



UNIVERSITE  
Abdelhamid Ibn Badis  
MOSTAGANEM

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE de l'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم

UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

THESE DE DOCTORAT LMD 3<sup>ème</sup> Cycle (Doctorat LMD)

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : **Biologie et Physiologie Animale**

Option : Physiologie de la Reproduction

**THEME**

**Effets d'un régime hyper gras sur l'appareil reproducteur mâle chez le rat *Wistar* et impact d'un traitement avec une plante médicinale, la sauge**

Présenté par **MEKKI Siham**

Devant le jury :

Présidente :	Pr. CHOUGRANI Fadéla	Univ Mostaganem
Promotrice :	Pr. BELHOCINE Mansouria	Univ Mostaganem
Examinatrice :	Dr. DOUICHENE Salima	Univ Mostaganem
Examinatrice :	Pr. BENDAHMANE Malika	Univ Sidi Bel Abbès

**Année universitaire 2023-2024**

*Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale (LSTPA)*



## Remerciements

Mes remerciements s'adressent tout d'abord à ma Directrice de thèse, **Madame BELHOCINE Mansouria**, Professeure au département de Biologie de la faculté SNV de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem pour avoir ouvert le concours de doctorat et m'avoir acceptée dans son équipe de recherche. Tout au long de ce travail, elle m'a apporté un soutien incessant, une disponibilité illimitée et des conseils précieux et avisés à la hauteur de ses compétences et de ses réelles qualités humaines. A vous, Madame, toute ma gratitude et mon respect pour tous les efforts considérables que vous avez consacrés à la direction de ce travail.

Je remercie vivement **Madame CHOUGRANI Fadéla**, Professeure au département de Biologie de la faculté SNV de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de mon travail. Je vous remercie, Madame, pour vos conseils et vos encouragements. Veuillez trouver ici mes respectueuses considérations.

Je remercie vivement **Madame BENDAHMANE Malika**, Professeur à l'Université de Sidi Bel Abbès, pour le temps accordé à examiner ma thèse. Veuillez bien accepter l'expression de mon profond respect.

J'exprime mes remerciements en particulier à **Madame DOUICHENE Salima**, Maître de conférences à l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour l'acceptation de juger mon travail. Soyez assurée de tous mes respects.

Je remercie également très chaleureusement **Monsieur BOUZOUINA Mohamed**, Professeur au Département d'Agronomie de la Faculté SNV de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem et directeur du laboratoire de Protection des végétaux, pour son aide, pour ses conseils avisés et son écoute qui ont été prépondérants pour la bonne réussite de cette recherche. Merci pour toutes ces qualités humaines. Veuillez accepter l'expression de mon profond respect et de ma gratitude.

J'adresse mes vifs remerciements à **Monsieur CHAOUAD Billel**, Maître de conférences à l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana. Je voudrais avoir l'honneur de vous exprimer ma gratitude pour vos précieux conseils, votre grande aide, votre disponibilité et votre humanité. Soyez assuré, monsieur, de mon plus profond respect.

Mes remerciements vont également à **Madame MOSTARI Abbassia**, Maître de conférences au département de Biologie à l'Université Abdelhamid Ibn Badis (Mostaganem), pour la participation à la réalisation de ce travail notamment les sorties sur terrains pour l'acquisition de la matière végétale.

Je remercie grandement **Messieurs, CHERIGUENE Abderrahim**, professeur au département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem et **DAHOU Amine**, directeur du Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale (LSTPA), pour leur aide dans la réussite de ce travail.

Bien sûr, atteindre ces objectifs n'aurait pas été possible sans mes enseignants que je respecte énormément. Je souhaite notamment remercier **Monsieur BENABDELMOUMENE Djilali**, Maître de conférences au département d'Agronomie à l'Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem pour les analyses statistiques et **Monsieur BOUSSOUBEL Abdelkader**, Maître de conférences au département de Biologie à l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana pour avoir facilité la réalisation de l'histologie à l'université de Khemis Miliana.

## Dédicaces

Avec l'aide de dieu j'ai pu terminer ce travail que je dédie :

À

Tous ceux qui m'aiment et me souhaitent de réussir, *en particulier à ma chère mère*

## Résumé

*Salvia balansae* est une plante aromatique vivace appartenant à la famille des Lamiacées et endémique à l'Algérie (Wilaya de Mostaganem). En raison de son endémisme strict, cette plante n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique, pharmacologique et ethnobotanique. L'objectif de ce travail est l'étude phytochimique, l'évaluation des activités biologiques, antioxydantes et antidiabétiques *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* ainsi que la détermination de ses effets thérapeutiques possibles sur le dysfonctionnement testiculaire, l'obésité nutritionnelle et ses troubles métaboliques associés chez le rat *Wistar* soumis à un régime alimentaire obésogène enrichi en graisse de mouton (HFD).

Nous avons évalué, *in vitro*, l'activité antioxydante de cet extrait avec les tests TAC, DPPH, ABTS, Chélation du fer ferreux et FRAP. L'activité antidiabétique a été mesurée avec la méthode de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase. Afin de déterminer les effets thérapeutiques de *S. balansae in vivo*, une expérimentation animale a été réalisée chez le rat *Wistar* par constitution de 3 groupes, contrôle, HFD, et HFD+SB. Le régime HFD a été administré pendant 18 semaines et l'extrait pendant les 6 dernières semaines à raison de 200mg/Kg du poids corporel/jour par voie orale. Au terme de l'expérimentation, la testostérone sérique et certains paramètres plasmatiques ont été analysés et les testicules prélevés ont fait l'objet d'une étude histopathologique et morphométrique.

Nos résultats *in vitro* ont montré, une importante propriété antioxydante (TAC= 141,97± 0,43 mgAAE/gE ; IC<sub>50</sub> DPPH = 530.55± 4.76 µg ET/mL ; IC<sub>50</sub> ABTS= 366.30±14.14 µg ET/mL ; IC<sub>50</sub>Chélation du fer=15.45±1.28µgE Na<sub>2</sub>EDTA /mL ; EC<sub>50</sub>FRAP= 0.66±0.1 mg/mL) et antidiabétique (IC<sub>50</sub> $\alpha$ -amylase= 103.64±2.04 µgEA/mL) de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* qui pourraient être dues à sa teneur élevée en composés phénoliques totaux (CPT= 134.91±0.23 mg EAG/gE). Le régime alimentaire hyper-gras a provoqué chez le rat *Wistar* des perturbations métaboliques caractérisées par une obésité, un diabète de type 2 (hyperglycémie, augmentation du marqueur indirect de la résistance à l'insuline IR), une dyslipidémie (augmentation du cholestérol, des triglycérides, du LDL-c et de l'index athérogène), une insuffisance hépatique (augmentation ALT/AST), une insuffisance rénale (augmentation de la créatinine), une inflammation (augmentation du CRP), et une diminution du potentiel antioxydant plasmatique (acide urique). Par ailleurs, sur la sphère génitale le HFD a diminué le taux sérique de la testostérone et a occasionné une altération de la structure histologique du testicule marquée par

une atrophie et une désorganisation des tubes séminifères, une dégénérescence de l'épithélium germinal, un détachement des cellules spermatogènes, une diminution des indices de spermatogenèse (TDI et IS), arrêt de la production des spermatozoïdes, une vacuolisation lipidique, une diminution et une vacuolisation des cellules Leydig et, des sécrétions acidophiles et une fibrose interstitielle. Le traitement des rats HFD+SB par l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* a, réduit leurs poids corporels par rapport aux rats HFD non traités, normalisé le profil lipidique, diminué l'hyperglycémie, l'IR, les transaminases hépatiques, la créatinine et la CRP et a augmenté l'acide urique. Sur la fonction de reproduction, l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* a entraîné l'augmentation sérique de la testostérone, la régénération de l'architecture testiculaire, la structure des tubes séminifères, a augmenté leur diamètre et la hauteur de l'épithélium germinal, suivi de la réactivation de la spermatogenèse et une réduction de la fibrose interstitielle, des sécrétions acidophiles et la disparition de la vacuolisation interstitielle.

En conclusion, *S. balansae* pourrait rétablir, grâce à ses propriétés antioxydantes, antidiabétiques, anti-obésité, hypolipémiante et antiinflammatoire, les complications métaboliques résultant de l'obésité nutritionnelle et servir de base au développement d'une nouvelle thérapie pour le traitement du dysfonctionnement testiculaire et l'amélioration de la fertilité.

**Mots clés :** Antidiabétique, anti-obésité, antioxydant, HFD, infertilité, *Rat Wistar*, *Salvia balansae*, testicule, testostérone.

## Abstract

*Salvia balansae* is an aromatic perennial plant belonging to the Lamiaceae family and endemic to Algeria (Mostaganem). Due to its strict endemism, this plant has not been the subject of any phytochemical, pharmacological or ethnobotanical studies. The aim of this study was to evaluate the phytochemical, biological, antioxidant and anti-diabetic activities of the aqueous extract of *Salvia balansae* leaves in vitro, and to determine its possible therapeutic effects on testicular dysfunction, nutritional obesity and associated metabolic disorders in *Wistar* rats fed an obesogenic diet enriched with sheep fat (HFD).

Antioxidant activity of this extract was assessed in vitro using the TAC, DPPH, ABTS, ferrous iron chelation and FRAPS assays. Antidiabetic activity was measured using the  $\alpha$ -amylase inhibition method. To determine the therapeutic effects of *S. balansae* in vivo, animal experiments were carried out in *Wistar* rats in 3 groups: control, HFD and HFD+SB. HFD diet was administered for 18 weeks, and extract for the last 6 weeks at 200mg/Kg body weight/day orally. At the end of experiment, testosterone and certain plasma parameters were analyzed, and the harvested testes were studied histopathologically and morphometrically.

Our in vitro results showed important antioxidant properties (TAC=  $141.97 \pm 0.43$  mgAAE/gE;  $IC_{50}$  DPPH=  $530.55 \pm 4.76$   $\mu$ g TE/mL;  $IC_{50}$  ABTS=  $366.30 \pm 14.14$   $\mu$ g TE/mL;  $IC_{50}$  Iron chelation=  $15.45 \pm 1.28$   $\mu$ g Na<sub>2</sub>EDTA E /mL;  $EC_{50}$  FRAP=  $0.66 \pm 0.1$  mg/mL) and anti-diabetic properties ( $IC_{50}$   $\alpha$ -amylase=  $103.64 \pm 2.04$   $\mu$ gAE/mL) of aqueous extract of *S. balansae* leaves, which may be due to its high total phenolic compound content (TPC=  $134.91 \pm 0.23$  mg AGE/gE). High-fat diet induced metabolic perturbations in *Wistar* rats, characterized by obesity, type 2 diabetes (hyperglycemia, increased indirect marker of insulin resistance IR), dyslipidemia (increased cholesterol, triglycerides, LDL-c and atherogenic indices), liver failure (increased ALT/AST), kidney failure (increased creatinine), inflammation (increased CRP) and decreased plasma antioxidant potential (uric acid). In genital sphere, HFD reduced serum testosterone levels and altered the histological structure of the testis, with atrophy and disorganization of the seminiferous tubules, degeneration of the germinal epithelium, detachment of spermatogenic cells, decrease in spermatogenesis and spermiogenesis indices (TDI and IS), cessation of sperm production, lipid vacuolization, decrease and vacuolization of Leydig cells and, acetowhite secretions and interstitial fibrosis. Treatment of HFD+SB rats with aqueous extract of *S. balansae* leaves reduced body weight compared with untreated HFD rats, normalized lipid profile, decreased hyperglycemia, IR, liver transaminases,

creatinine and CRP, and increased uric acid. On reproductive function, aqueous extract of *Salvia balansae* leaves resulted in increased serum testosterone, regeneration of testicular architecture, seminiferous tubule structure, increased diameter and height of germinal epithelium, followed by reactivation of spermatogenesis and a reduction in interstitial fibrosis, acidophilic secretions and disappearance of interstitial vacuolization.

In short, due to its antioxidant, anti-diabetic, anti-obesity, lipid-lowering and anti-inflammatory properties, *S. balansae* could restore the metabolic complications resulting from nutritional obesity, and provide the basis for the development of a new therapy to treat testicular dysfunction and improve fertility.

**Key words:** antidiabetic, anti-obesity, antioxidant, HFD, infertility, *Rat Wistar*, *Salvia balansae*, testicle, testosterone.

## ملخص

سالفيا بالانساى نبات عطري معمر ينتمي إلى الفصيلة الشفوية ومستوطن في الجزائر، نظرًا لاستيطانه الصارم لم يكن هذا النبات موضوعًا لأي دراسات كيميائية نباتية أو صيدلانية أو عرقية نباتية. الهدف من هذا العمل هو الدراسة الكيميائية النباتية وتقييم الأنشطة البيولوجية المضادة للاكسدة والمضادة للسكري للمستخلص المائي لأوراق سالفيا بالانساى مخبريا وكذلك تحديد آثاره العلاجية المحتملة على خلل الخصية والسمنة الغذائية والاضطرابات الأيضية المرتبطة بالسمنة لدى فئران ويستار التي تتغذى على نظام غذائي مسبب للسمنة مشبع بدهون الخروف (HFD).

قمنا باختبار النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص السالفيا بالانساى مخبريا باختبار ABTS , DPPH ,TAC و استخلاص الحديد، اما النشاط المضاد للسكري كان عن طريق اختبار تثبيط أنزيم الالفا أميلاز. من اجل تحديد الآثار العلاجية في الوسط الحي تم اجراء التجربة على ثلاثة مجموعات من فئران الويستار (شاهدة، HFD, HFD+SB). تم اعطاء النظام الغذائي HFD لمدة 18 اسبوعا و المستخلص لمدة 6 اسابيع الاخيرة بمعدل 200mg/Kg في اليوم عن طريق الفم. في نهاية التجربة. تم معايرة هرمون التستوستيرون وبعض عناصر البلازما، أما الخصيتين فكانتا موضوع دراسة نسيجية مورفومترية.

أظهرت نتائجنا مخبريا وجود نشاط مضاد للأكسدة و للسكري وهذا بفضل محتواه العالي من المركبات الفينولية الكلية. تسبب النظام الغذائي HFD في اضطرابات التمثيل الغذائي لدى الفئران كالسمنة، ومرض السكري من النوع 2 (ارتفاع نسبة السكر في الدم، زيادة مؤشر مقاومة الأنسولين IR) وعسر شحيمات الدم (ارتفاع الكوليستيرول، الدهون الثلاثية LDL-C و ارتفاع مؤشر تصلب الشرايين) والقصور الكبدى (ارتفاع AST/ALT) والفشل الكلوي (زيادة الكرياتينين) والالتهاب (ارتفاع CRP) وانخفاض مضادات الأكسدة في البلازما (حمض البوليك). علاوة على ذلك خفض النظام الغذائي HFD مستوى هرمون التستوستيرون في المصل وتسبب في تلف البنية النسيجية للخصية حيث تميزت بضمور وعدم تنظيم الأنابيب المنوية وانحطاط الظهارة الجرثومية وانفصال الخلايا الجرثومية وانخفاض في تكوين الحيوانات المنوية ومؤشرات تكوينها (TDI/SI) وظهور فجوات دهنية في النسيج البيني و في خلايا لايدبغ مع وجود التليف الخلالي و الإفرازات المحبة للحموضة .

ادى العلاج بالمستخلص المائي لدى الفئران HFD + SB مقارنة بالفئران HFD إلى انخفاض الوزن، انخفاض الدهون في الدم، انخفاض ارتفاع نسبة السكر في الدم، انخفاض مؤشر مقاومة الانسولين، انخفاض الترانساميناسات الكبدية، انخفاض الكرياتينين، انخفاض CRP والى وزيادة حمض البوليك. على مستوى الوظيفة الإنجابية، أدى هذا الأخير إلى زيادة هرمون التستوستيرون في الدم وتجديد بنية الخصية وبنية الأنابيب المنوية بزيادة قطرها وارتفاع ظهارتها الجرثومية، يليه إعادة تنشيط تكوين الخلايا المنوية وانخفاض التليف الخلالي والإفرازات المحبة للحموضة واختفاء الفجوات الخلالية.

ختاما، يمكن للسالفيا بالانساى بفضل خصائصها المضادة للاكسدة والمضادة للسكري والمضادة للسمنة والخافضة لشحيمات الدم والمضادة للالتهابات الحد من المضاعفات الأيضية الناتجة عن السمنة الغذائية وان تكون بمثابة أساس لتطوير علاج جديد لعلاج تلف الخصية الناتج عن السمنة ومضاعفاتها وتحسين الخصوبة.

**الكلمات المفتاحية:** مضاد للسكري، مضاد للسمنة، مضاد للأكسدة، HFD، العقم، فار الويستار، سالفيا بالانساى، الخصية،

التستوستيرون.

# *Sommaire*

---

<b>Abréviations</b>	
<b>Introduction</b>	
<b>01</b>	
<b>Revue bibliographique</b>	
<b>I. Infertilité masculine</b>	<b>05</b>
<b>1. Définition</b>	<b>05</b>
<b>2. Etiologie de l'infertilité masculine</b>	<b>05</b>
2.1. Facteurs hormonaux	05
2.2. Facteurs génétiques	06
2.3. Facteurs épigénétiques	06
2.4. Facteurs physiques	06
2.5. Infections	06
2.6. Maladies sexuellement transmissibles	07
2.7. Problèmes sexuels	07
2.8. Environnement et le mode de vie	07
2.8.1. Chaleur	07
2.8.2. Alcool et tabac	07
2.8.3. Drogues	08
2.8.4. Malnutrition	08
<b>3. Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes</b>	<b>08</b>
3.1. Macrozoospermie	08
3.2. Globozoospermie	08
3.3. Spermatozoïdes acéphaliques	08
3.4. Asthénozoospermie	08
3.5. Azoospermie	09
3.6. Nécrozoospermie	09
<b>II. Appareil reproducteur masculin</b>	<b>10</b>
<b>1. Définition</b>	<b>10</b>
<b>2. Les testicules</b>	<b>10</b>
2.1. Les tubes séminifères ou compartiment tubulaire	10
2.2. Les espaces interstitiels ou compartiment inter-tubulaire	10
<b>3. Régulation de la fonction de reproduction</b>	<b>12</b>
<b>4. Spermatogenèse</b>	<b>13</b>
4.1. Phase de multiplication	13

---

4.2. Phase de maturation.....	13
4.3. Phase de différenciations .....	14
4.4. Spermiation .....	14
<b>5. Epididyme .....</b>	<b>15</b>
5.1. Différents types de cellules épithéliales dans l'épididyme .....	15
5.2. Fonctions épидидymaires .....	16
<b>6. Vésicule séminale .....</b>	<b>17</b>
6.1. Fonctions des vésicules séminales .....	17
<b>III. Obésité .....</b>	<b>18</b>
<b>1. Généralité .....</b>	<b>18</b>
<b>2. Etiologie de l'obésité .....</b>	<b>18</b>
<b>3. Physiopathologie de l'obésité .....</b>	<b>19</b>
3.1. Obésité et stress oxydatif .....	19
3.2. Obésité et l'inflammation .....	20
3.3. Obésité et diabète de type 2 .....	20
3.4. Obésité et dyslipidémie .....	21
3.5. Obésité et maladies cardiovasculaires .....	21
3.6. Obésité et l'insuffisance hépatique .....	22
3.7. Obésité et infertilité masculine .....	23
3.7.1. Endocrinopathie et altération de la spermatogenèse .....	23
3.7.2. Résistance à l'insuline .....	23
3.7.3. Hyper-œstrogénémie .....	24
3.7.4. Hyperleptinémie .....	24
3.7.5. Stress oxydatif et les lésions de l'ADN dans les spermatozoïdes	
3.7.6. Effet thermique de l'obésité sur la spermatogenèse .....	25
<b>IV. Composés phénoliques .....</b>	<b>25</b>
<b>1. Généralité .....</b>	<b>25</b>
<b>2. Biosynthèse des composés phénoliques .....</b>	<b>26</b>
<b>3. Classification des composés phénoliques .....</b>	<b>26</b>
3.1. Acides phénoliques .....	27
3.2. Flavonoïdes .....	28
3.2.1. Classification des flavonoïdes .....	29
1. Les flavanols (flavan-3-ols).....	29

2. Les flavonols .....	29
3. Les flavones .....	29
4. Les isoflavones .....	29
5. Les flavanones .....	29
6. Les anthocyanes .....	30
3.3. Tanins .....	30
3.3.1. Les tanins hydrolysables .....	30
3.3.2. Les tanins condensés .....	31
3.4. Lignanes .....	32
3.5. Stilbènes .....	32
3.6. Coumarines .....	32
<b>4. Propriétés biologiques des composés phénoliques .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1. Propriété antioxydante .....</b>	<b>33</b>
<b>4.2. Propriétés anti-obésité et antidiabétiques des polyphénols et leurs fonctions moléculaires .....</b>	<b>34</b>
4.2.1. Rôle des acides phénoliques .....	34
4.2.2. Rôles des flavonoïdes .....	35
4.2.3. Rôles des tanins .....	36
4.2.4. Rôles des stilbènes .....	36
<b>4.3. Composés phénoliques et la fertilité masculine .....</b>	<b>37</b>
4.3.1. Rôles des acides phénoliques .....	37
4.3.2. Rôles des flavonoïdes .....	38
4.3.3. Rôles des tanins .....	38
4.3.4. Rôles des stilbènes .....	39
<b>Matériels et Méthodes</b>	
<b>I. Etude in vitro de <i>Salvia balansae</i> .....</b>	<b>41</b>
<b>1. Disruption de la matière végétale étudiée.....</b>	<b>41</b>
<b>2. Classification.....</b>	<b>41</b>
<b>3. Collection et authentification de la plante.....</b>	<b>42</b>
<b>4. Préparation de l'extrait.....</b>	<b>42</b>
<b>5. Calcul du rendement d'extraction.....</b>	<b>43</b>
<b>6. Screening phytochimique.....</b>	<b>43</b>
<b>7. Analyse quantitative des molécules bioactives .....</b>	<b>46</b>

7.1. Dosage des composées phénoliques totaux .....	46
7.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	47
7.3. Dosage des tanins condensés totaux .....	47
<b>8. Activités biologiques de l'extrait .....</b>	<b>48</b>
<b>8.1. Activités antioxydantes .....</b>	<b>48</b>
8.1.1. Capacité antioxydante totale (TAC).....	48
8.1.2. Activité anti-radicalaire par le test au DPPH.....	49
8.1.3. Piégeage du radical ABTS+.....	50
8.1.4. Chélation du fer ferreux.....	51
8.1.5. Réduction du fer.....	52
<b>8.2. Activité antidiabétique (Test d'inhibition de l'α-amylase) .....</b>	<b>53</b>
<b>II- Etude <i>in vivo</i>.....</b>	<b>54</b>
<b>1. Expérimentation animale.....</b>	<b>54</b>
<b>2. Ethique.....</b>	<b>54</b>
<b>3. Etude de la toxicité aiguë.....</b>	<b>54</b>
<b>4. Groupes expérimentaux .....</b>	<b>55</b>
<b>5. Dosages biochimiques du plasma .....</b>	<b>57</b>
5.1. Dosage du glucose sanguin.....	57
5.2. Dosage des lipides .....	58
5.2.1. Dosage du cholestérol Total.....	58
5.2.2. Dosage des triglycérides.....	58
5.2.3. Dosage du cholestérol HDL.....	59
5.3. Dosage des transaminases hépatiques.....	59
5.3.1. Dosage de l'aspartate amino-transférase (AST).....	59
5.3.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALT).....	60
5.4. Dosage de la protéine C-réactive (CRP), indicatrice de l'inflammation Systémique.....	60
5.5. Dosage de la créatinine.....	60
5.7. Dosage de l'acide urique, antioxydant non enzymatique.....	61
<b>6. Dosage de la testostérone sérique.....</b>	<b>62</b>
<b>7. Technique histologique .....</b>	<b>62</b>
<b>8. Etude morphométrique.....</b>	<b>65</b>
<b>9. Etude statistique.....</b>	<b>66</b>

<b>Résultats</b>	
<b>I. Analyse in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de <i>S. balansae</i>.....</b>	<b>68</b>
<b>1. Détermination du rendement d'extraction.....</b>	<b>68</b>
<b>2. Détermination des groupes phytochimiques.....</b>	<b>68</b>
<b>3. Teneur en composés antioxydant (polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés).....</b>	<b>69</b>
<b>4. Activités biologiques de la plante.....</b>	<b>70</b>
4.1. Activités antioxydantes de l'extrait.....	70
4.2. Activité antidiabétique par le test d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase.....	76
<b>II. Analyse in vivo.....</b>	<b>77</b>
<b>1. Test de toxicité.....</b>	<b>77</b>
<b>2. Évolution du poids corporel des animaux .....</b>	<b>77</b>
<b>3. Effet du régime HFD et de l'extrait aqueux des feuilles de <i>S. balansae</i> sur les paramètres biochimiques chez les rats .....</b>	<b>79</b>
3.1. Glycémie .....	79
3.2. Profil lipidique.....	80
3.3. Profil hépatique.....	81
3.4. Profil inflammatoire.....	82
3.5. Profil rénal.....	83
3.6. Antioxydant non enzymatique, Acide urique.....	84
<b>4. Effet du régime HFD et de l'extrait aqueux des feuilles de <i>S. balansae</i> sur la fonction testiculaire des rats .....</b>	<b>85</b>
4.1. Testostérone sérique.....	85
4.2. Résultats histomorphométriques.....	86
4.2.1. Résultats histologiques.....	86
4.2.2. Résultats morphométriques.....	91
<b>Discussion</b>	<b>94</b>
<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>110</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>113</b>
<b>Listes des tableaux et des figures</b>	
<b>Annexes</b>	

# *Abréviations*

**17 $\beta$ -HSD** : 17 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase

**3 $\beta$ -HSD**: 3 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase

**ABTS**: 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid

**ACTH**: Adrenocorticotropic hormone

**AKT**: Protein kinase B protéine

**ALT** : Alanine aminotransferase

**AMPc** : Adénosine monophosphate cyclique

**AMPK** : MP-activated protein kinase

**AND**: Acide désoxyribonucléique

**Apo B**: Apolipoprotéine B

**ARN**: Acide ribonucléique

**AST**: Aspartate aminotransferase

**Bak**: Bcl-2 homologous antagonist killer

**Bax**: Bcl-2-associated X protein

**Bcl-2**: B-cell lymphoma 2

**CCl<sub>4</sub>**: Carbon tetrachlorid

**CHOP**: C/EBP homologous protin

**CPT-1**: carnitine palmitoyltransférase-1

**CRP**: C-reactive protein

**Cyp 11a1**: cytochrome P450 11A1 recombinant

**CYP17**: Cytochrome P450 17A1

**DAG**: Diacylglycerols

**DNS**: 3,5-dinitrosalicylic acid

**DPPH**: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

**EC50**: Median effective concentration

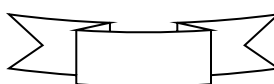
**EDTA**: Ethylenediaminetetraacetic acid

**ERK ½**: Extracellular signal-regulated kinase½

**EtOH** : Ethanol

**FAA**: Free fatty acids

**FoxO1**: ferredoxine-1



**FRAP:** Ferric reducing ability of plasma

**FSH:** Follicle stimulating hormone

**FTO:** Fat mass and obesity-associated protein

**GH:** Growth hormone

**GLUT4 :** Glucose transporter type 4

**GnRH:** Gonadotropin releasing hormone

**Grp 78:** Glucose-regulated protein78

**HDL:** High density lipoproteins

**HepG2:** human hepatocellular carcinoma cell

**HFD:** High Fat Diet

**IC<sub>50</sub>:** Half-maximal inhibitory concentration

**ICAM:** Inter cellular adhesion molecule

**IL-1 $\beta$ :** Interleukine-1 $\beta$

**IL-6:** Interleukine 6

**IMC:** Indice de Masse Corporelle

**IRS1:** Insulin receptor substrate 1

**JAM-A:** Junctional Adhesion Molecule A

**JNK:** c-Jun N-terminal Kinase

**LDL:** Low density lipoprotein

**LH:** Luteizing hormone

**LPL :** Lipoprotéine lipase plasmatique

**MCP-1:** Monocyte chemoattractant protein-1

**miR-1306-5P/HSD17B7 :** microARN-1306-5p/17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase

**MMP:** Matrix metalloproteinase

**NF-KB:** Nuclear factor-kappa B

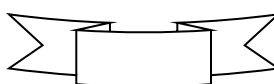
**NLRP3:** NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3

**OMS :** Organisation mondiale de la santé

**PI3K:** Phosphoinositide 3-Kinase

**PPAR $\gamma$ :** Peroxisome proliferator-activated receptor gamma

**ROS:** Reactive oxygen species



**SHBG** : Sex hormone-binding globulin

**SMAD**: Mothers Against decapentaplegic

**SREBP1c** : Sterol regulatory element binding protein-1c

**StAR**: Steroidogenic acute regulatory protein

**TAC**: Total antioxidant capacity

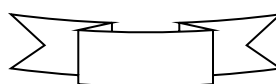
**TCA**: Trichloroacetic acid

**TGF- $\beta$ 1**: Transforming growth factor beta 1

**TNF- $\alpha$** : Tumor necrosis factor alpha

**VCAM1**: Vascular cell adhesion molecule 1

**VLDL**: Very low density lipoprotein



# *Introduction*

L'infertilité est considérée comme un problème de santé mondial qui affecte environ 48,5 millions de couples dans le monde, l'infertilité masculine représente 20% à 70 % des cas d'infertilité (Agarwal *et al.*, 2015 ; Minhas *et al.*, 2021). L'augmentation de la prévalence de ce problème est souvent liée à l'obésité, au diabète et à des facteurs liés au mode de vie (Leaver, 2016).

Les aliments riches en graisses (High-Fat Diet (HFD)) constituent un facteur de risque d'obésité chez l'homme et l'animal (Crean & Senior, 2019; Suliga, 2019). Il a été rapporté que le régime alimentaire déséquilibré et l'augmentation du poids corporel sont liés à une diminution de la qualité du sperme (Leisegang *et al.*, 2020; Ng *et al.*, 2014). Des études récentes ont prouvées que le régime HFD provoque une hypercholestérolémie, une hyperglycémie, ainsi qu'une perturbation dans la stéroïdogénèse testiculaire. Il réduit non seulement les niveaux de testostérone, mais provoque également des changements structuraux dans les cellules spermatogènes, et des anomalies chromosomiques telle que la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes ce qui affecte la fonction testiculaire et par conséquent la fertilité masculine (Gómez-Elías *et al.*, 2019; Mu *et al.*, 2017; Rae *et al.*, 2023 ;Youngson *et al.*, 2015).

Le stress oxydatif résulte du déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et l'effet protecteur du système antioxydant enzymatique et non enzymatique comme la catalase, la superoxyde dismutase, certaines vitamines et minéraux (Aitken *et al.*, 2022 ; Walczak–Jedrzejowska *et al.*, 2013). Il induit ultérieurement une résistance à l'insuline, des altérations du métabolisme des glucides et des lipides, une inflammation systémique et un dysfonctionnement des organes (Fernández-Sánchez *et al.*, 2011; Ojo *et al.*, 2023; Vincent & Taylor, 2006). L'implication du stress oxydatif dans l'atrophie des tubes séminifères et le dysfonctionnement de la reproduction masculine par l'induction de l'apoptose est bien rapportée chez les animaux mâles rendus obèses par un régime HFD (Ghosh & Mukherjee, 2018; Suleiman *et al.*, 2020).

L'utilisation de la phytothérapie par l'homme est connue depuis des temps immémoriaux pour la prévention et le traitement de diverses maladies (Chauhan *et al.*, 2014). Elle joue un rôle important dans les systèmes de santé des zones rurales des pays développés et en développement (Sofowora *et al.*, 2013). Actuellement, les scientifiques encouragent l'utilisation des plantes plutôt que celle des médicaments qui peuvent avoir des effets indésirables (Adeoye *et al.*, 2021), en plus d'être une source de substances biologiquement actives comme les composés phénoliques (de la Rosa *et al.*, 2019). Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires d'origine végétale qui jouent un rôle essentiel dans la neutralisation des ROS, l'expression des gènes,

l'inhibition ou l'activation des protéines, notamment les enzymes. Ils offrent donc une protection contre les maladies métaboliques chroniques (de la Rosa *et al.*, 2019), et améliorent la fertilité masculine (Novakovic *et al.*, 2022).

Plusieurs espèces de plantes sont utilisées à cette fin, comme le genre *Salvia* (Chouabia *et al.*, 2021; Davoodi *et al.*, 2020). Le terme *Salvia* provient du vieux latin *Salvare* qui signifie "guérison" ou "guérisseur" en relation avec leurs pouvoirs curatifs dans les communautés antiques (Karousou *et al.*, 2000). D'un point de vue botanique, *Salvia* est le plus grand et le plus fascinant des genres de la famille des Lamiacées, avec plus de 900 espèces réparties dans quatre régions principales du monde : 530 espèces en Amérique latine et centrale, 250 espèces en Asie centrale et dans les régions méditerranéennes, 90 espèces en Asie de l'Est et 30 espèces en Afrique du Sud (Walker *et al.*, 2004).

En raison de leurs composés bioactifs, les espèces de ce genre sont connues pour avoir de multiples effets thérapeutiques sur la santé humaine, tels que des effets antioxydants, antidiabétiques, anti-obésité (Afonso *et al.*, 2021; Diab *et al.*, 2022), hépatoprotecteurs (Xiong *et al.*, 2019), antibactériens, antifongiques, antibiofilm, anticancéreux (Bostanci *et al.*, 2022), et des améliorations comportementales et reproductives (Bagheri *et al.*, 2020).

Dans le cadre des efforts scientifiques visant à trouver des plantes luttant contre l'infertilité masculine causée par l'obésité nutritionnelle ou par les troubles métaboliques associés à ce problème, cette recherche a été investie sur l'espèce endémique algérienne *Salvia balansae* connue localement sous le nom de "*hchichet koul blia*" qui est largement utilisée dans la médecine traditionnelle locale pour traiter diverses maladies.

À notre connaissance, les caractéristiques phytochimiques et les activités biologiques de *Salvia balansae* n'ont pas été rapportées dans les travaux précédents. Cette espèce endémique de la Wilaya de Mostaganem n'a fait l'objet d'aucune étude pharmacologique. Nous nous sommes intéressés dans ce travail à étudier les constituants phytochimiques, les activités biologiques antioxydantes et antidiabétiques *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* ainsi que la détermination de ses effets thérapeutiques possibles en simulant la consommation humaine habituelle sous forme d'infusion sur le dysfonctionnement testiculaire, l'obésité nutritionnelle et ses troubles métaboliques associés chez le rat *Wistar* soumis à un régime alimentaire obésogène enrichi en graisse de mouton (HFD).

Pour atteindre les objectifs visés dans ce travail, le contenu de ce manuscrit a été structuré en trois parties distinctes :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui apporte les principales données sur l'infertilité masculine, le système reproducteur masculin, l'obésité et ses interactions avec d'autres pathologies métaboliques et l'infertilité masculine, ainsi qu'un aperçu sur les composés polyphénoliques et leurs propriétés biologiques antioxydantes, anti-obésité et antidiabétiques et de leurs effets thérapeutiques sur la fertilité masculine.

Dans la deuxième partie, nous avons présenté le matériel végétal « *Salvia balansae* » et le modèle animal « *Rat Wistar* » étudiés ainsi que les protocoles et les méthodologies de travail employés pour la réalisation de cette étude.

Dans la troisième partie, nous avons exposé les résultats obtenus et leur discussion. En fin une conclusion générale sur l'ensemble du travail et quelques perspectives ont été soulignées.

# *Revue bibliographique*

## I. Infertilité masculine

### 1. Définition

L'infertilité est une affection répandue dans les pays industrialisés où elle touche jusqu'à 15% des couples en âge de procréer (Agarwal *et al.*, 2015). Elle est définie comme l'incapacité à obtenir une grossesse après un à deux ans de rapports sexuels réguliers non protégés. Le facteur masculin est responsable de près de 50% des cas d'infertilité, contribuant à parts égales au facteur féminin (Mannucci *et al.*, 2022).

### 2. Etiologie de l'infertilité masculine

L'infertilité chez les hommes peut être due à diverses causes, cependant, chez près de 40% des hommes infertiles, il n'y a pas d'étiologie claire (Babakhanzadeh *et al.*, 2020). Il existe diverses causes, dont les plus importantes sont :

#### 2.1. Facteurs hormonaux

Si les cellules de l'axe hypothalamo-hypophysaire sont incapables de produire le GnRH, la LH et la FSH, ce trouble entraîne un manque de testostérone, l'arrêt de la spermatogenèse et l'hypogonadisme (Lucas, 2014; Monaco *et al.*, 2015 ; Wdowiak *et al.*, 2014).

L'augmentation de la prolactine peut également entraîner une réduction de la production de spermatozoïdes, une baisse de la libido et une impuissance à travers l'inhibition de la sécrétion pulsatile du GnRH et par conséquent une diminution de la production de la FSH et LH ainsi que la testostérone, comme elle peut aussi altérer directement la spermatogenèse (Dabbous & Atkin, 2017; Marrag *et al.*, 2015).

Les maladies thyroïdiennes (hyperthyroïdie et hypothyroïdie) affectent la fonction testiculaire et influencent la régulation neuroendocrinienne de la fonction reproductrice par une interaction entre l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien et l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Tousson & Elbandrawy, 2022). Les patients hypothyroïdiens présentent un retard de maturation des cellules de Sertoli, une diminution des taux de SHBG et de testostérone totale et libre. L'hypothyroïdie peut également diminuer le nombre total de spermatozoïdes et leur mobilité, et entraîner une altération de l'intégrité de l'acrosome et de l'activité mitochondriale (Romano *et al.*, 2017). Mazzilli *et al.* (2023) ont mentionné que l'hyperthyroïdie est également associée à une réduction de la concentration, de la motilité et de la morphologie des spermatozoïdes, ainsi qu'à une réduction du volume du sperme. De

plus, des niveaux élevés de T3 et T4 favorisent une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et donc du stress oxydatif (Dobrzyńska *et al.*, 2004).

## 2.2. Facteurs génétiques

Les facteurs génétiques sont détectés dans 15 % des cas d'infertilité masculine et peuvent être classés en deux groupes (Güney *et al.*, 2012; Stouffs *et al.*, 2014) :

**2.2.1. Les anomalies chromosomiques** : Ces anomalies touchent le nombre de chromosomes sexuels et induisent l'infertilité comme le syndrome de Klinefelter (47,XXY), le syndrome 47, XYY ; et le syndrome de Noona (X0/XY) (Groth *et al.*, 2013; Roberts *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2021; Wikström & Dunkel, 2011).

**2.2.2. Les mutations génétiques** : les mutations génétiques pathologiques peuvent être associées à l'infertilité, comme l'absence congénitale bilatérale des canaux déférents, qui provoquent une azoospermie obstructive dans 80 à 90 % des cas (de Kretser, 1997), et les défauts ciliaires primaires chez les hommes atteints d'asthénospermie (Munro *et al.*, 1994).

## 2.3. Facteurs épigénétiques

L'acétylation et la méthylation sont deux facteurs efficaces dans les modifications et l'expression différente des gènes. De nombreuses études ont rapporté que l'hyper-méthylation de plusieurs gènes conduisait à une déficience des paramètres du sperme ou à l'infertilité masculine (Boissonnas *et al.*, 2013; Khazamipour *et al.*, 2009).

## 2.4. Facteurs physiques

Des problèmes physiques peuvent perturber la production du sperme et bloquer la voie éjaculatoire. L'élargissement des vaisseaux spermatiques connus sous le nom de varicocèle est l'un des problèmes les plus courants, affectant environ 40% des hommes (Fang *et al.*, 2021; Neves da Silva *et al.*, 2022; Sun *et al.*, 2018). Dans certains cas, le sperme est éjaculé dans la vessie, ce que l'on appelle l'éjaculation récurrente, qui représente environ 2% des cas d'infertilité et peuvent être causés par des problèmes anatomiques du sphincter de la vessie (Omolaoye & du Plessis, 2018).

## 2.5. Infections

Les infections chroniques et aiguës des voies génitales peuvent également être des causes fréquentes d'infertilité chez l'homme. L'infection par le virus des oreillons peut entraîner une

atrophie testiculaire et l'infertilité ([Chen et al., 2023](#); [Le Tortorec et al., 2008](#); [Sharma et al., 2021](#)).

## 2.6. Maladies sexuellement transmissibles

Les maladies sexuellement transmissibles telles que la gonorrhée et la chlamydia peuvent entraîner l'infertilité chez les hommes en raison d'une obstruction de l'épididyme ([Chen et al., 2023](#); [Tsoumanis et al., 2018](#)).

## 2.7. Problèmes sexuels

De nombreux problèmes sexuels sont à la fois psychologiques et physiques. La dysfonction érectile (l'impuissance), l'éjaculation précoce et l'incapacité à éjaculer sont des exemples de problèmes sexuels ([Otunctemur et al., 2015](#)).

## 2.8. Environnement et le mode de vie

Les hommes exposés à des substances dangereuses sur leur lieu de travail, notamment des solvants, des insecticides, des adhésifs, des silicones, des perturbateurs endocriniens et des radiations, l'exposition à ces substances et à des substances similaires peut entraîner l'infertilité ([Bliatka et al., 2017](#); [Mustafa et al., 2019](#); [Rim, 2017](#); [Virant-Klun et al., 2022](#)).

### 2.8.1. Chaleur

Les professions qui exigent une position assise prolongée (comme la conduite automobile) ou une exposition à des températures élevées (comme les boulangeries) peuvent présenter une thermodysrégulation susceptible d'entraîner des modifications des caractéristiques du sperme ([Al-Otaibi, 2018](#)).

### 2.8.2. Alcool et tabac

En ce qui concerne la consommation d'alcool et le tabagisme, il n'y a pas d'accord définitif concernant leurs effets sur les paramètres du sperme et les résultats de l'infertilité ([Gaur et al., 2010](#); [Petraglia et al., 2013](#)). Cependant, la dégradation progressive de la qualité du sperme peut être associée au tabagisme et à la consommation d'alcool ([Amor et al., 2022](#); [Mann et al., 2020](#); [Omolaoye et al., 2022](#)).

### 2.8.3. Drogues

L'usage répété de drogues telles que le cannabinoïde et la cocaïne est associé à une diminution significative de la concentration des spermatozoïdes et de la testostérone urinaire chez les hommes (Onyije, 2012).

### 2.8.4. Malnutrition

Une mauvaise nutrition joue un rôle important dans l'infertilité masculine (Alesi et al., 2022; Lakoma et al., 2023). Un rapport récent montre une diminution de la concentration de spermatozoïdes chez les hommes ayant une consommation accrue de graisses saturées (Tsai et al., 2013).

## 3. Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes

La majorité des cas d'infertilité masculine est due à des défauts morphologiques qualitatifs des spermatozoïdes entravant son pouvoir fécondant.

**3.1. Macrozoospermie** (spermatozoïde multiflagellaire à grosse tête) : est une anomalie rare du sperme caractérisée par la présence dans l'éjaculat de près de 100% de spermatozoïdes anormaux avec une tête irrégulière surdimensionnée, une pièce médiane et un acrosome anormaux et des flagelles multiples (Devillard et al., 2002; Ray et al., 2017).

**3.2. Globozoospermie (térazoospermie)** : est une anomalie caractérisée par la présence dans l'éjaculat d'une grande majorité de spermatozoïdes ronds dépourvus d'acrosome, elle est rare et sévère, et entraîne une stérilité primaire due à l'incapacité des spermatozoïdes à adhérer et à pénétrer la zone pellucide (Dam et al., 2007; Sen et al., 1971).

**3.3. Spermatozoïdes acéphaliques (tête d'épingle)** : Les patients atteints d'acéphalie des spermatozoïdes ne présentent dans leur éjaculat que des spermatozoïdes sans tête (flagelles) et une petite proportion de têtes de spermatozoïdes sans flagelles (Ray et al., 2017).

**3.4. Asthénozoospermie** : est définie par la réduction ou l'absence de spermatozoïdes mobiles dans l'éjaculat. Elle est signalée lorsque moins de 32% des spermatozoïdes présentent une motilité progressive. Cette anomalie peut résulter de défauts structurels du flagelle des spermatozoïdes ou d'une réponse inappropriée des spermatozoïdes à des événements de maturation dépendant des ions induisant normalement la motilité (Ray et al., 2017).

**3.5. Azoospermie :** Cette anomalie se caractérise par une absence totale de spermatozoïdes dans l'éjaculat (Nosrati *et al.*, 2016).

**3.6. Nécrozoospermie :** La nécrozoospermie (ou nécospermie) est une affection du sperme qui se traduit par un nombre important de spermatozoïdes morts. L'homme peut être atteint de nécrozoospermie partielle (quand plus de 42 % de ses spermatozoïdes sont morts) ou totale (Nosrati *et al.*, 2016).

## II. Appareil reproducteur masculin

### 1. Définition

Les organes reproducteurs masculins comprennent les organes primaires et secondaires. Les organes reproducteurs primaires comprennent les gonades (responsables de la production des gamètes et d'hormones), tandis que les organes secondaires comprennent l'épididyme, les canaux (déférents « spermiductes » et excréteurs) et les glandes annexes (les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales), qui jouent un rôle dans la croissance, la maturation et la transmission des gamètes (Ampatzidis *et al.*, 2019; Babakhanzadeh *et al.*, 2020).

