Ethnopharmacol* 2018;214: 47-57.