### 2. Les testicules

Les testicules ou gonades mâles (Figure 01) sont les principaux organes reproducteurs masculins, ils sont enveloppés par une capsule, l'albuginée et sont logés dans le sac testiculaire, le scrotum (Ampatzidis *et al.*, 2019). Deux parties morphologiquement et fonctionnellement séparées se distinguent dans cet organe :

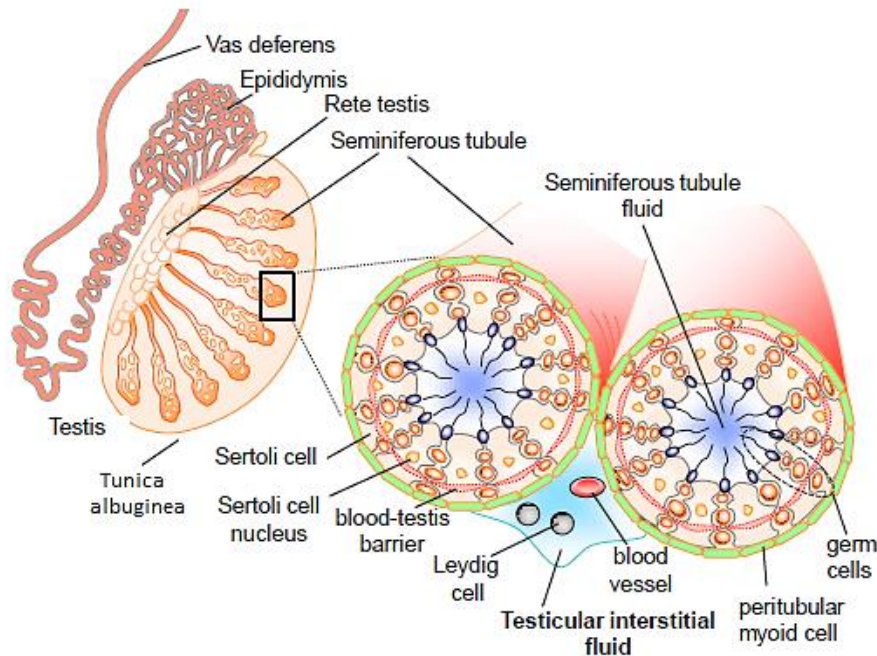
**2.1. Les tubes séminifères ou compartiment tubulaire :** sont des unités fonctionnelles du testicule, représentant 60 à 80% du volume testiculaire (Bhushan *et al.*, 2016; Shah *et al.*, 2015). Ces tubes sont entourés de tissu épithélial et comprennent deux types de cellules :

*Les cellules germinales:* sont les cellules susceptibles de former les spermatozoïdes (spermatogonies, spermatocytes, spermatides).

*Les cellules de Sertoli :* La fonction des cellules de Sertoli est de nourrir, soutenir et contribuer à la formation des spermatozoïdes à travers les étapes de la spermatogenèse à laquelle elles confèrent un support mécanique (Duan *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2015). Ces cellules produisent deux types d'hormones, l'inhibine et l'activine qui ont une rétroaction positive et négative sur la FSH (Zhang *et al.*, 2015). De plus, elles contrôlent les étapes de la libération des spermatozoïdes dans la lumière (spermiation), la phagocytose des cellules germinales dégradées et le cytoplasme supplémentaire (corps résiduel) résultant de la libération des spermatozoïdes (O'Donnell *et al.*, 2022).

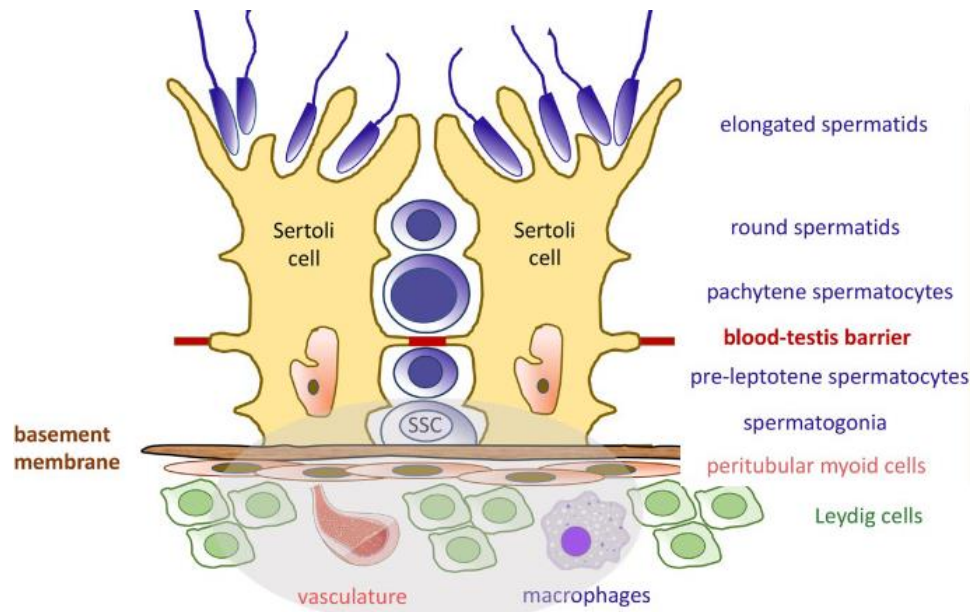
**2.2. Les espaces interstitiels ou compartiment inter-tubulaire :** Dans ce compartiment sont logées les cellules de Leydig qui sont les cellules les plus importantes du testicule, et sont responsables de la production de la testostérone testiculaire et du facteur analogue à

l'insuline<sup>3</sup>. En plus des cellules de Leydig, les espaces interstitiels comprennent les cellules immunitaires, les vaisseaux sanguins et lymphatiques, les nerfs, le tissu conjonctif et les fibroblastes (Chang *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2016; Orman *et al.*, 2015; Ye *et al.*, 2017).



**Figure 01** : Structure du testicule (Stanton *et al.*, 2016)

L'épithélium des tubes séminifères est divisé en régions apicale (adluminale) et basale par la barrière hémato-testiculaire qui est principalement formée de jonctions serrées entre les cellules de Sertoli (O'Donnell *et al.*, 2022) (Figure 02). La barrière hémato-testiculaire joue un rôle dans la séparation physique des cellules germinales haploïdes qui les protège du système immunitaire et dans la division cellulaire et le développement des spermatozoïdes (Cao *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2016).



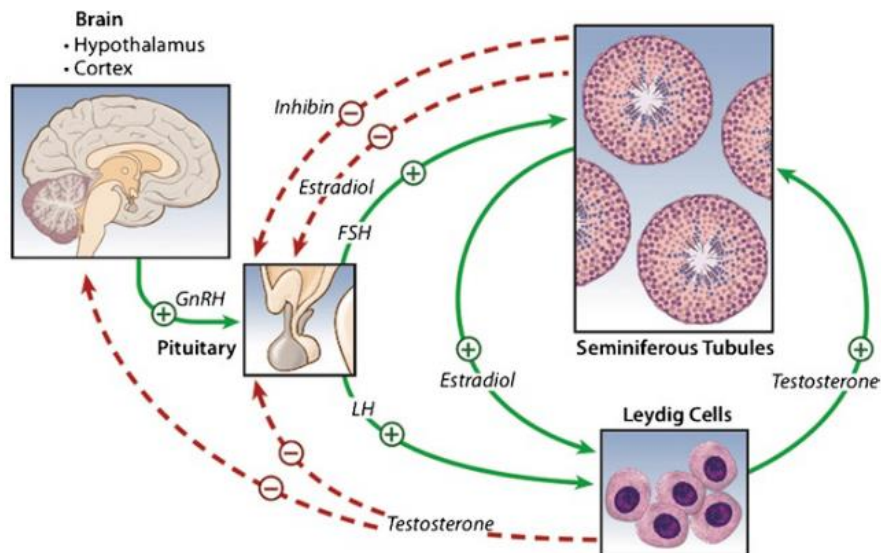
**Figure 02** : Schéma de la barrière hémato-testiculaire (Hofmann & McBeath, 2022)

### 3. Régulation de la fonction de reproduction

La fonction de reproduction des mammifères est régulée par un mécanisme de rétroaction négative au sein de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope (Nwonuma *et al.*, 2021).

L'hormone de libération des gonadotrophines, GnRH est sécrétée dans l'hypothalamus et cette hormone stimule la production de LH et de FSH par l'adénohypophyse. La LH régule la synthèse et la sécrétion de la testostérone par les cellules de Leydig. La FSH agit sur les cellules de Sertoli et intervient dans la spermatogenèse avec la testostérone, facteur important dans le processus de la spermatogenèse (Rotimi *et al.*, 2022).

L'adénohypophyse sécrète également la prolactine, l'ACTH, la GH et la TSH. Toutes ces hormones jouent un rôle important dans la spermatogenèse. Dans cette voie, la libération de GnRH et de LH est inhibée par la testostérone, tandis que la libération de la FSH est inhibée par l'inhibine et l'estradiol (Sharma & Agarwal, 2011).



**Figure 03** : Présentation schématique de l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadique et du système de rétroaction hormonale (Sharma & Agarwal, 2011)

#### 4. Spermatogenèse

La spermatogenèse est l'une des étapes les plus cruciales de la fertilité masculine. Ce terme est une description du développement des gamètes mâles dans les tubes séminifères à partir de spermatogonies diploïdes qui se résume par la libération des cellules germinales haploïdes hautement différenciées, les spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères. Chaque cycle de la spermatogenèse chez l'homme nécessite 16 jours et environ 4.6 cycles pour le développement et la différenciation des cellules spermatogènes en spermatozoïdes adultes, ce qui prend environ 74 jours chez l'homme (Galdon *et al.*, 2016; Hao Xu *et al.*, 2015).

Le processus de la spermatogenèse se divise en trois phases (Tapia & Pena, 2014).

##### 4.1. Phase de multiplication

Dans la première phase, les spermatogonies, qui sont les cellules germinales les plus indifférenciées, se divisent par mitose pour se renouveler et générer des spermatogonies de type B. Ces dernières peuvent ensuite se diviser par mitose et se différencier pour former des spermatocytes primaires.

#### **4.2. Phase de maturation**

Durant cette deuxième phase, appelée phase de maturation et correspond à la méiose, chaque spermatocyte primaire subit la première division méiotique pour générer deux spermatocytes secondaires qui s'engagent dans la deuxième division méiotique pour engendrer quatre spermatides rondes haploïdes.

#### **4.3. Phase de différenciations (spermiogénèse)**

Cette phase consiste en la transformation des spermatides sphériques en spermatides allongés matures ressemblant à un sperme. Au cours de cette transformation, le noyau se condense en taille et est stabilisé par les protamines et la majeure partie du cytoplasme des spermatides indifférenciés est libérée sous forme de corps résiduels et phagocytée par les cellules de Sertoli.

#### **4.4. Spermiation**

La dernière étape, appelée spermiation, implique la rupture des structures et des liaisons ancrant une spermatide mature à une cellule de Sertoli, de sorte que le spermatozoïde est libéré dans la lumière tubulaire.

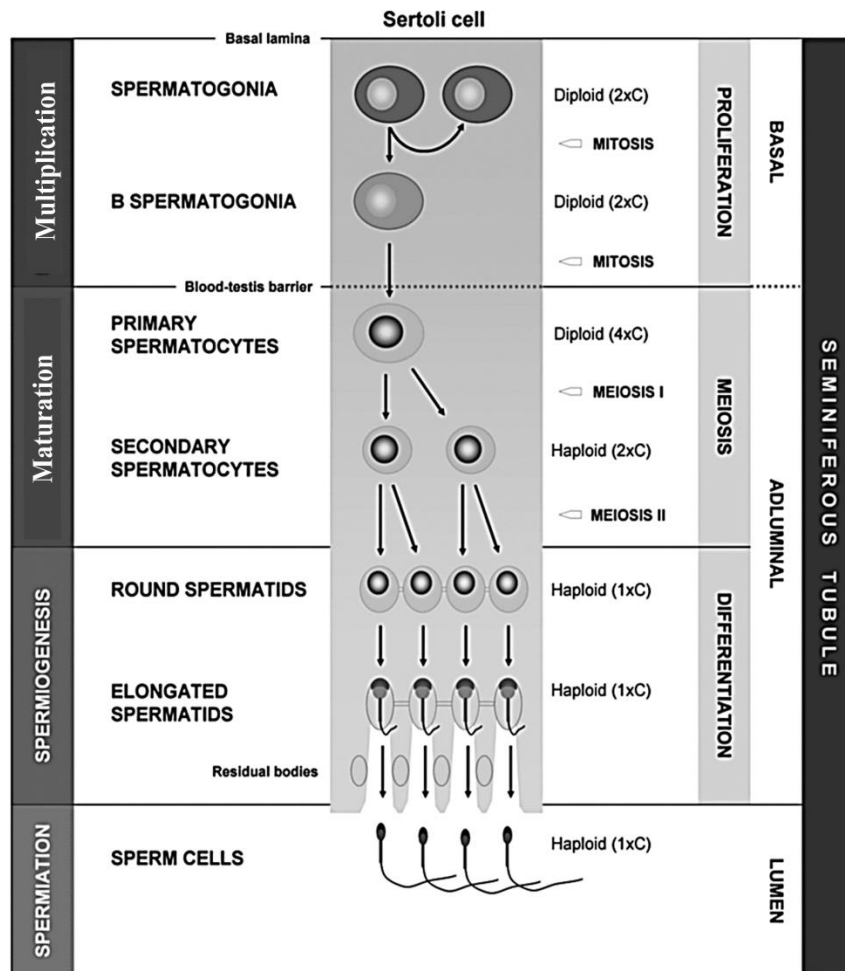


Figure 04 : Différentes phases de la spermatogènèse (Tapia & Pena, 2014)

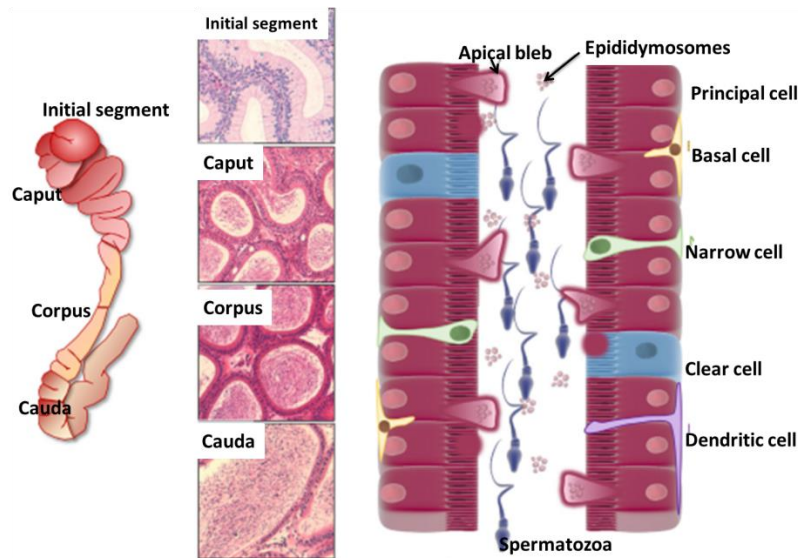
## 5. Epididyme

L'épididyme est une structure convolutive, en forme de croissant, d'environ 3,8 cm de long chez l'homme. Cet organe consiste en un long tube qui relie le testicule au canal déférent et comporte quatre régions anatomiques principales ayant chacune des caractéristiques et des fonctions uniques : le segment initial, le caput (tête), le corps et le cauda (queue) (Sullivan *et al.*, 2019; Sullivan & Mieusset, 2016).

### 5.1. Différents types de cellules épithéliales dans l'épididyme

En général les cellules épидидymaires ont une activité métabolique endocytaire et sécrétoire élevée qui est principalement régulée par les androgènes. L'épithélium épидидymaire est pseudostratifié. Il existe six principaux types de cellules qui composent l'épithélium épидидymaire (les cellules principales, les cellules apicales, les cellules étroites, les cellules claires, les cellules basales, et les cellules en halo) certaines de ces cellules se trouvent dans

toutes les régions de l'épididyme tandis que d'autres sont localisées dans des régions spécifiques (James *et al.*, 2020).



**Figure 05 :** Différents types de cellules épithéliales dans l'épididyme (Zhou *et al.*, 2018)

## 5.2. Fonctions épидидymaires

### 5.2.1 Transport des spermatozoïdes

La fonction la plus évidente de l'épididyme est de transporter les spermatozoïdes du testicule vers le canal déférent. Le transport est effectué principalement par des contractions rythmiques des couches musculaires lisses entourant l'épididyme avec l'intervention des cils des cellules épithéliales (Elfgén *et al.*, 2018).

### 5.2.2. Concentration des spermatozoïdes

L'absorption de liquide qui se produit pendant le transit épидидymaire entraîne une augmentation de la concentration des spermatozoïdes (Turner, 1984).

### 5.2.3. Protection des spermatozoïdes

Les cellules épithéliales de l'épididyme ont une activité métabolique élevée qui entraîne la génération d'espèces réactives de l'oxygène nuisibles aux spermatozoïdes. Pour lutter contre ce problème, les cellules épithéliales excrètent diverses enzymes antioxydantes, dont la superoxyde dismutase, dans la lumière épидидymaire pour neutraliser les ROS (O'Flaherty, 2019).

### 5.2.4. Stockage du sperme

L'épididyme caudal fonctionne comme un lieu de stockage pour les spermatozoïdes fonctionnellement matures avant l'éjaculation (Cornwall, 2009).

### 5.2.5. Maturation des spermatozoïdes

Les spermatozoïdes subissent de nombreux changements de maturation dans l'épididyme, la motilité et les facteurs nécessaires à la fécondation, subissent des changements dans la compaction nucléaire, la composition de la membrane plasmique, la structure du cytosquelette, la charge protéique et la charge d'ARN non codant (Cornwall, 2009; Sullivan & Mieusset, 2016).

## 6. Vésicule séminale

Les vésicules séminales sont une paire de structures glandulaires accessoires de l'appareil reproducteur masculin, situées en dehors du péritoine, interposées entre la vessie et le rectum. Les canaux déférents qui sont contigus à la queue de l'épididyme se terminent et forment des poches bilatérales. Ces éjections latérales sont appelées les vésicules séminales (Reddy, 2014).

### 6.1. Fonctions des vésicules séminales

Les vésicules séminales contiennent de nombreuses cellules androgéno-dépendantes très granuleuses, qui produisent un liquide alcalin jaunâtre. Ce liquide contient du fructose, des protéines et de la vitamine C et joue un rôle important dans la coagulation et la motilité des spermatozoïdes et dans la suppression de l'activité immunitaire dans l'appareil reproducteur féminin. Le liquide séminal constitue 50 % du volume total de l'éjaculat et le reste provient de la prostate, de l'ampoule du canal déférent et de plus petites quantités des glandes bulbo-urétrales, les glandes de Cowper (Gonzales, 2001).

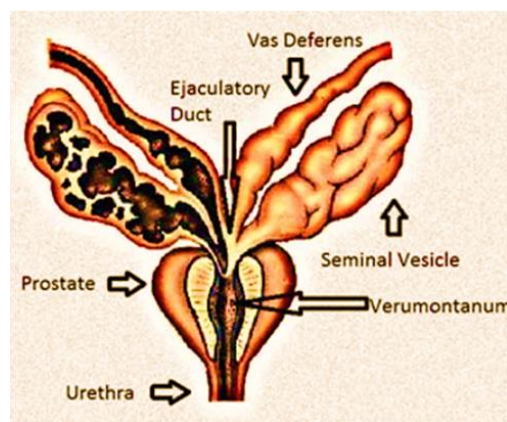


Figure 06 : Structure de la vésicule séminale (Reddy, 2014)

### III. Obésité

#### 1. Généralité

Dans notre corps, l'excès d'énergie est converti en triglycérides qui sont stockés dans des dépôts de tissu adipeux qui augmente en taille, ce qui accroît la graisse corporelle et entraîne une prise de poids. La mondialisation des systèmes alimentaires qui produisent des aliments plus transformés et plus abordables et encouragent la surconsommation passive d'aliments et de boissons riches en énergie et pauvres en nutriments a été identifiée comme l'un des principaux facteurs de l'épidémie d'obésité (Chooi *et al.*, 2018).

L'obésité est un problème de santé publique en croissance rapide et sa prévalence mondiale a considérablement augmenté au cours des quatre dernières décennies, passant de moins de 3 % et 6 % en 1975 à 11 % et 15 % en 2016, respectivement chez les hommes et les femmes (Eslam & George, 2019). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'excès du poids et l'obésité affectent 60% des adultes et presque 1/3 des enfants (29% de garçons et 27% de filles) en Europe (OMS, 2022).

L'OMS définit le surpoids et l'obésité comme une accumulation anormale ou excessive de graisse qui présente un risque pour la santé. L'estimation du surpoids ou de l'obésité d'un individu se fait en calculant l'Indice de Masse Corporelle (IMC) en divisant le poids corporel en kilogrammes par le carré de la taille en mètres, est une mesure simple utilisée pour indiquer la masse grasse globale du corps (OMS, 2016; OMS, 2022).

$$\text{IMC} = \text{Poids (Kg)}/\text{Taille (m}^2\text{)}$$

Pour les adultes, les directives actuelles de Centre de Contrôle et de prévention des maladies des Etats-Unis et de l'OMS déterminent une plage d'IMC normal entre 18.5 et 24.9, alors qu'un  $\text{IMC} \geq 25\text{Kg/m}^2$  est considéré comme un excès de poids et un  $\text{IMC} \geq 30 \text{Kg/m}^2$  est classé comme obèse, avec une obésité sévère définie comme un  $\text{IMC} \geq 40\text{Kg/m}^2$  (OMS, 2016).

#### 2. Etiologie de l'obésité

Il est bien connu que l'obésité est une maladie multifactorielle et largement évitable qui résulte de relations complexes entre plusieurs facteurs obésogènes, considérés comme influençant la prévalence de l'obésité (Tableau 01) (Apovian, 2016; Hruby & Hu, 2015; Pigeyre *et al.*, 2016; Swinburn *et al.*, 2009).

**Tableau 01** : Facteurs associés au développement de l'obésité

Type de facteur de risque	Facteur de risque spécifique
<b>Génétique</b>	Déficit en leptine, variation rs9939609 du gène FTO, mutation du récepteur de la mélanocortine-4, déficit en pro-opiomélanocortine, obésité parentale et modifications épigéniques
<b>Antécédents comportementaux</b>	Mauvais choix alimentaires, calories élevées, alimentation riches en graisses, boissons sucrées, inactivité physique, mode de vie sédentaire
<b>Socio-économique</b>	Urbanisation et statu socio-économique, industrialisation, transport mécanisé
<b>Environnement</b>	Restauration rapide, regarder la télévision
<b>Biologique</b>	Grossesse, diabète gestationnel, ménopause, troubles neuroendocrines, microbiome intestinal, médicament et handicap physique

### 3. Physiopathologie de l'obésité

#### 3.1. Obésité et stress oxydatif

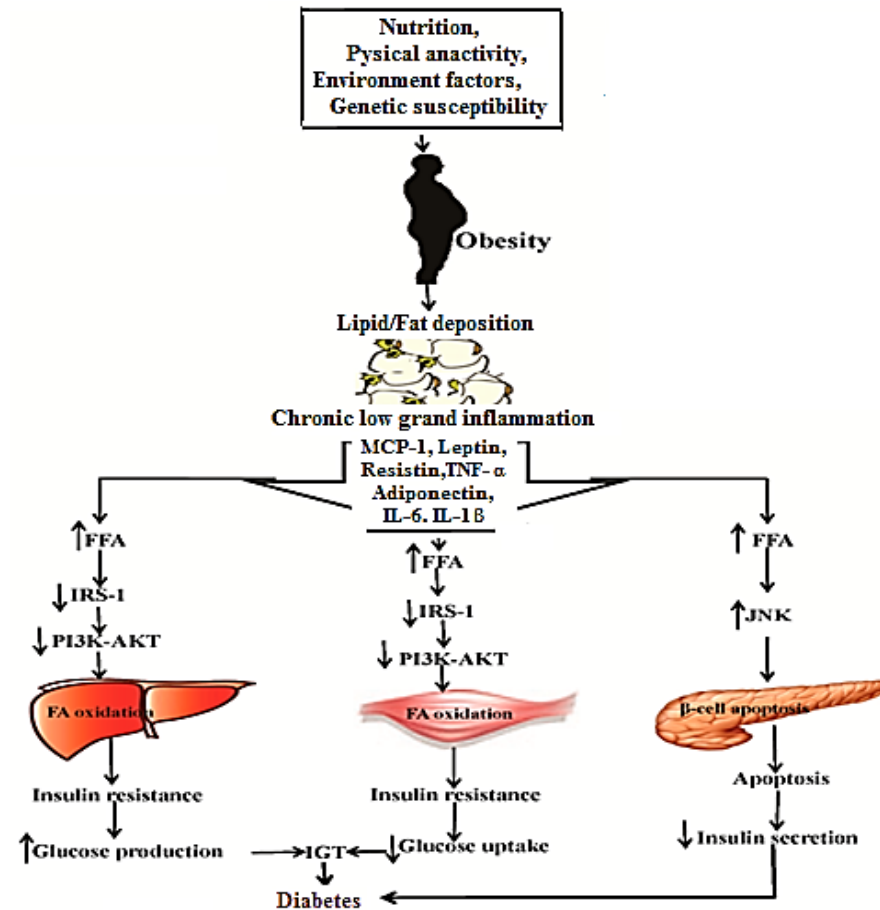
Dans le cas d'un régime riche en glucides ou en graisses, un excès de glucose et d'acide gras génère du pyruvate, du CoA et d'autres métabolites réducteurs. Ensuite, ces substances pénètrent dans les mitochondries pour l'oxydation, ce qui améliore l'activité de la chaîne respiratoire mitochondriale et augmente le transfert d'électron unique et la production de ROS (Zhang *et al.*, 2019). En raison de la réponse inflammatoire chronique de faible intensité chez les patients obèses, l'inflammation active une variété de cellules immunitaires pour produire un grand nombre de radicaux libres, aggravant le stress oxydatif. Ce dernier aggrave encore les dommages oxydatifs cellulaires et accélère la sénescence cellulaire, les adipocytes sénescents recrutent des macrophages, libèrent une variété de cytokines pro-inflammatoires et favorisent l'inflammation (Heilbronn & Campbell, 2008).

### 3.2. Obésité et l'inflammation

Dans l'état d'obésité, le dépôt de lipides conduit à l'augmentation du volume des adipocytes. Lorsque l'hypertrophie adipocytaire dépasse sa limite, l'apoptose se produit. Les adipocytes nécrotiques sécrètent divers facteurs inflammatoires et chimiokines, tels que le MCP-1 pour que les monocytes-macrophage prolifèrent et migrent vers le tissu adipeux et se rassemblent autour des cellules graisseuses nécrotiques ([Zamarron et al., 2016](#)). Les adipocytes libèrent plus d'acides gras et d'endotoxines pour activer la transformation des macrophages en macrophage M1 plus inflammatoires, puis activent la voie NF-KB, ce qui augmente significativement les facteurs pro-inflammatoires tels que le TNF- $\alpha$ , IL-6 et IL-1 $\beta$ , tandis que les facteurs anti-inflammatoires sont réduits. De plus, les adipocytes hypertrophiques peuvent également modifier la transduction du signal intracellulaire, augmentent l'expression des cytokines pro-inflammatoires et finalement provoquent une inflammation chronique ([Mao et al., 2019](#)).

### 3.3. Obésité et diabète de type 2

Il a été rapporté que les médiateurs inflammatoires adipocytaires inhibent la synthèse des triglycérides en régulant à la baisse le récepteur PPAR $\gamma$  et son gène cibles, la lipoprotéine lipase plasmatique (LPL), ainsi que le GLUT4 ([Fain et al., 2004](#); [Yu et al., 2006](#)). Simultanément, le TNF $\alpha$  réduit l'atténuation de la lipolyse médiée par l'insuline, régule à la base la protéine périlipine associée aux gouttelettes lipidiques (PLIN) et améliore le pool d'AMPc, ce qui augmente la libération d'acide gras libre (FFA) ([Guilherme et al., 2008](#)). L'augmentation des acides gras réduit l'expression de l'IRS1, altère l'activation de la signalisation PI3K-AKT dans le foie et le muscle squelettique et augmente l'expression de la signalisation JNK dans le pancréas ([Cheon et al., 2010](#)). En fin de compte, l'expression réduite de PI3K-AKT provoque une résistance à l'insuline dans le foie et le muscle squelettique, et l'expression accrue de JNK aggrave l'apoptose dans le pancréas. La résistance à l'insuline entraîne une augmentation de la production de glucose et une diminution de l'absorption du glucose, conduisant à une hyper-insulinémie. L'augmentation de l'apoptose des cellules  $\beta$  pancréatiques conduit au diabète ([Guilherme et al., 2008](#); [Šrámek et al., 2021](#)).



**Figure 07 :** Diagramme schématique du lien entre l'obésité et le diabète (Hossain *et al.*, 2016)

### 3.4. Obésité et dyslipidémie

La dyslipidémie athérogène est caractérisée par des triglycérides élevés, un faible taux plasmatique de lipoprotéines de haute densité (HDL) et des concentrations plasmatiques élevées de lipoprotéines contenant de l'apolipoprotéine B (apo B). La dérégulation du métabolisme des lipoprotéines chez les sujets obèses est due à une combinaison de surproduction de lipoprotéines de très basse densité (VLDL), une diminution du catabolisme des particules contenant de l'apoB et une augmentation du catabolisme des particules HDL. Ces anomalies peuvent être consécutives à un effet métabolique global de résistance à l'insuline et un excès de graisse viscérale (Chan *et al.*, 2016).

### 3.5. Obésité et maladies cardiovasculaires

En cas d'obésité, de résistance à l'insuline ou de diabète, le tissu cardiaque est exposé à des niveaux élevés d'acides gras et de glucides. Les lipides se déposent dans les vésicules

myocardiques (stéatose cardiaque) en raison d'un déséquilibre entre l'absorption et la  $\beta$ -oxydation des acides gras (Nakamura & Sadoshima, 2020). L'hyperlipidémie et l'hyperinsulinémie stimulent le transport des acides gras saturés à longue chaîne dans les cardiomyocytes, et l'accumulation excessive de lipides provoque un dysfonctionnement cardiaque par le biais de plusieurs mécanismes, notamment la génération de ROS et la production de métabolites lipidiques tels que les diacylglycérols, les céramides ou les acylcarnitines. Ces métabolites altèrent encore la signalisation de l'insuline et diminuent la contractilité cardiaque en influençant les réserves de  $\text{Ca}^{2+}$  réticulaires sarcoplasmiques (Gutiérrez-Cuevas *et al.*, 2021; Jia *et al.*, 2018; Turer *et al.*, 2012; Zamora & Villena, 2019).

Il a également été rapporté, que les particules LDL oxydées et les acides gras libres activent le processus inflammatoire et déclenchent l'athérosclérose. L'inflammation est responsable de tous les stades de l'athérosclérose, du dysfonctionnement endothélial précoce aux plaques d'athérome entraînant des complications, elle est associée à l'obésité, à la résistance à l'insuline et au diabète de type 2. Dans l'obésité viscérale, le tissu adipeux libère des adipocytokines, qui induisent une résistance à l'insuline, un dysfonctionnement endothélial, une hypercoagulabilité et une inflammation systémique, facilitant ainsi le processus athérosclérotique (Csige *et al.*, 2018).

### 3.6. Obésité et l'insuffisance hépatique

La stéatose hépatique se développe lorsque la quantité d'acides gras qui s'accumule dans les cellules du foie dépasse la consommation. Ce déséquilibre entre l'entrée et la sortie, avec dépôt intrahépatique de triglycérides, peut résulter de quatre mécanismes : soit par une augmentation du rapport d'acide gras provenant de la circulation périphérique, soit par une augmentation de la synthèse hépatique d'acide gras, soit par une réduction de l'oxydation intrahépatique et périphérique des acides gras, soit par une réduction de la libération de triglycérides dans la circulation via les VLDL. Tous ces mécanismes contribuent à la pathogenèse de la stéatose hépatique soutenue par des altérations métaboliques. Les acteurs impliqués dans ce processus sont nombreux, mais le rôle principal est joué par l'expansion du tissu adipeux et notamment par l'hypertrophie adipocytaire et l'insulino-résistance générée au niveau hépatique et musculaire. Des taux élevés d'acide gras et de cholestérol, une résistance à l'insuline et une prolifération adipocytaire sont généralement présents dans l'obésité nutritionnelle (Divella *et al.*, 2019).

### 3.7. Obésité et infertilité masculine

L'obésité affecte négativement la fertilité masculine par plusieurs mécanismes

#### 3.7.1. Endocrinopathie et altération de la spermatogenèse

L'augmentation de l'IMC masculin est associée à des concentrations plasmatiques réduites de globuline liant les hormones sexuelles (SHBG) et de testostérone avec une augmentation concomitante de la concentration plasmatique d'œstrogènes. La diminution de la testostérone et l'augmentation des œstrogènes sont associées à l'hypofertilité et à la réduction du nombre de spermatozoïdes en perturbant la boucle de rétroaction négative de l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadotrope ([Amiri et al., 2020](#); [Vermeulen et al., 1993](#)).

D'autres hormones impliquées dans la régulation de la fonction des cellules de Sertoli et de la spermatogenèse, telles que les rapports FSH/LH, les niveaux d'inhibine B et de SHBG, ont toutes été observées comme étant diminuées chez les hommes ayant un IMC élevé ([Kerr et al., 1993](#)).

Chez les hommes obèses, l'œstrone et l'œstradiol sont augmentés en raison de l'augmentation de l'aromatisation périphérique des androgènes. Les œstrogènes ont un effet négatif sur l'hypothalamus en modifiant les impulsions de l'hormone GnRH, entraînant la suppression des sécrétions de gonadotrophines FSH et LH (hypogonadisme hypogonadotrope) et donc, une perturbation de la spermatogenèse ([Katib, 2015](#)).

#### 3.7.2. Résistance à l'insuline

Les hommes obèses atteints de diabète de type 2 peuvent avoir un hypogonadisme secondaire en raison de la résistance à l'insuline périphérique et centrale et de l'effet des cytokines pro-inflammatoires (TNF $\alpha$  et IL-6) sur l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadotrope ([Bhasin et al., 2010](#)). Les niveaux de globuline liant les hormones sexuelles (SHBG) sont réduites chez les hommes obèses en raison de l'augmentation de l'insuline circulante, associée à la résistance à l'insuline de l'obésité. Cependant, après ajustement pour les niveaux de SHBG, il a été démontré que de faibles niveaux de testostérone sont corrélés à la résistance à l'insuline et à l'obésité, indiquant un effet indépendant de la résistance à l'insuline sur la production de testostérone ([Tsai et al., 2004](#)).

### 3.7.3. Hyper-œstrogénémie

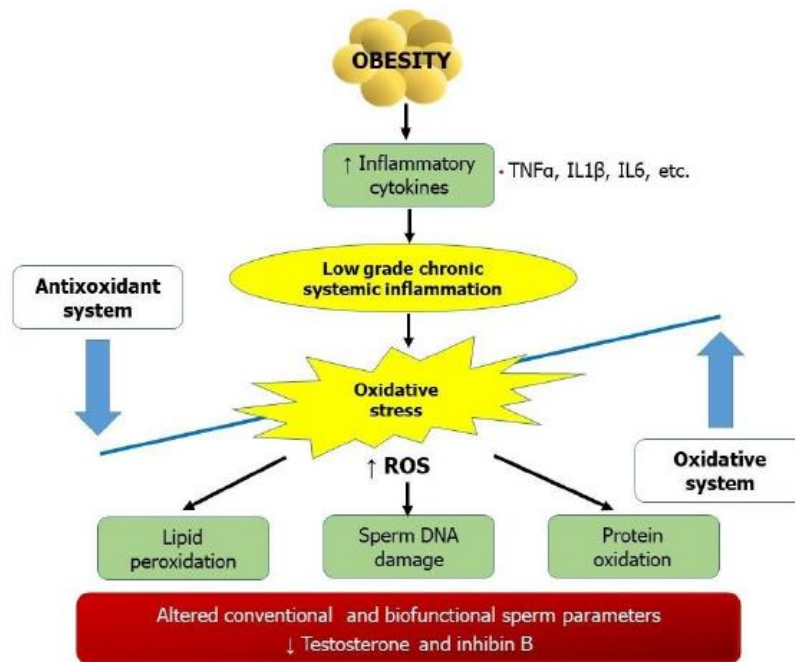
Les œstrogènes élevés chez les hommes obèses peuvent en partie résulter de l'augmentation de la masse de tissu adipeux blanc qui est responsable de l'activité de l'aromatase et des hormones dérivées du tissu adipeux et des adipokines, qui sont élevées chez les hommes obèses ([Wake et al., 2007](#)). L'enzyme aromatase cytochrome P450 est produite par de nombreux tissus, notamment le tissu adipeux et les cellules de Leydig testiculaires. Chez les hommes, l'activité d'aromatase convertit la testostérone en œstrogènes. Il est suggéré que les concentrations élevées d'œstrogène chez les hommes, peuvent résulter d'une conversion accrue des androgènes en œstrogènes par le tissu adipeux blanc. Cela contribue à l'augmentation des taux plasmatiques d'œstrogène ([Phillips & Tanphaichitr, 2010](#)).

### 3.7.4. Hyperleptinémie

La leptine " hormone de satiété " est une hormone peptidique principalement produite par les adipocytes du tissu adipeux blanc et joue un rôle important dans le contrôle de l'homéostasie énergétique et la réduction de la prise alimentaire ([Martins et al., 2015](#)). Cette hormone est couramment observée élevée chez les hommes obèses en raison d'une résistance à son effet ([Caro et al., 1996](#)). Il a été signalé que l'hypothalamus pourrait être la cible principale de la plupart des actions de la leptine sur l'axe reproducteur en régulant l'activité neuronale et la sécrétion de GnRH, et en maintenant une fonction reproductrice normale ([Hausman et al., 2012](#); [Schwartz et al., 1999](#)). Une augmentation des niveaux de la leptine diminue significativement la production de la testostérone par les cellules de Leydig en modifiant la sensibilité de l'hypophyse à la GnRH ([Hausman et al., 2012](#)).

### 3.7.5. Stress oxydatif et les lésions de l'ADN dans les spermatozoïdes

L'un des mécanismes pathologiques sous-jacents potentiels à l'origine de la diminution des performances de reproduction chez les hommes obèses est le stress oxydatif des spermatozoïdes. Des études ont montré que le stress oxydatif augmente avec une augmentation de l'IMC, principalement en raison d'une augmentation de l'activité des macrophages séminaux et induit une réduction de la motilité des spermatozoïdes, une augmentation des dommages à l'ADN des spermatozoïdes, et une diminution de la réaction acrosomique ([Palmer et al., 2014](#); [Zorn et al., 2003](#)).



**Figure 08 :** Obésité, stress oxydatif et infertilité masculine (Barbagallo *et al.*, 2021).

### 3.7.6. Effet thermique de l'obésité sur la spermatogénèse

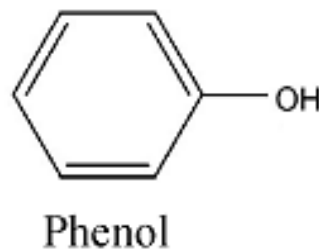
L'un des inconvénients de l'obésité qui peut potentiellement contribuer à la modification de la production des paramètres de sperme est l'augmentation de la chaleur gonadique résultant de l'augmentation de l'adiposité scrotale. Le processus de la spermatogénèse est très sensible à la chaleur, avec une température optimale chez l'homme comprise entre 34 et 35° C. Des températures élevées dans le scrotum, dues aux tissus adipeux, pourraient endommager les spermatozoïdes. L'effet délétère de la chaleur est associé à une motilité réduite des spermatozoïdes, à une fragmentation accrue de l'ADN des spermatozoïdes et à une augmentation du stress oxydatif des spermatozoïdes (Chaudhuri *et al.*, 2022; Katib, 2015; Robinson *et al.*, 1986).

## IV. Composés phénoliques

### 1. Généralité

Les composés phénoliques (ou les polyphénols) sont des molécules phytochimiques présents dans les tissus végétaux tels que les feuilles, les tiges, les racines, les fruits et les graines. Ils donnent aux plantes leur couleur, leur goût et participent à leur adaptation à l'environnement (Boudet, 2007). Ces métabolites secondaires comprennent un vaste groupe de substances (plus de 8000 molécules) aux structures variées qu'il est difficile de définir

simplement ([de la Rosa et al., 2019](#)). Ils sont répartis en une douzaine de classes chimiques en fonction de leurs caractéristiques structurales, ils ont en commun la présence d'au moins un cycle aromatique à six carbones (benzénique) et un nombre varié de fonctions hydroxyles (OH) ([Hennebelle et al., 2004](#)). La diversité de ces molécules repose sur la complexité du squelette initial depuis les molécules simples comme les acides phénoliques simples (noyau C<sub>6</sub>) aux plus polymérisées comme les tanins condensés [(C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>n</sub>] et les lignines (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>)<sub>n</sub>, le degré de modification du squelette (méthylation, hydroxylation, oxydation...) et la nature des métabolites associés (protéines, lipides, glucides.....) ([Macheix et al., 2005](#); [Spencer et al., 2008](#)).

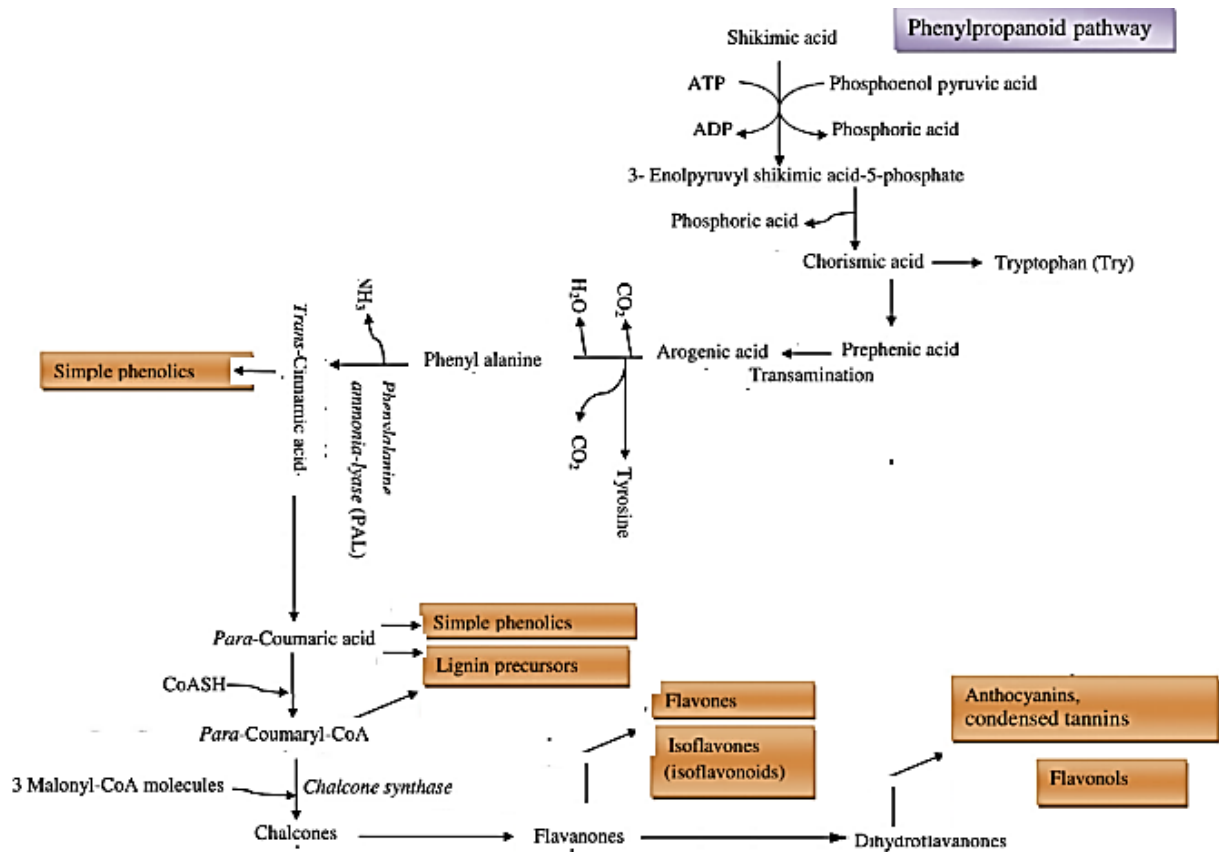


**Figure 09 :** Structure d'un phénol simple ([Al-Khalid & El-Naas, 2012](#))

## 2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques végétaux sont synthétisés biogénétiquement par la voie shikimate/ phénylpropanoïde ([Naikoo et al., 2019](#); [Sharma et al., 2019](#)).

Au cours de la biosynthèse des composés phénoliques, l'érythrose 4-phosphate est combiné avec le phosphoénolpyruvate pour former la phénylalanine. Ensuite, la phénylalanine ammonia-lyase catalyse la conversion de la phénylalanine en acide trans-cinnamique. Plusieurs autres composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les coumarines, les tanins hydrolysables, les monolignols, les lignanes et les lignines sont formés par cette voie, officiellement connue sous le nom de voie phénylpropanoïde.

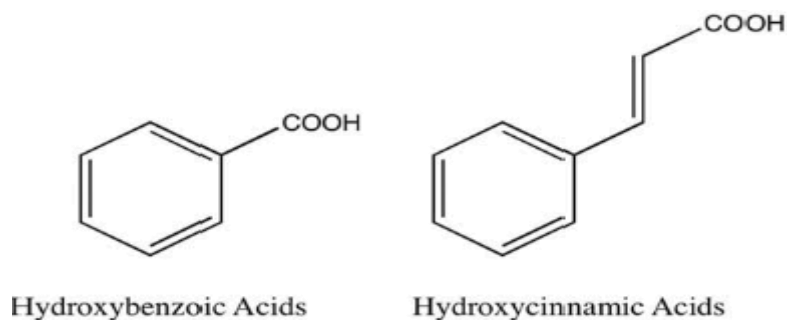


**Figure 10 :** Biosynthèse des polyphénols par la voie du schikimate/phénylpropanoïd (Naikoo *et al.*, 2019)

### 3. Classification des composés phénoliques

#### 3.1. Acides phénoliques

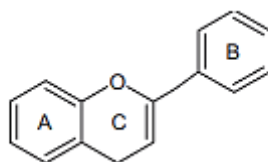
Parmi les principales classes phénoliques sont les acides phénoliques, que l'on trouve dans les plantes sous forme d'esters, d'amides ou de glycosides, mais très rarement sous forme libre. La différence entre les acides phénoliques repose sur le nombre de groupes hydroxyles et leur position sur le cycle aromatique (Pereira *et al.*, 2009). Ces éléments sont des dérivés soit de l'acide hydroxy-cinnamique (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) comme dans le cas de l'acide caféique, férulique, sinapique, p-coumarique, soit des dérivés de l'acide hydroxy-benzoïque (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>) comme dans le cas de l'acide gallique, syringique, vanillique, et protocatéchique (Khoddami *et al.*, 2013).



**Figure 11:** Structure de base des acides phénoliques ( acide hydroxybenzoïque et acide hydroxycinnamique) (Khoddami *et al.*, 2013)

### 3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus important de composés phénoliques (6000/8000 composés). Ils sont de faible poids moléculaire, caractérisés par un squelette de 15 carbones, disposés en  $C_6-C_3-C_6$  avec différentes substitutions, degrés d'insaturation et dispositions du squelette de base, ce qui donne lieu à différentes sous-classes (Lafay & Gil-Izquierdo, 2008). Les structures des flavonoïdes sont principalement constituées de deux cycles aromatiques, A et B, reliés par un pont à 3 atomes de carbone, souvent sous la forme d'un cycle hétérocyclique, C (Figure 12).



**Figure 12 :** Structure des flavonoïdes (Vuolo *et al.*, 2019)

Les molécules de flavonoïdes proviennent de la voie de l'acétate/malonate, dans laquelle le cycle A est dérivé, et de la voie du shikimate, dans laquelle le cycle B est dérivé de la phénylalanine (Birt & Jeffrey, 2013). Dans ces composées, les variations des cycles C sont principalement responsables de la variété des classes de flavonoïdes (les flavanols (catéchines ou flavan-3-ols), les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanidines) (Figure 13), et les variations des cycles A et B donnent naissance aux différents composés de la classe des flavonoïdes. Ces variations sont dues aux substitutions qui peuvent être une glycosylation, une oxygénation, une alkylation, une sulfatation et une acylation (Birt & Jeffrey, 2013).

### 3.2.1. Classification des flavonoïdes

#### 1. Les flavanols (flavan-3-ols)

La classe de flavonoïdes flavan-3-ols, dont la structure va des monomères simples aux oligomères et aux tanins plus condensés, est la plus complexe. Les monomères flavan-3-ols qui contiennent deux centres chiraux C2 et C3 produisent 4 isomères parmi lesquels la (-)-épicatéchine et la (+)-catéchine sont plus répandues (Aron & Kennedy, 2008).

#### 2. Les flavonols

Ces constituants sont représentés par un squelette de 2-phénylchromène-4-one et comprennent la myricétine, la quercétine, l'isorhamnétine et le kaempférol. Des quantités importantes de quercétine-3, O-rutinoside, quercétine-3, 4'-O-diglucoside et quercétine-4'-O-glucoside sont présentes dans le vin rouge, le thé, le brocoli et les haricots (Smith *et al.*, 2003).

#### 3. Les flavones

Les flavones sont caractérisés par une double liaison entre C2 et C3 et par le rattachement du cycle B en C2, ainsi que par une O-méthylation, une O- et C-glycosylation et une hydroxylation. Les structures des flavones sont similaires à celles des flavonols, à l'exception de l'absence d'oxygénation en C3, et on les trouve principalement sous forme de C7-O-glycosides (Teng & Chen, 2019).

#### 4. Les isoflavones

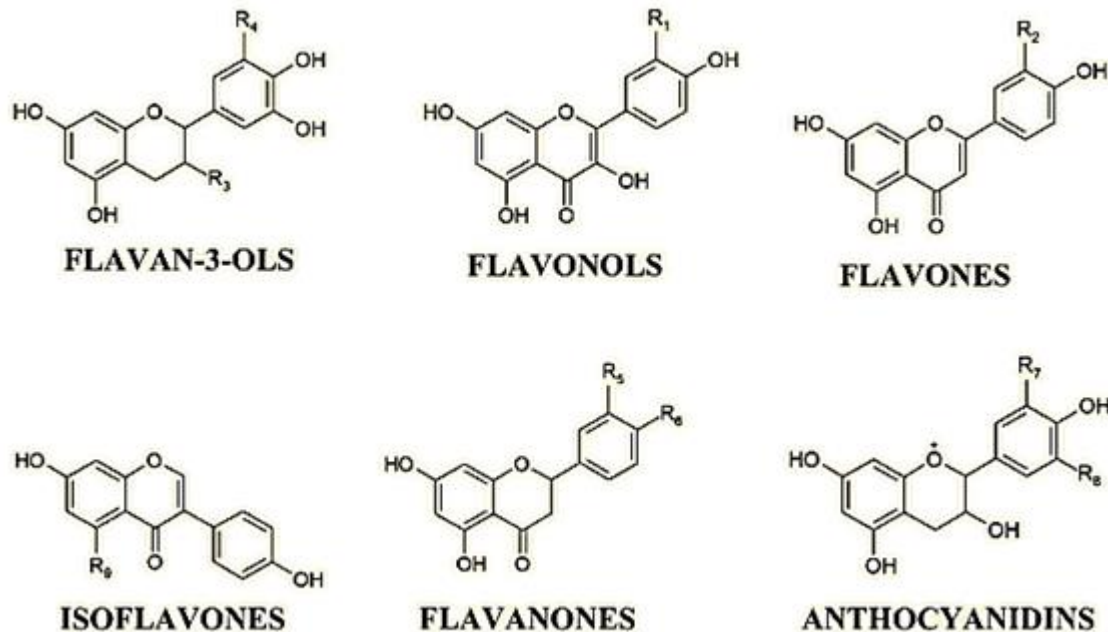
Cette classe se distingue par la présence du cycle B raccordé en position C<sub>3</sub> au lieu de C<sub>2</sub>. Les composés isoflavones les plus importants sont la génistéine, la diadzéine, et la glycitéine, que l'on trouve uniquement dans les légumineuses (Szeja *et al.*, 2017).

#### 5. Les flavanones

La classe la plus répandue de flavonoïdes, les flavanones, se distinguent par l'absence d'une double liaison C2-C3 et par la présence d'un centre chiral en position C2. Les flavanones présentes dans les végétaux contiennent les dérivés méthoxy, hydroxy, et méthylène-dioxy, avec le cycle C relié au cycle B en C2 (Del Rio *et al.*, 2013).

## 6. Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des hétérosides caractérisés par un aglycone attaché à un ose par une liaison glycosidique. Elles sont classés en pélagonidine, cyanidine, péonidine, delphinidine, pétunidine, et malvidine (Ludwig *et al.*, 2015).



**Figure 13** : Les classes de flavonoïdes (Birt & Jeffrey, 2013)

### 3.3. Tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques complexes avec un poids moléculaire compris entre 500 et 3000Da, ils sont solubles dans l'eau et peuvent former un complexe insoluble avec les protéines, la gélatine et les alcaloïdes (Cowan, 1999; Haslam, 1996), ils ont la capacité de précipiter les glycoprotéines salivaires ce qui entraîne une perte du pouvoir lubrifiant responsable des astringences de nombreux fruits et produits végétaux. Ces composés contiennent un grand nombre de groupes hydroxyles ou d'autres groupes fonctionnels et se trouvent donc sous forme d'esters ou d'hétéros (Ferrer *et al.*, 2008). Deux classes chimiques de tanins ont été distinguées selon la structure et l'origine biogénique :

**3.3.1. Les tanins hydrolysables** : sont formés d'esters d'acide gallique (gallotanins), ellagique (ellagitanins) et de sucres, le plus souvent du D-glucose (Falcão & Araújo, 2013, 2014; Radebe *et al.*, 2013).

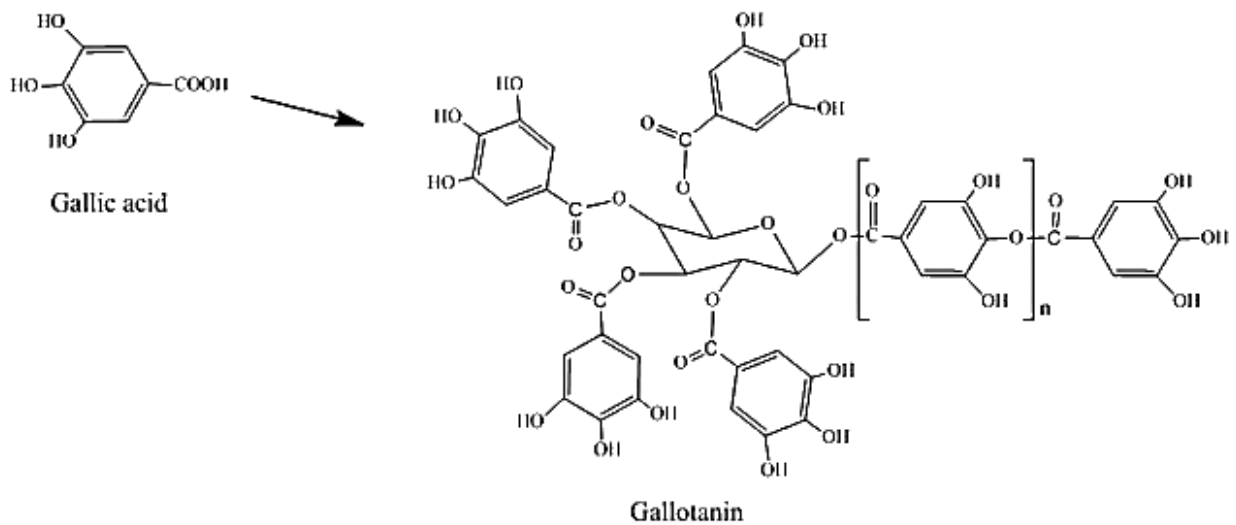


Figure 14 : Structure des tanins hydrolysables (Gallotanins) (Grasel *et al.*, 2016)

**3.3.2. Les tanins condensés :** sont structurellement plus complexes et uniformes que les tanins hydrolysables. Ce sont des oligomères et des polymères de flavan-3-ols et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes (De Bruyne *et al.*, 1999; Ricci *et al.*, 2015). Ils diffèrent par le type de liaison flavan intermoléculaire, le degré de polymérisation et l'hydroxylation (De Bruyne *et al.*, 1999). La catéchine, l'epicatéchine, la gallocatéchine et épigallocatéchine sont parmi les flavan-3-ols les plus courants trouvés dans les tanins condensés (Naumann *et al.*, 2017).

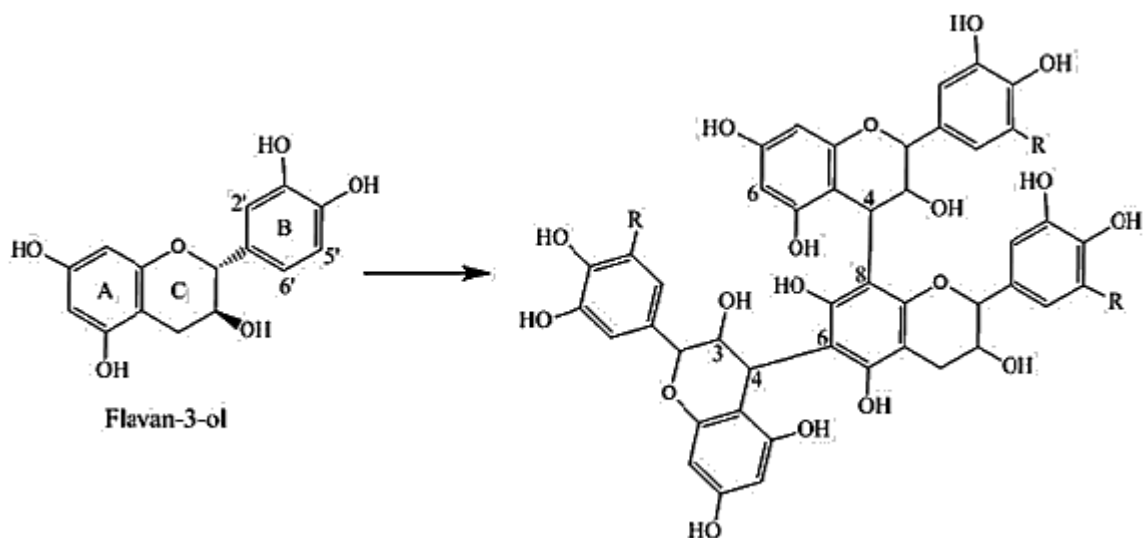


Figure 15 : Structure générale des tanins condensés (Grasel *et al.*, 2016)

### 3.4. Lignanes

Les lignanes ( $C_6-C_3$ )<sub>n</sub> sont des polymères de dimères de phénylpropanoïdes dans lesquels les molécules phénylpropanes sont liées par le carbone huit. Ces espèces sont impliquées dans le mécanisme de défense chez les plantes et offrent une protection contre le développement de certains cancers hormono-dépendants chez les mammifères (Lamblin *et al.*, 2008).

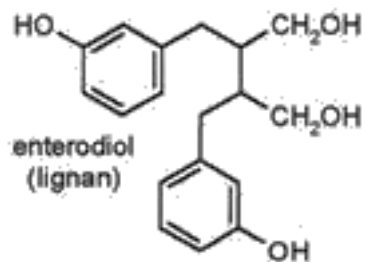


Figure 16 : Structure de lignanes (Scalbert & Williamson, 2000)

### 3.5. Stilbènes

Les stilbènes sont des composés organiques phénoliques de structure chimique  $C_6-C_2-C_6$  et sont caractérisés par la présence d'un noyau 1,2-diphényléthylène. Le resvératrol est la base de ces composés et possède de multiples activités biologiques bénéfiques pour la santé, notamment une neuro-protection (Richard *et al.*, 2014), et une activité anticancéreuse (Poltronieri *et al.*, 2021).

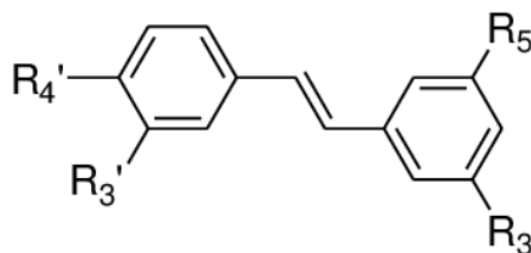
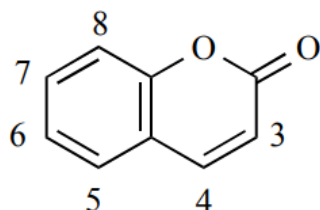


Figure 17 : Structure de stilbènes (Pavan *et al.*, 2011)

### 3.6. Coumarines

Les coumarines (2H-1-benzopyran-2-one ou 1,2-benzopyrone) sont présentes dans les plantes sous forme libre ou de forme d'hétéroside. A ce jour, 800 composés dérivés de la coumarine naturelle ont été produits à partir de plus de 600 genres appartenant à 100 familles

(Akkol *et al.*, 2020). Plusieurs études révèlent que les coumarines et leurs dérivés ont des propriétés anticoagulantes (Hoult & Paya, 1996), anti-tumorales (Vianna *et al.*, 2012) et anti-inflammatoires et anti-nociceptives (Tosun *et al.*, 2009).



**Figure 18 :** Structure des coumarines simples (Wu *et al.*, 2009)

#### 4. Propriétés biologiques des composés phénoliques

##### 4.1. Propriété antioxydante

Dans l'organisme des êtres vivants, il existe un équilibre entre la production et l'accumulation des ROS dans les cellules et les tissus et la capacité d'un système biologique à les détoxifier. Une perturbation de cet équilibre provoque un phénomène appelé stress oxydatif (Pizzino *et al.*, 2017). Des recherches approfondies sur le rôle métabolique de l'oxygène ont été menées au cours des 40 dernières années et ont suscité une attention considérable. En particulier, les maladies liées au stress oxydatif (maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, mitochondriales et cancéreuses) (Chaturvedi & Beal, 2013; Pham-Huy *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2004). Des effets délétères sévères du stress oxydatif sur la fonction de reproduction ont été confirmés par de nombreux travaux (Henkel, 2022; Maliki *et al.*, 2020; Mohammad Mustafa *et al.*, 2022).

Les antioxydants sont des substances chimiques qui ont la capacité de neutraliser les radicaux libres et de protéger l'organisme vivant, soit en empêchant la formation d'espèces réactives, soit en piégeant les radicaux libres, soit par l'extinction de l'oxygène et des photosensibilisateurs, soit par la formation des complexes chélatés avec des métaux pro-oxydants, soit par l'activation ou la désactivation d'enzymes, soit en réparant les dommages causés par les ROS (Polumbryk *et al.*, 2013).

Deux groupes d'antioxydants sont utilisés en médecine et dans l'industrie : les antioxydants naturels et les antioxydants synthétiques. Étant donné que la plupart des antioxydants synthétiques courants sont suspectés d'avoir un effet néfaste sur la santé humaine, il convient d'en tenir compte (Dawidowicz *et al.*, 2015; Lobo *et al.*, 2010). On accorde de plus en plus

d'attention aux composés antioxydants naturels que l'on trouve dans les plantes (Balasundram *et al.*, 2006; Gupta & Sharma, 2006; Olszowy & Dawidowicz, 2016). Parmi ces composés, les plus prisés sont les composés polyphénoliques qui contiennent un ou plusieurs groupes hydroxyles dans leur structure (Cheynier *et al.*, 2013).

## 4.2. Propriétés anti-obésité et antidiabétiques des polyphénols et leurs fonctions moléculaires

### 4.2.1. Rôle des acides phénoliques

#### 1. Acide gallique

L'acide gallique ( $C_6H_2(OH)_3COOH$ ) est un acide phénolique naturel abondamment distribué dans diverses plantes comestibles notamment les feuilles de thé, les pépins de raisin, les fleurs de rose, le fruit du *Syzugium cumini*, ect... (Chhikara *et al.*, 2018). Il a été rapporté que l'acide gallique possède un potentiel antidiabétique grâce à ses propriétés antioxydante et anti-inflammatoire (D'souza *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2021). Une étude récente a montré que l'acide gallique diminue l'insulinorésistance dans les adipocytes en inhibant l'expression de la protéine chimiotactique des monocytes-1 (MCP-1) et en augmentant l'hormone anti-inflammatoire, l'adiponectine. L'acide gallique a également réduit l'hypertrophie des adipocytes et l'inflammation causées par l'interaction entre les macrophages et les adipocytes, améliorant ainsi la dyslipidémie (Tanaka *et al.*, 2020).

#### 2. Acide chlorogénique

L'acide chlorogénique (acide 5-caféoylquinique), appartient à la famille des acides hydroxy-cinnamique et est formé par l'acide caféique et l'acide quinique (Kremr *et al.*, 2016; Naso *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2016). Ce composé phénolique est le composant principal de nombreuse préparation de la médecine traductionnel. Ces dernières années, il a été découvert qu'il avait des propriétés antioxydantes, hypoglycémiques, hypolipidémiques, et anti-inflammatoires (Yan *et al.*, 2020). Chez des rats *Wistar* exposés à un régime riche en graisses et en glucose, l'acide chlorogénique a réduit la prise de poids corporel, le poids du foie, le poids de la graisse épидidymaire et mésentérique, a amélioré le métabolisme lipidique hépatique et plasmatique en réduisant le cholestérol, les triglycérides et les acides gras libres par l'activation de la protéine kinase (AMPK), l'augmentation de la carnitine palmitoyl transférase 1 (CPT-1) et la diminution de l'acétyl-CoA carboxylase (Sudeep *et al.*, 2016).

### 3. Acide rosmarinique

L'acide rosmarinique est un ester phénolique dérivé de l'acide caféique et de l'acide 3,4-dihydroxyphényllactique (Petersen, 2013). Il s'accumule en grande quantité dans de nombreuses espèces végétales et est particulièrement abondant dans de nombreuses herbes de la famille des lamiacées, telles que la sauge, le romarin, la menthe et le basilic (Amoah *et al.*, 2016; Chadni *et al.*, 2023). Comparativement aux autres acides phénoliques, l'acide rosmarinique a une plus grande capacité d'interaction avec les membranes cellulaires, ce qui en fait un composé structurellement intéressant (Filipe *et al.*, 2018). Il a été rapporté que le traitement par l'acide rosmarinique chez des rats femelles obèses et diabétiques de type 2 neutralise la surcharge redox par le système antioxydant enzymatique dans le tissu cardiaque et diminue le cholestérol et la glycémie (Zych *et al.*, 2019). Dans les adipocytes humains, l'acide rosmarinique interfère avec le processus de métabolisme des lipides en réduisant l'expression des gènes clés dans la synthèse des lipides, tel que l'acide gras synthase (Vasileva *et al.*, 2021).

#### 4.2.2. Rôles des flavonoïdes

##### 1. Rôles de la quercétine

La quercétine est l'un des flavonoïdes les plus fréquemment présents dans l'alimentation. Il a été rapporté dans la littérature que l'administration de la quercétine diminue la pression artérielle chez les patients hypertendus (Edwards *et al.*, 2007). En raison de son activité antioxydante, la quercétine peut également réprimer l'augmentation de l'hypertension induite par l'alimentation chez les rats obèses (Yamamoto & Oue, 2006), inhibe la croissance cellulaire et stimule l'apoptose dans les pré-adipocytes 3T3-L1 en diminuant le potentiel de la membrane mitochondriale, en activant la caspase3, Bak et Bax et en réduisant les Protéines PARP et Bcl-2 (Hsu & Yen, 2006). Il a été démontré que la quercétine diminue également l'expression de la lipoprotéine lipase (LPL), de la SREBP1c et le facteur de transcription adipogénique clé (PPAR $\gamma$ ). En régulant le NF- $\kappa$ B et l'ERK  $\frac{1}{2}$ , la quercétine et ses dérivés protègent les cellules INS1 et les cellules clonales pancréatiques contre le stress oxydatif et l'accumulation des nitrates d'oxygène. Ils améliorent aussi la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose (Dai *et al.*, 2013).

## 2. Rôles de cyanidine-3-glucoside

Selon les études de [Guo \*et al.\* \(2012\)](#), les flavonoïdes (cyanidine-3-glucoside) favorisent la phosphorylation et l'exclusion de la FoxO1, un médiateur transcriptionnel majeur de la signalisation de l'insuline en diminuant l'activité de la kinase JNK, ainsi que la réduction de l'infiltration des macrophages dans le tissu adipeux blanc et les niveaux d'ARNm des cytokines inflammatoires et la teneur en triglycérides hépatiques.

## 3. Rôles de l'apigénine

Dans les cellules hépatocellulaires HepG2 exposées à un taux élevé de glucose, il a été démontré que les flavonoïdes (apigénine) renforcent la phosphorylation de l'AMPK et préviennent l'accumulation de lipides ([Zang \*et al.\*, 2006](#)). Dans les cellules  $\beta$  clonales HIT-T15, le traitement à l'apigénine a atténué les dommages oxydatifs induits par le 2-désoxy-D-ribose par son effet antioxydant en contrôlant le potentiel membranaire mitochondrial ([Suh \*et al.\*, 2012](#)).

### 4.2.3. Rôles des tanins

Plusieurs travaux réalisés sur les animaux et les patients humains atteints de diabète de type 2 ont confirmés les effets hypo-géniques des tanins ([Gin \*et al.\*, 1999](#); [Ong, Khoo, & Das, 1995](#)). Selon ([Liu \*et al.\*, 2005](#)) Les tanins (gallotanins) induisent le transport du glucose en activant la voie de signalisation médiée par l'insuline dans les adipocytes en stimulant la translocation de GLUT4, et ils inhibent la différenciation des adipocytes.

### 4.2.4. Rôles des stilbènes

Le resvératrol est un puissant stilbène anti-inflammatoire et antioxydant qui présente plusieurs activités biologiques, notamment la prévention du cancer et des troubles métaboliques ([Atten \*et al.\*, 2005](#); [van der Spuy & Pretorius, 2009](#)). Pour le contrôle du diabète et la prévention de l'obésité, les stilbènes (resvératrol) augmentent l'absorption du glucose via le transporteur GLUT4 et régulent l'oxydation des acides gras par l'AMPK ([Zang \*et al.\*, 2006](#)). De plus, le resvératrol bloque l'adipogenèse en supprimant l'entrée des pré-adipocytes en phase G2/M dans le cycle cellulaire et l'expression des régulateurs du cycle cellulaire, la kinase dépendante de la cycline 2 et la cycline A ([Kwon \*et al.\*, 2012](#)).

### 4.3. Composés phénoliques et la fertilité masculine

#### 4.3.1. Rôles des acides phénoliques

##### 1. Acide gallique

Les travaux réalisés par [Owumi et al. \(2020\)](#) ont signalé le rôle critique de l'acide gallique dans l'amélioration de la défense antioxydante et la réduction de l'activation de la caspase-3, de l'interleukine-1 $\beta$ , et des variations histologiques dans l'épididyme, les testicules et l'hypothalamus des souris exposées à l'aflatoxine-B1. De même, chez des rats traités au cyclophosphamide, l'administration d'acide gallique pendant 35 jours a amélioré les paramètres spermatiques (motilité, morphologie et viabilité) et a diminué la fragmentation d'ADN dans les cellules germinales ([Mehraban et al., 2020](#)). De même, l'acide gallique administré pendant 10 jours à des rats soumis à la cisplatine a entraîné une inhibition du stress oxydant, de l'apoptose, la fragmentation de l'ADN, en plus de l'amélioration structurale et fonctionnelle du testicule et de l'épididyme ([Altındağ & Meydan, 2021](#)).

##### 2. Acide chlorogénique

L'acide chlorogénique a montré un effet positif dans la production in vitro d'embryons porcins et une protection contre les dommages de l'ADN induits par le stress oxydatif dans les ovocytes et a amélioré leur compétence de développement ultérieur après la fécondation ([Nguyen et al., 2019](#)). En outre, il a été rapporté que l'acide chlorogénique augmente la phosphorylation de l'AMPK, une protéine impliquée dans la régulation de la motilité des spermatozoïdes et la protection de la membrane mitochondriale ([Naveed et al., 2018](#)). Il a été aussi démontré récemment que l'acide chlorogénique a restauré les dommages occasionnés par l'irradiation ionisante sur le testicule ([Abedpour et al., 2022](#)).

##### 3. Acide rosmarinique

Des études récentes ont rapporté que l'acide rosmarinique pourrait atténuer les lésions testiculaires induites par la doxorubicine et inverser les effets négatifs de l'infertilité masculine induite par le métronidazole chez le rat ([Al-Alami et al., 2016](#); [Georgy & Maher, 2017](#)). L'acide rosmarinique augmente également le comportement sexuel et les niveaux de testostérone chez les rats males diabétiques ([Farzadi et al., 2011](#)). De plus, la forte activité antioxydante de l'acide rosmarinique améliore la fonction des spermatozoïdes et la capacité de fécondation in vitro après cryoconservation du sperme chez plusieurs animaux, dont le

sanglier (Luño *et al.*, 2014), le taureau (Daghigh-Kia *et al.*, 2014), bélier (Motlagh *et al.*, 2014). Ces recherches indiquent que l'acide rosmarinique agit comme un agent cytoprotecteur pour la reproduction mâle dans les modèles animaux.

#### 4.3.2. Rôles des flavonoïdes

La quercétine, en tant qu'antioxydant efficace, a de nombreux effets bénéfiques sur la fonction reproductrice masculine (Altintas *et al.*, 2015; Kanter *et al.*, 2016). Dans les cellules de Leydig, la quercétine (10µM) augmente la production de stéroïdes en stimulant l'activation AMP-dépendante des promoteurs régulateurs aigus stéroïdogènes (STARS), du cytochrome P450 11A1 recombinant (Cyp 11a1), et de la ferredoxine-1 (Fdx1) (Cormier *et al.*, 2017). Chez des rats intoxiqués avec le di-*n*-butyl phthalate (DnBP) pendant 15 jours, et traités avec la quercétine pendant la même période, les paramètres du stress oxydatif ont été nettement améliorés (malondialdéhyde (MDA), glutathion (GH), superoxide dismutase (SOD) et catalase (CAT)) et une restauration de la spermatogenèse avec le rétablissement de la morphométrie testiculaire ont été constatées (Abarikwu *et al.*, 2020). Des effets thérapeutiques de la quercétine similaires ont été notés sur le testicule, la prostate et les vésicules séminales chez des rats soumis à l'acétate de plomb et aux nanoparticules du trioxyde d'aluminium (Behairy *et al.*, 2022). Il a été démontré que la quercétine protège le testicule contre les effets délétères des métaux lourds, cette molécule peut agir en réduisant le stress oxydatif et en restaurant la capacité antioxydante, comme en témoignent les niveaux accrus de GSH, de glutathion peroxydase (GPx), de Catalase, de vitamine C, de vitamine E, de TAC et la diminution de la production de MDA et de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans l'homogénat testiculaire (Zhang *et al.*, 2023).

#### 4.3.3. Rôles des tanins

Il a été rapporté que les tanins et l'acide tannique suppriment les propriétés de piégeage des radicaux libres des spermatozoïdes et améliore le poids des organes reproducteurs, l'autophagie dans les testicules, les hormones sexuelles sériques, les paramètres des spermatozoïdes et l'aberration dans le chromosome (Dai *et al.*, 2020). Chez des agneaux pré-pubères alimentés avec l'extrait de tanins des pépins de raisins ont été observés un développement précoce des organes reproducteurs, une augmentation de l'expression des gènes antioxydants, de la stéroïdogénèse et du métabolisme des acides gras polyinsaturés avec une modification des profils des acides ; ce régime a également augmenté la capacité antioxydante des testicules des agneaux et a contribué au développement des testicules et à la stimulation de la spermatogenèse (Li *et al.*, 2021). De plus, l'acide tannique administré à des

rats adultes soumis à une septicémie induite par la Ligature et la Perforation Caecale (CLP) a causé une amélioration de la fonction testiculaire en réduisant les stress oxydatif et l'inflammation ([Pourmirzaei et al., 2021](#)).

#### 4.3.4. Rôles des stilbènes

Compte tenu de ses similitudes structurales avec le diéthylstilbestrol et le  $17\beta$ -estradiol et son activité en tant que modulateur des systèmes de réponse aux œstrogènes, le resvératrol a été classé comme phyto-estrogène ([Mongioi et al., 2021](#)). Ce composé est capable d'augmenter les effets ostéogéniques des hommes, et par conséquent, c'est un modulateur de la fonction reproductrice. Les œstrogènes sont également sécrétés par les cellules de Leydig ou ils jouent une fonction de régulation paracrine ([Sharpe, 1997](#); [Sharpe, 1998](#)), cela suggère un rôle possible du resvératrol dans la fertilité masculine. De plus le resvératrol semble avoir une activité phyto-estrogène dans le récepteur aux androgènes en inhibant sa dimérisation ([Streicher et al., 2014](#)) et son activité transcriptionnelle induite par l'IL-6 dans les cellules cancéreuse de la prostate ([Lee et al., 2014](#)). Dans les testicules, il augmente la spermatogenèse par la stimulation directe de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique sans effets indésirables ([Juan et al., 2005](#)). Les effets positifs du resvératrol sur les fonctions mâles et femelles et sur la santé reproductrice humaine ont été clairement et largement rapportés par [Pasquariello et al. \(2020\)](#) et [Novakovic et al. \(2022\)](#) dans leurs articles revus. Récemment, une étude effectuée sur des rats adultes soumis à un antibiotique, la vancomycine a révélé l'efficacité pharmacologique du resveratrol sur le testicule ([Alshehri, 2023](#)).

# *Matériels et méthodes*

## I. Etude *in vitro* de *Salvia balansae*

### 1. Disruption de la matière végétale étudiée

Notre étude *in vitro* a été réalisée sur une plante endémique originaire d'Algérie de la famille des Lamiaceae, *Salvia balansae*, connue localement sous le nom de '*hchichet kol blia*'. Cette espèce de Lamiaceae est une plante buissonnante à fleurs blanches, sous-arbrisseau avec des tiges ligneuses, des feuilles vertes et la corolle divisée en deux lèvres. Elle est caractérisée par deux périodes de floraison, la première s'étendant de février à avril et la deuxième en novembre. Géographiquement, cette plante est distribuée de la vallée du Cheliff (est) au littoral oranais (ouest) en Algérie (Mostari *et al.*, 2020; Quézel & Santa, 1962). Des spécimens sont déposés dans l'herbier de l'Université de Montpellier (MPU010315, MPU01016) et celui du Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN) à Paris (MNHN-P-P02876546).

### 2. Classification

**Règne :** Plantae

**Sous règne :** Tracheobionta

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Sous-classe :** Asteridae

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiaceae

**Genre :** *Salvia*

**Espèce :** *Salvia balansae*

**Nom binomial**

*Salvia balansae* Noë ex Coss



**Figure 19 :** *Salvia balansae* (Tiges, feuilles, fleurs et graines)

### 3. Collection et authentification de la plante

*Salvia balansae* a été collectée en mars 2019 en période de floraison dans la région du Cheliff à Sidi Belattar, Willaya de Mostaganem. Cette région située à 12 m d'altitude, 36.03°N, 0.27°E se caractérise par un climat semi-aride (**Figure 20**).



**Figure 20** : Localisation géographique de la zone d'échantillonnage de *Salvia balansae* (Google Earth)

Les tiges avec les feuilles ont été fraîchement collectées aléatoirement, placées dans des sacs en plastique puis transportées au laboratoire de protection des végétaux de la faculté des sciences de la nature et de la vie. L'identification botanique a été assurée par le Dr. Mostari Abassia et le Pr. Errol Véla, du département de biologie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem-Algérie et de l'Université de Montpellier-France respectivement.

Les feuilles ont été soigneusement séparées, nettoyées et séchées à l'ombre pendant 20 jours à une température ambiante (25 - 30° C). Après la stabilisation du poids des échantillons, les feuilles ont été broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre végétale obtenue a été conservée dans des bocaux en verre hermétiquement fermés pour empêcher l'oxydation et la dégradation des métabolites secondaires.

### 4. Préparation de l'extrait

La méthode d'extraction utilisée dans cette étude est l'infusion à 10%. Cette méthode est la plus couramment utilisée par l'homme (N'guessan *et al.*, 2011), et la plus simple à extraire les composants hydrosolubles (Cao-Ngoc *et al.*, 2020). L'eau est le solvant choisi pour son

action non destructive. Cela a permis d'obtenir un extrait aqueux. 100 mL d'eau distillée bouillie ont été versées sur 10g de matière végétale bien broyée (feuilles). Après 15 min, l'infusion a été filtrée sous vide à l'aide d'un papier filtre *Whatman # 1* et le filtrat a été récupéré dans un flacon opaque, l'opération a été répétée trois fois pour extraire le maximum de métabolites. Le filtrat a été lyophilisé à l'aide d'un lyophilisateur de type *Alpha 2-4 LD plus* et le lyophilisat a été pesé pour calculer le rendement d'extraction, puis conservé à -20°C dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

## 5. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction (R) a été calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = (M_{ext} / M_{éch}) \times 100$$

Où : **R** est le rendement en % ; **M<sub>ext</sub>** est la masse de l'extrait après lyophilisation en g et **M<sub>éch</sub>** est la masse de la matière végétale sèche brute.

## 6. Screening phytochimique

Le criblage phytochimique qui est une méthode qualitative, a été réalisé pour mettre en évidence la présence des composés chimiques présents dans les feuilles de notre plante (*S. balansae*). Ce test est basé sur l'apparition et/ou changement de couleur et des précipitations à l'aide des réactifs spéciaux permettant de déterminer certains phyto-constituants biologiquement actifs.

Les résultats sont classés selon l'apparition en :

- Réaction positive +
- Réaction négative –

### 6.1. Détection des polyphénols

Deux millilitres (2mL) de l'extrait aqueux ont été mélangés avec 1mL de la solution de chlorure ferrique. L'apparition d'une couleur noire bleutée indique la présence de polyphénols ([Prashant et al., 2011](#)).

### 6.2. Détection des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été détectés avec la réaction à la cyanidine (acide chlorhydrique et magnésium), qui permet de caractériser le type de flavonoïdes présents ([Benzidia et al., 2018](#); [Harborne, 2005](#)).

5mL d'alcool chlorhydrique (éthanol 95%, eau distillée et HCl concentré (v : v : v) ont été ajoutés à 5mL d'infusé, puis quelques copeaux de magnésium et 1mL d'alcool iso-amylque sont également ajoutés. L'apparition de la couleur rose violacée (flavonones) ou rose orangé (flavones) ou rouge (flavonols) associée à une couche surnageante d'alcool iso-amylque indique la présence de génines (flavonoïdes libres).

Avec les hétérosides flavoniques, les colorations sont moins intenses. Avec les chalcones, les aures, les dihydrochalcones, les iso-flavones et les catéchines, la réaction est négative.

#### **6.2.1. Détection des leuco-anthocyanes**

Ici, la réaction à la cyanidine a été réalisée sans l'ajout des copeaux de magnésium, le mélange a été chauffé au bain-marie pendant 15min. Le développement d'une coloration rouge cerise ou violacée indique la présence de leuco-anthocyanes. La teinte brun-rouge indique la présence des catéchols.

#### **6.2.2. Détection d'anthocyanes**

5mL d'acide sulfurique (10%) et 5mL d'ammoniac (50%) ont été ajoutés à 5mL d'infusé (5%). La couleur de l'infusé est accentuée par l'acidification puis devient bleu en milieu basique en présence d'anthocyanes.

#### **6.2.3. Détection des flavanes**

1mL d'acide chlorhydrique concentré contenant de la vanilline (2%) a été mélangé à deux millilitres d'infusé à 10%. La coloration rouge révèle la présence de flavanes.

### **6.3. Détection des tanins**

La réaction au chlorure de fer (III) a été employée pour détecter la présence de tanins. Cette réaction est basée sur l'apparition d'une précipitation ou d'une coloration verdâtre ou bleu-noir après l'addition de 1mL de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) à 5mL d'infusion (Harborne, 2005).

#### **6.3.1. Tanins galliques (Réactif de Stiasny)**

Les tanins galliques ont été détectés par l'addition de 1.5mL du réactif de Stiasny (10mL de formol à 40% et 5mL de HCl concentré) à 3mL d'infusé. Le mélange réactionnel a été chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 min. le filtrat obtenu a été saturé par 5g d'acétate de sodium pulvérisée. Ensuite, 1mL goutte à goutte d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  a été ajouté. L'apparition d'une couleur bleu-noire confirme la présence des tanins galliques (Harborne, 2005).

#### **6.3.2. Tanins catéchiques**

5mL d'HCl concentré ont été ajoutés à 5mL d'infusé. Le mélange a été porté à ébullition pendant 15min. la formation d'un précipité rouge insoluble dans l'alcool iso-amylque, montre la présence de tanins catéchiques (Benzidia *et al.*, 2018; Harborne, 2005).

#### 6.4. Détection des quinones

Un millilitre d'extrait a été mélangé avec un millilitre d'HCl concentré. La formation d'un précipité jaune au fond du tube à essais indique la présence de quinones dans l'extrait aqueux (Abidi *et al.*, 2017).

#### 6.5. Détection des phlobatanins

Selon le test du précipité, 2mL d'extrait ont été bouillis dans un tube à essais avec 1mL d'HCl aqueux à 1%. Le précipité rouge est l'indicateur positif pour la présence de phlobatanins dans l'extrait aqueux (Abidi *et al.*, 2017).

#### 6.6. Détection d'oxalate

Un millilitre d'acide éthanolique glacial a été ajouté à 3mL d'extrait. La formation d'une couleur noire verdâtre au fond du tube à essais est considérée comme positive pour la présence d'oxalate dans l'extrait aqueux (Abidi *et al.*, 2017).

#### 6.7. Détection des protéines et des acides aminés

Les acides aminés et les protéines ont été mis en évidence par la réaction à la ninhydrine (Prashant *et al.*, 2011). 1mL de solution de ninhydrine (1% dans l'acétone) a été ajouté à 2mL de l'extrait et le mélange a été maintenu au bain-marie pour l'ébullition pendant 1-2 minutes. La formation d'une coloration violette atteste de la présence de protéines et d'acides aminés dans notre extrait.

#### 6.8. Détection des stéroïdes

Les stéroïdes ont été identifiés avec la réaction de Liebermann-Burchard. 5mL d'extrait ont été mélangés avec (un millilitre de chloroforme, un millilitre d'anhydride acétique et un millilitre d'acide sulfurique concentré). Un précipité de couleur rose foncé ou rouge signale la présence de stérols (Abidi *et al.*, 2017; Prashant *et al.*, 2011).

#### 6.9. Détection des glycosides cardiaques

Un mélange contenant 1mL d'une solution aqueuse de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 10% additionnée de 3ml d'acide acétique glacial a été ajouté à 2 ml d'extrait. Après une légère agitation, le mélange a été additionné de 1ml d'acide sulfurique concentré. L'anneau brun à l'interface indique la présence d'un désoxyose caractéristique des cardénolides (Ayoola *et al.*, 2008).

### 6.10. Détection des composés réducteurs

Les composés réducteurs ont été mis en évidence par le réactif de Fehling. 4mL de l'extrait ont été introduits dans un tube à essais, puis 2mL de la liqueur de Fehling (A et B) ont été ajoutés. L'ensemble a été porté à ébullition au bain-marie durant 8min. L'obtention d'un précipité rouge brique désigne la présence des composés réducteurs (Ayoola *et al.*, 2008).

### 6.11. Détection des terpénoïdes

Deux millilitres d'extrait ont été mélangés à 1mL de chloroforme, puis 3 à 4 gouttes de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré ont été ajoutées. La formation d'un précipité brun rougeâtre indique la présence de terpénoïdes (Abidi *et al.*, 2017).

### 6.12. Détection des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été détectés à l'aide de trois réactifs différents (Wagner, Mayer et Dragendorff) (Annexe 1).

Deux millilitres d'extrait ont été mélangés avec 5mL d'acide chlorhydrique à 1%. Après chauffage au bain marie, le filtrat a été divisé en trois volumes égaux. Le premier a été traité avec 1mL de réactif de Wagner, le deuxième avec 1mL de réactif de Mayer et le troisième avec le réactif de Dragendorff. La formation d'un précipité brun ou blanc jaunâtre ou rouge orangé respectivement dans chaque volume témoigne de la présence des alcaloïdes (Prashant *et al.*, 2011).

### 6.13. Détection des saponines

Pour la détection des saponines, deux millilitres d'extrait (10%) ont été dilués avec 4mL d'eau distillée puis agités vigoureusement. La formation d'une couche de mousse incessante indique la présence des saponines (Harborne, 1973).

## 7. Analyse quantitative des molécules bioactives

### 7.1. Dosage des composées phénoliques totaux

La détermination des composés phénoliques totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu est la plus appropriée pour une utilisation de routine en laboratoire. Cette méthode est basée sur la mesure de la concentration totale des groupes hydroxyles phénoliques dans les extraits. Cependant, dans la réaction chimique, les polyphénols de l'extrait réagissent avec le réactif redox (Folin-Ciocalteu) et forment un complexe bleu (phosphotungstique-

phosphomolybdène) quantifiable par le spectrophotomètre en lumière visible, où l'absorbance maximale du complexe dépend de la solution alcaline et de la concentration en composés phénoliques (Blainski *et al.*, 2013).

Le dosage des polyphénols a été effectué à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible suivant la méthode décrite par Bouzouina *et al.* (2016). Brièvement, l'extrait aqueux de feuilles de *S. balansae* préparé à une concentration de 0.6 mg/mL a été mélangé avec 5mL de folin-Ciocalteu dilué 10 fois, après 5 min d'incubation, 4mL d'une solution aqueuse de carbonate de sodium (75%) ont été ajoutés. Dans les mêmes conditions, un étalon a été préparé avec l'acide gallique à des concentrations variant de 0 à 100µg/mL. Après une heure d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été lue à 765nm contre le blanc (l'eau distillé) à l'aide d'un spectrophotomètre de type JENWAY 6715. Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent acide gallique (standard) par gramme d'extrait lyophilisé (mg EAG/g).

## 7.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le test colorimétrique au chlorure d'aluminium permettant la détermination des flavonoïdes a été proposé pour la première fois par Christ et Muller en 1960 pour la détermination des dérivés de flavonols dans les médicaments (Christ & Muller, 1960). En raison de leurs nombreux groupes oxo et hydroxyle, les flavonoïdes sont affins aux ions métalliques tels que l'Al(III). La méthode est basée sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et la formation d'un Chélate jaune (Al (III)-flavonoïdes) qui absorbe dans la gamme 410-440 nm (Shraim *et al.*, 2021).

Un volume de 1mL d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium (2%) a été mélangé à un volume égal d'extrait. Après 10min d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 430nm. La quercétine a été utilisée comme standard à des concentrations croissantes de 0 à 20µg/mL pour tracer la courbe d'étalonnage. Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait lyophilisé (mg EQ/g) (Ahn *et al.*, 2007).

## 7.3. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon le test vanilline-HCl de Broadhurst & Jones, (1978). Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de l'aldéhyde aromatique vanilline (4-hydroxy-3-methoxy benzaldéhyde) avec les flavanols monomères et leurs

oligomères (catéchines) pour former un adduit rouge qui absorbe à 500 nm (Dykes & Rooney, 2006). Brièvement, 400µL d'extrait ont été ajoutés à 3mL d'une solution méthanolique à 4% de vanilline. Ensuite, 1.5mL d'acide chlorhydrique concentré ont été additionnés. Après 15min d'incubation, l'absorbance a été lue à 550nm. Parallèlement, différentes concentrations de Catéchine allant de 100 à 1000µg/mL ont été utilisées comme standard pour établir la courbe d'étalonnage.

Les concentrations en tanins condensés ont été exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait lyophilisé (mg EC/g).

## 8. Activités biologiques de l'extrait

### 8.1. Activités antioxydantes

Le mécanisme réactionnel de l'activité antioxydante des composées polyphénoliques est lié à la capacité de neutralisation des ROS. La neutralisation est produite lorsque l'antioxydant transfère son électron ou son atome d'hydrogène au radical libre (Dawidowicz & Olszowy, 2012; Marković *et al.*, 2013). Comme le montre la littérature (Dawidowicz & Olszowy, 2012; Marković *et al.*, 2013), quatre voies chimiques sont proposées pour le piégeage des radicaux libres par les composées phénoliques : Transfert d'électrons couplés à des protons (PC-ET/HAT), transfert d'électrons-protons (ET-PT), transfert d'électrons séquentiel avec perte de protons (SPLET) et formation d'adduits (AF).

Afin d'évaluer le pouvoir antioxydant des extrait plusieurs méthodes sont utilisées, la majorité de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

Dans le cadre de notre travail, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* a été réalisée par cinq méthodes chimiques à savoir : la capacité antioxydante totale (CAT), le piégeage du radical libre DPPH, le piégeage du radical ABTS, la réduction du fer, et la Chélation du fer ferreux.

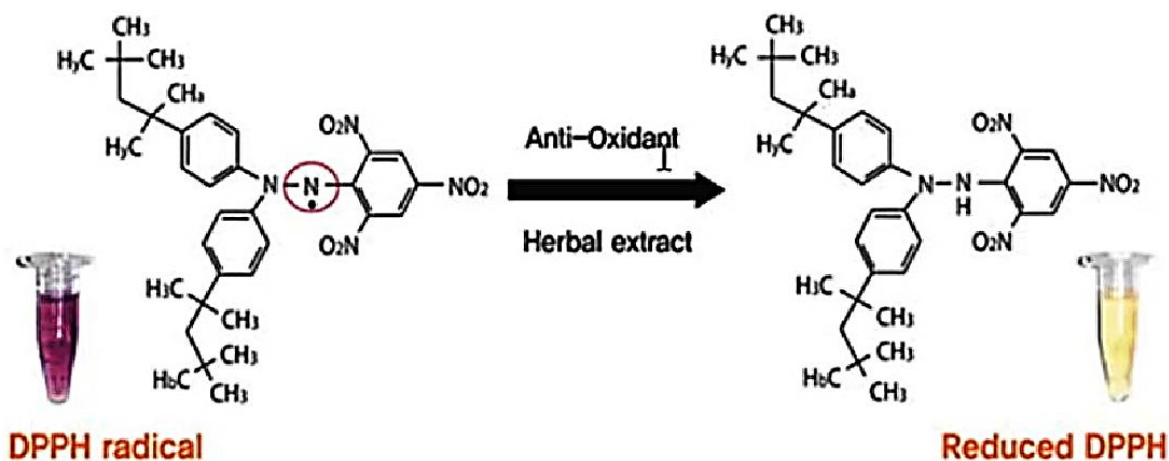
#### 8.1.1. Capacité antioxydante totale (TAC)

La méthode de Gunathilake & Ranaweera. (2016) a été suivie pour la détermination de la capacité antioxydante totale de l'extrait. Cette méthode est basée sur la réduction du molybdène Mo(VI) présent sous forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  en molybdène Mo(V)  $\text{MoO}^{2+}$  en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo(V) à pH acide, avec une absorbance maximale à 695nm (Prieto *et al.*, 1999).

Un volume de 300 $\mu$ L de l'extrait a été mélangé avec 1mL de la solution réactive (0.6 M acide sulfurique, 28mM phosphate de sodium, et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes contenant la solution de réaction ont été incubés à 95<sup>0</sup>C pendant 90 min. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 695 nm. L'acide ascorbique (0-100-200-300-400-500 $\mu$ g/ml) a été utilisé comme standard. La TAC est exprimée en milligramme équivalent acide ascorbique par gramme d'extrait lyophilisé (mg EAA/g).

### 8.1.2. Activité anti-radicalaire par le test au DPPH

Le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl-hydrate) est l'une des méthodes qui a permis d'estimer l'activité antioxydante des composés agissant comme des piègeurs de radicaux libres comme les extraits des plantes ou les composés isolés (Maliki *et al.*, 2020). Il s'agit d'un radical stable à la température ambiante de couleur violette qui devient jaune lorsqu'il est capturé par des antioxydants dans les solutions alcooliques, avec une absorbance maximale à 517 nm (Huang *et al.*, 2005).



**Figure 21 :** Mécanisme réactionnel du DPPH avec un antioxydant ayant un radical hydrogène transférable (Chaudhary *et al.*, 2019)

La capacité antioxydante de l'extrait aqueux a été estimée selon la procédure décrite par Zakaria *et al.* (2008). Un volume de 50 $\mu$ L de diverses concentrations d'extrait a été ajouté à 5mL de solution méthanolique de DPPH à 0.004% (m/v), et le mélange a été laissé réagir pendant 30mn à température ambiante dans l'obscurité. La réduction du radical DPPH a été déterminée en mesurant l'absorbance à 517nm. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été évalué à l'aide de l'équation suivante :

$$I_{\text{DPPH}} (\%) = 100 \times (A_{\text{DPPH}} - A_s) / A_{\text{DPPH}}$$

Avec:

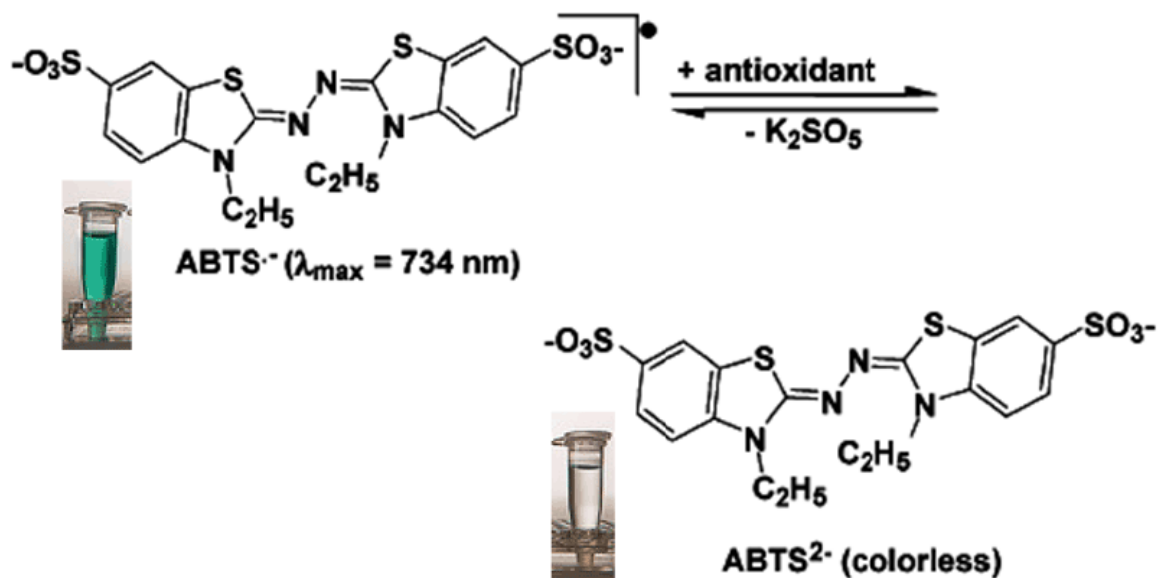
$A_{\text{DPPH}}$  = Absorbance du DPPH sans extrait

$A_s$  = absorbance du DPPH avec extrait

Le trolox a été utilisé comme un antioxydant standard dans la gamme de 0 à 1000µg/ml. La valeur  $IC_{50}$  est la concentration d'échantillon (extrait ou standard) nécessaire pour inhiber 50% du radical libre DPPH, a été déterminée graphiquement.

### 8.1.3. Piégeage du radical $ABTS^+$

Cette méthode est basée sur le pouvoir des antioxydants donneurs d'hydrogène à neutraliser un cation radicalaire stable,  $ABTS^+$  (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) en ABTS. Le radical chromophore  $ABTS^+$  de couleur bleu-vert intense est généré par une réaction d'oxydation entre le persulfate de potassium ( $K_2 S_2 O_8$ ) et l'ABTS a une absorbance maximale à 734nm (Re et al., 1999).



**Figure 22 :** Réaction entre le radical ABTS et le composé antioxydant (Emad & Sanaa, 2013)

La solution aqueuse d' $ABTS^{++}$  a été préparée en mélangeant des volumes égaux de deux solutions mères, 7mM d'ABTS et 2,45mM de persulfate de potassium. Le mélange a été laissé reposer dans l'obscurité à température ambiante pendant 12-16 heures. Une dilution de la

solution stock a été effectuée par l'addition de 60ml d'eau distillée à 1mL de mixture jusqu'à ce que l'absorbance soit stable autour de 0,7 ( $0,700 \pm 0,05$ ) à une longueur d'onde de 734 nm ([Dudonne et al., 2009](#)). Un volume de 5mL de solution ABTS<sup>+</sup> fraîchement préparé, a été ajouté à 50µL d'extrait. Après 10min d'incubation, l'absorbance des solutions a été mesurée à 734nm.

La capacité antioxydante de l'extrait de *S. balansae* a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical ABTS en se basant sur l'équation ci-dessous :

$$I_{\text{ABTS}} (\%) = 100 \times (A_{\text{ABTS}} - A_s) / A_{\text{ABTS}}$$

Où :

$A_{\text{ABTS}}$  = Absorbance du radical ABTS sans extrait

$A_s$  = absorbance du radicale ABTS avec extrait

Les mêmes conditions opératoires ont été suivies pour le standard, Trolox (0-100-200-300-400-500µg/mL)

#### 8.1.4. Chélation du fer ferreux

Les ions métalliques sont nécessaires au fonctionnement cellulaire, elles jouent un rôle essentiel dans les processus biochimiques et physiologiques, mais dans certain cas et lorsque leur mécanisme d'action est mal contrôlé, ces ions peuvent provoquer une peroxydation des lipides, un stress oxydatif ou des lésion tissulaires ([Heim et al., 2002](#)).

Dans cette expérience, le pouvoir chélateur du fer de l'extrait aqueux est basé sur l'utilisation de la ferrozine. Dans ce test, la ferrozine forme avec le fer libre un chromophore violet intense (Ferozine-Fe<sup>2+</sup>) absorbant à 562nm. La présence de l'extrait dans le milieu réactionnel inhibe la formation de ce complexe, donc plus le pouvoir chélateur est important, plus la couleur est claire ([Dinis et al., 1994](#)).

Une aliquote de 500µL de l'extrait a été mélangée avec 100µL de FeCl<sub>2</sub> (0.6mM dans l'eau distillée). Après une agitation vigoureuse et un repos de 5min, 100µL de ferrozine (5mM) ont été ajoutés, suivis de 900µL d'eau distillée. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 10min à température ambiante. Les concentrations de l'antioxydant standard (Na<sub>2</sub> EDTA) sont comprises entre 0 à 30µg/mL. L'absorbance a été lue à 562nm conte un blanc contenant tous les réactif à l'exception de la ferrozine qui est remplacé par un volume égale

d'eau distillée (Le, Chiu, & Ng, 2007). Le pouvoir chélateur a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Pouvoir chélateur (\%)} = 100 \times (A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}) / A_{\text{Contrôle}}$$

Où

$A_{\text{Contrôle}}$  : Absorbance du contrôle (tous les réactifs à l'exception de l'échantillon testé qui est remplacé par un volume égal d'eau distillée)

$A_{\text{Echantillon}}$  : Absorbance de l'échantillon

### 8.1.5. Réduction du fer

Le pouvoir réducteur d'un échantillon est associé à son pouvoir antioxydant, l'évaluation de ce pouvoir est basée sur une réaction d'oxydoréduction entre les antioxydants présents dans l'extrait et les ions métalliques (Fer). Dans le milieu réactionnel, le ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  fournit des ions  $Fe^{3+}$  qui seront réduits en  $Fe^{2+}$  par l'antioxydant de l'extrait. L'absorbance est déterminée à 700nm. L'augmentation de l'absorbance indique le pouvoir réducteur de l'extrait testé (Oyaizu, 1986).

Cette méthode consiste à ajouter 2.5mL d'une solution tampon phosphate (0.2M ; pH 6.6) et 2.5mL d'une solution de ferricyanure de potassium à 1% (m/v) à 1mL d'extrait de *S. balansae*. Le mélange obtenu a été incubé pendant 20min à 50°C, puis refroidi à température ambiante. 2.5mL d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction chimique. Ensuite, le mélange réactionnel a été centrifugé à 3000 tours pendant 10 minutes. 2.5mL de surnagent ont été ajoutés à 2.5mL d'eau distillée et 500 $\mu$ L d'une solution de trichlorure de fer à 1% (m/v). L'absorbance a été mesurée contre un blanc contenant tous les réactifs utilisés sauf l'échantillon testé qui a été remplacé par l'eau distillée. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif dans ce test.

La concentration efficace  $EC_{50}$  est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0.5 a été calculée à partir d'une courbe de régression linéaire entre la concentration de l'échantillon et la densité optique correspondante.

## 8.2. Activité antidiabétique (Test d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase)

L'enzyme  $\alpha$ -amylase (EC 3.2.1.1) est une macromolécule (40-70 kDa) de nature glycoprotéique contient 478 acides aminés répartis en trois domaines globulaire (A, B et C) formés par 8 feuillets  $\beta$  et 8 hélices  $\alpha$  et associés par une chaîne polypeptidique hydrophobes. Dans cette molécule, le maltose forme la partie glucidique, et son site catalytique est localisé dans le domaine A (Nouadri, 2011). C'est une endo-enzyme ubiquitaire synthétisée largement dans tous les êtres vivants (animaux, plantes et microorganismes) (Merabti, 2006), hydrolyse les liaisons osidiques  $\alpha$ -D- glucose (C1-C4) de l'amidon, de l'amylose, de l'amylopectine et du glycogène et induit la libération du maltose, du glucose et l' $\alpha$ -dextrines (Kelly *et al.*, 1997).

L'effet inhibiteur de l'extrait sur l'activité catalytique de l'alpha amylase a été effectué selon le protocole de Dessalegn (2015) avec une légère modification. Dans chaque tube à essais, 1mL de l'alpha amylase pancréatique (15U/mL) dissoute dans 0.02M d'une solution tampon phosphate de sodium (pH6.9 avec 0.0067M Chlorure de sodium) a été mélangé avec 1mL d'extrait et incubé à 37°C pendant 30min. Ensuite 1mL d'amidon bouilli (1%) a été ajouté en tant que substrat, puis les tubes ont été incubés à 37°C pendant 10min. La réaction a été arrêtée en ajoutant 1mL de réactif DNS (1,0 g d'acide 3,5-dinitrosalicyclique, 20 ml de NaOH 2M et 30 g Tartrate de sodium et de potassium tétrahydraté dans 100 ml d'eau distillée). Après agitation, les tubes ont été placés dans un bain marie bouillant pendant 10 min, puis transférés rapidement dans un bain de glace afin de stopper la réaction ente le maltose et le réactif DNS. L'absorbance de chaque échantillon a été mesurée contre un blanc à 540nm. L'acarbose à diverse concentrations (0-100 $\mu$ g/mL) a été inclus comme standard. L'inhibition de l' $\alpha$ -amylase est exprimée par un pourcentage d'inhibition et calculée selon l'équation suivante :

$$I_{\alpha\text{-amylase}} (\%) = 100 \times (A_{C+E} - A_C) - (A_{S+E} - A_S) / (A_{C+E} - A_C) \text{ Avec,}$$

$A_{C+E}$  : Absorbance du contrôle avec 100% d'activité  $\alpha$ -amylase ; (**substrat + enzyme + tampon + DNS**)

$A_C$  : Absorbance du contrôle sans  $\alpha$ -amylase ; (**substrat +tampon + tampon + DNS**)

$A_{S+E}$  : Absorbance de l'échantillon à tester avec  $\alpha$ -amylase ; (**échantillon + substrat + enzyme + DNS**)

$A_S$  : Absorbance de l'échantillon à tester sans  $\alpha$ -amylase ; (**échantillon + substrat + tampon + DNS**)

## II- Etude *in vivo*

### 1. Expérimentation animale

Dans cette recherche, nous avons choisi le rat *Wistar* albinos comme un modèle expérimental en raison de sa proximité génétique avec l'homme. Cette souche animale est créée en laboratoire par consanguinité à partir de la race sauvage de rongeurs, *Rattus norvegicus* (Krinke, 2000).



**Figure 23 :** Rat *Wistar* albinos

Quarante-six (46) rats albinos *Wistar* mâle de poids corporel moyen de 224-278g ont été aimablement fournis par l'institut Pasteur d'Algérie et hébergés dans l'animalerie du laboratoire des sciences et techniques de production animale (LSTPA) de la faculté des sciences de la nature et de la vie (FSNV) à l'université de Mostaganem pour une période d'adaptation de 20 jours. Les rats ont été maintenus dans des cages spéciales tapissées de copeaux de bois avec une température contrôlée ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), une humidité (45%-55%), et un cycle lumière/obscurité de 12heures. Pendant la période d'adaptation, les rats ont reçu une alimentation standard en granulés et de l'eau du robinet à volonté.

### 2. Ethique

Toutes les procédures d'expérimentation animale ont été réalisées conformément à la loi et approuvées par l'Association Algérienne des Sciences en Expérimentation Animale (AASEA) (AASEA 45/DGLPAG/DVA/14) et par la directive européenne 2010/63/EU.

### 3. Etude de la toxicité aiguë

L'étude de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux de *S. balansae* a été réalisée sur 5 groupes de 5 rats chacun. Après avoir reçu des doses orales de l'extrait à 100, 500, 1000 et 2000 mg/Kg de poids corporel (chaque dose pour chaque groupe), les rats ont été gardés sous observation pour noter tout changement de comportement ou mortalité jusqu'à 14 jours.

#### 4. Groupes expérimentaux

Notre expérimentation animale a été réalisée sur 21 rats répartis en 3 groupes (Figure 24) :

- Un groupe contrôle (n=7) : a reçu une alimentation standard (Tableau 02) de laboratoire pendant 18 semaines.
- Un groupe HFD (n=7) : a reçu un régime HFD obésogène composé d'une alimentation standard (67%), de graisse abdominale de mouton fondue (30%), et de saccharose (3%) pendant 18 semaines. Ce régime a été préparé en trempant les croquettes du régime standard dans la graisse abdominale de mouton fondue (Tableau 03), avec l'ajout de saccharose.
- Un groupe HFD+SB (n=7) : a reçu un régime HFD pendant 18 semaines + l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae*, administré par voie orale (200mg/Kg du poids corporel). Le traitement avec l'extrait a été administré par gavage pendant les 6 dernières semaines de l'expérimentation (13-18 semaines).

Les gains de poids corporels ont été mesurés chaque semaine. A la fin de l'expérimentation, les rats ont été mis à jeun pendant 12 heures, anesthésiés au chloroforme puis sacrifiés. Des échantillons de sang ont été obtenus à partir de la ponction cardiaque et directement recueillis dans des tubes héparinés et secs. Le plasma et le sérum ont ensuite été séparés par la centrifugation (3000 rpm pendant 10 min), puis conservés à -80°C jusqu'aux dosages hormonal et biochimique.

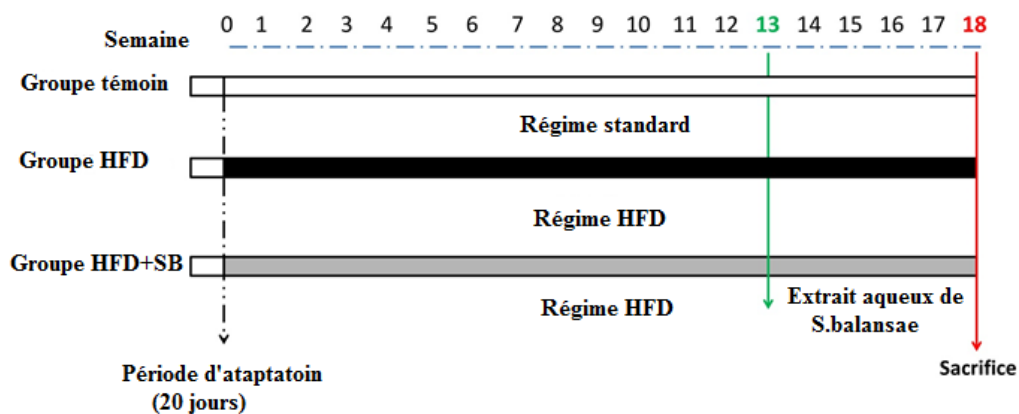


Figure 24 : Diagramme du protocole expérimental

**Tableau 02:** Compositions du régime standard de laboratoire

<b>Caractéristiques (%)</b>	Protéines brutes	21.00	<b>Minéraux (%)</b>	Calcium	0.9
	Matière grasse	4.00		Phosphore	0.7
	Cellulose brute	4.50		Magnésium	0.25
	Cendres brutes	6.50		Sodium	0.1
	Sucres et amidon	36.09	<b>Acides aminés (%)</b>	Lysine	1.50
	Humidité	10.75		Méthionine	0.5
<b>Vitamines /Kg</b>	A	20000UI	<b>Oligo-éléments (mg/kg)</b>	Fer	130
	D3	2000UI		Manganèse	80
	B1	20mg		Zinc	85
	B2	15mg		Cuivre	20
	B5	25mg		Sélénium	0.1
	B6	13mg		Cobalt	1.0
	B12	0.04mg		Iodure de K	4.3
	K3	3.5mg			
	E	40mg			
	Acide folique	3mg			
	Biotine	0.6mg			
	Acide nicotinique	35mg			
	Choline	370mg			

**Tableau 03 :** Composition chimique de la graisse de mouton (Charradi *et al.*, 2012)

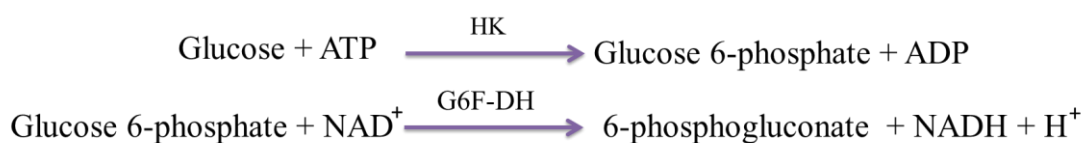
%	Acides Gras	%
<b>Acide gras saturés (AGS)</b> 71,70%	Acide myristique	0.17
	Acide palmitique	24.69
	Acide stéarique	46.74
	Acide arachidique	0.09
	Acide docosanoïque	0.01
<b>Acides gras monoinsaturés (AGMI)</b> 26.62%	Acide myristoléique	0.00
	Acide palmitoléique	0.2
	Acide oléique	26.3
	Acide gadoléique	0.12
<b>Acides gras polyinsaturés (AGPIS)</b> 1.69%	Acide linoléique	1.12
	Acide linoléique	0.08
	Acide eicosatriénoïque	0.01
	Acide eicosapentaénoïque	0.04
	Acide docasatétraénoïque	0.18
	Acide docasapentaénoïque	0.24
	Acide docosahéxaénoïque	0.02

## 5. Dosages biochimiques du plasma

Plusieurs paramètres biochimiques ayant une relation avec les troubles métaboliques, l'inflammation et le stress oxydatif ont été ciblés dans cette étude. Le glucose, les lipides tels que le cholestérol total (CT), les triglycérides (TG), les lipoprotéines de haute densité (HDL-c), ainsi que les transaminases hépatiques (AST/ALT) et la protéine C-réactive (CRP), l'acide urique, la créatinine ont été quantifiés par des méthodes enzymatiques avec un automate biochimique (BECKMAN COULTER, AU480). Les lipoprotéines de basse densité (LDL) ont été calculées selon la formule suivante :  $LDL = [TC - TG/5] - HDL$  (Querales *et al.*, 2015), les lipoprotéines de très faibles densité (VLDL) ont été déterminées selon la formule  $(TG/5)$  (Rymbai *et al.*, 2017), l'indice athérogène a été calculé comme suit :  $CT/HDL$  (Nwagha *et al.*, 2010). L'indice indirect de résistance à l'insuline a été calculé selon la formule :  $TG/HDL$  (Young *et al.*, 2018).

### 5.1. Dosage du glucose sanguin

La détermination quantitative du glucose sanguin dans le sérum de nos échantillons a été effectuée par le teste UV enzymatique avec l'utilisation d'hexokinase. Dans ce test, le glucose est phosphorylé en glucose 6-phosphate (G6P) par l'action de l'héxokinase (HK) en présence d'ATP et d'ions de magnésium. En présence de glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6F-DH), le glucose-6-phosphate généré est réduit de façon spécifique en 6-phosphogluconate avec réduction parallèle de  $NAD^+$  en NADH. L'augmentation de l'absorbance de NADH dans le milieu est lue à 340nm et est proportionnelle à la concentration de glucose dans l'échantillon (Trinder, 1969).

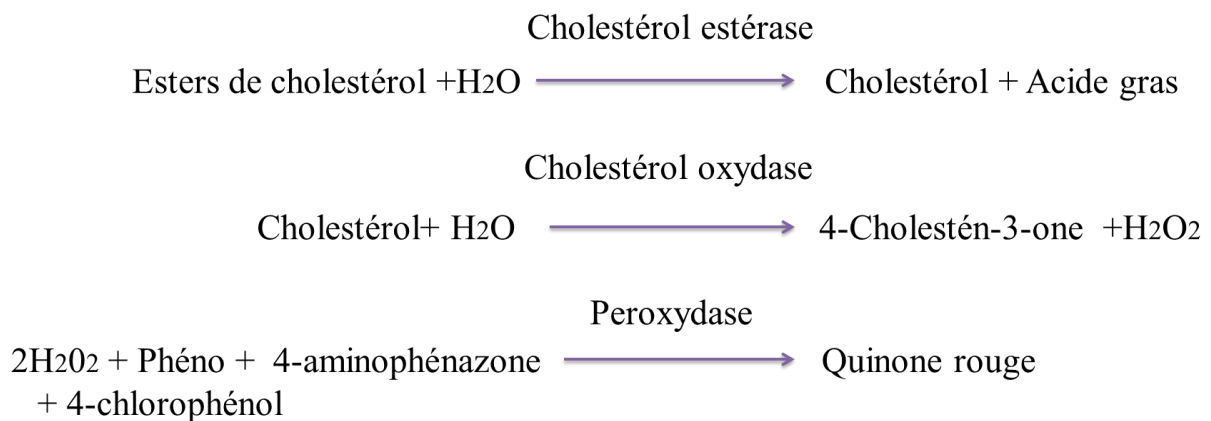


**Figure 25 : Principe de dosage du glucose**

## 5.2. Dosage des lipides

### 5.2.1. Dosage du cholestérol Total

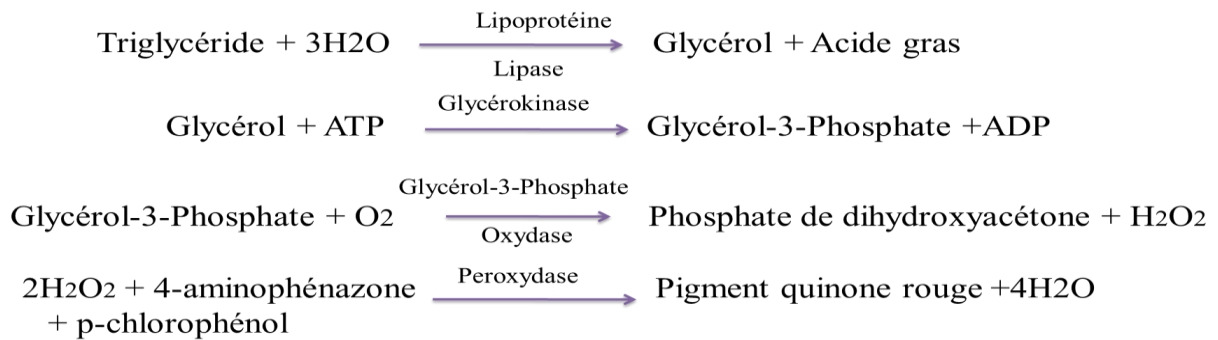
Le cholestérol plasmatique total a été dosé par la technique enzymatique décrite par [Pisani et al. \(1995\)](#) dont le principe est le suivant : un clivage enzymatique de l'ester de cholestérol par la cholestérol estérase induit la libération du cholestérol et des acides gras. Le cholestérol produit est oxydé par l'enzyme cholestérol oxydase en 4-Cholestén-3-one avec libération de peroxyde d'hydrogène. Une réaction d'oxydation catalysée par la peroxydase transforme un chromogène incolore (phénol et 4-aminophénazone acide et du 4-chlorophénol) en chromogène coloré en rouge dont la Densité optique (DO) est mesurable à 500nm qui est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol plasmatique total.



**Figure 26** : Principe de dosage du cholestérol

### 5.2.2. Dosage des triglycérides

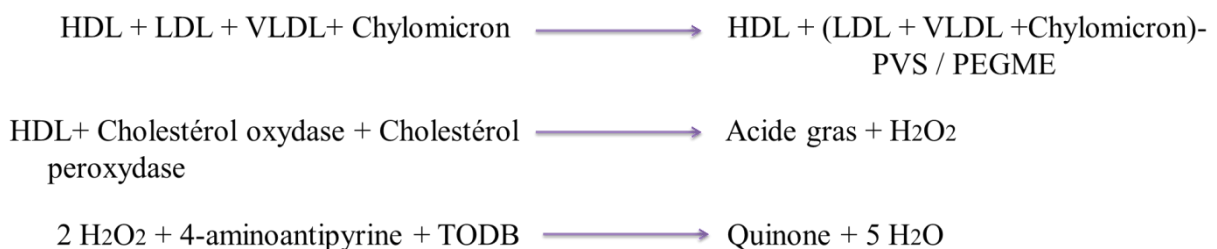
La détermination des triglycérides plasmatiques a été adoptée par la méthode colorimétrique enzymatique dont le principe est basé sur l'hydrolyse des triglycérides par des enzymes spécifiques ([Fossati & Prencipe, 1982](#)). Les triglycérides plasmatiques sont dégradés par la lipoprotéine-lipase en glycérol et en acides gras. Le glycérol est phosphorylé par la glycérokinase pour former du glycérol-3-phosphate, puis oxydé par la glycérol-3-phosphate oxydase pour générer du peroxyde d'hydrogène. Ce dernier réagit avec un chromogène phénolique (4-aminophénazone et p-chlorophénol) sous la catalyse de la peroxydase, ce qui donne une couleur rouge-violet mesuré à 500nm, dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration en triglycérides.



**Figure 27 :** Principe du dosage des triglycérides

### 5.2.3. Dosage du cholestérol HDL

Le dosage du cholestérol HDL repose sur la méthode enzymatique colorimétrique après la séparation par précipitation (**Warnick & Wood, 1995**). Dans cette méthode, les molécules VLDL, LDL, et le chylomicron réagissent de façon spécifique avec l'acide polyvinylsulfonique (PVS) et le mélange de polyéthylène-glycol-méthyl-éther (PEGME). Cette réaction entraîne l'inaccessibilité de ces molécules par la cholestérol oxydase et le cholestérol estérase qui réagissent sélectivement avec les particules HDL et produisent le peroxyde d'hydrogène. La réaction entre le peroxyde d'hydrogène, le 4-aminoantipyrine et le TODB N,N-bis(4-sulfobutyl)-3-méthylaniline sous l'action de la peroxydase donne une coloration rouge mesurable à 600nm proportionnelle à la concentration en HDL présent dans l'échantillon.



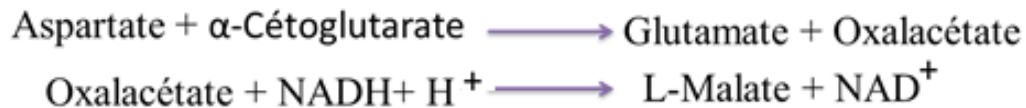
**Figure 28 :** Principe du dosage du cholestérol HDL

## 5.3. Dosage des transaminases hépatiques

### 5.3.1. Dosage de l'aspartate amino-transférase (AST)

La méthode de **Schumann et al. (2002)** a été utilisée pour déterminer l'activité de l'aspartate aminotransférase (AST). Selon le principe de cette méthode, l'enzyme aspartate aminotransférase catalyse la transamination de l'aspartate vers l'alpha-cyotglutarate pour

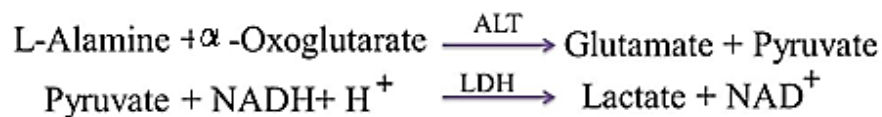
former du L-glutamate et de l'oxaloacétate. L'addition de phosphate de pyridoxale au milieu réactionnel donne à l'aspartate aminotransférase une activité catalytique maximale. En présence de malate déshydrogénase et le NADH, l'oxaloacétate est réduit en L-malate. La diminution de l'absorbance résultant de la consommation de la NADH est mesurée à 340nm et est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon.



**Figure 29 :** Principe de dosage de l'aspartate aminotransférase

### 5.3.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALT)

La méthode de [Wroblewski & Ladue. \(1956\)](#) a été utilisée pour déterminer l'activité de l'alanine aminotransférase. Dans cette réaction enzymatique, l'ALT transfère le groupe amine de l'alanine vers l'alpha-oxoglutarate pour produire du glutamate et du pyruvate. Le pyruvate est réduit en lactate par la lactate déshydrogénase (LDH) en présence du NADH réduit. La diminution de l'absorbance résultant de l'oxydation de NADH en NAD<sup>+</sup> est mesurée à 340nm et est proportionnelle à l'activité d'ALT présente dans l'échantillon.



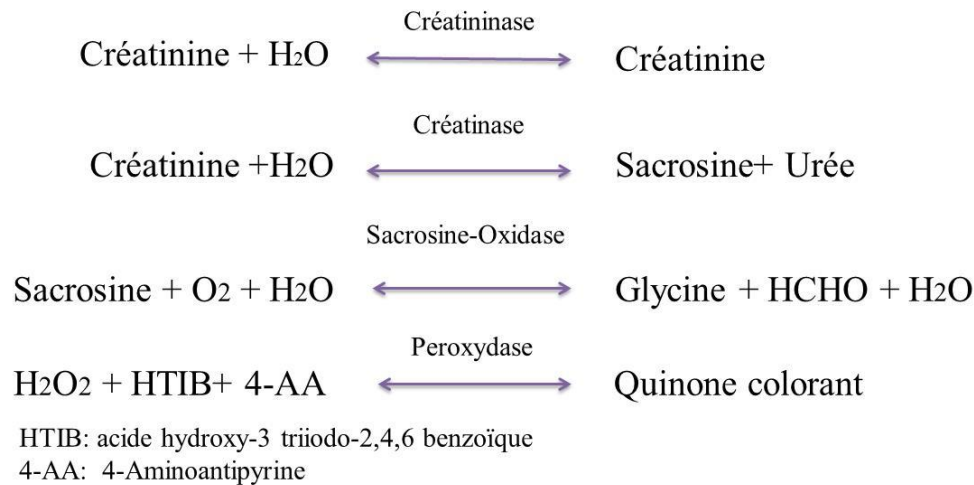
**Figure 30:** Principe de dosage de l'alanine aminotransférase

### 5.4. Dosage de la protéine C-réactive (CRP), indicatrice de l'inflammation systémique

La méthode immuno-turbidimétrique a été suivie pour la quantification de la concentration de CRP dans le plasma ([Eda et al., 1998](#)). Une réaction antigène-anticorps a été provoquée entre la CRP plasmatique et l'anti-CRP ajouté à l'échantillon. La formation de complexes immuns précipités est accélérée en présence de polyéthylène glycol formant une turbidité mesurée à 340nm.

### 5.5. Dosage de la créatinine

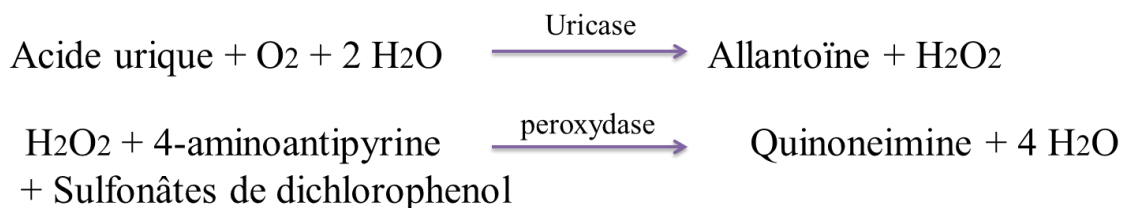
La créatine plasmatique est déterminée selon la méthode colorimétrique enzymatique de [Mazzachi et al. \(2000\)](#). Cette méthode utilise un rapproche de plusieurs étapes. La créatinine est hydrolysée en créatine sous l'action de l'enzyme créatinine-amidohydrolase. La créatine produite est décomposée en sarcosine et urée par l'action de la créatinine-amidinohydrolase. Une cascade enzymatique ultérieure est réalisée par la sarcosine oxydase et la peroxydase et se termine par la production d'un chromogène coloré mesuré à 545nm.



**Figure 31 :** Principe de dosage de la créatinine

### 5.7. Dosage de l'acide urique, antioxydant non enzymatique

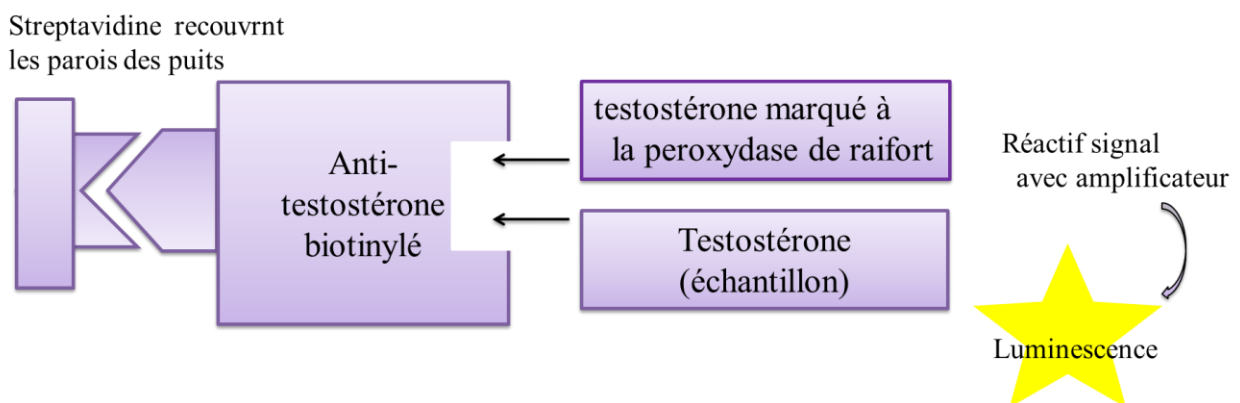
La méthode colorimétrique décrite par [Fossati et al. \(1980\)](#), nous a permis d'évaluer la teneur plasmatique de l'acide urique. Dans la première phase, l'uricase oxyde l'acide urique en allantoiné avec libération du peroxyde d'hydrogène. Dans la deuxième phase, la peroxydase oxyde un mélange de 4- aminoantipyrine et de sulfonâtes de dichlorophenol avec du peroxyde d'hydrogène pour former un complexe coloré (quinoneimine) mesurable à 520nm et dont l'intensité de la couleur rouge est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans le plasma.



**Figure 32 :** Principe de dosage de l'acide urique

## 6. Dosage de la testostérone sérique

Les niveaux de testostérone sérique ont été déterminés sur le système automatisé *Ortho Clinical Diagnostics* en utilisant le kit de dosage de la testostérone VITROS. Ce test est basé sur une technique immunométrique compétitive entre un conjugué de testostérone marqué à la peroxydase de raifort et la testostérone sérique pour des sites limités sur l'anti-testostérone biotinylée. Le complexe antigène/anticorps formé est capturé par la streptavidine qui recouvre les parois des puits et les substances non liées sont éliminées. Dans les puits, un réactif contenant des particules luminescentes (dérivé du luminol et sel de peracide) et un agent de transfert d'électron (acétanilide substitué) sont ajoutés. Le signal lumineux produit par l'oxydation du luminol par la peroxydase du conjugué est amplifié et prolongé, puis lu. La quantité de testostérone de conjugué liée est indirectement proportionnelle à la concentration de testostérone sérique.



**Figure 33 :** Principe de dosage de la testostérone sérique

## 7. Techniques histologiques

Afin de visualiser les altérations histopathologiques engendrées par le régime HFD et les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* sur la structure testiculaire des rats, nous avons utilisé les techniques histologiques classiques selon [Martoja et Martoja-Pierson \(1967\)](#). Ces techniques comprennent plusieurs étapes successives :

### 7.1. La fixation :

Après la dissection des rats, tous les organes dont les testicules ont été rapidement prélevés, puis plongés dans le fixateur, le formol à 10% pendant 48 heures et dont le volume est environ 10 fois le volume de l'organe. Cette étape permet de maintenir les structures tissulaires dans un état aussi proche que possible de leur état vivant en empêchant l'autodigestion des cellules.

## 7.2. La déshydratation

Afin d'éliminer l'eau contenue dans les tissus et les cellules et de la remplacer par la paraffine qui est hydrophobe, les organes ont été déshydratés dans des bains d'alcool de degré croissant (50°, 70°, 90°, 96°, 100°) de 1h 30 chacun.

## 7.3. L'éclaircissement

Le but de cette étape est d'éliminer complètement les traces d'alcool (la paraffine étant non miscible à l'alcool) par le passage des testicules dans deux bains de butanol de 1h30 chacun.

## 7.4. L'imprégnation

Cette étape signifie le passage des testicules dans un bain constitué de moitié butanol, moitié paraffine pure fondue à l'étuve réglée à 60°C pendant 2heures, suivie de 2 bains de paraffine fondue pendant 2 heures chacun. Elle a pour but d'assurer l'infiltration progressive de la paraffine fondue dans les interstices de l'organe.

## 7.5. L'inclusion (mise en bloc)

Les testicules sont récupérés rapidement du milieu d'imprégnation puis émergés dans la paraffine liquide coulée dans des barres de Leuckart (moules spéciaux en métal). Après refroidissement, les blocs solides ont été retirés et écartés pour obtenir des blocs durs contenant la pièce incluse et faciles à couper.

## 7.6. La confection et l'étalement des coupes

Les blocs de paraffine sont fixés et coupés en tranches fines de 5µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome de type *Lab-Kite*. Les coupes sont ensuite étalées dans un bain-marie de gélatine (0.25%) réglé à 40C° afin de les déposer sur des lames en verre propres. Un séchage à 37°C pendant 24 heures est nécessaire avant la coloration.

## 7.8. La coloration

Cette étape est indispensable car elle permet d'accentuer les contrastes afin de visualiser les différents constituants tissulaires et la morphologie cellulaire, permettant ainsi de focaliser les anomalies pathologiques. Elle est basée sur l'utilisation des colorants spécifiques qui se fixent par affinité sur certaines molécules.

Deux types de colorations ont été utilisés dans notre travail :

### **1. Coloration topographique :**

La coloration topographique à Hématoxyline-Eosine est la plus fréquemment utilisée, elle permet l'observation des différentes structures tissulaires : l'hématoxyline, une substance basique colore les noyaux en bleu-violet et l'éosine (substance acide) colore le cytoplasme et les autres éléments cellulaires en rose-rouge selon leur acidité. Sur le plan pratique cette coloration a été pratiquée de la manière suivante : les coupes histologiques ont été déparaffinées dans deux bains de xylène de 5 minutes chacun, hydratées dans des bains d'alcool de concentration décroissante (100°, 96°, 70°, 50°), puis rincées à l'eau distillée. Les lames sont ensuite immergées dans un bain d'hématoxyline pendant 3 minutes, puis rincées à l'eau courante et mises dans un bain d'éosine pendant 10 minutes. Après le rinçage à l'eau, les coupes ont été déshydratées dans des bains d'alcool de concentration croissante (50°, 70°, 69°, 100°) puis dans deux bains de xylène.

### **2. Coloration histochimique :**

La coloration au rouge Sirius est une coloration histochimique permettant la mise en évidence des fibres de collagènes I et III en les colorants en rouge. Elle inclut les étapes suivantes :

- Déparaffinage dans trois bains de xylène pendant 5min chacun
- Hydratation dans les alcools pendant 3min chacun (100°, 100°, 80°), puis dans l'eau distillée
- Coloration au Rouge Sirius pendant 15 minutes
- Rinçage dans un bain d'alcool à 95°, puis dans deux bains d'alcool absolu
- Passage dans deux bains de xylène

## **7.9. Montage et observation des lames**

Les coupes histologiques colorées ont été montées entre lame et lamelle avec une goutte d'*Eukitt* dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. L'observation microscopique a été réalisée à l'aide d'un microscope optique de type *OLYMPUS* et la prise des photos par un appareil photo.

## 8. Etude morphométrique

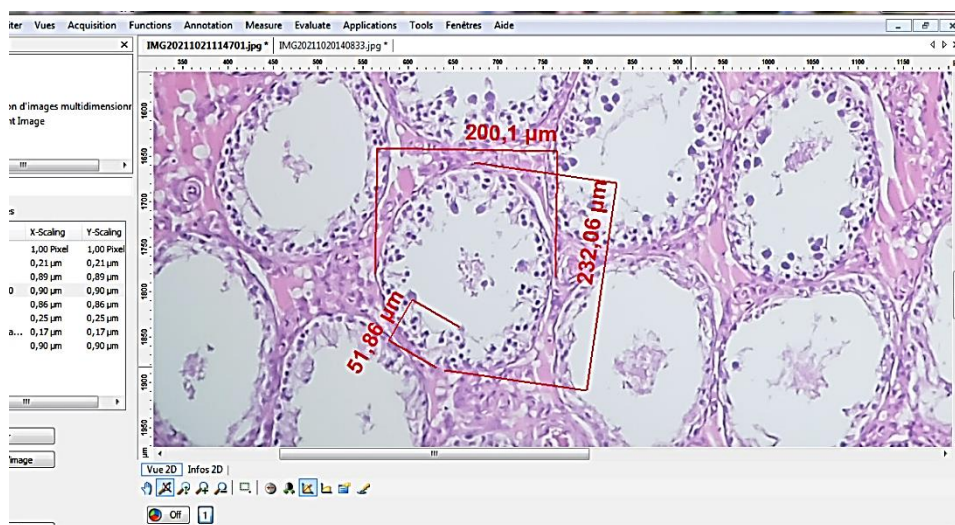
L'examen histologique des testicules des rats a été complété par une étude morphométrique. Pour cette analyse :

Dix (10) tubes séminifères arrondis (non chevauchants) ont été sélectionnés au hasard chez chaque rat de chaque groupe. Le diamètre des tubes séminifères et la hauteur de l'épithélium germinale ont été évalués en utilisant le logiciel Axion Vision SE64 de CARL ZEISS, et les images ont été capturées à un grossissement 100 et étalonnées par un micromètre (**Figure 34**).

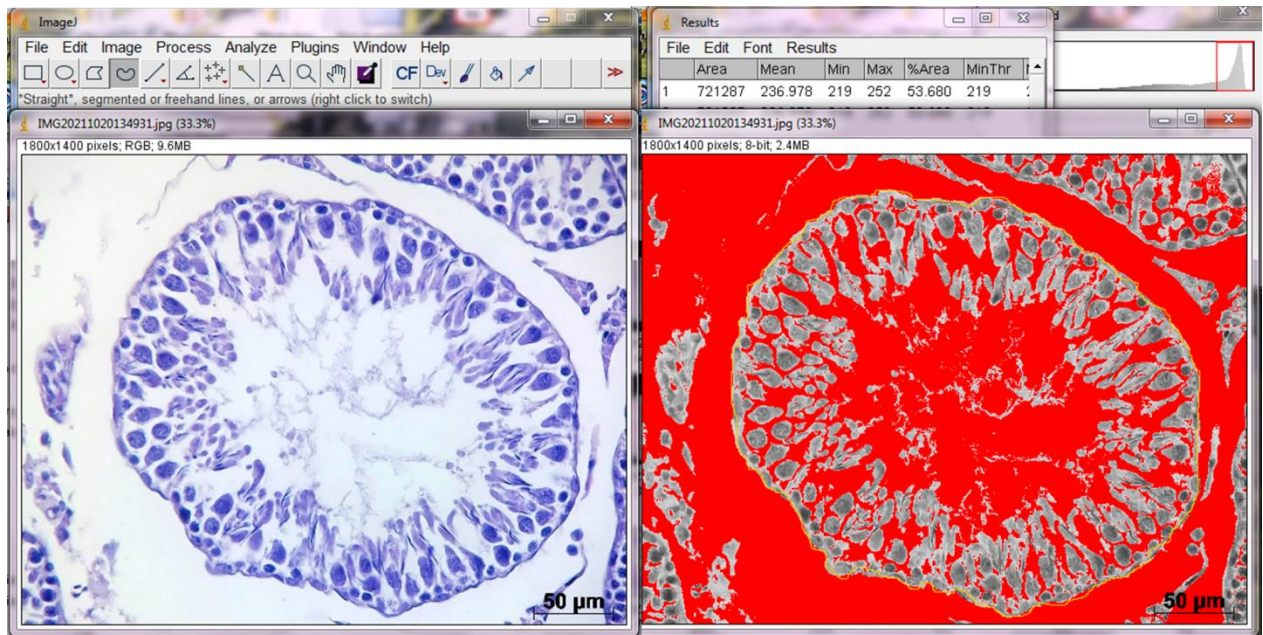
Ensuite, sur les 70 tubes séminifères, 40 tubes (choisis de façon aléatoire) ont été capturés au grossissement 400 et évalués par le logiciel Image J (1.47 u-National institutes of health. USA). Pour chaque tube séminifère, la quantification de la lumière tubulaire a été effectuée en mesurant le pourcentage de la lumière par rapport à la surface tubulaire totale (**Figure 35**).

Les indices de la spermatogenèse qui comprennent : l'indice de différenciation tubulaire (TDI) et l'indice de spermiogénèse (IS) ont été également comptés sur trois champs au grossissement 100 chez chaque animal de chaque groupe, Où :

- ✓ Le TDI est le pourcentage des tubes séminifères avec plus de 3-4 couches cellulaires (**Rad et al., 2021**) ; (n=21/groupe).
- ✓ L'IS est le pourcentage des tubes séminifères contenant des spermatozoïdes par rapport aux tubes séminifères sans spermatozoïdes (**Rad et al., 2021**) ; (n=21/groupe).



**Figure 34** : mesure du diamètre et la hauteur de l'épithélium germinale par Axion Vision SE64 de CARL ZEISS



**Figure 35 :** Quantification de la lumière tubulaire par Image J

## 9. Etude statistique

Les données de l'étude phytochimique et les activités biologiques de la plante ont été représentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type en employant l'Excel 2010.

Les données *In vivo* ont été exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (Erreur Standard de la Moyenne) en utilisant le logiciel SAS (version 9.1). Une analyse de la variance (ANOVA) suivie du test de Newman-Keuls ont été utilisés pour évaluer la signification statistique des données ; les valeurs  $p < 0,05$  indiquent une signification statistique.

## *Résultats et discussion*

Résultats

I. Analyse *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae*

1. Détermination du rendement d'extraction

Tableau 04 : Couleur, aspect et rendement d'extraction

Matière végétale (g)	Extrait sec (g)	Couleur	Aspect	Rendement (%)
10	3.022	Verte	Lyophilisé	30.22

D'après les résultats, l'extraction a permis d'obtenir 3.022 g d'extrait lyophilisé de couleur verte à partir de 10g de matière végétale brute, soit un rendement d'extraction de 30.22%.

2. Détermination des groupes phytochimiques

La phytochimie qualitative de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* a mis en évidence la présence d'un certain nombre de groupes chimiques fortement recherchés, à savoir, les polyphénols, les flavonoïdes (les flavones, les flavanes, les catéchols, et les génines) les tanins galliques et catéchiques, les quinones, les acides aminés et les protéines, les glycosides cardiaques, les composés réducteurs et les saponines. Cependant, les flavonones, les leucoanthocyanines, les anthocyanines, les phlobatannins, l'oxalate, les stéroïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes sont absents. Les résultats sont groupés dans le Tableau 05.

Tableau 05: Criblage phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae*

Groupes testés	Résultat
<b>Polyphénols</b>	+
<b>Flavonoïdes</b>	+
Flavones	+
Flavanes	+
Flavonones	-
Leucoanthocyanines	-
Anthocyanines	-
Catéchols	+
Génines	+
<b>Tanins</b>	
Catéchiques	+
Galliques	+
<b>Alcaloïdes</b>	-
<b>Quinones</b>	+
<b>Phlobatanins</b>	-
<b>Oxalate</b>	-
<b>Terpénoïdes</b>	-
<b>Stéroïdes</b>	-
<b>Acides aminés</b>	+
<b>Protéines</b>	+

Glycosides cardiaques	+
Composés réducteurs	+
Saponines	+

Test positif : + ; Test négatif :-



Figure 36: Criblage phytochimique de l'extrait aqueux de *S. balansae*

### 3. Teneur en composés antioxydants (polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés)

Nous avons déterminé la concentration des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés totaux de l'extrait aqueux lyophilisé des feuilles de *S. balansae* à partir des courbes d'étalonnage établies respectivement par l'acide gallique, la quercétine et la catéchine (Figures 37, 38 et 39; Tableau 06).

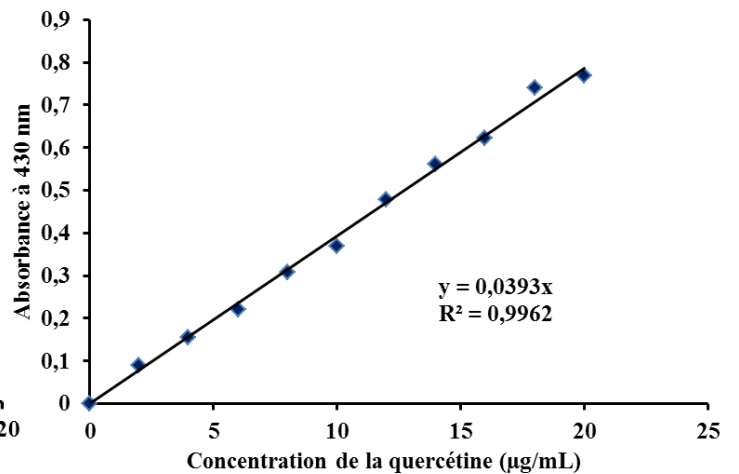
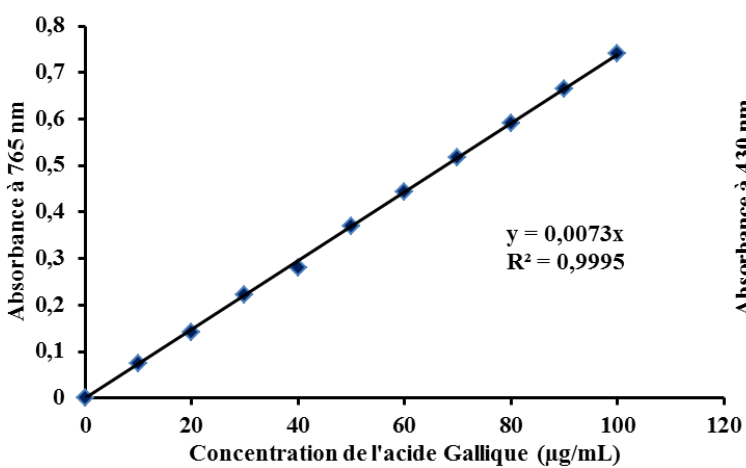


Figure 37 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Figure 38 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine

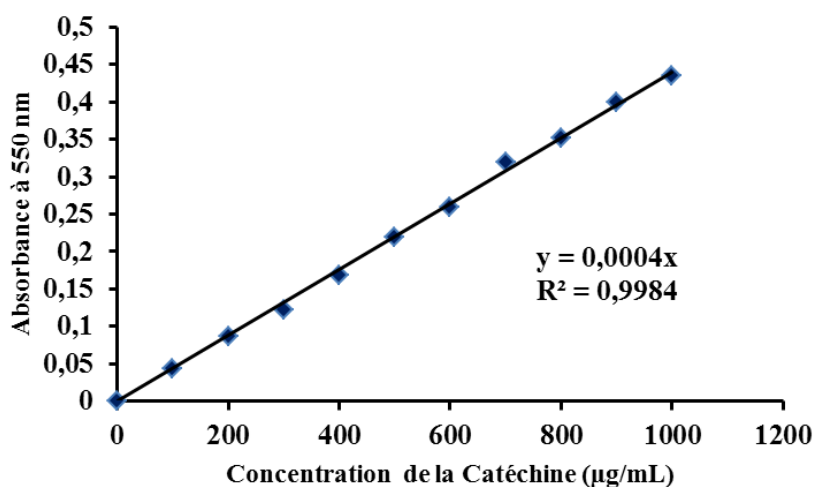


Figure 39 : Courbe d'étalonnage de la Catéchine

**Tableaux 06:** Composés phénoliques totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés totaux dans l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae*

Composés chimiques	Contenu
Composés phénoliques totaux (mg EAG/g)	134.91±0.230
Flavonoïdes (mg EQ/g)	5.96±0.004
Tanins condensés (mg EC/g)	19.16±2.500

Moyenne ± Ecart-type ; n=3

L'estimation quantitative des composés phénoliques totaux en appliquant la formule  $y = 0.0073x$  a enregistré une quantité de 134,91±0,17 mg EAG/g. Le dosage des flavonoïdes totaux a révélé une teneur de 5,96±0,004 mg EQ/g en employant la formule  $y = 0.0393x$ , tandis que les tanins condensés totaux ont illustré une quantité de 19,16±2,5 mg EC/g en utilisant l'équation linière de la courbe d'étalonnage  $y=0.0004x$ .

#### 4. Activités biologiques de *Salvia balansae*

##### 4.1. Activités antioxydantes

Des tests d'évaluation ont été réalisés pour comparer le potentiel antioxydant de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* avec des standards. Pour cela, nous avons converti les valeurs de la concentration inhibitrice « IC<sub>50</sub> » de l'extrait (mg/mL) en µg Equivalent standard/mL (cas du DPPH, ABTS et du Chélateur du fer). Les faibles valeurs d'IC<sub>50</sub> correspondent à une activité antioxydante élevée pour l'échantillon examiné.

#### 4.1.1. Capacité Antioxydante Totale (TAC)

Les résultats de la méthode de phosphomolybdate ont été obtenus à l'aide d'une courbe d'étalonnage linière de l'acide ascorbique  $y = 0.0033x$  (Figure 40). Ces résultats ont montré que l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* présente une capacité antioxydante totale de  $141,97 \pm 0,43$  mg EAA/g d'extrait.

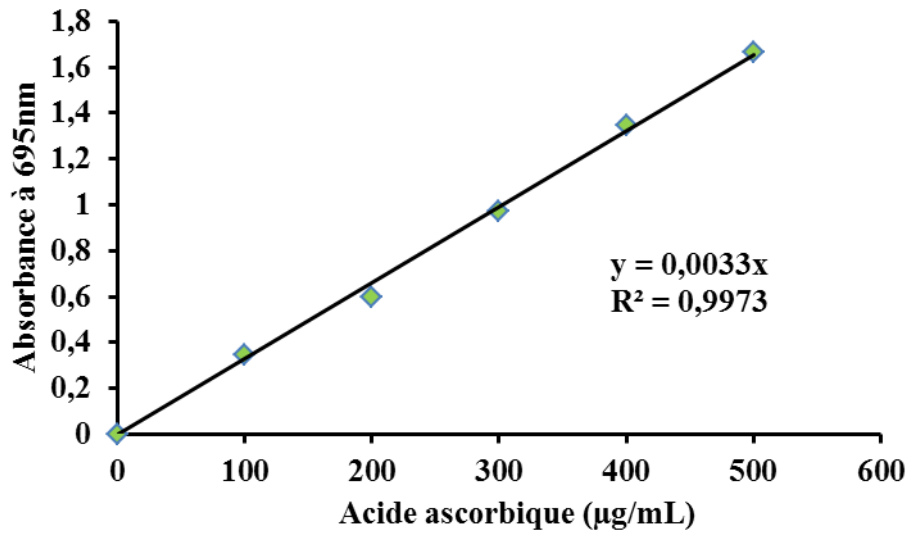


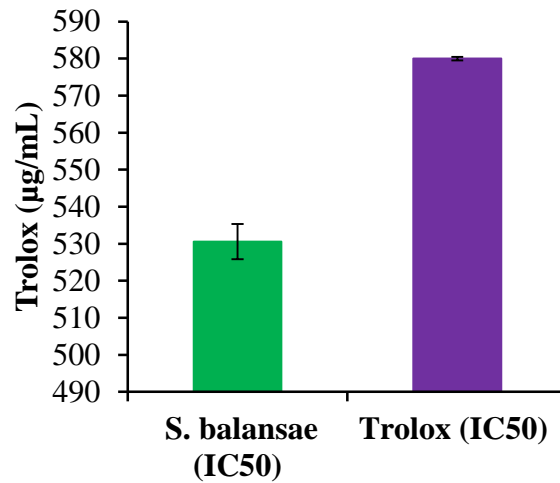
Figure 40 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

#### 4.1.2. Test de piégeage du radical libre de DPPH

Tableau 07: Valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'extrait et du Trolox obtenues par le test DPPH

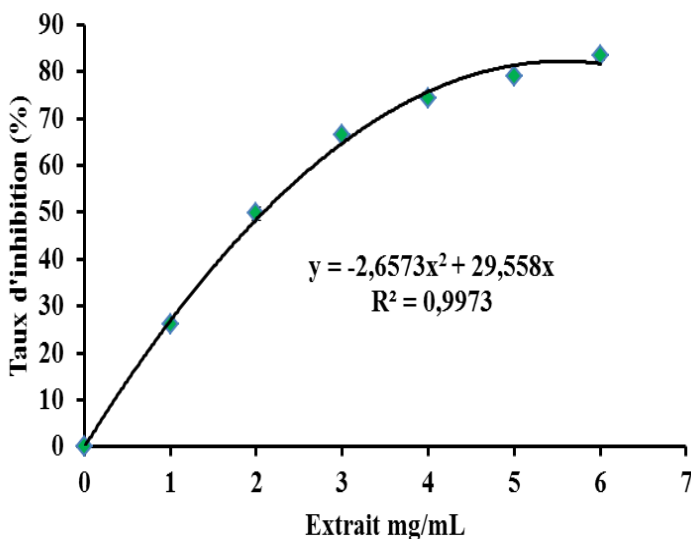
	DPPH (IC <sub>50</sub> )
<i>S. balansae</i> (mg/mL)	2.09±0.15
Trolox (µg/mL)	580,00±0.47
<i>S. balansae</i> (µgET/mL)	530.55±4.76

Moyenne ± Ecart-type; n=3 ; µgET/mL: µg Equivalent Trolox/mL

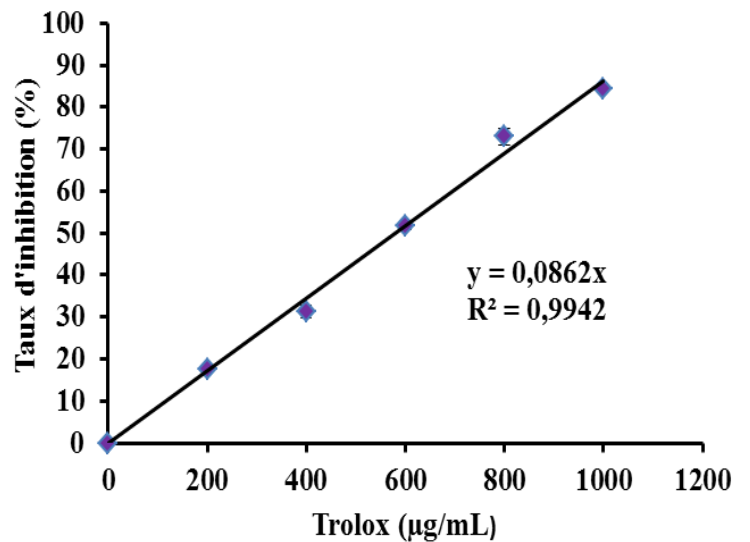


**Figure 41 :** Valeurs d'IC<sub>50</sub> DPPH de l'extrait (µgET/mL) et du Trolox (µg/mL)

Les résultats de l'effet scavenger de l'extrait aqueux et du trolox sur le radical DPPH sont exprimés par la concentration inhibitrice à 50% (IC<sub>50</sub>) (Tableau 07 ; Figure 41). Comparativement au Trolox, l'activité de piégeage IC<sub>50</sub>DPPH de l'extrait obtenue à 2.09±0.15mg/mL est plus élevée que celle du Trolox (530.55±4.76µgTE/mL contre 580±0.47µg/mL). D'après les résultats de la figure 42, le taux d'inhibition du DPPH augmente proportionnellement à la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel jusqu'à la stabilisation à 83.36± 1.03 % à la concentration 5 mg/mL, correspondant à l'inhibition maximale du radical DPPH.



**Figure 42 :** Taux d'inhibition du radical libre de DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae*



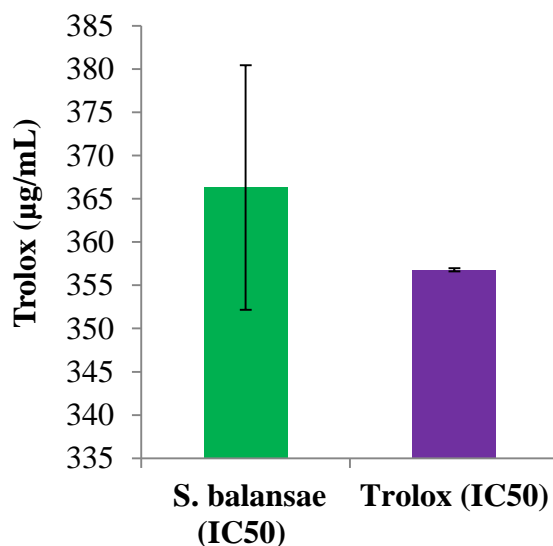
**Figure 43 :** Taux d'inhibition du radical libre de DPPH en fonction des concentrations de Trolox

### 4.1.3. Test de piégeage du radical libre d'ABTS

**Tableau 08 :** Valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'extrait et du Trolox obtenues par le test ABTS

	ABTS (IC <sub>50</sub> )
<i>S. balansae</i> (mg/mL)	2.55±0.15
Trolox (µg/mL)	356,78±0.18
<i>S. balansae</i> (µgET/mL)	366.30±14.14

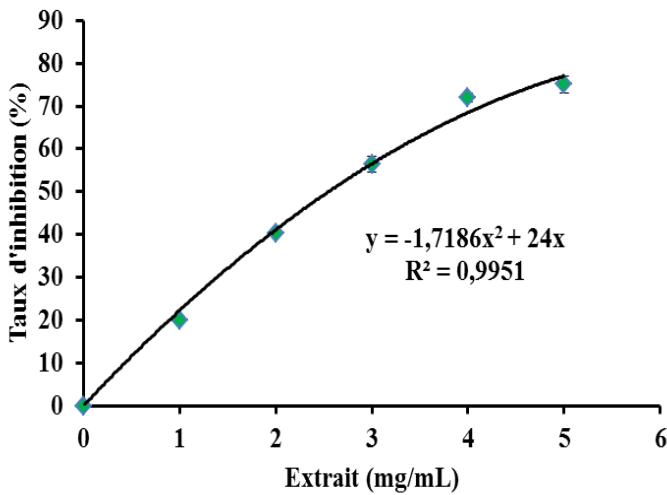
Moyenne ± Ecart-type; n=3 ; µgET/mL : µg Equivalent Trolox/mL



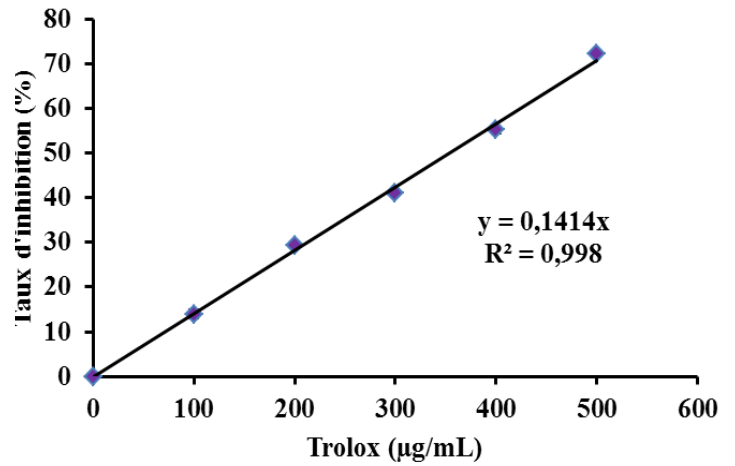
**Figure 44 :** Valeurs d'IC<sub>50</sub> ABTS de l'extrait (µgET/mL) et du Trolox (µg/mL)

Selon les résultats de cette méthode (**Tableau 08 : Figures 44- 46**), la concentration IC<sub>50</sub> de l'extrait des feuilles (2,55mg/mL) montre un pouvoir réducteur plus proche à celui de l'antioxydant de synthèse, Trolox (366,3±14,14 µg ET/mL *Vis-à-vi* 356,78±0,18 µg/mL).

Le suivi de l'évolution de l'activité antioxydante montre une relation dose-dépendante de l'extrait étudié qui se termine par le plateau d'inhibition 75.04±1.94 % à la concentration de 5mg/mL. Cette évolution est proche à celle obtenue par le test de DPPH (4.1.2).



**Figure 45 :** Taux d'inhibition du radical-cation libre d'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae*



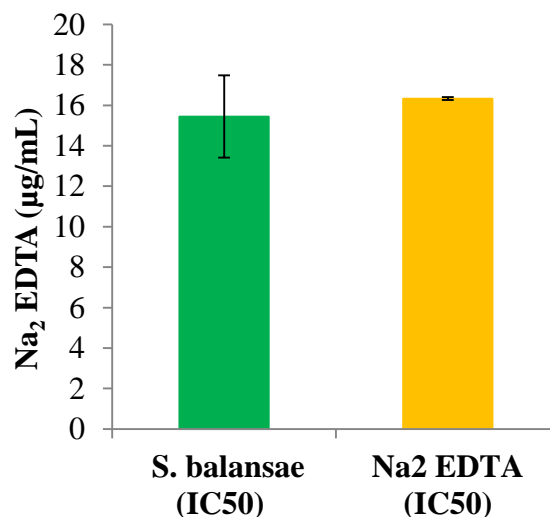
**Figure 46 :** Taux d'inhibition du radical-cation libre d'ABTS en fonction des concentrations de Trolox

#### 4.1.4. Test de chélation du fer ferreux

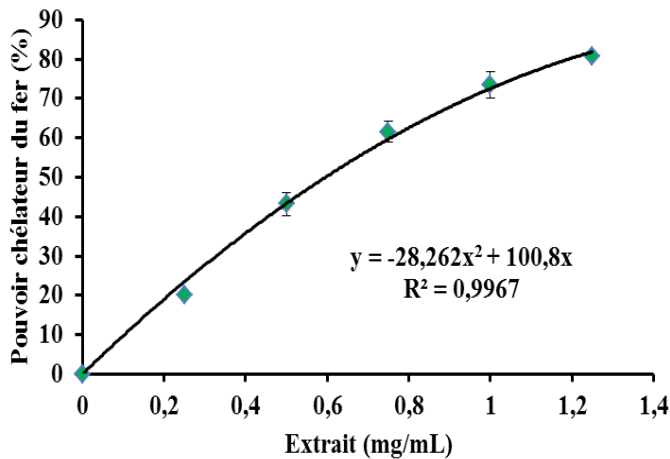
**Tableau 09 :** Valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'extrait et du Na<sub>2</sub>EDTA obtenues par le test de chélation du fer ferreux

Chélation du fer ferreux (IC <sub>50</sub> )	
<i>S. balansae</i> (mg/mL)	0.6±0.04
Na <sub>2</sub> EDTA (µg/mL)	16.33±0.3
<i>S. balansae</i> (µg E Na <sub>2</sub> EDTA /mL)	15.45±1.28

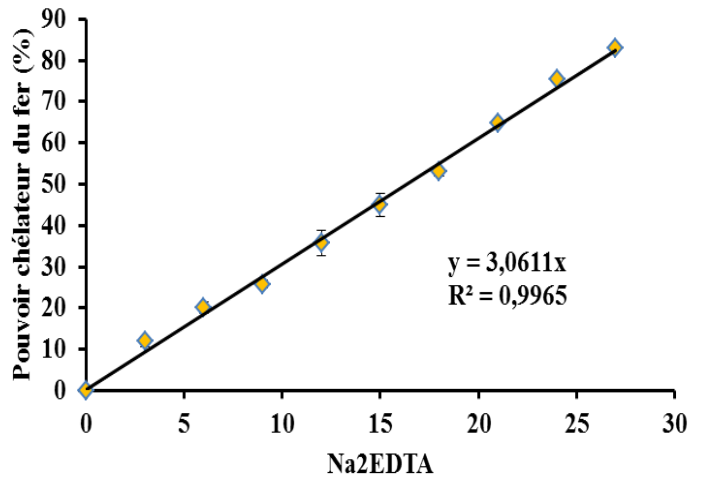
Moyenne ± Ecart-type; n=3 ; µg E Na<sub>2</sub>EDTA/mL : µg Equivalent Na<sub>2</sub>EDTA/mL



**Figure 47 :** Valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'extrait (µg E Na<sub>2</sub> EDTA/mL) et du Na<sub>2</sub> EDTA (µg/mL)



**Figure 48 :** Activité chélatrice de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae*



**Figure 49 :** Activité chélatrice du Na<sub>2</sub>EDTA

La chélation des ions du fer a été estimée par l'inhibition de la formation d'un complexe rouge, ferrozine-Fe<sup>+2</sup> en présence de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* où la molécule de référence, Na<sub>2</sub> EDTA.

Les résultats obtenus avec cette méthode ont montré que l'extrait de *S. balansae* ainsi que le standard (Na<sub>2</sub>EDTA) interfèrent avec le complexe d'une manière dose dépendante. La valeur d'IC<sub>50</sub> obtenue avec l'extrait (15.45± 0.9µgE Na<sub>2</sub> EDTA/mL) est plus proche à la valeur d'IC<sub>50</sub> du standard (16.33±0.3 µg/mL).

#### 4.1.5. Teste de FRAP

Le pouvoir réducteur du Fer par nos échantillons (extrait ou/ acide ascorbique) a été estimé par la concentration efficace (EC<sub>50</sub>) qui correspond à une densité optique égale à 0.5. Cette concentration a été obtenue à partir d'une courbe de régression linière établie entre les concentrations de l'échantillon testé et les densités optiques correspondantes. L'échantillon présentant une faible valeur de l'EC<sub>50</sub> signifie une activité antioxydante élevée.

L'étude de l'activité réductrice du fer a montré que l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* présente une faible activité antioxydante avec une EC<sub>50</sub> de 0.66±0.1mg/ml (660µg/mL) comparativement à l'acide ascorbique (EC<sub>50</sub> = 72± 2.8µg/mL).

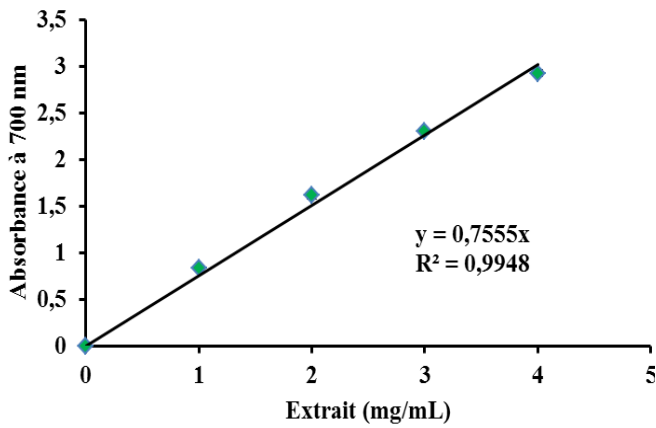


Figure 50 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae*

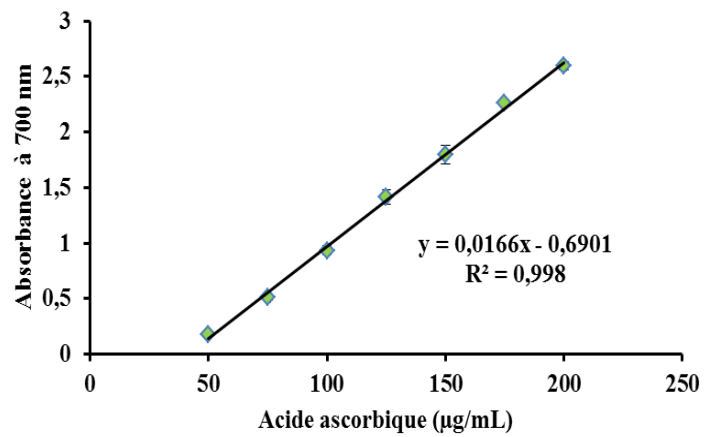


Figure 51 : Pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique

#### 4.2. Activité antidiabétique par le test d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase

Tableau 10 : Valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'extrait et de l'acarbose obtenues par le test d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase

Inhibition de l' $\alpha$ -amylase (IC <sub>50</sub> )	
<i>S. balansae</i> (mg/mL)	2.2±0.06
Acarbose (µg/mL)	91.96±0.06
<i>S. balansae</i> (µg EA /mL)	103.64±2.04

Moyenne± Ecart-type ; n=3 ; µgEA/mL : µg Equivalent Acarbose/mL

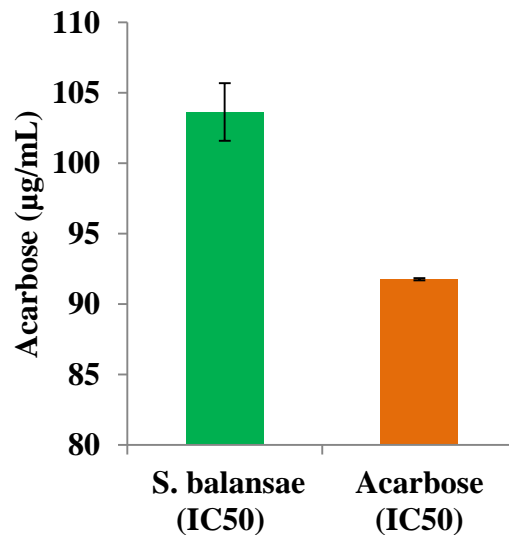
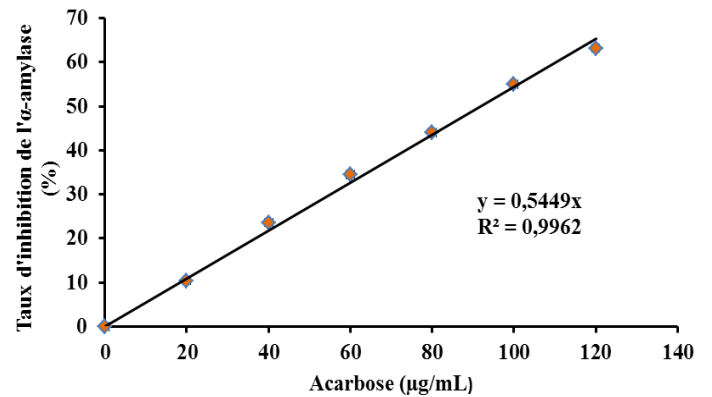
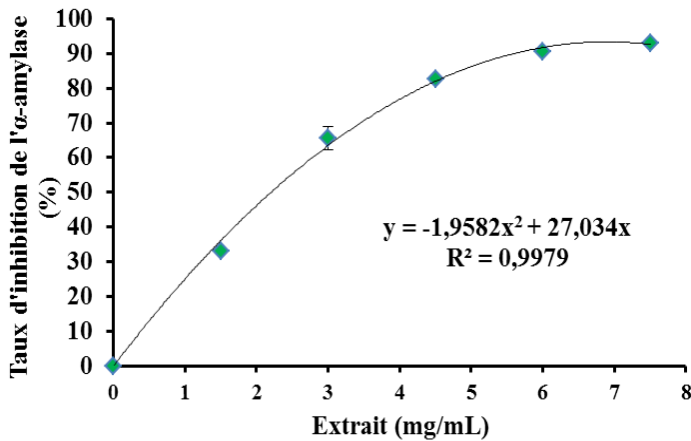


Figure 52 : Valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'extrait (µgE A/mL) et de l'acarbose (µg/mL)



**Figure 53 :** Inhibition de l'α- amylase par l'extrait

**Figure 54:** Inhibition de l'α-amylase par l'acarbose

L'IC<sub>50</sub> de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* (2.2±0.06 mg/mL) correspond à 103.64±2.04 µgEA/mL et celle de la molécule de référence, l'acarbose est de 91.76±0.07µg/mL. Ces valeurs montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* possède une activité inhibitrice de l'α-amylase faible en comparaison à celle du standard, l'acarbose.

## II. Analyse *in vivo*

### 1. Test de toxicité

L'observation du comportement des rats tout au long de la période d'étude n'a révélé aucune mortalité ou modification du comportement après 30 min, 24 h et 14 jours d'expérimentation après l'administration orale de n'importe quelle dose de l'extrait administrée allant de 100 à 2000 mg/kg pc).

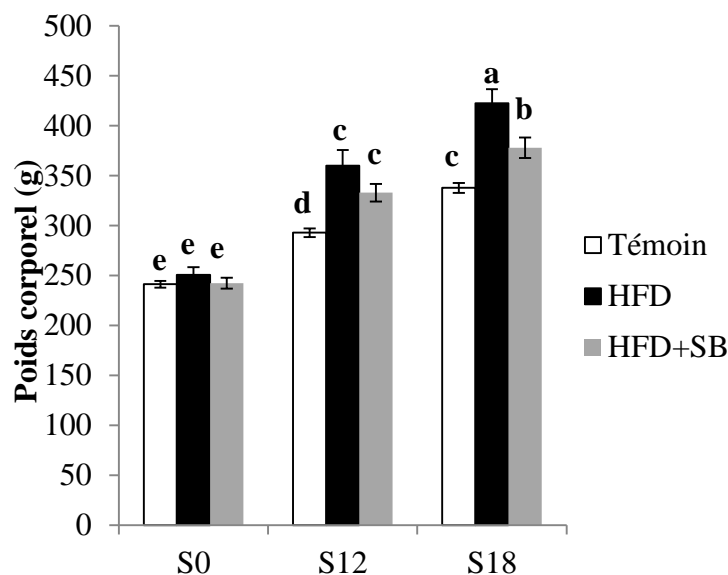
### 2. Évolution du poids corporel des animaux

L'évolution hebdomadaire du poids corporel des animaux expérimentaux est consignée dans le **tableau 11** et la **figure 55** suivants:

**Tableau 11 :** Evolution du poids corporel (g) chez les rats témoins, HFD et HFD+SB

Groupes	Semaines	S0	S12	S18
Témoin	Moyenne	241.14 <sup>e</sup>	292.86 <sup>d</sup>	337.71 <sup>c</sup>
	SEM	3.35	4.34	4.95
	Max-Min	260-232	310-282	352-322
HFD	Moyenne	250.57 <sup>e</sup>	360.00 <sup>c</sup>	422.57 <sup>a</sup>
	SEM	7.57	15.55	13.86
	Max-Min	278-228	440-310	492-381
HFD+ SB	Moyenne	242.29 <sup>e</sup>	332.86 <sup>c</sup>	377.86 <sup>b</sup>
	SEM	5.44	8.85	10.38
	Max-Min	260-224	370-305	422-305

a, b, c, d, e : les valeurs dans la même ligne et dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; ANOVA bifactoriel suivi par le test de Newman-Keuls ; n=7



**Figure 55 :** Evolution du poids corporel (g) chez les rats témoins, HFD et HFD+SB

Au début de l'expérimentation, la différence du poids corporel relevée entre les trois groupes de rats (témoin, HFD, HFD+SB) n'est pas significative. Au cours de l'expérimentation, une augmentation progressive du poids corporel a été observée dans les trois groupes. A la 12<sup>ème</sup> semaines, cette augmentation est devenue significativement plus importante chez les rats HFD et HFD+SB comparée aux témoins indiquant l'installation de l'obésité. Aucune différence significative n'a été enregistrée entre les rats HFD et HFD+SB à 12 semaines. À 18 semaines une différence significative a été notée entre les 3 groupes de rats. En effet, le poids corporel est augmenté de 25.13% et de 11.89% chez les rats HFD et

HFD+SB respectivement par rapport aux rats témoins. Chez le lot HFD+SB le poids corporel est diminué significativement de 10.58% par rapport aux rats HFD.

### 3. Effets du régime HFD et de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* sur les paramètres biochimiques chez les rats

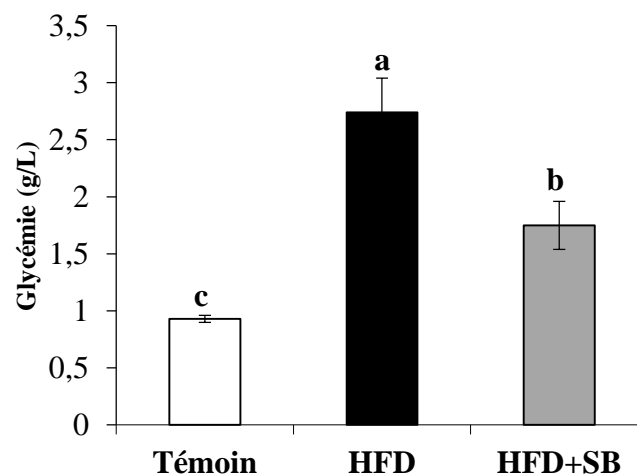
#### 3.1. Glycémie

Les résultats de dosage de la glycémie sont présentés dans le **tableau 12** et la **figure 56** suivants

**Tableau 12** : Glycémie chez les rats témoins, HFD et HFD+SB

Groupes	Moyenne (g/L)	SEM	Max	Min
Témoin	0.93 <sup>c</sup>	0.03	1.05	0.8
HFD	2.74 <sup>a</sup>	0.3	4.43	1.75
HFD+SB	1.75 <sup>b</sup>	0.21	2.34	0.94

a, b, c: les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; ANOVA monofactoriel suivi par le test de Newman-Keuls ; n=7



**Figure 56** : Glycémie chez les rats témoins, HFD et HFD+SB

Les résultats de dosage de la glycémie ont mentionné une différence significative entre la glycémie plasmatique chez les rats témoins, les rats HFD et les rats traités avec l'extrait. En effet, la glycémie passe de  $0.93 \pm 0.03$  g/L chez le groupe témoin à  $2.74 \pm 0.3$  g/L chez le groupe HFD et cette augmentation significative de 194.62% par rapport aux témoins désigne l'installation du diabète de type II. Chez le lot HFD+SB, une valeur de  $1.75 \pm 0.94$  g/L a été enregistrée indiquant une diminution significative de 36.13% par rapport au groupe HFD.

### 3.2. Profil lipidique

Les résultats de dosage des paramètres lipidiques plasmatiques sont représentés dans le **tableau 13**

**Tableau 13** : Dosage des lipides plasmatiques chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

Paramètres		Témoin	HFD	HFD+SB
Cholestérol total (CT) (g/L)	Moyenne	<b>0.54<sup>c</sup></b>	<b>0.88<sup>a</sup></b>	<b>0.73<sup>b</sup></b>
	SEM	0.04	0.03	0.04
	Max- Min	0.7-0.4	1.02-0.83	0.87-0.58
Triglycérides (TG) (g/L)	Moyenne	<b>0.62<sup>c</sup></b>	<b>1.52<sup>a</sup></b>	<b>1.03<sup>b</sup></b>
	SEM	0.03	0.13	0.11
	Max- Min	0.77-0.52	2.11-1.18	1.4-0.7
LDL (g/L)	Moyenne	<b>0.05<sup>b</sup></b>	<b>0.13<sup>a</sup></b>	<b>0.06<sup>b</sup></b>
	SEM	0.008	0.02	0.02
	Max- Min	0.07-0.02	0.2-0.05	0.14-0.01
VLDL (g/L)	Moyenne	<b>0.12<sup>c</sup></b>	<b>0.31<sup>a</sup></b>	<b>0.21<sup>b</sup></b>
	SEM	0.1	0.03	0.02
	Max-Mine	0.15-0.10	0.42-0.24	0.28-0.14
HDL (g/L)	Moyenne	<b>0.36<sup>b</sup></b>	<b>0.44<sup>a</sup></b>	<b>0.46<sup>a</sup></b>
	SEM	0.03	0.02	0.02
	Max-Mine	0.5-0.25	0.55-0.38	0.55-0.4
Indice athérogène, CT/HDL	Moyenne	<b>1.5<sup>b</sup></b>	<b>2.04<sup>a</sup></b>	<b>1.57<sup>b</sup></b>
	SEM	0.05	0.08	0.04
	Max- Min	1.75-1.37	2.3-1.8	1.71-1.45
Indice indirect de résistance à l'insuline, TG/HDL	Moyenne	<b>1.8<sup>b</sup></b>	<b>3.64<sup>a</sup></b>	<b>2.24<sup>b</sup></b>
	SEM	0.21	0.42	0.25
	Max- Min	2.75-1.3	5.14-2.47	3.1-1.32

a, b, c: les valeurs dans la même ligne avec des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; ANOVA monofactoriel suivi par le test de Newman-Keuls ; n=7

Le dosage des lipides indique une augmentation significative avec  $P < 0.05$  des taux plasmatiques de CT, TG, LDL et VLDL de 62,96%, 145,16%, 160%, 158.33% respectivement chez le groupe HFD par rapport au groupe témoin. Ces valeurs traduisent une hyperlipidémie induite par le régime HFD. Chez le groupe HFD+SB, les valeurs de ces paramètres sont significativement ( $P < 0.05$ ) réduites comparées à celles du lot HFD. La diminution est respectivement de 17.04 % (CT), 32.24% (TG), 54.85% (LDL) et 32.26%

(VLDL) chez le groupe HFD+SB par rapport au groupe HFD.

Les taux plasmatiques des HDL (le bon cholestérol) des deux groupes HFD et HFD+SB ne sont pas significativement différents entre eux et ont montré une augmentation significative de 22.22% par rapport au groupe témoin. Par contre, la teneur plasmatique des LDL (le mauvais cholestérol) est comparable chez les deux lots témoin et HFD+SB et est significativement élevée chez le groupe HFD. Comparés au groupe HFD, les valeurs de l'indice athérogène (CT/HDL) et de l'indice indirect de résistance à l'insuline (TG/HDL) sont significativement réduites chez le lot HFD+SB. La diminution est de 23.04% pour l'indice athérogène et de 38.46% pour l'indice indirect de résistance à l'insuline. Les valeurs de ces paramètres sont similaires entre le lot témoin et le groupe HFD+SB. Au contraire, Ces paramètres ont augmenté de 36 et 102,22 % respectivement dans le groupe HFD en comparaison au groupe témoin. Ces résultats traduisent un potentiel hypolipidémiant de l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae*

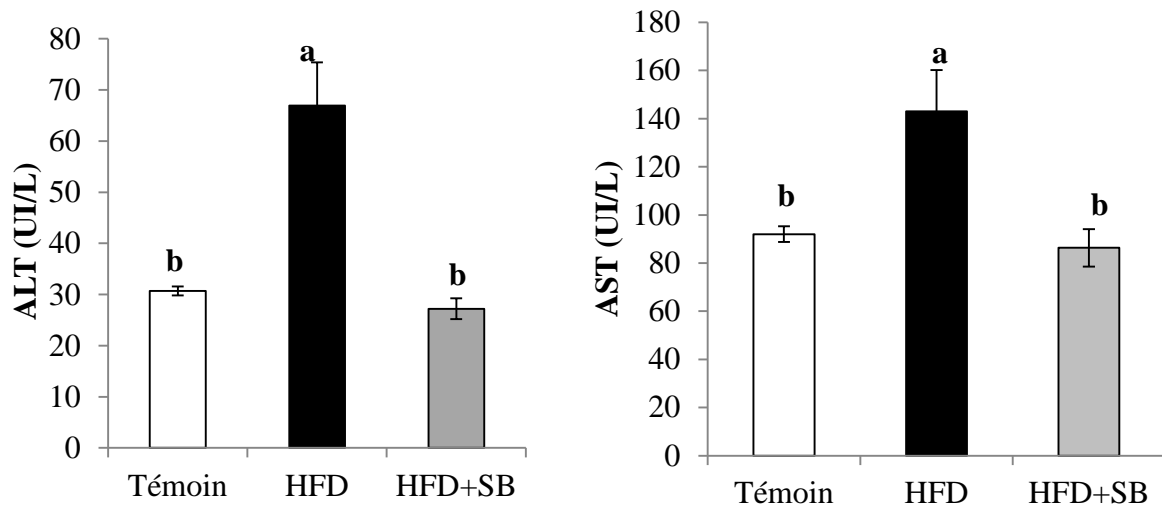
### 3.3. Profil hépatique

Les résultats de dosage des transaminases hépatiques (ALT, AST) sont consignés dans le **tableau 14** et la **figure 57** suivants

**Tableau 14 :** Transaminases hépatiques chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

		Moyenne	SEM	Max	Min
ALT (UI/L)	Témoin	30.69 <sup>b</sup>	0.89	34.3	27.8
	HFD	66.94 <sup>a</sup>	8.44	104.6	31.8
	HFD+SB	27.20 <sup>b</sup>	2.02	35.3	21.9
AST (UI/L)	Témoin	92.03 <sup>b</sup>	3.25	104.4	79.3
	HFD	143.03 <sup>a</sup>	17.19	222.6	90.81
	HFD+SB	86.36 <sup>b</sup>	7.55	117	67.6

a, b, c: les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; ANOVA monofactoriel suivi par le test de Newman-Keuls ; n=7



**Figure 57 :** Transaminases hépatiques chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

L'analyse des résultats a révélé une augmentation significative des transaminases hépatiques ALT et d'AST chez le groupe HFD comparé au groupe témoin. En effet, ALT a augmenté de 118.12% et AST de 55.42% montrant des dommages hépatique. Ces valeurs ont fortement diminué dans le groupe traité avec l'extrait (HFD+SB) jusqu'à atteindre des valeurs comparables à celles des rats témoins (59.37, 39.62 % respectivement).

### 3.4. Profil inflammatoire

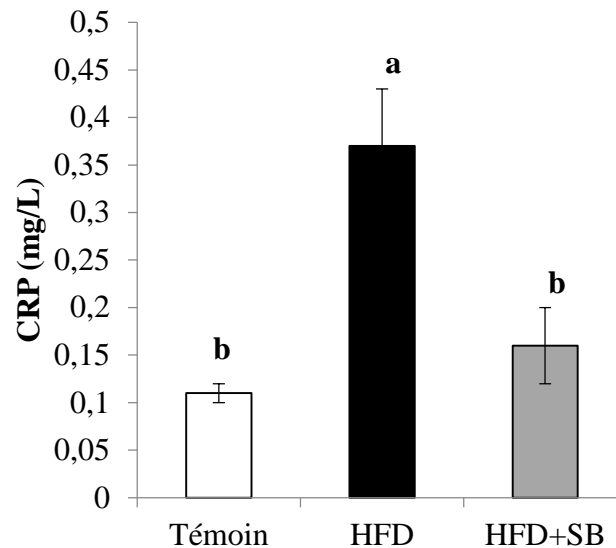
Les résultats de dosage de la protéine C réactive (CRP) sont représentés dans le **tableau 15** et la **figure 58**.

Nous avons constaté une augmentation hautement significative de 236.36% de la protéine C réactive chez les rats HFD comparativement aux rats témoins, signifiant un état inflammatoire. Ce paramètre a aussi diminué de façon hautement significative et le pourcentage de réduction est de 56.76% chez les rats traités avec l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* par rapport aux rats HFD.

**Tableau 15 :** La CRP chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

Groupes	Moyenne (mg/L)	SEM	Max	Min
<b>Témoin</b>	<b>0.11<sup>b</sup></b>	0.01	0.2	0.1
<b>HFD</b>	<b>0.37<sup>a</sup></b>	0.06	0.6	0.2
<b>HFD+SB</b>	<b>0.17<sup>b</sup></b>	0.04	0.4	0.1

a, b, c: les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; ANOVA monofactoriel suivi par le test de Newman-Keuls ; n=7



**Figure 58 :** La CRP chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

### 3.5. Profil rénal

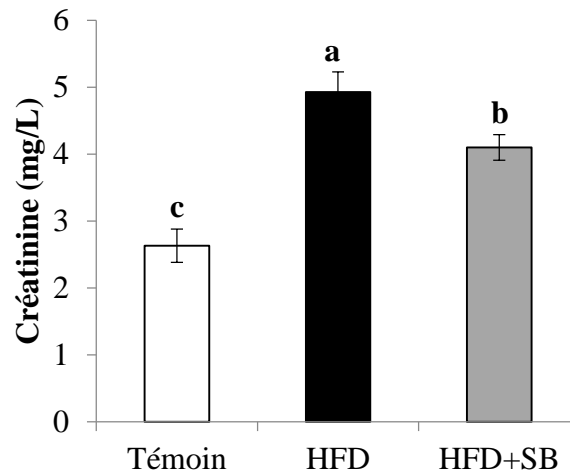
Le **tableau 16** et la **figure 59** représentent les résultats de dosage de la créatinine plasmatique chez les trois groupes de rats.

L'examen des résultats obtenus, a révélé des valeurs de la créatinine significativement élevées avec un pourcentage d'augmentation de 88.17% chez les animaux nourris avec un régime HFD comparés aux témoins. Chez le lot HFD+SB, L'extrait a réduit le niveau plasmatique de créatinine de 16.83% comparativement aux animaux HFD et cette réduction est significative. Toutefois cette réduction n'a pas atteint la valeur du lot témoin.

**Tableau 16 :** Créatinine chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

Groupes	Moyenne (mg/L)	SEM	Max	Min
<b>Témoin</b>	<b>2,62<sup>c</sup></b>	0.25	3.17	1.2
<b>HFD</b>	<b>4.93<sup>a</sup></b>	0.25	5.99	4.24
<b>HFD+SB</b>	<b>4.1<sup>b</sup></b>	0.19	4.95	3.51

a, b, c: les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; ANOVA monofactoriel suivi par le test de Newman-Keuls ; n=7



**Figure 59 :** Créatinine chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

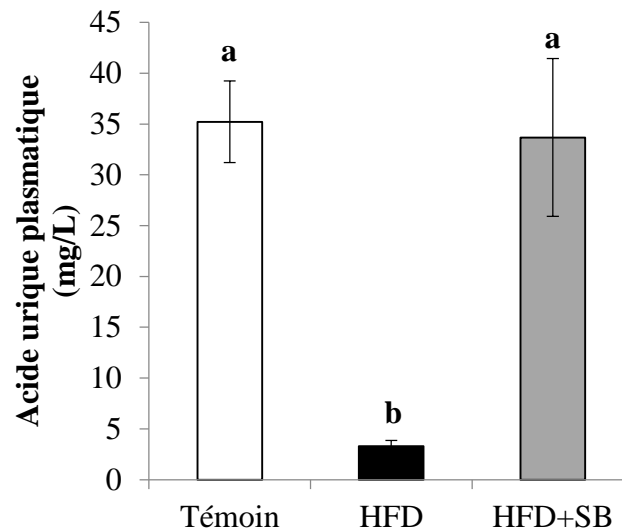
### 3.6. Antioxydant non enzymatique, Acide urique

Le groupe de rats HFD a montré une teneur plasmatique en acides urique très faible de 3.3 mg/L comparée aux autres groupes (témoin et HFD+SB) qui ont manifesté des taux de 35.22 et 33.67 mg/L respectivement. Cette réduction est très importante et est de 90.63 % par rapport aux témoins. Chez le groupe traité, l'extrait de la plante a significativement augmenté ce paramètre de 920.30%, par rapport au groupe HFD. La valeur atteinte est comparable à celle des rats témoins (**Tableau 17 ; Figure 60**).

**Tableau 17 :** Acide urique chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

Groupes	Moyenne (mg/L)	SEM	Max	Min
<b>Témoin</b>	<b>35.22<sup>a</sup></b>	4.02	57.13	23.21
<b>HFD</b>	<b>3.3<sup>b</sup></b>	0.55	4.56	1.83
<b>HFD+SB</b>	<b>33.67<sup>a</sup></b>	7.77	57.9	3.9

a, b, c: les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; ANOVA monofactoriel suivi par le test de Newman-Keuls ; n=7



**Figure 60 :** Acide urique chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

#### 4. Effets du régime HFD et de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* sur la fonction testiculaire des rats

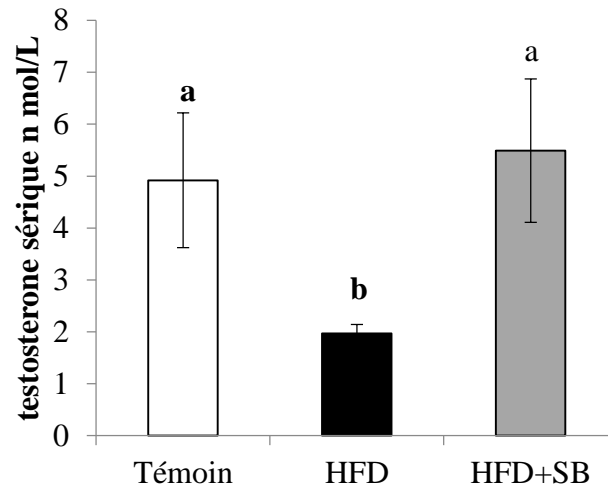
##### 4.1. Testostérone sérique

Le dosage de la testostérone sérique en fin d'expérimentation a montré chez le groupe témoin une valeur moyenne de  $4.92 \pm 1.3$  nmol/L. Chez le groupe HFD, cette valeur est nettement plus faible et est de  $1.97 \pm 0.17$  nmol/L marquant une diminution significative de la testostérone sérique de 59,96 % par rapport aux témoins. Chez le groupe HFD+SB, la valeur enregistrée est de  $5.49 \pm 1.38$  nmol/L. Celle-ci indique une augmentation significative de 178,68 % par rapport au groupe HFD. La testostéronémie sérique du lot traité avec l'extrait de la plante a atteint un taux comparable à celui du groupe témoin (**Tableau 18 et Figure 61**).

**Tableau 18 :** Testostérone sérique chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

Groupes	Moyenne (nmol/L)	SEM	Max	Min
<b>Témoin</b>	<b>4.92<sup>a</sup></b>	1.3	10	2.6
<b>HFD</b>	<b>1.97<sup>b</sup></b>	0.17	2.38	1.07
<b>HFD+SB</b>	<b>5.49<sup>a</sup></b>	1.38	10.3	2.03

a, b, c: les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; ANOVA monofactoriel suivi par le test de Newman-Keuls ; n=7

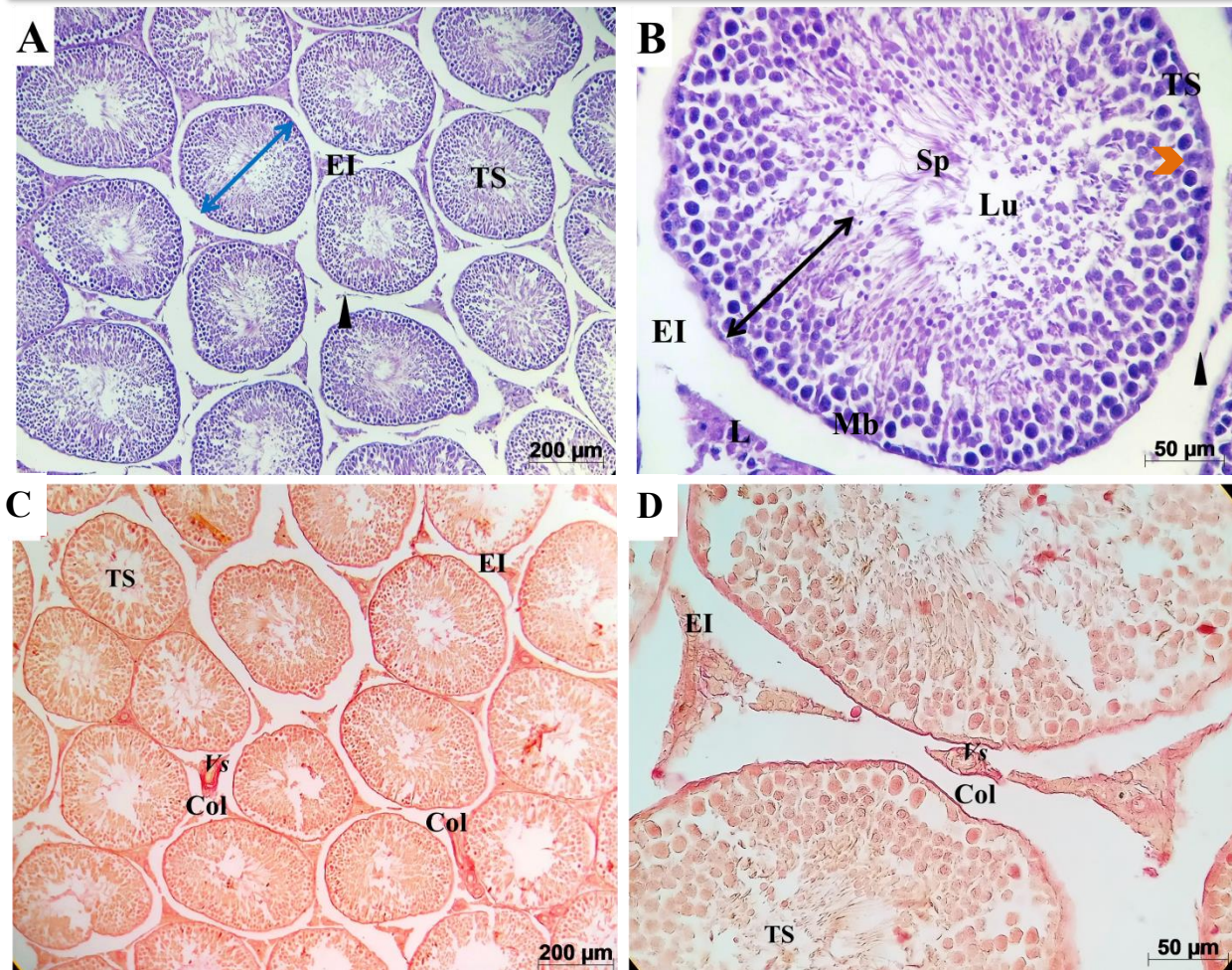


**Figure 61** : Testostérone sérique chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB

## 4.2. Résultats histomorphométriques

### 4.2.1. Résultats histologiques

**Planche I : Coupes histologiques du testicule des rats témoins**



**Coupes histologiques du testicule des rats témoins à différents grossissements : A (X100) ;**

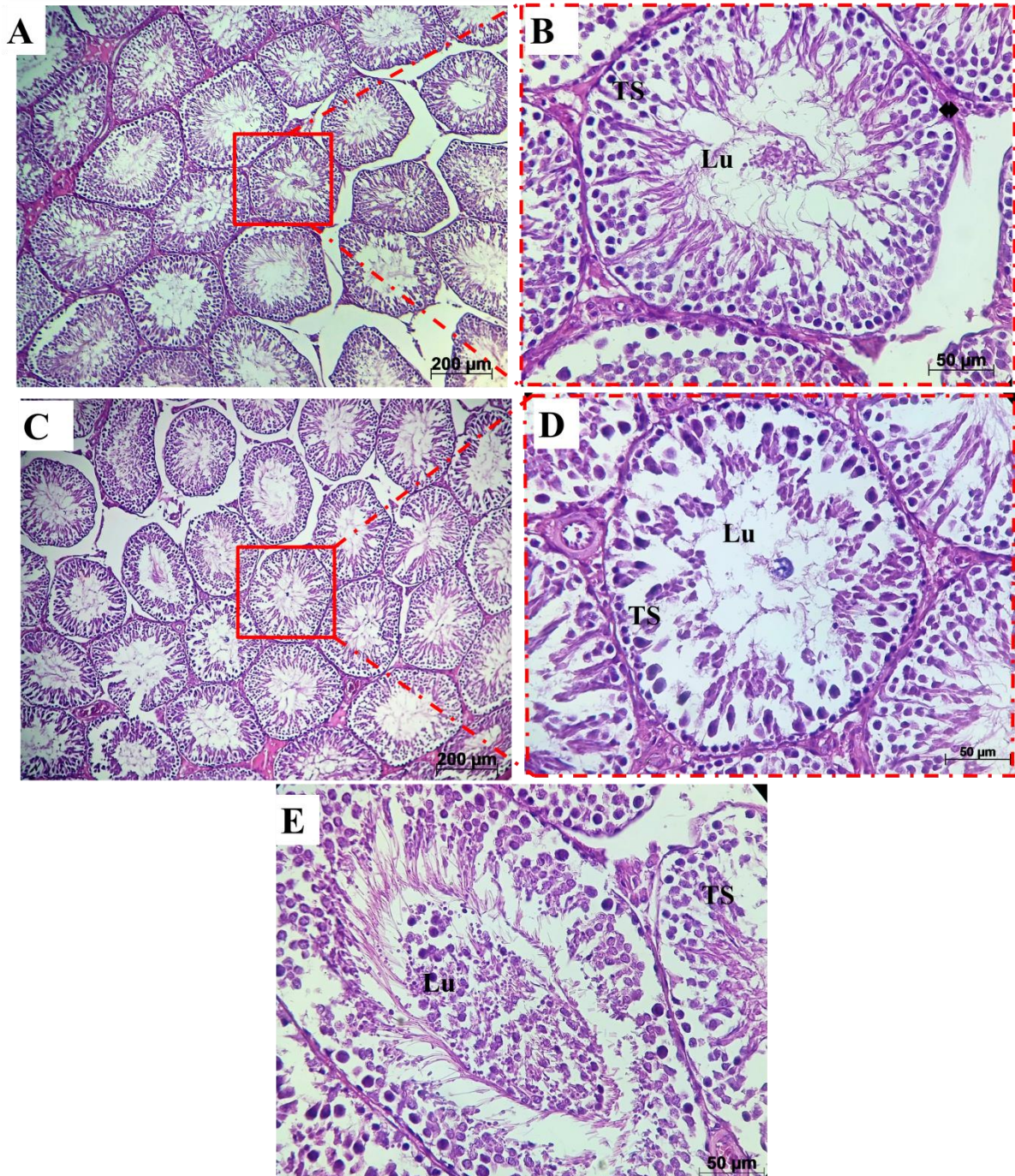
**B (X400), coloration hématoxyline éosine. C (X100) ; D (X400), coloration rouge Sirius.**

Nous avons observé dans cette planche, à faible grossissement, une structure testiculaire normale composée de plusieurs tubes séminifères (TS) de diamètre normal (flèche bleue) entourés d'une membrane basale (Mb) régulière et entre lesquels on observe un espace interstitiel (EI) réduit (petit triangle noir) contenant de multiples cellules de Leydig(L) concentrées autour des vaisseaux sanguins (Vs).

Ces vaisseaux sanguins sont entourés par une faible quantité de collagène (Col) (C et D)

Au fort grossissement (B), Les tubes séminifères présentent plusieurs couches de cellules germinales bien adhérentes avec les cellules de Sertoli (flèche marron), où tous les stades de la spermatogenèse, des spermatogonies aux spermatozoïdes sont présents (Grande flèche noire). La lumière tubulaire (Lu) contient une densité élevée de spermatozoïdes (Sp).

Planche II : Coupes histologiques du testicule des rats HFD



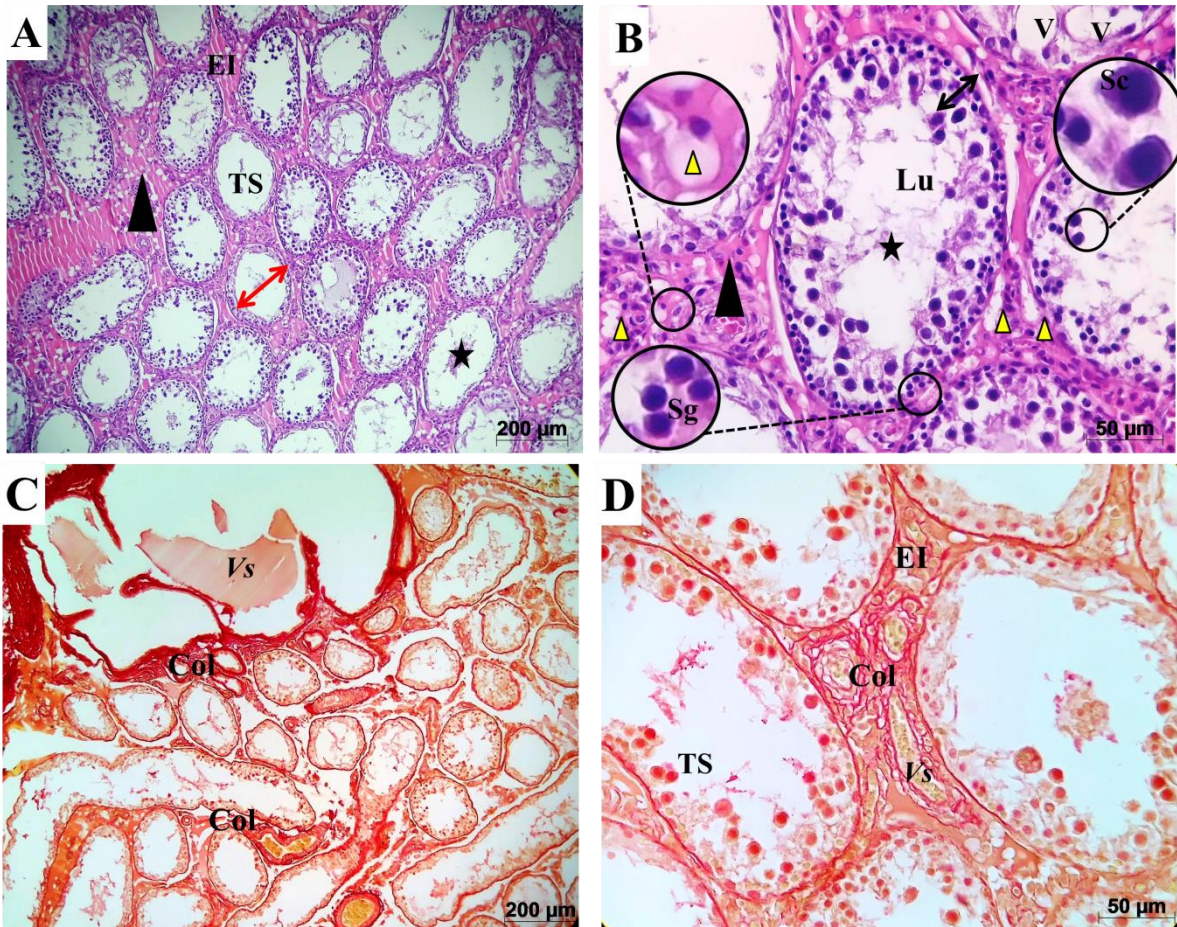
Coupes histologiques du testicule des rats HFD à différents grossissements :

A-C (X100) ; B-D-E (X400), coloration hématoxyline éosine.

Après l'analyse des coupes histologiques à différents grossissements des testicules de rats HFD et après comparaison avec les testicules de rats témoins, nous trouvons plusieurs altérations qui ont affecté la structure testiculaire.

Certaines sections tubulaires de rats HFD montrent des tubes séminifères avec des épithéliums desquamés, leurs cellules germinales sont détachées de l'épithélium germinal et se trouvent rassemblées dans la lumière tubulaire en raison du relâchement de l'adhérence cellulaire entre les cellules germinales et les cellules de Sertoli. Ces tubules sont entourés par une lame basale relativement épaisse (flèche bidirectionnelle).

**Planche III : Coupes histologiques du testicule des rats HFD**



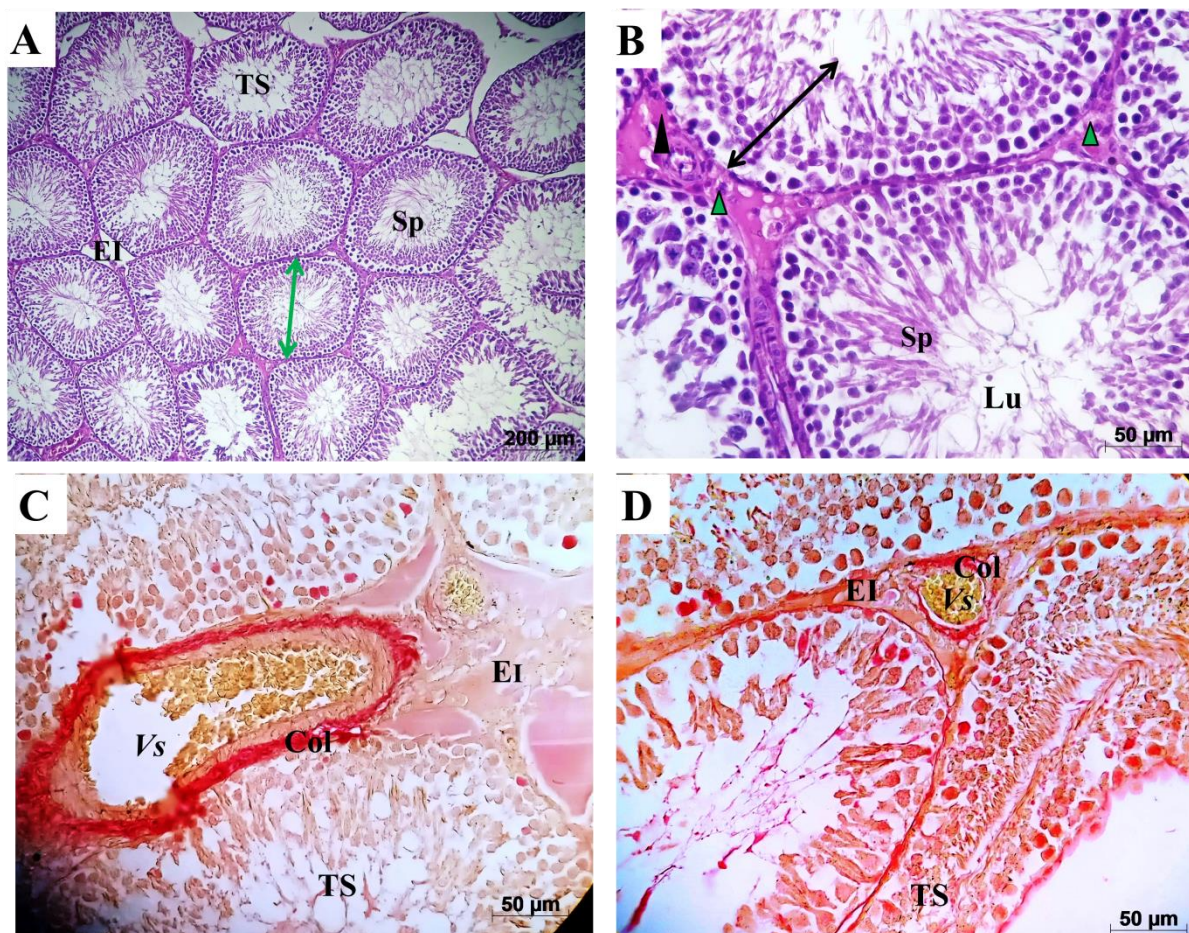
Coupes histologiques du testicule des rats HFD à différents grossissements : A (X100) ; B (X400), coloration hématoxyline éosine. C (X100) ; D (X400) coloration rouge Sirius.

Les micrographies A et B présentent une vaste gamme d'altérations histopathologiques causées par le régime HFD ; nous avons observé une architecture testiculaire désorganisée et atrophiée, l'espace interstitiel est apparu plus large, hyalinisé, vacuolisé et œdémateux, contenant des sécrétions acidophiles et des fibres de collagène (fibrose) (grand triangle noir), et plusieurs cellules de Leydig vacuolisées avec des noyaux sombres apoptotique écartés vers la périphérie de la cellule (triangles jaunes).

Les tubes séminifères sont sévèrement dégénérés avec une forme irrégulière et un diamètre sensiblement réduit (flèche rouge). L'épithélium germinal de la paroi tubulaire présente un aspect blanchâtre vacuolisé ce qui montre l'accumulation des lipides (V), et une hauteur réduite en raison de la déplétion des cellules germinales (petite flèche noire). Certains spermatogonies (Sg) et Spermatocytes (Sc) présentent des noyaux pycnotiques apoptotiques. Le processus de spermatogenèse est perturbé et arrêté au stade spermatogonies. La dégénérescence est très accentuée dans certains tubes séminifères au point où on observe un nombre très limité de cellules germinales au stade spermatogonies. La lumière tubulaire ne contient pas de spermatozoïdes, mais des débris cellulaires (étoile noire).

La coloration au rouge Sirius (micrographies C et D) montre que l'origine de cette fibrose est l'accumulation des collagènes fibrillaires (Col) de type I et III.

**Planche IV : Coupes histologiques du testicule des rats HFD+SB**



Coupes histologiques du testicule des rats HFD+SB à différents grossissement A (X100) ; B (X400), coloration hématoxyline éosine. C (X100) ; D (X400), coloration rouge Sirius.

Les coupes histologiques des testicules du groupe traité par la plante (HFD+SB) montrent plusieurs améliorations structurales.

Dans ces figures (micrographies A et B) on observe un nombre élevé de tubes séminifères régénérés avec une augmentation de leur diamètre (flèche verte) et de la hauteur de leur épithélium germinal (grande flèche noire). La spermatogenèse a repris, tous les stades de la spermatogenèse sont observés soutenus par les cellules de Sertoli et la lumière tubulaire contient de nombreux spermatozoïdes.

La fibrose et la vacuolisation du compartiment inter-tubulaire ont fortement diminuées (triangle noir central) et les cellules de Leydig sont apparues normales (triangles verts). La coloration au rouge Sirius (micrographies Cet D) confirme la diminution de la fibrose.

#### 4.2.2. Résultats morphométriques

##### 1. Etude de l'atrophie tubulaire des testicules et les indices de la spermatogenèse

L'atténuation de l'atrophie des tubes séminifères et la reprise de la spermatogenèse observées chez les rats HFD+SB nous a incités à réaliser une étude morphométrique portant sur la taille des tubes séminifères et les indices de la spermatogenèse pour évaluer l'efficacité de l'extrait de *Salvia balansae* contre les dommages testiculaires causés par le HFD.

##### 1.1. Analyse morphométrique des paramètres tubulaires

Les résultats de l'examen morphométrique concernant le diamètre, la hauteur de l'épithélium germinal des tubes séminifères et la quantification de la surface de la lumière tubulaire/ la surface tubulaire totale chez les groupes expérimentaux sont reportés dans le **tableau 19** et les **figure 62,63 et 64** suivants.

**Tableau 19** : Analyse morphométrique des tubes séminifères

Variable		Moyenne	SEM	Max	Min
Diamètre tubulaire (µm)	Témoin	344.69 <sup>a</sup>	5.78	446.11	272.8
	HFD	267.05 <sup>c</sup>	7.21	402.66	169.32
	HFD+SB	307.56 <sup>b</sup>	4.96	426.82	198.3
Hauteur de l'épithélium germinal (µm)	Témoin	103.61 <sup>a</sup>	2.32	156.22	59.88
	HFD	62.62 <sup>c</sup>	2.51	111.07	20.06
	HFD+SB	90.03 <sup>b</sup>	2.74	161.42	40.14
Surface de la lumière tubulaire/ Surface Tubulaire totale (%)	Témoin	35.18 <sup>c</sup>	0.29	43.01	22.81
	HFD	50.6 <sup>a</sup>	0.35	64.51	34.53
	HFD+SB	40.61 <sup>b</sup>	0.35	60.08	25.62

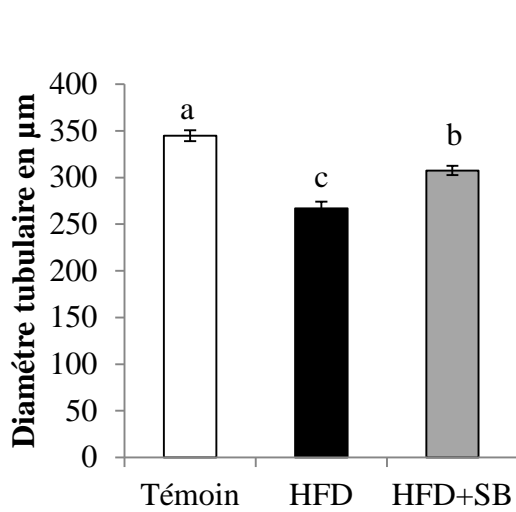


Figure 62 : Diamètre des tubes séminifères

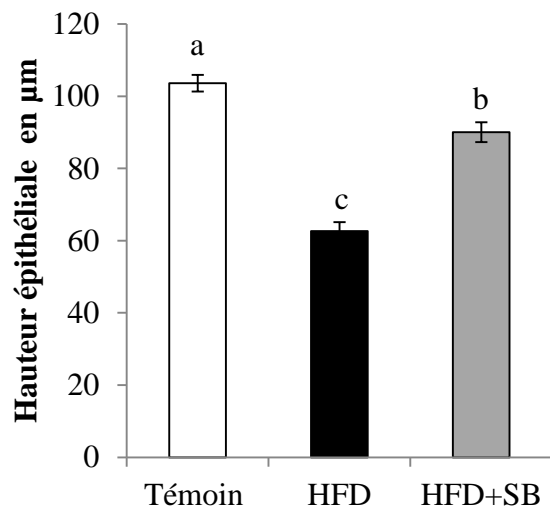


Figure 63 : Hauteur de l'épithélium germinal

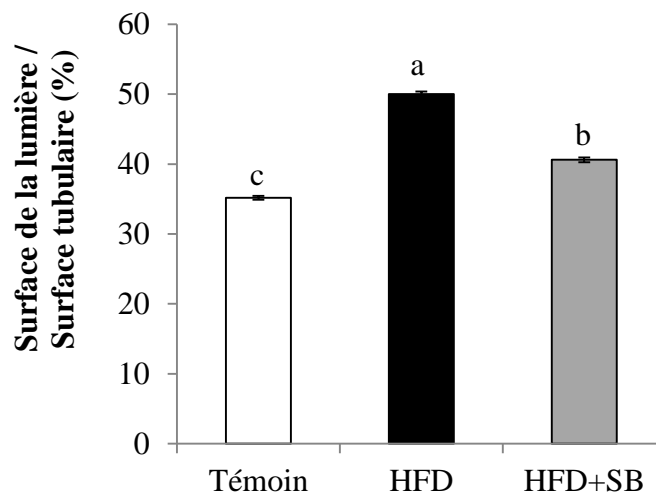


Figure 64: Pourcentage de la lumière tubulaire

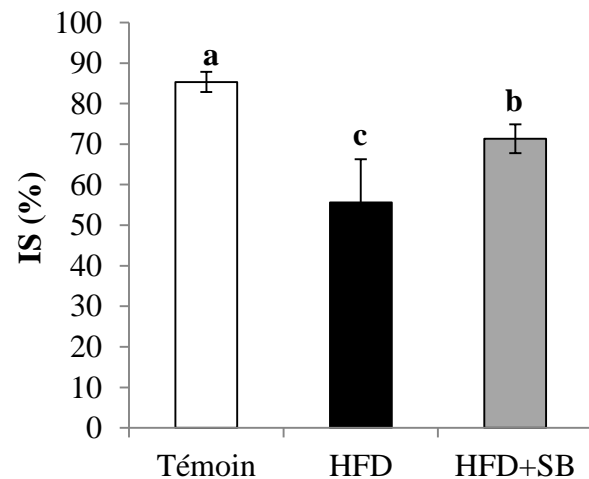
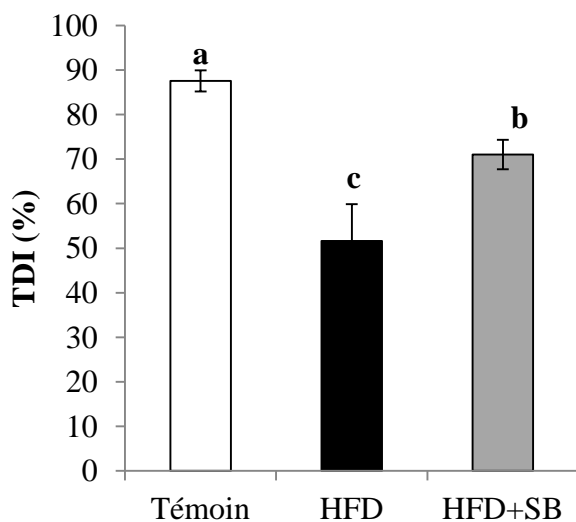
Nous résultats de l'analyse morphométrique des tubes séminifères ont révélé une diminution significative de leur diamètre de 22.52% ainsi que de la hauteur de l'épithélium germinal de 39.56% chez les rats HFD par rapport aux témoins. Le pourcentage de la lumière de ces tubes par rapport à la surface tubulaire augmente, d'autre part, de 43.87%. Ces variations tubulaires mettent en évidence une atrophie des tubes séminifères. Chez les rats HFD+SB, le diamètre tubulaire augmente de 15.28% et la hauteur de l'épithélium germinal de 43.77% par rapport aux rats HFD. En revanche la lumière tubulaire est significativement réduite de 19.74%.

## 1.2. Etude des indices de la spermatogenèse

Les résultats des indices de la spermatogenèse sont représentés dans le **tableau 20** et les **figures 55 et 56** suivants

**Tableau 20:** Indices de spermatogenèse

Variable		Moyenne	SEM	Max	Min
Indice de différenciation tubulaire (TDI) (%)	Témoin	87.59 <sup>a</sup>	2.37	100	73.91
	HFD	51.6 <sup>c</sup>	8.26	86.67	14.00
	HFD+SB	71.04 <sup>b</sup>	3.31	81.48	53.85
Indice de spermiogenèse (IS) (%)	Témoin	85.34 <sup>a</sup>	2.51	96.88	76.19
	HFD	55.62 <sup>c</sup>	10.69	84.38	0.00
	HFD+SB	71.34 <sup>b</sup>	3.56	87.8	52.17



**Figure 65:** Indice de différenciation tubulaire

**Figure 66:** Indice de spermiogenèse

Les résultats des indices de la spermatogenèse montrent une diminution significative de l'indice de différenciation tubulaire (TDI) et de l'indice de spermiogenèse (IS) de 41,1% et 34,83% respectivement dans le groupe HFD comparativement aux témoins. Ces paramètres sont significativement augmentés de 37,67% (TDI) et 28,26% (SI) chez les rats traités par rapport au groupe HFD.

## Discussion

Ce travail comporte dans un premier temps, une étude phytochimique et une évaluation de quelques propriétés biologiques, antioxydantes et antidiabétiques in vitro de l'extrait aqueux des feuilles d'une Lamiaceae, *Salvia balansae*. Dans un second temps, des effets thérapeutiques de cet extrait ont été démontrés sur l'obésité, la dyslipidémie, le diabète de type 2 et les détériorations testiculaires causés par un régime alimentaire hyper gras (HFD) chez le rat *Wistar* adulte.

L'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* obtenu par infusion a donné un rendement d'extraction important de 30,22%. Ce rendement d'extraction est similaire à celui obtenu dans une décoction de 20 minutes des feuilles de *Salvia argentea*, la valeur est de 32.5% (Benabdesslem *et al.*, 2020). Alors que l'extrait aqueux préparé par décoction de *Salvia lavandulifolia* au Maroc, a manifesté une valeur de 23,92% (Remok *et al.*, 2023). De même, il a été constaté que les rendements d'extraction de l'infusion est de  $11.048 \pm 0.511\%$  et celui de la décoction est de  $17.016 \pm 0.032\%$  d'une Lamiaceae du genre *Ajuga*, *Ajuga iva* L. collectée au Maroc, ces valeurs sont plus élevées que celles des extraits préparés dans des solvants organiques (Saidi *et al.*, 2023). Ce résultat s'accorde avec celui obtenu récemment pour la même espèce en Tunisie (Ammar *et al.*, 2022) et auparavant chez la même espèce à Sidi Bel Abbès en Algérie (Medjeldi *et al.*, 2018). Dans les solvants organiques, l'éthanol à 70% et le méthanol, les rendements d'extraction d'*Origanum compactum*, une Lamiaceae du genre *Origanum* sont de 30.60% et 31.70% respectivement (Chroho *et al.*, 2022; Zeroual *et al.*, 2020). Oreopoulou *et al.* (2019) stipulent que les solvants organiques dotés d'une efficacité meilleure dans l'extraction des polyphénols sont l'éthanol et le méthanol. Au contraire, Mora *et al.* (2006) ont rapporté un rendement d'extraction de 16,75 % après une macération hydro-alcoolique (60%) à chaud de 2 heures des feuilles de *Salvia elegans*. Des rendements d'extraction plus faibles de 7.70%, 6.94 %, 2.39% et 1.37 % ont été également rapportés par Alimpić *et al.* (2015) dans les macérats éthanolique, méthanolique, dichlorométhanique et éthylacétatique respectivement des parties aériennes de *S. ringens*. Cette variabilité dans les rendements pourrait être due à la polarité du solvant utilisé. En effet, il a été démontré que la polarité élevée de l'eau augmente significativement le rendement d'extraction et la teneur en polyphénols totaux de plusieurs espèces du genre *Mentha* (Lamiaceae) par rapport à d'autres solvants (méthanol, n-hexane et dichlorométhane) (Barchan *et al.*, 2014). Selon Zbadi *et al.* (2018), La différence de rendement entre les extraits serait due à plusieurs facteurs tels que l'espèce végétale, l'organe utilisé dans

l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites, la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou le fractionnement et les méthodes d'extraction appliquées. Les mêmes hypothèses ont été formulées par [Oreopoulou et al. \(2019\)](#).

Notre criblage phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* a révélé la présence de certains groupes chimiques tels que les polyphénols, les flavonoïdes (les flavones, les flavanes, les catéchols, et les génines), les tanins catéchiques et galliques, les quinones et d'autres composés tels que les protéines, les sucres et les saponines. En revanche, nous avons observé l'absence d'autres familles chimiques tels que les alcaloïdes, les flavonones, les leucoanthocyanines et les Anthocyanines. Un screening phytochimique presque comparable a été obtenu par [Remok et al. \(2023\)](#) chez *Salvia lavandulifolia* récoltée à Ouled Ali dans la région de Boulemane au Maroc et chez une lamiacée du genre *Ajuga*, *Ajuga iva* par [Saidi et al. \(2023\)](#) dans la région de Masmouda au Maroc. Ces résultats peuvent être interprétés par l'influence de plusieurs paramètres tels que le patrimoine génétique de l'espèce, la méthode d'extraction, la nature du sol, la saison de récolte, et la partie de la plante étudiée ([Benabdesslem et al., 2017](#); [Gebru et al., 2014](#); [Maliki et al., 2021](#); [Staveckienė et al., 2023](#)).

L'extrait aqueux de *S. balansae* renferme une quantité relativement élevée de composés phénoliques totaux de  $134,91 \pm 0,17$  mg EAG/g. Cependant, cette quantité est réduite comparée à celle obtenue chez deux autres Lamiaceae à savoir *Lavandula pedunculata* ( $248,05 \pm 7,27$  mg EAG/g) et *Origanum compactum* ( $241,90 \pm 16,95$  mg EAG/g) ([Boutahiri et al., 2022](#)). Des extraits aqueux (infusion) et méthanolique des parties aériennes de *Salvia hydrangea* en Turquie ont enregistré des contenus comparables de composés phénoliques ( $121 \pm 0,9$  mg EAG/g et  $122 \pm 1,1$  mg EAG/g respectivement), cette teneur est proche de la nôtre ([Toplan et al., 2022](#)). Des valeurs significativement plus faibles de ces composés ont été enregistrées par [Ondera et al. \(2022\)](#) dans les extraits d'acétate d'éthyle de trois espèces de *Salvia*, à savoir *Salvia absconditiflora* ( $74,16 \pm 0,68$  mg EAG/g), *Salvia sclarea* ( $35,03 \pm 0,25$  mg EAG/g) et *Salvia palaestina* ( $33,33 \pm 0,27$  mg EAG/g), et par [Wahid et al. \(2022\)](#) dans la fraction chloroforme de l'extrait méthanolique de *S. moorcroftiana* ( $114,81 \pm 1,15$  mg EAG/g). [Gezek et al. \(2019\)](#) ont analysé la teneur en composés phénoliques de 14 espèces de *Salvia* et les résultats sont compris entre 11,8 et 119 mg EAG/g. La quantité des polyphénols totaux varie entre  $24,28 \pm 0,17$  et  $79,40 \pm 3,78$  mg EAG/g dans d'autres espèces de Lamiacées dans trois solvants (éthanol, méthanol, eau) ([Oalde Pavlović et al., 2021](#)). L'ensemble de ces données indiqueraient que notre espèce de *Salvia* est plus riche en

composés phénoliques totaux que d'autres espèces de *Salvia*. Concernant les flavonoïdes, nous avons enregistré une quantité de 5,96 mg EQ/g dans l'extrait aqueux de notre plante. La détermination de la quantité en flavonoïdes chez différentes espèces de *Salvia* a montré des valeurs très hétérogènes. En effet, **Khiya et al. (2021)** ont enregistré une faible quantité de flavonoïdes (2,86mg EQ/g) dans la fraction aqueuse de l'extrait hydro-méthanolique de *S. officinalis*. Une valeur proche de la nôtre (5mg EQ/g) a été signalée dans l'extrait hydro-méthanolique de *S. verbenaca* L (**Righi et al., 2021**). En revanche, des quantités importantes de flavonoïdes ont été trouvées par plusieurs auteurs. En effet, **Remok et al. (2023)** ont enregistré 13.56±0,08mg EQ/g dans l'extrait aqueux de *Salvia lavandulifolia*. **İnan et al. (2021)** ont enregistré 28,3±0,44mg EQ/g dans l'extrait méthanolique à 80% de *Salvia virgata*. **Barzegar & Jooyandeh (2022)** ont trouvé 17,13mg EQ/g dans l'extrait éthanolique de *Salvia rhytidea* Benth et **Et-Touys et al. (2016)** ont enregistré respectivement 16,31±3,69 et 24,64±3,65 mgEQ/g dans l'extrait dichlorométhane et n-hexane de *S. clandestina*. Quant à la quantité des tanins condensés, nos résultats indiquent des valeurs très proche à ceux signalés par **El Gabbas et al. (2019)** dans l'extrait éthanolique de *S. officinalis* (19,16±2,5 vs 22,10±0,41mg EC/g). La variabilité quantitative observée dans ces espèces de *Salvia* est probablement due à des facteurs génotypiques, aux conditions climatiques, à la nature du sol (**Khiya et al., 2021**), à la méthode et au solvant d'extraction (**Brglez Mojzer et al., 2016**).

Notre extrait a enregistré une capacité antioxydante totale de 141.97±0.43 mg EAA/g (141.97±0.43 µg EAA/mg). Une faible capacité antioxydante totale a été mise en évidence par **Ghanimi et al. (2022)** dans deux extrait aqueux de *Lavandula mairei* Humbert (135.55±0.001µg EAA/mg et 102.58± 5.1) et par **Mokhtari et al. (2021)** dans 3 extraits de *Tyhmus algeriensis* (15,69±0.001 à 20,79±19 µg EAA/mg).

L'activité antioxydante de notre extrait, révélée par le test DPPH est exprimée par la valeur d'IC<sub>50</sub> de 2,09±0,15 mg/mL. Une valeur d'IC<sub>50</sub> très proche a été signalée par **Dif et al. (2016)** dans l'extrait méthanolique de *Lavandula dentata* (2,15 mg/mL). L'extrait méthanolique de *Teucrium polium* montre, en revanche, une valeur plus élevée (6,77 mg/mL) (**Ait Chaouche et al., 2018**). Des valeurs d'IC<sub>50</sub> très faibles ont été enregistrées par **Erdemoglu et al. (2006)** dans les extrait aqueux de *S. viridis* et *S. multicaulis* (0,57 et 0.83 mg/mL respectivement) et par **Kamatou et al. (2010)** dans l'extrait méthanolique/chloroformique de *S. garipensis* (0.0742±0.285mg/mL).

Nos résultats montrent un bon pouvoir réducteur du radical ABTS<sup>+</sup> de l'infusion des feuilles de *S. balansae* marqué par une faible valeur d'IC<sub>50</sub> (2,55±0,15mg/mL) comparativement à celui déterminé par [Moukhfi et al. \(2022\)](#) dans l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* L. (IC<sub>50</sub> de 7,35±0,30 mg/mL) et par [Kabach et al. \(2019\)](#) dans l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* L (IC<sub>50</sub> de 3.92 mg/mL). En revanche, [Grzegorzczuk-Karolak & Kiss. \(2018\)](#) ont trouvé que l'infusion et la décoction de *S. viridis* L. ont une activité antioxydante très importante avec une IC<sub>50</sub> de 0.01681 mg/mL et 0.04799 mg/mL respectivement.

Dans le test de chélation des ions de fer, l'extrait aqueux de *S. balansae* a montré un pouvoir chélateur puissant (IC<sub>50</sub> de 0.6mg/mL) comparativement aux extraits éthanoliques de *S. cryptantha* et *S. cyanescens* qui ont montré une très faible activité chélatrice inférieure à 07% à 2 mg/mL ([Süntar et al., 2011](#)). D'autre part, [Kabach et al. \(2019\)](#) ont trouvé que les extraits méthanolique et aqueux de *Marrubium vulgare* sont dotés d'une activité chélatrice importante de 0.104± 1.31 mg/mL et 1.496 mg/mL respectivement.

Parmi les cinq espèces de *Salvia* étudiées en Turquie (*S. wiedemannii*, *S. aucheri subsp. Canescens*, *S. aytachii*, *S. viridis*, *S. heldreichiana*), l'extrait méthanolique de *S. aucheri subsp. canescens* a montré un fort pouvoir piègeur du radical DPPH (IC<sub>50</sub>: 168.4 ±1.32 µg/mL), celui de *S. heldreichiana* a manifesté la plus forte capacité de piégeage du radical ABTS (IC<sub>50</sub>: 0.078 ± 0.18 µg/mL) en comparaison à la molécule de référence, le Trolox (IC<sub>50</sub>: 248.17 ± 0.66 µg/mL) et celui de *S. aytachii* est le meilleur chélateur de ions de fer (IC<sub>50</sub>: 827.9 ± 0.33 µg/mL) ([Yilmaz et al., 2023](#)).

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* révélée par la méthode FRAP est de EC<sub>50</sub> = 0.66±0.1 mg/mL. Cette méthode a donné des résultats meilleurs dans les fractions d'acétate d'éthyle et butanolique des feuilles de *S. officinalis* (EC<sub>50</sub> de 0.029 et de 0.021 mg/mL respectivement) ([Khiya et al., 2021](#)). Egalement, [Belkacem et al. \(2022\)](#) ont trouvé que l'extrait hydrométhanolique de *mentha pulegium* possède un important pouvoir réducteur du fer avec une valeur de EC<sub>50</sub> de 0.147mg/mL. Inversement, [Ghanimi et al. \(2022\)](#) ont enregistré un faible pouvoir réducteur dans l'extrait éthanolique (EC<sub>50</sub> de 0.973± 0.009 mg/mL) et méthanolique (EC<sub>50</sub> de 0.814± 0.013 mg/mL) de *Lavandula mairei Humbert*.

A partir de l'ensemble de ces résultats, nous pouvons suggérer que la propriété antioxydante de *S. balansae* est attribuée surtout à ses composés phénoliques totaux. En

général, les espèces de *Salvia* sont connues pour être riches en phytoconstituants bénéfiques pour la santé dont la teneur est corrélée avec leur activité antioxydante (Bonesi *et al.*, 2017). La richesse en composés phénoliques de deux autres Lamiaceae, *Ocimum basilicum* L. et *Thymus algeriensis* de l'Atlas Saharien Algérien est corrélée à leur pouvoir antioxydant (Rezzoug *et al.*, 2019). Des résultats similaires ont été obtenus chez sept espèces européennes de *Salvia* (Merviç *et al.*, 2022) et dans l'infusion et les extraits organiques des *Salvia* polonaises (*S. officinallis*, *S. viridis*, *S. bulleyana*) (Francik *et al.*, 2020; Grzegorzcyk-Karolak *et al.*, 2020; Grzegorzcyk-Karolak & Kiss, 2018).

La propriété antidiabétique de *S. balansae* a été analysée *in vitro* par la détermination de la concentration inhibitrice ou l'IC<sub>50</sub> de l' $\alpha$ -amylase, enzyme digestive qui dégrade l'amidon en maltose. L'inhibition de cette enzyme par des substances d'origine végétale permet de réduire les pics de glycémie de manière relativement sûre (Mahomoodally *et al.*, 2012). Nos résultats ont montré que l'IC<sub>50</sub> de l' $\alpha$ -amylase de l'extrait aqueux de *S. balansae* (2.2 mg/mL) est plus faible à celle déterminée par Baghaenezhad *et al.* (2021) dans les extraits hexanique et méthanolique de *S. leriifolia* (2,2 mg/mL vs 25,6 et 30,5mg/mL respectivement). Nickavar *et al.* (2008) ont enregistré également des valeurs plus élevées d'IC<sub>50</sub> de l' $\alpha$ -amylase dans les extraits éthanolique de *S. vigata* et *S. verticillata* (18,34 et 19,73 mg/mL respectivement). Un puissant potentiel inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase *in vitro* (IC<sub>50</sub> = 0.99 ± 0.00 mg/mL) a été rapportée dans l'extrait aqueux de *Salvia lavandulifolia* Vahl (Remok *et al.*, 2023). De même, Saidi *et al.* (2023) ont signalé une meilleure capacité inhibitrice *in vitro* de l' $\alpha$ -amylase avec une IC<sub>50</sub> égal à 1.52 ± 0.03 mg/mL dans l'extrait aqueux d'*Ajuga iva*. Comparés aux espèces citées, Nos résultats indiquent que l'extrait aqueux de *S. balansae* est doté d'une bonne capacité inhibitrice sur l' $\alpha$ -amylase. Par ailleurs, d'autres travaux mettent en évidence des effets inhibiteurs des extraits de certaines espèces de *Salvia* sur l' $\alpha$ -glucosidase et l'acétylcholinestérase, attribués à leurs composés phénoliques (Merviç *et al.*, 2022 ; Skrypnik *et al.*, 2022).

Dans la deuxième partie de notre étude, nous avons analysé les effets thérapeutiques de l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* sur certaines perturbations métaboliques et sur la dérégulation de la fonction testiculaire induites par un régime alimentaire hyper gras. Ces analyses ont été réalisées après une étude de la toxicité de la plante.

L'étude de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* chez les rats *Wistar* nous a montré que cet extrait, lorsqu'il est administré par voie orale, ne provoque

aucun signe d'anomalies comportementales, ni symptômes de toxicité, ni mortalité aux doses administrées (100-2000mg/Kg de poids corporel). L'innocuité de ces doses peut être due à l'absence d'alcaloïdes et de terpénoïdes dans l'extrait. Il a été signalé que certains alcaloïdes (pyrrolizidine, tropane, pipéridine et indolizidine) et terpénoïdes (cicutoxine, atractyloside, daphnétoxine, digoxine et acide gibbérélique) des plantes peuvent avoir divers effets nocifs chez l'homme et l'animal, tels que démangeaisons, nausées, vomissements, troubles gastro-intestinaux, troubles du système nerveux central, psychose, paralysie, arythmie, hépatotoxicité, et mort brutale (Mbaveng *et al.*, 2014; Zaman *et al.*, 2019).

Nos résultats montrent qu'un régime alimentaire hyper gras administré pendant 18 semaines provoque chez des rats *Wistar* une obésité, une dyslipidémie, un diabète de type 2, une augmentation des transaminases hépatiques, une inflammation et une élévation de la créatinine. Des résultats similaires ont été trouvés par plusieurs auteurs (Albrahim & Robert, 2022 ; Bahcecioglu *et al.*, 2010 ; Jia *et al.*, 2018 ; Li *et al.*, 2021 ; Sahraoui *et al.*, 2016 ; Tan *et al.*, 2019 ; Yin *et al.*, 2012).

L'abondance d'acides gras saturés et l'apport calorique élevé dans le régime HFD que nous avons utilisé peuvent être un facteur critique pour favoriser la prise de poids et le développement de l'obésité. Baz *et al.* (2022) ont montré que l'origine de l'obésité est l'accumulation de la graisse alimentaire dans le tissu adipeux blanc sous forme de triglycérides.

Le traitement des rats obèses avec l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* a diminué significativement le gain de poids corporel montrant ainsi un effet anti-obésité de la plante. Une diminution significative du poids corporel a été également observée chez des rats obèses traités pendant 8 semaines avec *Salvia miltiorrhiza* (Ai *et al.*, 2022) et des rats obèses traités avec l'extrait total de *Salvia officinalis* et avec sa fraction en flavonoïdes (Othman *et al.*, 2022). L'étude de Vuksan *et al.* (2017) a révélé que les patients diabétiques de type 2 en surpoids ou obèses suivant un régime hypocalorique à base de graines de *S. hispanica* L. ont perdu 6,3 fois leur poids corporel par rapport aux témoins. Aussi, une diminution non significative du poids corporel a été enregistrée chez des rats nourris avec un régime athérogène (5% d'huile de noix de coco) et ayant reçu un extrait aqueux de *S. libanotica* (450mg/Kg/PC) dans l'eau potable pendant 6 semaines, par rapport au groupe obèse non traité (Bassil *et al.*, 2015). Aux niveaux cellulaire et moléculaire, il a été démontré que les plantes médicinales, grâce à leurs composés phytochimiques (flavonoïdes, acides phénoliques et

tanins), atténuent l'obésité et réduisent la masse grasse en inhibant la prolifération et la différenciation des préadipocytes par le blocage du cycle cellulaire et l'activation des protéines apoptotiques (caspase 3, Bak et Bax). En plus, ces substances ont un effet inhibiteur sur l'accumulation des triglycérides dans les adipocytes (Saad *et al.*, 2021).

Une hyperglycémie et une augmentation de l'indice de résistance à l'insuline ont été notés chez les rats HFD. La résistance à l'insuline due à l'obésité est la cause majeure dans le développement du diabète de type 2 chez les animaux et les humains obèses (Petersen & Shulman, 2018). Il a été signalé que les acides gras et leurs dérivés (diacylglycérol (DAG), les céramides et les acylcarnitines) sont des médiateurs de la résistance à l'insuline dans le muscle squelettique et le foie par le biais d'effets délétères sur la voie de signalisation de l'insuline (Petersen & Shulman, 2018).

Nos travaux ont aussi démontré un effet antidiabétique de *S. balansae* par diminution de l'hyperglycémie et de la résistance à l'insuline chez les rats HFD+SB. Un effet antidiabétique similaire a été mis en évidence chez des modèles diabétiques traités avec *S. polystachya* Cav. (Ortega *et al.*, 2022), *S. amarissima* (Solares-pascasio *et al.*, 2021), *S. officinalis* L. (Belhadj *et al.*, 2018) et avec *S. libanotica* (Bassil *et al.*, 2015). L'efficacité des espèces hypoglycémiantes de *Salvia* est obtenue en inhibant l'absorption du glucose par l'intestin grêle, en augmentant la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatique, en inhibant la production de glucose par les hépatocytes ou en augmentant l'absorption du glucose dans les tissus périphériques (le tissu musculaire squelettique et le tissu adipeux) par l'intermédiaire des transporteurs de glucose, GLUT (Mahdizadeh *et al.*, 2018). Zhang *et al.* (2014) ont montré que l'administration d'extraits de *Salvia-Nelumbinis* chez des rats nourris avec un régime hypercalorique (15% de saccharose, 15% de matières grasses et 2% de cholestérol) améliore la fonction hépatique et la sensibilité à l'insuline par une augmentation de la phosphorylation du récepteur de l'insuline (IRS  $\frac{1}{2}$ ) et la protéine kinase B/Akt.

Nos résultats démontrent chez les rats HFD une dyslipidémie caractérisée par une augmentation de la cholestérolémie (CT), de la triglycéridémie (TG), du LDL, du VLDL, et de l'indice athérogène (CT/HDL) mais pas de diminution des HDL. Ces taux anormaux de lipides sanguins (CT, TG, LDL, VLDL, CT/HDL) sont des marqueurs métaboliques courants de l'obésité nutritionnelle (Baz *et al.*, 2022; Oršoli *et al.*, 2019; Zeng *et al.*, 2022) et résultent le plus souvent d'une augmentation de l'expression hépatique de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase (HMG CoA), une enzyme clé dans la synthèse du

cholestérol (Xia *et al.*, 2018) et d'une diminution de l'expression de la lipoprotéine lipase, enzyme responsable de l'hydrolyse des triglycérides transportés par les VLDL, dont la déficience provoque une hypertriglycéridémie (Li *et al.*, 2022). Zhao *et al.* (2021) Ont montré que la dérégulation du métabolisme lipidique par l'HFD chez les souris obèses est probablement due à l'inhibition de la phosphorylation de l'AMPK dans le foie. L'inactivation de cette protéine augmente la translocation nucléaire et l'activité transcriptionnelle de SREBP1c, ce qui entraîne une augmentation de l'activité de l'acétyl CoA carboxylase et de l'acide gras synthase (FAS) et une diminution de l'expression de l'adipose triglycéride lipase.

Le traitement des rats HFD par l'extrait aqueux de *S. balansae* diminue significativement tous ces paramètres suggérant ainsi un effet hypolipidémiant de la plante. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Hernandez-Saavedra *et al.* (2016) qui ont constaté une réduction des taux sériques de CT, des LDL-c et des TG avec une augmentation non significative des HDL chez des rats obèses traités par une infusion de *S. officinalis* à 1% pendant 12 semaines. De plus, Ghowsi *et al.* (2020) ont constaté que, la consommation de thé de la sauge diminue d'indice athérogène sans variation des niveaux de VLDL chez les rats avec des ovaires polykystiques. Dans une étude méta-analyse, Abdollahi *et al.* (2022) ont montré que *S. officinalis* a un effet positif sur le profil lipidique sanguin chez les patients diabétiques. L'effet antihyperlipidémique de *S. officinalis* a été médié par l'inhibition de l'absorption des lipides (Kianbakht *et al.*, 2011) et par l'activation de PPAR $\gamma$  qui contrôle le métabolisme lipidique (Christensen *et al.*, 2010).

Conformément aux découvertes précédentes, les rats nourris avec le HFD présentaient des élévations significatives des taux sériques d'AST et d'ALT par rapport à ceux nourris avec le régime standard (Koubaa-ghorbel *et al.*, 2020; Pai *et al.*, 2019). Généralement, ces enzymes se trouvent en grande quantité dans le cytoplasme ou les mitochondries des cellules hépatiques, tandis que dans les maladies hépatiques, elles fuient dans la circulation sanguine. La dégradation des membranes hépatocytaires et la perte d'intégrité et de perméabilité qui en résulte peuvent être responsables de l'augmentation des taux d'enzymes sériques dans le groupe HFD (Baz *et al.*, 2022). Zeng *et al.* (2022) ont montré que l'augmentation de l'apport en graisses entraîne une augmentation des acides gras libres et une accumulation progressive des triglycérides dans le corps. Une fois la limite de stockage hépatique dépassée, des métabolites lipidiques toxiques sont produits, ce qui peut entraîner un dysfonctionnement et des lésions hépatiques par la peroxydation lipidique membranaire.

Quant aux transaminases hépatiques, ALT/AST, indicateurs du dysfonctionnement du foie, nous avons enregistré une diminution de leurs taux plasmatiques chez le groupe HFD+SB comparativement au groupe HFD. Ce résultat suggère un effet hépatoprotecteur de l'extrait aqueux des feuilles *S. balansae*. [Lima et al. \(2007\)](#) ont démontré que l'incubation de cellules hépatiques HepG2 intoxiquées par l'hydroperoxyde de tert-butyle avec un extrait aqueux ou méthanolique de *Salvia officinalis*, dont les principaux composants phénoliques sont l'acide rosmarinique et la lutéoline-7-glucoside, protège ces cellules contre la mort cellulaire, la cytotoxicité et prévient la peroxydation lipidique et la déplétion en glutathion (GSH). [Li et al. \(2021\)](#) ont montré chez des rats que l'utilisation de l'extrait hydrométhanolique de *Salvia Nelumbinis naturalis* (750mg/Kg) pendant 4 semaines réduit les transaminases hépatiques sériques augmentées lors de la stéatose hépatique non alcoolique. De même, [Choi et al. \(2016\)](#) ont constaté une diminution du taux d'ALT chez des rats obèses traités pendant 8 semaines avec l'extrait hydroalcoolique de *S. plebeia R. Br.* Aussi, l'huile essentielle de *S. officinalis* réduit les taux sériques de AST/ALT chez des rats diabétiques ([Belhadj et al., 2018](#)). Ces résultats soutiennent ceux de [Alharbi et al. \(2022\)](#) avec un extrait hydroalcoolique de *S. officinalis* chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

La CRP est principalement synthétisée et sécrétée par le foie et libérée dans la circulation en réponse à une inflammation. Des études in vivo et in vitro ont démontré que la CRP est associée aux maladies métaboliques telles que l'obésité, le diabète de type 2, la stéatose hépatique, et les maladies cardiovasculaires ([Kotronen & Yki-Järvinen, 2008](#); [Xi et al., 2011](#); [Yudkin et al., 1999](#)).

Nous avons remarqué au niveau plasmatique une diminution de la CRP, indicatrice de l'inflammation systémique, chez le groupe HFD+SB par rapport au groupe HFD, ce qui indique l'effet anti-inflammatoire de la plante. Un résultat similaire a été signalé par [Hernandez-Saavedra et al. \(2016\)](#) chez des rats obèses traités avec l'extrait aqueux de *S. officinalis*. Chez des rats, [Jedidi et al. \(2022\)](#) ont remarqué que le prétraitement par l'extrait de décoction des fleurs de *S. officinalis* diminue l'inflammation et l'augmentation de la CRP plasmatique provoquées par une intoxication à l'EtOH.

Dans l'étude actuelle, nous avons observé que l'extrait de la plante provoque une diminution significative de la créatinine, indicatrice des lésions rénales, chez les rats HFD+SB. Les travaux de [Eidi & Eidi. \(2009\)](#) ont mentionné également une réduction significative de la créatinine sérique chez les rats diabétique recevant l'extrait

hydroéthanolique de la sauge (0.2 et 0.4 mg/Kg) pendant 14 jours mais pas chez les rats normaux. Le même effet néphroprotecteur est signalé par [Ahn et al. \(2010\)](#) chez des rats atteints d'insuffisance rénale chronique et traités avec la Tansione IIA, composant actif de la *Salvia miltiorrhiza*, et par [Jedidi et al. \(2022\)](#) chez les rats prétraités par l'extrait de décoction des fleurs de *S. officinalis*.

Dans le présent travail, nous avons signalé une augmentation de l'acide urique chez les rats traités par rapport aux rats HFD. Ces résultats sont également signalés par [Jedidi et al. \(2022\)](#) chez les rats prétraités par l'extrait de décoction des fleurs de *S. officinalis*. Plusieurs études ont montré que l'acide urique, antioxydant non enzymatique a une forte capacité antioxydante en raison de ses doubles liaisons et est responsable des deux tiers de la capacité antioxydante du plasma humain ([de Oliveira & Burini, 2012](#); [Maxwell et al., 1997](#); [Sautin & Johnson, 2008](#)).

Au terme de l'expérimentation, nos résultats mettent en évidence une diminution de la testostérone sérique, hormone sexuelle essentielle à la spermatogenèse et le développement des testicules, synthétisée et sécrétée par les cellules de Leydig en présence de l'hormone lutéinisante (LH) ([Dohle et al., 2003](#); [Zirkin & Papadopoulos, 2018](#)). Une réduction de la testostérone sérique a aussi été rapportée par plusieurs auteurs chez des rats rendus obèses et/ou diabétiques ([El-Wakf et al., 2019](#); [Gianatti & Grossmann, 2020](#); [Kelly & Jones, 2015](#); [Khodamoradi et al., 2022](#); [Lainez & Coss, 2019](#); [Lv et al., 2020](#)). Il a été documenté que l'obésité et le diabète diminuent les hormones de l'axe gonadotrope par la réduction de la libération de la GnRH hypothalamique ([Castellano et al., 2006](#); [George et al., 2010](#)) et par l'induction de l'apoptose dans les cellules de Leydig ([Zhao et al., 2014](#)).

Au niveau testiculaire, nous avons noté plusieurs altérations histologiques chez les rats HFD associées à une diminution du taux sérique de la testostérone, caractérisées par une atrophie et une désorganisation des tubes séminifères, une dégénérescence de l'épithélium germinal, un détachement des cellules spermatogènes dans la lumière tubulaire, arrêt de la production des spermatozoïdes. Dans le compartiment inter-tubulaire du testicule, ont été observées, une diminution du nombre et une vacuolisation des cellules Leydig, des sécrétions acidophiles et une fibrose interstitielle. Ces observations ont été également signalées chez plusieurs modèles animaux nourris avec un régime riche en graisses ([Al-Ani et al., 2019](#); [Albasher, 2020](#); [Arisha et al., 2020](#); [Fan et al., 2018](#); [Fan et al., 2015](#); [Funes et al., 2019](#); [Hammami et al., 2022](#); [Jia et al., 2018](#); [Khalil et al., 2021](#)).

Notre étude morphométriques du diamètre des tubes séminifères et de la hauteur de l'épithélium germinale, de la surface de la lumière tubulaire et des indices de spermatogenèse (TDI, IS) confirme l'atrophie des tubes séminifères et la réduction de la spermatogenèse, observées dans les testicules du groupe HFD. Une réduction du diamètre des tubes séminifères, de la hauteur de l'épithélium germinale et des indices de spermatogenèse a également été observée par plusieurs auteurs chez des animaux obèses ([Buñay et al., 2020](#); [Hammami et al., 2022](#); [Khalil et al., 2021](#)). Les chercheurs ont considéré que la réduction du diamètre des tubes séminifères serait due à la dégénérescence et à la réduction de la densité des cellules germinales, et que la diminution de la hauteur de l'épithélium des tubes séminifères et la diminution de TDI sont dues à l'inhibition ou à l'atténuation de la prolifération des cellules germinales ([Bagherpour et al., 2019](#); [Nouri Serati et al., 2009](#)).

Selon [Zhao et al. \(2014\)](#), l'accumulation de lipides dans le cytoplasme des cellules de Leydig réduit son activité synthétique de testostérone via le stress du réticulum endoplasmique lisse, l'accumulation excessive des ROS et par l'apoptose. De plus, [Han et al. \(2018\)](#) ont montré que l'augmentation des ROS dans les cellules de Leydig diminue l'expression des protéines impliquées dans la synthèse de testostérone comme la protéine régulatrice aiguë stéroïdienne (StAR), la 3 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase (3 $\beta$ -HSD), la 17 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase (17 $\beta$ -HSD), le Cytochrome P450 17A1 (CYP17 A1), et l'enzyme de clivage de la chaîne latérale du cholestérol (P450scc/CYP11A1).

La diminution de la testostérone pourrait être l'élément clé de toutes les altérations observées au niveau testiculaire chez le groupe HFD. En effet, [Sharpe et al. \(1987\)](#) ont observé que l'injection de testostérone maintient la spermatogenèse, le diamètre des tubules séminifères et le poids des testicules chez des rats traités par l'éthane diméthane-sulfonate qui détruit les cellules de Leydig. Egalement, [Katragadda et al. \(2020\)](#) ont enregistré chez des rats intoxiqués à la cyperméthrine, une augmentation du nombre des spermatozoïdes testiculaires et épидидymaires après injection de la testostérone. La privation intra-testiculaire de la testostérone par des contraceptifs hormonaux chez des hommes chinois en bonne santé supprime la production de spermatozoïdes en augmentant l'apoptose des cellules germinales ([Ilani et al., 2012](#)) et l'injection de la testostérone chez des rats traités avec un perturbateur endocrinien (Bisphénol-A) active la spermatogenèse en inhibant l'apoptose et en activant la division cellulaire dans les cellules germinales ([Jin et al., 2013](#)). Une augmentation de la hauteur de l'épithélium de la tête épидидymaire et une diminution du tissu conjonctif fibreux inter-tubulaire ont été signalées par [Menad et al. \(2014\)](#) chez le rat des sables castrés puis

traités à la testostérone. **O'Donnell et al. (1996)** ont observé que la suppression de la testostérone intra-testiculaire chez des rats Sprague-Dawley mâles induit le relâchement de l'adhésion cellulaire et le détachement des spermatides en développement (spermatides de stade 8-19) des cellules de Sertoli. De plus, **Yan et al. (2008)** ont révélé que la testostérone régule l'intégrité de la barrière hémato-testiculaire par ses effets sur l'endocytose et le recyclage des protéines des jonctions serrées telles que l'occludine, la N-cadhérine et la JAM-A.

L'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* administré pendant 6 semaines aux rats *Wistar* rendus obèses avec un HFD a provoqué une augmentation de la concentration sérique de la testostérone et une restauration de la structure et de la fonction testiculaires. Ces effets pourraient être dus aux phyto-constituants que renferme l'extrait de *S. balansae* en particulier les composés phénoliques qui grâce à leurs activités antioxydante et anti-inflammatoire auraient amélioré le système antioxydant en inhibant le stress oxydatif et l'inflammation causés par le régime hyper gras obésogène.

Les travaux réalisés par **Owumi et al. (2020)** ont signalé le rôle critique des acides phénoliques (acide gallique) dans l'augmentation de la testostérone plasmatique, l'amélioration de la défense antioxydante, la suppression de la peroxydation lipidique, et la réduction de l'activation de la caspase-3, de l'interleukine-1 $\beta$ , et des détériorations histologiques dans les testicules, l'épididyme et l'hypothalamus des souris exposées à l'aflatoxine-B1. Egalement **Hajhosseini et al. (2013)** ont prouvé que l'acide rosmarinique, un puissant antioxydant et anti-inflammatoire présent dans toutes les espèces de la famille des Lamiacées, augmente la testostérone sérique, inhibe l'apoptose des cellules de Sertoli et les dommages de la barrière hémato-testiculaire causés par les radiations électriques chez le rat *Wistar*. De plus, **Wang et al. (2022)** ont démontré que les flavonoïdes (la quercétine) augmente le poids des testicules et stimule la production de testostérone sérique en diminuant les protéines biomarqueurs du stress du réticulum endoplasmique (CHOP et Grp 78) via l'axe miR-1306-5P/HSD17B7 chez des rats diabétiques. Dans leur article review, **Zhang et al. (2023)** relatent les effets protecteurs de la quercétine, par les voies antioxydante, anti-apoptotique et anti-inflammatoire, sur les dommages testiculaires occasionnés par différentes étiologies tels que le diabète, les polluants environnementaux (métaux lourds, pesticides) et la chimiothérapie. Egalement, il a été rapporté que les catéchines stimulaient la production de testostérone en agissant sur les cellules de Leydig du rat via l'augmentation de l'AMPC

intracellulaire et l'activation enzymatique de la 17 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase (17 $\beta$ -HSD), enzyme clé dans la stéroïdogénèse (Yu *et al.*, 2010).

Selon Arisha *et al.* (2020), l'amélioration de la structure testiculaire par la phytothérapie, essentiellement les plantes aromatiques est toujours associée à l'augmentation de la testostérone sérique. Des résultats similaires ont été signalés par plusieurs auteurs. En effet, Davoodi *et al.* (2020) ont signalé chez le rat que l'injection intrapéritonéale de 200mg/kg d'extrait hydro-alcoolique de *S. Miltiorrhiza* 30 min avant la détorsion testiculaire a augmenté les niveaux plasmatique et testiculaire de la catalase et de la glutathion peroxydase, a amélioré les paramètres spermatiques (motilité, morphologie, concentration et viabilité), et a réduit les altérations histologiques en augmentant le diamètre tubulaire et l'épaisseur des cellules germinales. De plus, Chouabia *et al.* (2021) ont révélé que l'extrait aqueux de *S. officinalis* a un effet bénéfique sur la prévention des dommages testiculaires induits par la cyperméthrine en améliorant la qualité du sperme. Aldaddou *et al.* (2023) ont constaté que la diminution de la testostérone sérique, la vacuolisation, la dégénérescence de la qualité du sperme (quantité, motilité et anomalies morphologiques des spermatozoïdes) et la réduction de la longueur et du diamètre des tubes séminifères sous les effets de l'acétate de plomb ou de la nicotine ont été améliorés par deux doses d'extrait méthanolique de *S. officinalis* L (200 et 400mg/Kg). Dans un modèle de souris, Karimi *et al.* (2018) ont observé que l'extrait hydro-alcoolique de *Zataria multiflora* (Lamiacée) augmente la testostérone et améliore les dommages testiculaires induits par le cisplatine (atrophie, perturbation de la spermatogénèse et destruction des cellules de Leydig) via la suppression du stress oxydatif et de l'apoptose. Chez des rats exposés à un stress d'immobilisation, Bagheri *et al.* (2020) ont montré que l'extrait hydroalcoolique de *S. officinalis*, améliore d'une manière dose-dépendante les paramètres du sperme et augmente le niveau systémique de testostérone et diminue les niveaux de LH/FSH, suggérant un impact régulateur de l'extrait de *S. officinalis* sur l'axe hypophysaire-gonadotrope. En outre, dans les cellules TM3 de Leydig cultivées en présence des doses croissantes de l'extrait aqueux de *S. officinalis* (37,5 - 600  $\mu$ g/ml) pendant 24 et 48h, la production de testostérone est stimulée de manière significative et dose-dépendante (Jambor *et al.*, 2020). Chez des rats adultes soumis à un régime alimentaire riche en calories, l'altération du profil hormonal des androgènes sériques (testostérone, déhydroépiandrostérone (DHEA), et rapport testostérone/estrogène) a été normalisée par un extrait d'huile essentielle de *S. officinalis* qui a augmenté l'activité enzymatique de la 3 $\beta$ -hydroxystéroïdes déshydrogénase, de la phosphatase alcaline, de la phosphatase acide et a diminué l'activité de

l'aromatase (El-wakf *et al.*, 2015). Egalement Mohamed *et al.* (2019) ont montré que l'extrait des feuilles de *Moringa oleifera*, une plante hypoglycémiant amélioré la testostérone sérique en augmentant l'expression génique de la protéine régulatrice aigüe stéroïdogène testiculaire (StAR) et de la 3 $\beta$ -HSD chez des rats mâles hyper-insulinémiques. Récemment, les effets bénéfiques de l'huile essentielle de *S. officinalis* ont été prouvés sur le testicule et la vésicule séminale des rats *Wistar* exposés à un métal lourd, le vanadium pendant 10 jours ; l'huile essentielle a nettement amélioré le système antioxydant, le poids et l'histoarchitecture des organes reproducteurs, la spermatogenèse et la biosynthèse de la testostérone (Ghorbel Koubaa *et al.*, 2022).

Une augmentation de la spermatogenèse a été observée chez les animaux du groupe HFD+SB, marquée par une augmentation des indices de spermatogenèse (TDI et IS). D'après Jaseem *et al.* (2010), l'activation de la spermatogenèse et l'augmentation du nombre et de la qualité des spermatozoïdes sous l'effet de l'extrait éthanolique de *S. hypoleuca* sont dues à l'augmentation de l'expression du gène CREM dans les testicules de rats *Wistar*. Selon El-Wakf *et al.* (2019), l'huile essentielle de *S. officinalis* a un effet anti-apoptotique sur les cellules germinales par diminution de l'expression des protéines apoptotiques (caspase-3, Bax). Egalement, Ibrahim *et al.* (2020) ont prouvé que la restauration de la spermatogenèse dans les testicules des rats traités par la doxorubicine/irradiation sous l'effet de l'extrait aqueux d'*Ocimum basilicum* (Lamiacée) dont l'acide rosmarinique est le principal constituant, est due à l'augmentation de la capacité antioxydante testiculaire totale, à une diminution de l'expression de la caspase-3, du cytochrome C, de Bax et de NF- $\kappa$ B et à l'élévation de Bcl2, et du marqueur de prolifération cellulaire (protéine Ki 67). En outre, Sakr & Nooh. (2013) ont observé que l'hypo-spermatogenèse et la diminution du nombre de couches de cellules germinales induites chez les rats intoxiqués au cadmium sont diminuées par l'extrait aqueux d'*Ocimum basilicum* en augmentant le rapport anti-apoptotique Bcl2/Bax et l'expression de la protéine Ki 67.

Dans notre travail, nous avons également montré une réduction de la fibrose inter-tubulaire dans les testicules des rats nourris avec le régime high fat (HFD) et traités avec l'extrait aqueux de *S. balansae*. Cette réduction pourrait être due à la diminution de la biosynthèse des collagènes fibrillaires et/ou à l'augmentation de sa dégradation. Sferra *et al.* (2012) ont prouvé que l'administration orale de l'extrait de *S. miltiorrhiza* réduit l'évolution de la fibrose hépatique chronique induite par la diméthylnitrosamine et diminue l'expression des collagènes I et III chez les souris via l'inhibition de la voie TGF- $\beta$ 1/Smad-3. Chez des rats

présentant une cirrhose hépatique induite par la tétrachlorométhane (CCl<sub>4</sub>), **Ramos-Tovar et al. (2019)** ont montré que l'extrait aqueux de *Stevia rebaudiana*, une plante antioxydante et antihyperglycémique diminue la fibrose hépatique et l'expression du Col-1 $\alpha$ , par la diminution de l'expression du TGF- $\beta$ 1, de la MMP-2 et de la MMP-13 et par l'augmentation de l'expression du Smad-7. **Zhang et al. (2015)** ont constaté que l'injection de *S. miltiorrhiza* chez des souris en surcharge chronique de fer réduit la fibrose cardiaque par une diminution d'expression des protéines de Col I, Col III, TGF- $\beta$  1 et MMP-9. Selon **(Yang et al., 2022)**, la diminution de la réticulation du collagène et l'accélération de la dégradation de la matrice extracellulaire dans les organes fibrotiques par la *S. miltiorrhiza* sont dues à l'inhibition de l'activité des fibroblastes et des myofibroblastes par la voie de signalisation TGF- $\beta$ /Smad.

# *Conclusion*

L'usage des plantes médicinales forme une ressource thérapeutique importante dans le traitement de diverses pathologies comme l'obésité, le diabète, la dyslipidémie et l'infertilité.

L'objectif de ce travail est l'étude phytochimique, l'évaluation des activités biologiques, antioxydantes et antidiabétiques *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia balansae* ainsi que la détermination de ses répercussions thérapeutiques possibles sur les désordres testiculaires, l'obésité nutritionnelle et ses troubles métaboliques associés chez le rat *Wistar* soumis à un régime alimentaire obésogène enrichi en graisse de mouton (HFD).

Nos résultats mettent en évidence des propriétés antioxydante et antidiabétique de l'extrait aqueux des feuilles de *S. balansae* qui pourraient être dues à sa teneur élevée en composés phénoliques totaux. Ces propriétés biologiques diminuent chez le rat *Wistar*, les perturbations métaboliques et fonctionnelles causées par un régime alimentaire riche en graisse en particulier l'obésité, le diabète de type 2, l'hyperlipidémie, l'inflammation, l'insuffisance hépatique et rénale, et le stress oxydant. En plus, le fonctionnement testiculaire perturbé par ce régime est complètement restauré par l'extrait de *S. balansae*, marqué par le rétablissement de la structure histologique des testicules, la réactivation de la spermatogenèse et l'augmentation de la production de testostérone par les cellules de Leydig.

Grace à ce modeste travail nous initions un champ d'investigation très important sur une Lamiacée du genre *Salvia* endémique stricte dans la wilaya de Mostaganem, citée et décrite dans les anciens ouvrages botaniques depuis 1800 mais jamais étudiée aux plans écologique, phytochimique, ethnobotanique et pharmacologique.

Ce travail ouvrira donc de nouvelles perspectives :

- ✓ Identification et isolement de molécules bioactives existantes dans les extraits d'organes de *Salvia balansae*.
- ✓ Poursuivre le travail sur l'impact de ces extraits sur la sphère génitale et l'axe gonadotrope mâle et femelle ainsi que sur l'obésité et les pathologies associées.
- ✓ Approfondir le travail sur les effets hépatoprotecteur, néphroprotecteur, antiinflammatoire, antidiabétique et antioxydant.
- ✓ Rechercher d'autres effets bénéfiques à la santé humaine et animale tels que les troubles neurologiques, cardiovasculaires, digestives, microbiologiques, anti-tumoraux, analgésiques, sédatives, dermatologiques, antivirales et antiparasitaires.

- ✓ Développement de nouvelles thérapies pour le traitement et le management de l'infertilité et des troubles métaboliques (obésité et ses maladies associées).

# *Références bibliographiques*

- Abarikwu, S. O., Simple, G., & Onuoha, C. S. (2020).** Morphometric evaluation of the seminiferous tubules and the antioxidant protective effects of gallic acid and quercetin in the testis and liver of butyl phthalate treated rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 35(1), 20–31. <https://doi.org/10.1007/s12291-018-0788-0>
- Abdollahi, A., Adelibahram, F., Ghassab-Abdollahi, N., Araj-Khodaei, M., Parsian, Z., & Mirghafourvand, M. (2022).** The effect of *Salvia officinalis* on blood glycemic indexes and blood lipid profile in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. <https://doi.org/10.1515/jcim-2021-0425>
- Abedpour, N., Zeinali, A., Karimipour, M., Pourheidar, B., Farjah, G. H., Abak, A., & Shoorei, H. (2022).** Protective effects of chlorogenic acid against ionizing radiation-induced testicular toxicity. *Heliyon*, 8(10), e10798. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10798>
- Abidi, S. Z. A., Shakir, H. A., & Ali, S. S. P. (2017).** Preliminary screening of some plants of Punjab, Pakistan for phytochemicals. *Biologia*, 63(2), 179–191.
- Adeoye, A. O., Adebayo, I. A., & Ajijolakewu, K. A. (2021).** Roles of phytometabolites in the management of obesity. In *Medicinal and Aromatic Plants* (pp. 352–372). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-58975-2\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-030-58975-2_15)
- Afonso, A. F., Pereira, O. R., & Cardoso, S. M. (2021).** *Salvia* species as nutraceuticals: Focus on antioxidant, antidiabetic and anti-obesity properties. *Applied Sciences*, 11(20), 1–26. <https://doi.org/10.3390/app11209365>
- Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., & Chyatte, M. R. (2015).** A unique view on male infertility around the globe. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0032-1>
- Ahn, M., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F., & Nakayama, T. (2007).** Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, 101(4), 1383–1392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.045>
- Ahn, Y. M., Kim, S. K., Lee, S. H., Ahn, S. Y., Kang, S. W., Chung, J. H., ... Lee, B. C. (2010).** Renoprotective effect of Tanshinone IIA, an active component of *Salvia miltiorrhiza*, on rats with chronic kidney disease. *Phytotherapy Research*, 24(12), 1886–1892. <https://doi.org/10.1002/ptr.3347>
- Ai, Z. L., Zhang, X., Ge, W., Zhong, Y. B., Wang, H. Y., Zuo, Z. Y., & Liu, D. Y. (2022).** *Salvia miltiorrhiza* extract may exert an anti-obesity effect in rats with high-fat diet-induced obesity by modulating gut microbiome and lipid metabolism. *World Journal of Gastroenterology*, 28(43), 6131–6156. <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i43.6131>
- Ait Chaouche, F. S., Mouhouche, F., & Hazzit, M. (2018).** Antioxidant capacity and total phenol and flavonoid contents of *Teucrium polium* L. grown in Algeria. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 11, 135–144. <https://doi.org/10.3233/MNM-17189>
- Aitken, R. J., Drevet, J. R., Moazamian, A., & Gharagozloo, P. (2022).** Male infertility and oxidative stress: A focus on the underlying mechanisms. *Antioxidants*, 11, 1–21. <https://doi.org/10.3390/antiox11020306>
- Akkol, E. K., Genç, Y., Karpuz, B., Sobarzo-Sánchez, E., & Capasso, R. (2020).** Coumarins and coumarin-related compounds in pharmacotherapy of cancer. *Cancers*, 12(7), 1959. <https://doi.org/10.3390/cancers12071959>

- Al-Alami, Z. M., Shraideh, Z. A., & Taha, M. O. (2016).** Rosmarinic acid reverses the effects of metronidazole-induced infertility in male albino rats. *Reproduction, Fertility and Development*, 29(10), 1910–1920. <https://doi.org/10.1071/RD16174>
- Al-Ani, I. M., Ku-Zaifah, N., Al-Joufi, F. A., Mokhtar, R. H., Talib, N. A., & Faisal, G. G. (2019).** Protective role of *Eurycoma longifolia* jack root extract against high-fat diet induced testicular damage in Sprague-dawley rats. *Pharmacognosy Journal*, 11(4), 808–811. <https://doi.org/10.5530/pj.2019.11.129>
- Al-Khalid, T., & El-Naas, M. H. (2012).** Aerobic biodegradation of phenols: a comprehensive review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 42(16), 1631–1690. <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.569872>
- Al-Otaibi, S. T. (2018).** Male infertility among bakers associated with exposure to high environmental temperature at the workplace. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 13(2), 103–107. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2017.12.003>
- Albasher, G. (2020).** Modulation of reproductive dysfunctions associated with streptozocin-induced diabetes by *Artemisia judaica* extract in rats fed a high-fat diet. *Molecular Biology Reports*, 47(1), 7517–7527. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05814-8>
- Aldaddou, W. A., Aljohani, A. S. M., Ahmed, I. A., Al-Wabel, N. A., & El-Ashmawy, I. M. (2023).** *Salvia officinalis* L. methanolic extract reduces lead and nicotine-induced sperm quality degeneration in male rats. *Chemistry & Biodiversity*, e202300115. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300115>
- Alesi, S., Villani, A., Mantzioris, E., Takele, W. W., Cowan, S., Moran, L. J., & Mousa, A. (2022).** Anti-inflammatory diets in fertility: an evidence review. *Nutrients*, 14(19), 1–21. <https://doi.org/10.3390/nu14193914>
- Alharbi, Y. M., Sakr, S. S., Albarrak, S. M., Almundarij, T. I., Barakat, H., & Hassan, M. F. Y. (2022).** Antioxidative, antidiabetic, and hypolipidemic properties of probiotic-enriched fermented camel milk combined with *Salvia officinalis* leaves hydroalcoholic extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Antioxidants*, 11(4), 1–19. <https://doi.org/10.3390/antiox11040668>
- Alimpić, A., Pljevljakušić, D., Šavikin, K., Knežević, A., Ćurčić, M., Veličković, D., ... Duletić-Laušević, S. (2015).** Composition and biological effects of *Salvia ringens* (Lamiaceae) essential oil and extracts. *Industrial Crops and Products*, 76, 702–709. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.053>
- Alshehri, F. S. (2023).** Resveratrol ameliorates vancomycin-induced testicular dysfunction in male rats. *Medicina*, 59(3), 486. <https://doi.org/10.3390/medicina59030486>
- Altintas, R., Ciftci, O., Aydin, M., Akpolat, N., Oguz, F., & Beytur, A. (2015).** Quercetin prevents docetaxel-induced testicular damage in rats. *Andrologia*, 47(3), 248–256. <https://doi.org/10.1111/and.12253>
- Altındağ, F., & Meydan, İ. (2021).** Evaluation of protective effects of gallic acid on cisplatin-induced testicular and epididymal damage. *Andrologia*, 53(10), 1–12. <https://doi.org/10.1111/and.14189>
- Amiri, M., & Tehrani, F. R. (2020).** Potential adverse effects of female and male obesity on fertility: a narrative review. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 18(3), e101776. <https://doi.org/10.5812/ijem.101776>

- Ammar, H., Touihri, I., Kholif, A. E., M'Rabet, Y., Jaouadi, R., Chahine, M., ... Hosni, K. (2022).** Chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of leaves of *Ajuga Iva*. *Molecules*, 27(20), 7102. <https://doi.org/10.3390/molecules27207102>
- Amoah, S. K., Sandjo, L. P., Kratz, J. M., & Biavatti, M. W. (2016).** Rosmarinic acid - pharmaceutical and clinical aspects. *Planta Medica*, 82(5), 388–406. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1568274>
- Amor, H., Hammadeh, M. E., Mohd, I., & Jankowski, P. M. (2022).** Impact of heavy alcohol consumption and cigarette smoking on sperm DNA integrity. *Andrologia*, 54(7), e14434. <https://doi.org/10.1111/and.14434>
- Ampatzidis, G., Georgakopoulou, D., & Kapsi, G. (2019).** Clitoris, the unknown: what do postgraduate students of educational sciences know about reproductive physiology and anatomy? *Journal of Biological Education*, 55(3), 1–11. <https://doi.org/10.1080/00219266.2019.1679658>
- Apovian, C. (2016).** Obesity: Definition, comorbidities, causes, and burden. *American Journal of Managed Care*, 22, 176–185.
- Arisha, S. M., Sakr, S. A., & Abd-elhaseeb, F. R. (2020).** *Cinnamomum zeylanicum* alleviate testicular damage induced by high fat diet in albino rats; histological and ultrastructural studies. *Heliyon*, 6(11), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05584>
- Aron, P. M., & Kennedy, J. A. (2008).** Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52, 79–104. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700137>
- Atten, M. J., Godoy-Romero, E., Attar, B. M., Milson, T., Zopel, M., & Holian, O. (2005).** Resveratrol regulates cellular PKC  $\alpha$  and  $\delta$  to inhibit growth and induce apoptosis in gastric cancer cells. *Investigational New Drugs*, 23(2), 111–119. <https://doi.org/10.1007/s10637-005-5855-8>
- Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Adepoju-bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., & Atangbayila, T. O. (2008).** Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1019–1024. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v7i3.14686>
- Babakhanzadeh, E., Nazari, M., Ghasemifar, S., & Khodadadian, A. (2020).** Some of the factors involved in male infertility: a prospective review. *International Journal of General Medicine*, 13, 29–41. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S241099>
- Baghaenezhad, M., Mollania, N., & Kazemi-Noreini, S. (2021).** Antioxidant capacities, antimicrobial activity, phenolic contents and  $\alpha$ -amylase Inhibitory of *Salvia leriifolia* extracts from sabzevar. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 45, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s40995-021-01162-9>
- Bagheri, Y., Keshtmand, Z., Rahbarghazi, R., Gharamaleki, M. N., Barati, A., Bagheri, S., ... Delashoub, M. (2020).** *Salvia officinalis* hydroalcoholic extract improved reproduction capacity and behavioral activity in rats exposed to immobilization stress. *Animal Science Journal*, 91(1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/asj.13382>
- Bagherpour, H., Malekshah, A. K., Amiri, F. T., & Azadbakht, M. (2019).** Protective effect of green tea extract on the deltamethrin-induced toxicity in mice testis : an experimental study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 17(5), 337–348. <https://doi.org/10.18502/ijrm.v17i5.4601>

- Bahcecioglu, I. H., Kuzu, N., Metin, K., Ozercan, I. H., Ustundag, B., Sahin, K., & Kucuk, O. (2010).** Lycopene prevents development of steatohepatitis in experimental nonalcoholic steatohepatitis model induced by high-Fat diet. *Veterinary Medicine International*, 2010, 1–8. <https://doi.org/10.4061/2010/262179>
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Barbagallo, F., Condorelli, R. A., Mongioì, L. M., Cannarella, R., Cimino, L., Magagnini, M. C., & Calogero, A. E. (2021).** Molecular mechanisms underlying the relationship between obesity and male infertility. *Metabolites*, 11(12), 840.
- Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., Pagán, R., & Laglaoui, A. (2014).** The effects of solvents polarity on the phenolic contents and antioxidant activity of three *Mentha* species extracts. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(11), 399–412.
- Barzegar, H., & Jooyandeh, H. (2022).** Evaluation of total phenol and flavonoids, antioxidant potential and antimicrobial activity of sage extract on some Gram-positive and Gram-negative bacteria “in vitro.” *Journal of Food Science and Technology*, 19(125), 195–203. <https://doi.org/10.22034/FSCT.19.125.195>
- Bassil, M., Daher, C. F., Mroueh, M., & Zeeni, N. (2015).** *Salvia libanotica* improves glycemia and serum lipid profile in rats fed a high fat diet. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0917-8>
- Baz, L., Algarni, S., Al-thepyani, M., Aldairi, A., & Gashlan, H. (2022).** Lycopene improves metabolic disorders and liver injury induced by a High-Fat diet in obese rats. *Molecules*, 27(22), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules27227736>
- Behairy, A., Hashem, M. M., Abo-El-Sooud, K., El-Metwally, A. E., Hassan, B. A., & Abd-Elhakim, Y. M. (2022).** Quercetin Abates aluminum trioxide nanoparticles and lead acetate induced altered sperm quality, testicular oxidative damage, and sexual hormones disruption in male rats. *Antioxidants*, 11(11), 2133. <https://doi.org/10.3390/antiox11112133>
- Belhadj, S., Hentati, O., Hammami, M., Ben Hadj, A., Boudawara, T., Dammak, M., ... El Feki, A. (2018).** Metabolic impairments and tissue disorders in alloxan-induced diabetic rats are alleviated by *Salvia officinalis* L. essential oil. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 985–995. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.108>
- Belkacem, N., Azzi, R., & Djaziri, R. (2022).** Phytochemical screening, total phenolics contents and in vitro antioxidant activity of *Salvia officinalis*, *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium* and *Marrubium vulgare*. *Phytothérapie*, 20(1). <https://doi.org/10.3166/phyto-2021-0255>
- Benabdesslem, Y., Hachem, K., Kahloula, K., Belakredar, A., & Slimani, M. (2020).** In vitro antimicrobial activity of aqueous, ethanolic and methanolic leaves extracts from *Salvia argentea*. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(11), 1683–1691. <https://doi.org/10.31838/srp.2020.11.236>
- Benabdesslem, Y., Hachem, K., Kahloula, K., & Slimani, M. (2017).** Ethnobotanical survey, preliminary physico-chemical and phytochemical screening of *Salvia argentea* (L.) used by herbalists of the Saïda province in Algeria. *Plants*, 6(4), 59. <https://doi.org/10.3390/plants6040059>

- Benzidia, B., Barbouchi, M., Hammouch, H., Belahbib, N., Zouarhi, M., Erramli, H., ... Hajjaji, N. (2018).** Chemical composition and antioxidant activity of tannins extract from green rind of Aloe vera (L.) Burm. F. *Journal of King Saud University-Science*, 31(4), 1175–1181. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.05.022>
- Bhasin, S., Cunningham, G. R., Hayes, F. J., Matsumoto, A. M., Snyder, P. J., Swerdloff, R. S., & Montori, V. M. (2010).** Testosterone therapy in men with androgen deficiency syndromes: An endocrine society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95(6), 2536–2559. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-2354>
- Bhushan, S., Aslani, F., Zhang, Z., Sebastian, T., Elsässer, H. P., & Klug, J. (2016).** Isolation of Sertoli cells and peritubular cells from rat testes. *Journal of Visualized Experiments*, 108, e53389. <https://doi.org/10.3791/53389>
- Birt, D. F., & Jeffrey, E. (2013).** Flavonoids. *Advances in Nutrition*, 4(5), 576–577. <https://doi.org/10.3945/an.113.004465>
- Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P. (2013).** Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from Limonium Brasiliense L. *Molecules*, 18(6), 6852–6865. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>
- Bliatka, D., Lymperi, S., Mastorakos, G., & Goulis, D. G. (2017).** Effect of endocrine disruptors on male reproduction in humans: why the evidence is still lacking? *Andrology*, 5(3), 404–407. <https://doi.org/10.1111/andr.12339>
- Boissonnas, C. C., Jouannet, P., & Jammes, H. (2013).** Epigenetic disorders and male subfertility. *Fertility and Sterility*, 99(3), 624–631. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.01.124>
- Bonesi, M., Loizzo, M. R., Acquaviva, R., Malfa, G. A., Aiello, F., & Tundis, R. (2017).** Anti-inflammatory and antioxidant agents from Salvia genus (Lamiaceae): An assessment of the current state of knowledge. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, 16, 70–86. <https://doi.org/10.2174/1871523016666170502121419>
- Bostanci, M. T., Bulbul, A. S., Celik, I. S., Kocabas, Y. Z., Burhan, H., Bayat, R., ... Karimi-Maleh, H. (2022).** Investigation of antibacterial, antifungal, antibiofilm, antioxidant and anticancer properties of methanol extracts of Salvia marashica İlçim, Celep & Doğan and Salvia caespitosa Montbret & Aucher ex Benth plants with medicinal importanc. *Chemosphere*, 288, 132602. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132602>
- Boudet, A. M. (2007).** Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68(22–24), 2722–2735. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.06.012>
- Boutahiri, S., Eto, B., Bouhrim, M., Mechchate, H., Saleh, A., Al Kamaly, O., ... Sahpaz, S. (2022).** Lavandula pedunculata (Mill.) Cav. aqueous extract antibacterial activity improved by the addition of Salvia rosmarinus Spenn., Salvia lavandulifolia Vahl and Origanum compactum Benth. *Life*, 12, 328. <https://doi.org/10.3390/life12030328>
- Bouzouina, M., Amari, N. O., Berkani, A., Lotmani, B., Hanafi, M., & Lazizi, A. (2016).** Total phenolics contents, flavonoids contents, and fatty acids compositions in Thymelaea hirsuta L. aerial parts, grown in Western Algeria. *Advances in Environmental Biology*, 10(1), 16–23.
- Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016).** Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21(7), 1–38. <https://doi.org/10.3390/molecules21070901>

- Broadhurst, R. B., & Jones, W. T. (1978).** Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9), 788–794.
- Buñay, J., Gallardo, L.-M., Torres-Fuentes, J. L., Aguirre-Arias, M. V., Orellana, R., Sepúlveda, N., & Moreno, R. D. (2020).** A decrease of docosahexaenoic acid in testes of mice fed a high-fat diet is associated with impaired sperm acrosome reaction and fertility. *Asian Journal of Andrology*, 22, 1–8. [https://doi.org/10.4103/aja.aja\\_76\\_20](https://doi.org/10.4103/aja.aja_76_20)
- Cao-Ngoc, P., Leclercq, L., Rossi, J.-C., Hertzog, J., Tixier, A.-S., Schmitt-Kopplin, P., & Cottet, H. (2020).** Water-based extraction of bioactive principles from blackcurrant leaves and chrysanthellum americanum: A comparative study. *Foods*, 9(10), 1–26. <https://doi.org/10.3390/foods9101478>
- Cao, X. ning, Shen, L. ju, Wu, S. de, Yan, C., Zhou, Y., Xiong, G., ... Wei, G. hui. (2017).** Urban fine particulate matter exposure causes male reproductive injury through destroying blood-testis barrier (BTB) integrity. *Toxicology Letters*, 266, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.12.004>
- Caro, J., Kolaczynski, J., Nyce, M., Ohannesian, J., Opentanova, I., Goldman, W., ... Considine, R. (1996).** Decreased cerebrospinal-fluid/ serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *The Lancet*, 348(9021), 159–161. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)03173-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)03173-x)
- Castellano, J. M., Navarro, V. M., Fernandez-Fernandez, R., Roa, J., Vigo, E., Pineda, R., ... Tena-sempere, M. (2006).** Expression of hypothalamic KiSS-1 system and rescue of defective gonadotropic responses by kisspeptin in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Diabetes*, 55(9), 2602–2610. <https://doi.org/10.2337/db05-1584>
- Chadni, M., Isidore, E., Lagalle, F., Langlait, M., Dosso, A., & Ioannou, I. (2023).** Optimization of the supercritical extraction of rosmarinic acid from clary sage residue and the antioxidant activity of the extracts. *The Journal of Supercritical Fluids*, 139, 105830. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2022.105830>
- Chan, D. C., Pang, J., & Watts, G. F. (2016).** Dyslipidemia in obesity. In *Metabolic Syndrome* (pp. 447–459). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-11251-0>
- Chang, W., Wu, M., Pan, H., Guo, P., & Lee, C. C. (2017).** Semen quality and insulin-like factor 3 : Associations with urinary and seminal levels of phthalate metabolites in adult males. *Chemosphere*, 173, 594–602. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.056>
- Charradi, K., Elkahoui, S., Karkouch, I., Limam, F., Ben Hassine, F., & Aouani, E. (2012).** Grape seed and skin extract prevents high-fat diet-induced brain lipotoxicity in rat. *Neurochemical Research*, 37(9), 2004–2013. <https://doi.org/10.1007/s11064-012-0821-2>
- Chaturvedi, R. K., & Beal, M. F. (2013).** Mitochondrial diseases of the brain. *Free Radical Biology and Medicine*, 63, 1–29. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.018>
- Chaudhary, P., Ahmad, S., & Khan, N. A. (2019).** Isolation and characterization of volatile oil by Gc-Ms analysis and screening of in vitro antioxidant potential of hydroalcoholic extracts of some indigenous plants of northern india in rodents. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 12(4), 1867–1880. <https://doi.org/10.13005/bpj/1817>
- Chaudhuri, G. R., Das, A., Kesh, S. B., Bhattacharya, K., Dutta, S., Sengupta, P., & Syamal, A. K. (2022).** Obesity and male infertility: multifaceted reproductive disruption. *Middle East Fertility Society Journal*, 27(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s43043-022-00099-2>

- Chauhan, N. S., Sharma, V., Dixit, V. K., & Thakur, M. (2014).** A review on plants used for improvement of sexual performance and virility. *BioMed Research International*, 2014, 19. <https://doi.org/10.1155/2014/868062>
- Chen, J., Chen, J., Fang, Y., Shen, Q., Zhao, K., Liu, C., & Zhang, H. (2023).** Microbiology and immune mechanisms associated with male infertility, 14, 1139450. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1139450>
- Cheon, H., Cho, J. M., Kim, S., Baek, S. H., Lee, M. K., Kim, K. W., ... Lee, M. S. (2010).** Role of JNK activation in pancreatic  $\beta$ -cell death by streptozotocin. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 321(2), 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.02.016>
- Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. (2013).** Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009>
- Chhikara, N., Kaur, R., Jaglan, S., Sharma, P., Gat, Y., & Panghal, A. (2018).** Bioactive compounds and pharmacological and food applications of: *Syzygium cumini*-a review. *Food and Function*, 9(12), 6096–6115. <https://doi.org/10.1039/c8fo00654g>
- Choi, S. I., Cho, I. H., Han, S. H., Jeon, Y. J., Choi, J. G., Kim, J. S., & Lee, J. H. (2016).** Antiobesity effects of *Salvia plebeia* R. Br. extract in high-fat diet-induced obese mice. *Journal of Medicinal Food*, 19(11), 1–9. <https://doi.org/10.1089/jmf.2016.3763>
- Chooi, Y. C., Ding, C., & Magkos, F. (2018).** The epidemiology of obesity. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 92, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.09.005>
- Chouabia, A., Djemli, S., Abdennour, C., Mallem, L., Kahalerras, L., Aakoub, F. Z., ... Tahraoui, A. (2021).** Protective effect of *Salvia officinalis* against cypermethrin-induced reprotoxicity in male Wistar rats. *Pharmacognosy Journal*, 13(6), 1413–1421. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.179>
- Christ, B., & Muller, K. H. (1960).** Zur serienmäßigen bestimmung des gehaltes an flavonol-derivaten in drogen. *Archiv Der Pharmazie*, 293(12), 1033–1042.
- Christensen, K. B., Jørgensen, M., Kotowska, D., Petersen, R. K., Kristiansen, K., & Christensen, L. P. (2010).** Activation of the nuclear receptor PPAR $\gamma$  by metabolites isolated from sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 127–133. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.054>
- Chroho, M., Bouymajane, A., Aazza, M., Oulad El Majdoub, Y., Cacciola, F., Mondello, L., ... Bouissane, L. (2022).** Determination of the phenolic profile, and evaluation of biological activities of hydroethanolic extract from aerial parts of *Origanum compactum* from Morocco. *Molecules*, 27, 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules27165189>
- Cormier, M., Ghouili, F., Roumaud, P., Martin, L. J., & Touaibia, M. (2017).** Influence of flavonols and quercetin derivative compounds on MA-10 Leydig cells steroidogenic genes expressions. *Toxicology in Vitro*, 44, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.06.027>
- Cornwall, G. A. (2009).** New insights into epididymal biology and function. *Human Reproduction Update*, 15(2), 213–227. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn055>
- Cowan, M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582. <https://doi.org/10.3109/9781420019919-17>

- Crean, A. J., & Senior, A. M. (2019).** High-fat diets reduce male fertility in animal models. *Obesity Reviews*, 20(6), 921–933. <https://doi.org/10.1111/obr.12827>
- Csige, I., Ujvárosy, D., Szabó, Z., István, L., Paragh, G., Harangi, M., & Somodi, S. (2018).** The impact of obesity on the cardiovascular system. *Journal of Diabetes Research*, 2018, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2018/3407306>
- D'souza, J. J., D'souza, P. P., Fazal, F., Kumar, A., Bhat, H. P., & Baliga, M. S. (2014).** Function Anti-diabetic e ffects of the Indian indigenous fruit Emblica o ffi cinalis Gaertn: active constituents and modes of action Jason. *Food & Function*, 5(4), 635–644. <https://doi.org/10.1039/c3fo60366k>
- Dabbous, Z., & Atkin, S. L. (2017).** Hyperprolactinaemia in male infertility: Clinical case scenarios. *Arab Journal of Urology*, 16(1), 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.aju.2017.10.002>
- Daghigh-Kia, H., Olfati-Karaji, R., Hoseinkhani, A., & Ashrafi, I. (2014).** Effect of rosemary (Rosmarinus officinalis) extracts and glutathione antioxidants on bull semen quality after cryopreservation. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12(1), 98–105. <https://doi.org/10.5424/sjar/2014121-4486>
- Dai, X., Ding, Y., Zhang, Z., Cai, X., & Li, Y. (2013).** Quercetin and quercitrin protect against cytokine-induced injuries in RINm5F  $\beta$ -cells via the mitochondrial pathway and NF- $\kappa$ B signaling. *International Journal of Molecular Medicine*, 31(1), 265–271. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2012.1177>
- Dai, X., Zhou, L. Y., Xu, T. T., Wang, Q. Y., Luo, B., Li, Y. Y., ... Yang, S. M. (2020).** Reproductive responses of the male brandt's vole, *Lasiopodomys brandtii* (Rodentia: Cricetidae) to tannic acid. *Zoologia*, 37, 1–11. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e52232>
- Dam, A. H., Feenstra, I., Westphal, J. R., Ramos, L., van Golde, R. J., & Kremer, J. A. M. (2007).** Globozoospermia revisited. *Human Reproduction Update*, 13(1), 63–75. <https://doi.org/10.1093/humupd/dml047>
- Davoodi, F., Taheri, S., Raisi, A., Rajabzadeh, A., Ahmadvand, H., Hablolvarid, M. H., & Zakian, A. (2020).** Theriogenology Investigating the sperm parameters, oxidative stress and histopathological effects of salvia miltiorrhiza hydroalcoholic extract in the prevention of testicular ischemia reperfusion damage in rats. *Theriogenology*, 144, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.002>
- Dawidowicz, A. L., & Olszowy, M. (2012).** Mechanism change in estimating of antioxidant activity of phenolic compounds. *Talanta*, 97, 312–317.
- Dawidowicz, A. L., Olszowy, M., & Józwik-Doleba, M. (2015).** Importance of solvent association in the estimation of antioxidant properties of phenolic compounds by DPPH method. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 4523–4529.
- De Bruyne, T., Pieters, L., Deelstra, H., & Vlietinck, A. (1999).** Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27, 445–459. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(98\)00101-X](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(98)00101-X)
- de Kretser, D. M. (1997).** Male infertility genetics - The future. *Journal of Andrology*, 349(9054), 787–790. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)08341-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)08341-9)

- de la Rosa, L. A., Moreno-Es, Camilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019).** Phenolic Compounds. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp. 253–271). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9>
- de Oliveira, E. P., & Burini, R. C. (2012).** High plasma uric acid concentration: causes and consequences. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, *4*(12), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-4-12>
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013).** Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants and Redox Signaling*, *18*(14), 1818–1892. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>
- Dessalegn, E. (2015).** In vitro antioxidant and  $\alpha$ -amylase inhibition activities of spiced red chili paste (datta) from South Ethiopia. *Ethiopian Pharmaceutical Journal*, *31*(2), 93–109. <https://doi.org/10.4314/epj.v31i2.2>
- Devillard, F., Metzler Guillemain, C., Pelletier, R., Derobertis, C., Bergues, U., Hennebicq, S., ... Rousseaux, S. (2002).** Polyploidy in large-headed sperm: FISH study of three cases. *Human Reproduction*, *17*(5), 1292–1298. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.5.1292>
- Diab, F., Zbeeb, H., Baldini, F., Portincasa, P., Khalil, M., & Vergani, L. (2022).** The potential of lamiaceae herbs for mitigation of overweight, obesity, and fatty liver: studies and perspectives. *Molecules*, *27*, 5043. <https://doi.org/10.3390/molecules27155043>
- Dif, M. M., Benyahia, M., Toumi Benali, F., Rahmani, M., & Bouazza, S. (2016).** Phenolic content and antioxidant activity of three algerian species of lavenders. *Phytothérapie*, *15*(6), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s10298-016-1028-5>
- Dinis, T. C., Madeira, V. M., & Almeida, L. M. (1994).** Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *315*(1), 161–169.
- Divella, R., Mazzocca, A., Daniele, A., Sabbà, C., & Paradiso, A. (2019).** Obesity, nonalcoholic fatty liver disease and adipocytokines network in promotion of cancer. *International Journal of Biological Sciences*, *15*(3), 610–616. <https://doi.org/10.7150/ijbs.29599>
- Dobrzyńska, M. M., Baumgartner, A., & Anderson, D. (2004).** Antioxidants modulate thyroid hormone- and noradrenaline-induced DNA damage in human sperm. *Mutagenesis*, *19*(4), 325–330. <https://doi.org/10.1093/mutage/geh037>
- Dohle, G. R., Smit, M., & Weber, R. F. A. (2003).** Androgens and male fertility. *World Journal of Urology*, *21*(5), 341–345. <https://doi.org/10.1007/s00345-003-0365-9>
- Duan, P., Hu, C., Quan, C., Yu, T., Zhou, W., Yuan, M., ... Yang, K. (2016).** 4-Nonylphenol induces apoptosis, autophagy and necrosis in Sertoli cells: Involvement of ROS-mediated AMPK/AKT-mTOR and JNK pathways. *Toxicology*, *341*, 28–40. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2016.01.004>
- Dudonne, S., Vitrac, X., Coutier, P., Woillez, M., & Mérillon, J. M. (2009).** Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(5), 1768–1774. <https://doi.org/10.1021/jf803011r>

- Dykes, L., & Rooney, L. W. (2006).** Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of Cereal Science*, 44, 236–251. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.06.007>
- Eda, S., Kaufmann, J., Roos, W., & Pohl, S. (1998).** Development of a new microparticle-enhanced turbidimetric assay for C- reactive protein with superior features in analytical sensitivity and dynamic range. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 12, 137–144. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2825\(1998\)12:3<137::AID-JCLA2>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2825(1998)12:3<137::AID-JCLA2>3.0.CO;2-6)
- Edwards, R. L., Lyon, T., Litwin, S. E., Rabovsky, A., Symons, J. D., & Jalili, T. (2007).** Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *Journal of Nutrition*, 137(11), 2405–2411. <https://doi.org/10.1093/jn/137.11.2405>
- Eidi, A., & Eidi, M. (2009).** Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 3(1), 40–44. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2008.10.007>
- El-Wakf, A. M., El-Habibi, E. S. M., Ali, D. A., Abd El-Ghany, E., & Elmougy, R. (2019).** Marjoram and sage oils protect against testicular apoptosis, suppressed Ki 67 expression and cell cycle arrest as a therapy for male infertility in the obese rats. *Food Biochemistry*, (1), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13080>
- El-wakf, A. M., Elhabibi, E. S. M., & Abd El-Ghany, E. (2015).** Preventing male infertility by marjoram and sage essential oils through modulating testicular lipid accumulation and androgens biosynthesis disruption in a rat model of dietary obesity. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(3), 167–175. <https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2015.05.005>
- El Gabbas, Z., Bezza, K., Laadraoui, J., Ait Laaradia, M., Kebbou, A., Oufquir, S., ... Chait, A. (2019).** *Salvia officinalis*, rosmarinic and caffeic acids attenuate neuropathic pain and improve function recovery after sciatic nerve chronic constriction in mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2019/1702378>
- Elfgen, V., Mietens, A., Mewe, M., Hau, T., & Middendorff, R. (2018).** Contractility of the epididymal duct: function, regulation and potential drug effects. *Reproduction*, 156(4), 125–141. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0754>
- Emad, A. S., & Sanaa, M. M. S. (2013).** Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(10), 528–539. <https://doi.org/10.5897/AJPP2013>.
- Erdemoglu, N., Turan, N. N., Cakıcı, I., Sener, B., & Aydın, A. (2006).** Antioxidant activities of some Lamiaceae plant extracts antioxidant. *Phytotherapy Research*, 20, 9–13. <https://doi.org/10.1002/ptr.1816>
- Eslam, M., & George, J. (2019).** Refining the role of epicardial adipose tissue in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology International*, 13(6), 662–664. <https://doi.org/10.1007/s12072-019-09990-z>
- Et-Touys, A., Fellah, H., Sebti, F., Mniouil, M., Aneb, M., Elboury, H., & Bakri, Y. (2016).** In vitro antileishmanial activity of extracts from endemic Moroccan medicinal plant *Salvia verbenaca* (L.) Briq. ssp *verbenaca* Maire (S. *clandestina* Batt. non L.). *Eur J Med Plants*, 16, 1–8. <https://doi.org/101583475>

- Fain, J. N., Madan, A. K., Hiler, M. L., Cheema, P., & Bahouth, S. W. (2004).** Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology*, *145*(5), 2273–2282. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1336>
- Falcão, L., & Araújo, M. E. M. (2013).** Tannins characterization in historic leathers by complementary analytical techniques ATR-FTIR, UV-Vis and chemical tests. *Journal of Cultural Heritage*, *14*(6), 499–508. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2012.11.003>
- Falcão, L., & Araújo, M. E. M. (2014).** Application of ATR-FTIR spectroscopy to the analysis of tannins in historic leathers: The case study of the upholstery from the 19th century Portuguese Royal Train. *Vibrational Spectroscopy*, *74*, 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2014.08.001>
- Fan, W., Xu, Y., Liu, Y., Zhang, Z., Lu, L., & Ding, Z. (2018).** Obesity or overweight, a chronic inflammatory status in male reproductive system, Leads to mice and human subfertility. *Frontiers in Physiology*, *8*, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01117>
- Fan, Y., Liu, Y., Xue, K., Gu, G., Fan, W., Xu, Y., & Ding, Z. (2015).** Diet-induced obesity in male C57BL/6 mice decreases fertility as a consequence of disrupted blood-testis barrier. *PLoS ONE*, *10*(4), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120775>
- Fang, Y., Su, Y., Xu, J., Hu, Z., Zhao, K., Liu, C., & Zhang, H. (2021).** Varicocele-mediated male infertility: from the perspective of testicular immunity and inflammation. *Frontiers in Immunology*, *12*, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.729539>
- Farzadi, L., Khaki, A., Ghasemzadeh, A., Ouladsahebmadarek, E., Ghadamkheir, E., Shadfar, S., & Khaki, A. A. (2011).** Effect of rosmarinic acid on sexual behavior in diabetic male rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *5*(16), 1906–1910. <https://doi.org/10.5897/AJPP11.463>
- Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, Á., Esquivel-Chirino, C., ... Morales-González, J. A. (2011).** Inflammation, oxidative stress, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, *12*(5), 3117–3132. <https://doi.org/10.3390/ijms12053117>
- Ferrer, J., Austin, M., Stewart, C., & Noel, J. (2008).** Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry*, *46*, 356–370. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.12.009>
- Filipe, H. AL, Sousa, C., Marquês, J. T., Vila-Viçosa, D., de Granada-Flor, A., Viana, A. S., ... de Almeida, R. F. (2018).** Differential targeting of membrane lipid domains by caffeic acid and its ester derivatives. *Free Radical Biology and Medicine*, *115*, 232–245. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.002>
- Fossati, P., & Prencipe, L. (1982).** Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*, *28*(10), 2077–2080. <https://doi.org/10.1093/clinchem/28.10.2077>
- Fossati, P., Prencipe, L., & Berti, G. (1980).** Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem.*, *26*(2), 227–231.

- Francik, S., Francik, R., Sadowska, U., Bystrowska, B., Zawislak, A., Knapczyk, A., & Nzeyimana, A. (2020).** Identification of phenolic compounds and determination of antioxidant activity in extracts and infusions of salvia leaves. *Materials*, *13*(24), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ma13245811>
- Funes, A., Lancellotti, T. E. S., Santillan, L. D., Della Vedova, M. C., Monclus, M. A., Cabrillana, M. E., ... Fornes, M. W. (2019).** A chronic high-fat diet causes sperm head alterations in C57BL/6J mice. *Heliyon*, *5*(11), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02868>
- Galdon, G., Atala, A., & Sadri-ardekani, H. (2016).** In vitro spermatogenesis: how far from clinical application ?, *17*, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11934-016-0605-3>
- Gaur, D., Talekar, M., & Pathak, V. (2010).** Alcohol intake and cigarette smoking: impact of two major lifestyle factors on male fertility. *Ndian Journal of Pathology and Microbiology*, *53*(1), 35. <https://doi.org/10.4103/0377-4929.59180>
- Gebru, A., Sibhat, G., & Hiben, M. (2014).** Preliminary phytochemical screening and blood glucose lowering activity of methanol extract of *Salvia tilifolia* Vahl aerial part. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive*, *5*(5), 122–125.
- George, J. T., Millar, R., & Anderson, R. A. (2010).** Hypothesis: kisspeptin mediates male hypogonadism in obesity and type 2 diabetes. *Neuroendocrinology*, *91*(4), 302–307. <https://doi.org/10.1159/000299767>
- Georgy, G. S., & Maher, O. W. (2017).** Ellagic acid and rosmarinic acid attenuate doxorubicin-induced testicular injury in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, *31*(9), 1–6. <https://doi.org/10.1002/jbt.21937>
- Gezek, G., Hashemi, P., Kalaycioğlu, Z., Kaygusuz, H., Sarıoğlu, G., Döker, S., ... Erim, F. B. (2019).** Evaluation of some Turkish *Salvia* species by principal component analysis based on their vitamin B2, mineral composition, and antioxidant properties. *LWT*, *100*, 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.066>
- Ghanimi, R., Ouhammou, A., El Atki, Y., El Hassan Bouchari, M., & Cherkaoui, M. (2022).** The antioxidant activities of ethanolic, methanolic, ethyl acetate, and aqueous extracts of the endemic species, *Lavandula mairei* Humbert (A comparative study between cold and hot extraction). *Ethiopian Journal of Health Sciences*, *32*(6), 1231–1236. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v32i6.21>
- Ghorbel Koubaa, F., Chaâbane, M., Chiab, N., Jdidi, H., Sefi, M., Boudawara, O., ... El Feki, A. (2022).** Beneficial effects of *Salvia officinalis* essential oil on vanadium-induced testicular injury, DNA damage and histological alterations in Wistar rats. *BioMetals*, *35*(5), 833–851. <https://doi.org/10.1007/s10534-022-00407-3>
- Ghosh, S., & Mukherjee, S. (2018).** Testicular germ cell apoptosis and sperm defects in mice upon long-term high fat diet feeding. *Journal of Cellular Physiology*, *233*(10), 6896–6909. <https://doi.org/10.1002/jcp.26581>
- Ghowsi, M., Yousofvand, N., & Moradi, S. (2020).** Effects of *Salvia officinalis* L. (common sage) leaves tea on insulin resistance, lipid profile, and oxidative stress in rats with polycystic ovary: an experimental study. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, *10*(3), 263–272.

- Gianatti, E. J., & Grossmann, M. (2020).** Review article testosterone deficiency in men with type 2 diabetes: pathophysiology and treatment. *Diabetic Medicine*, 37(2), 174–186. <https://doi.org/10.1111/dme.13977>
- Gin, H., Rigalleau, V., Caubet, O., Masquelier, J., & Aubertin, J. (1999).** Effects of red wine, tannic acid, or ethanol on glucose tolerance in non-insulin-dependent diabetic patients and on starch digestibility in vitro. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 48(9), 1179–1183. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(99\)90135-X](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(99)90135-X)
- Gómez-Elías, M. D., Cáceres Rainero, T. S., Giaccagli, M. M., Guazzone, V. A., Dalton, G. n, De Siervi, A., ... Da Ros, V. G. (2019).** Association between high-fat diet feeding and male fertility in high reproductive performance mice. *Scientific Reports*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54799-3>
- Gonzales, F. G. (2001).** Function of seminal vesicles and their role on male fertility. *Asian Journal of Andrology*, 3, 251–258.
- Grasel, F. D. S., Ferrão, M. F., & Wolf, C. R. (2016).** Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153, 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.08.020>
- Groth, K., Skakkebaek, A., Høst, C., Gravholt, C., & Bojesen, A. (2013).** Klinefelter syndrome-a clinical update. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(1), 20–30. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-2382>
- Grzegorzczak-Karolak, I., & Kiss, A. K. (2018).** Determination of the phenolic profile and antioxidant properties of *Salvia viridis* L. shoots: a comparison of aqueous and hydroethanolic extracts. *Molecules*, 23, 1468. <https://doi.org/10.3390/molecules23061468>
- Grzegorzczak-Karolak, I., Krzemińska, M., Kiss, A. K., Olszewska, M. A., & Aleksandra, O. (2020).** Phytochemical profile and antioxidant activity of aerial and underground parts of *salvia bulleyana* diels. *Plants. Metabolites*, 10, 1–18. <https://doi.org/10.3390/metabo10120497>
- Guilherme, A., Virbasius, J. V, Puri, V., & Czech, M. P. (2008).** Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9, 367–377. <https://doi.org/10.1038/nrm2391>
- Gunathilake, K. D. P. P., & Ranaweera, K. K. D. S. (2016).** Antioxidative properties of 34 green leafy vegetables. *Journal of Functional Foods*, 26, 176–186. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.07.015>
- Güney, A. I., Javadova, D., Kirac, D., Ulucan, K., Koc, G., Ergec, D., ... Tarcan, T. (2012).** Detection of Y chromosome microdeletions and mitochondrial DNA mutations in male infertility patients. *Genetics and Molecular Research*, 11(2), 1039–1048. <https://doi.org/10.4238/2012.April.27.2>
- Guo, H., Xia, M., Zou, T., Ling, W., Zhong, R., & Zhang, W. (2012).** Cyanidin 3-glucoside attenuates obesity-associated insulin resistance and hepatic steatosis in high-fat diet-fed and db/db mice via the transcription factor FoxO1. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(4), 349–360. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.12.013>
- Gupta, V. K., & Sharma, S. K. (2006).** Plants as natural antioxidants. *Natural Product Radianance*, 5, 326–334.

- Gutiérrez-Cuevas, J., Sandoval-rodriguez, A., Meza-rios, A., Monroy-Ramírez, H. C., Galicia-Moreno, M., García-Bañuelos, J., ... Armendariz-Borunda, J. (2021).** Molecular mechanisms of obesity-linked cardiac dysfunction : an up-date on current knowledge. *Cells*, *10*(3), 629. <https://doi.org/10.3390/cells10030629>
- Hajhosseini, L., Khaki, A., Merat, E., & Ainehchi, N. (2013).** effect of rosmarinic acid on Sertoli cells apoptosis and serum antioxidant levels in rats after exposure to electromagnetic fields. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, *10*, 477–480. <https://doi.org/10.4314/ajtcam//.v10i6.14>
- Hammami, I., Ben Ali, R., Nahdi, A., Boussada, M., Mahjoub, R., Bibi, A., & El May, M. V. (2022).** Kefir milk consumption decreases sperm alterations due to the high-fat diet in adult male rats. *Andrologia*, *54*(7), 1631–1642. <https://doi.org/10.1111/and.14428>
- Han, A., Zou, L., Gan, X., Li, Y., Liu, F., Chang, X., ... Sun, Y. (2018).** ROS generation and MAPKs activation contribute to the Ni-induced testosterone synthesis disturbance in rat Leydig cells. *Toxicology Letters*, *290*, 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.03.016>
- Harborne, J. B. (1973).** *Phytochemical Methods*. London: Chapman and Hall, Ltd.
- Harborne, J. B. (2005).** *Phytochemical Methods : a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (3rd ed.). New Delhi India: Springer (India) Pvt. Ltd.
- Haslam, E. (1996).** Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action. *Journal of Natural Products*, *59*(2), 205–215. <https://doi.org/10.1021/np960040+>
- Hausman, G. J., Barb, C. R., & Lents, C. A. (2012).** Leptin and reproductive function. *Biochimie*, *94*(10), 2075–2081. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.02.022>
- Heilbronn, L. K., & Campbell, L. V. (2008).** Adipose tissue macrophages , low grade inflammation and insulin resistance in human obesity. *Current Pharmaceutical Design*, *14*(12), 1225–1230. <https://doi.org/10.2174/138161208784246153>
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002).** Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *13*, 572–584. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5)
- Henkel, R. (2022).** Oxidative stress and toxicity in reproductive biology and medicine: a comprehensive update on male infertility volume II-conclusion. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *1391*, 137–159. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-12966-7\\_19](https://doi.org/10.1007/978-3-031-12966-7_19)
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* (2004), *2*(1), 3–6. <https://doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8>
- Hernandez-Saavedra, D., Perez-Ramirez, I. F., Ramos-Gomez, M., Mendoza-Diaz, S., Loarca-Pina, G., & Reynoso-Camacho, R. (2016).** Phytochemical characterization and effect of *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum*, and *Salvia officinalis* infusions on obesity-associated cardiovascular risk. *Medicinal Chemistry Research*, *25*(1), 163–172. <https://doi.org/10.1007/s00044-015-1454-1>
- Hofmann, M. C., & McBeath, E. (2022).** Sertoli cell-germ cell interactions within the niche: paracrine and juxtacrine molecular communications. *Frontiers in Endocrinology*, *13*, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.897062>

- Hossain, M. K., Dayem, A. A., Han, J., Yin, Y., Kim, K., Saha, S. K., ... Cho, S. (2016).** Molecular mechanisms of the anti-obesity and anti-diabetic properties of flavonoids. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(4), 569. <https://doi.org/10.3390/ijms17040569>
- Hoult, J., & Paya, M. (1996).** Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. *General Pharmacology: The Vascular System*, 27(4), 713–722. [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(95\)02112-4](https://doi.org/10.1016/0306-3623(95)02112-4)
- Hruby, A., & Hu, F. B. (2015).** The epidemiology of obesity: a big picture. *Pharmacoeconomics*, 33, 673–689. <https://doi.org/10.1007/s40273-014-0243-x>
- Hsu, C. L., & Yen, G. C. (2006).** Induction of cell apoptosis in 3T3-L1 pre-adipocytes by flavonoids is associated with their antioxidant activity. *Molecular Nutrition and Food Research*, 50(11), 1072–1079. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600040>
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841–1856.
- Ibrahim, R. Y. M., Mansour, S. M., & Elkady, W. M. (2020).** Salvia officinalis L. methanolic extract reduces lead and nicotine-induced sperm quality degeneration in male rats. *Pharmacy and Pharmacology*, 72, 101–110. <https://doi.org/10.1111/jphp.13175>
- Ilani, N., Armanious, N., Lue, Y. H., Swerdloff, R. S., Baravarian, S., Adler, A., ... Wang, C. (2012).** Integrity of the blood-testis barrier in healthy men after suppression of spermatogenesis with testosterone and levonorgestrel. *Human Reproduction*, 27(12), 3403–3411. <https://doi.org/10.1093/humrep/des340>
- İnan, Y., Kurt-Celep, I., Akyüz, S., Barak, T., Celep, E., & Yesilada, E. (2021).** An investigation on the enzyme inhibitory activities, phenolic profile and antioxidant potentials of Salvia virgata Jacq. *South African Journal of Botany*, 143, 350–358. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.12.007>
- Jambor, T., Arvay, J., Ivanisova, E., Tvrda, E., Kovacik, A., Greifova, H., & Lukac, N. (2020).** Investigation of the properties and effects of Salvia officinalis L. on the viability, steroidogenesis and reactive oxygen species (ROS) production in TM3 leydig cells in vitro. *Physiological Research*, 69(4), 661–673. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934457>
- James, E. R., Carrell, D. T., Aston, K. I., Jenkins, T. G., Yeste, M., & Salas-Huetos, A. (2020).** The role of the epididymis and the contribution of epididymosomes to mammalian reproduction. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ijms21155377>
- Jasem, E., Nasim, J., Gholamreza, M., Naser, S., Nader, M., Maryam, S. L., ... Vahid, R. (2010).** Evaluation of the effects of Salvia hypoleuca on the cAMP-responsive element modulator (CREM) gene expression and spermatogenesis in rat. *Middle East Fertility Society Journal*, 15(4), 274–277. <https://doi.org/10.1016/j.mefs.2010.08.002>
- Jedidi, S., Aloui, F., Selmi, S., Selmi, H., Sammari, H., Ayari, A., ... Sebai, H. (2022).** Antioxidant properties of Salvia officinalis decoction extract and mechanism of its protective effects on ethanol-induced liver and kidney injuries. *Journal of Medicinal Food*, 1–11. <https://doi.org/10.1089/jmf.2021.0134>
- Jia, G., Hill, M. A., & Sowers, J. R. (2018).** Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity. *Circulation Research*, 122(4), 624–638. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311586>

- Jia, Y. F., Feng, Q., Ge, Z. Y., Guo, Y., Zhou, F., Zhang, K. S., ... Gu, Y. Q. (2018).** Obesity impairs male fertility through long term effects on spermatogenesis. *BMC Urology*, *18*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12894-018-0360-5>
- Jin, P., Wang, X., Chang, F., Bai, Y., Li, Y., Zhou, R., & Chen, L. (2013).** Low dose bisphenol A impairs spermatogenesis by suppressing reproductive hormone production and promoting germ cell apoptosis in adult rats. *Journal of Biomedical Research*, *27*(2), 135–144. <https://doi.org/10.7555/JBR.27.20120076>
- Juan, M. E., González-Pons, E., Munuera, T., Ballester, J., Rodríguez-Gil, J. E., & Planas, J. M. (2005).** trans-Resveratrol, a natural antioxidant from grapes, increases sperm output in healthy rats. *Journal of Nutrition*, *135*(4), 757–760. <https://doi.org/10.1093/jn/135.4.757>
- Kabach, I., Mrid, R. Ben, Bouchmaa, N., Bouargalne, Y., Zyad, A., & Nhiri, M. (2019).** Phytochemical screening, antioxidant and cytotoxic activities of *M. vulgare*. *International Journal of Pharmaceutical Research*, *11*(3), 338–345. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2019.11.03.055>
- Kamatou, G. P. P., Viljoen, A. M., & Steenkamp, P. (2010).** Antioxidant, antiinflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species. *Food Chemistry*, *119*(2), 684–688. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.010>
- Kanter, M., Aktoz, T., Aktas, C., Ozen, F., Yarali, O., & Kanter, B. (2016).** Role of quercetin in cadmium-induced oxidative stress, testicular damage, and apoptosis in rats. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, *38*(1), 45–51. <https://doi.org/10.1177/0748233713486960>
- Karimi, S., Hosseinimehr, S. J., Mohammadi, H. R., Khalatbary, A. R., & Amiri, F. T. (2018).** *Zataria multiflora* ameliorates cisplatin-induced testicular damage via suppression of oxidative stress and apoptosis in a mice model. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *21*, 607–614. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2018.26784.6558>
- Karousou, R., Hanlidou, E., & Kokkini, S. (2000).** The sage plants of Greece: distribution and infraspecific variation. In *Sage, the Genus Salvia* (1st ed., pp. 26–47). Taylor and Francis, Netherlands: Harwood Academic Publishers.
- Katib, A. (2015).** Mechanisms linking obesity to male infertility. *Central European Journal of Urology*, *68*(1), 79–85. <https://doi.org/10.5173/ceju.2015.01.435>
- Katragadda, V., Adem, M., Anjum, R., Mohammad, R. A., Bhasyam, S. S., & Battini, K. (2020).** Testosterone recuperates deteriorated male fertility in cypermethrin intoxicated rats. *Toxicological Research*, *37*, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s43188-020-00046-1>
- Kelly, C., Bolton, D., & Fogarty, W. (1997).** Bi-phasic production of  $\alpha$ -amylase of *Bacillus flavothermus* in batch fermentation. *Biotechnology*, *19*(7), 675–677. <https://doi.org/10.1023/A:1018347017004>
- Kelly, D. M., & Jones, T. H. (2015).** Testosterone and obesity. *Obesity Reviews*, *14*(7), 581–606. <https://doi.org/10.1111/obr.12282>
- Kerr, J., Millar, M., Maddocks, S., & Sharpe, R. (1993).** stage-dependent changes in spermatogenesis and sertoli cells in relation to the onset of spermatogenic failure following withdrawal of testosterone. *The Anatomical Record*, *235*(4), 547–559. <https://doi.org/10.1002/ar.1092350407>

- Khalil, S. S., Aziz, J. A., Ismail, K. A., & El-malkey, N. F. (2021).** Comparative protective effects of N -acetylcysteine and melatonin against obesity-induced testicular dysfunction in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 99(999), 1–12. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2020-0499>
- Khazamipour, N., Noruzinia, M., Fatehmanesh, P., Keyhaneh, M., & Pujol, P. (2009).** MTHFR promoter hypermethylation in testicular biopsies of patients with non-obstructive azoospermia: The role of epigenetics in male infertility. *Human Reproduction*, 24(9), 2361–2364. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep194>
- Khiya, Z., Oualcadi, Y., Gamar, A., Berrekhis, F., Zair, T., & El Hilali, F. (2021).** Correlation of total polyphenolic content with antioxidant activity of hydromethanolic extract and their fractions of the *Salvia officinalis* leaves from different regions of Morocco. *Journal of Chemistry*, 2021, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2021/8585313>
- Khodamoradi, K., Khosravizadeh, Z., Seetharam, D., Mallepalli, S., Farber, N., & Arora, H. (2022).** The role of leptin and low testosterone in obesity. *International Journal of Impotence Research*, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41443-022-00534-y>
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013).** Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>
- Kianbakht, S., Abasi, B., Perham, M., & Dabaghian, F. H. (2011).** Antihyperlipidemic effects of *Salvia officinalis* L. leaf extract in patients with hyperlipidemia: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Phytotherapy Research*, 25(12), 1849–1853. <https://doi.org/10.1002/ptr.3506>
- Kotronen, A., & Yki-Järvinen, H. (2008).** Fatty liver: a novel component of the metabolic syndrome. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 28(1), 27–38. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.147538>
- Koubaa-ghorbel, F., Chaâbane, M., Turkil, M., Makni-Ayadi, F., & El Feki, A. (2020).** The protective effects of *Salvia officinalis* essential oil compared to simvastatin against hyperlipidemia, liver, and kidney injuries in mice submitted to a high-fat diet. *Food Biochemistry*, 44, e13160. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13160>
- Kremr, D., Bajer, T., Bajerová, P., Surmová, S., & Ventura, K. (2016).** Unremitting problems with chlorogenic acid nomenclature: a review. *Química Nova*, 39(4), 530–533. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160063>
- Krinke, G. J. (2000).** *The laboratory rat*. Elsevier, P323-344.
- Kwon, J. Y., Seo, S. G., Yue, S., Cheng, J. X., Lee, K. W., & Kim, K. H. (2012).** An inhibitory effect of resveratrol in the mitotic clonal expansion and insulin signaling pathway in the early phase of adipogenesis. *Nutrition Research*, 32(8), 607–616. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2012.06.014>
- Lafay, S., & Gil-Izquierdo, A. (2008).** Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*, 7, 301–311. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9077-x>
- Lainez, N. M., & Coss, D. (2019).** Obesity, neuroinflammation, and reproductive function. *Endocrinology*, 160(11), 2719–2736. <https://doi.org/10.1210/en.2019-00487>
- Łakoma, K., Kukharuk, O., & Śliż, D. (2023).** The influence of metabolic factors and diet on fertility. *Nutrients*, 15(5), 1–25. <https://doi.org/10.3390/nu15051180>

- Lamblin, F., Hano, C., Fliniaux, O., Mesnard, F., Fliniaux, M.-A., & Lainé, É. (2008).** Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement de cancers. *Médecine/Sciences*, 24(5), 511–520. <https://doi.org/10.1051/medsci/2008245511>
- Le, K., Chiu, F., & Ng, K. (2007).** Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105, 353–363. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.063>
- Le Tortorec, A., Denis, H., Satie, A. P., Patard, J., Ruffault, A., Jégou, B., & Dejuq Rainsford, N. (2008).** Antiviral responses of human Leydig cells to mumps virus infection or poly I:C stimulation. *Human Reproduction*, 23(9), 2095–2103. <https://doi.org/10.1093/humrep/den207>
- Leaver, R. B. (2016).** Male infertility: an overview of causes and treatment options. *British Journal of Nursing*, 25(18), 35–40. <https://doi.org/10.12968/bjon.2016.25.18.S35>
- Lee, M. H., Kundu, J. K., Keum, Y. S., Cho, Y. Y., Surh, Y. J., & Choi, B. Y. (2014).** Resveratrol inhibits IL-6-induced transcriptional activity of AR and STAT3 in human prostate cancer LNCaP-FGC cells. *Biomolecules and Therapeutics*, 22(5), 426–430. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2014.061>
- Leisegang, K., Sengupta, P., Agarwal, A., & Henkel, R. (2020).** Obesity and male infertility: Mechanisms and management. *Andrologia*, 53(1), 1–14. <https://doi.org/10.1111/and.13617>
- Li, C., Zhou, W., Li, M., Shu, X., Zhang, L., & Ji, G. (2021).** Salvia-Nelumbinis naturalis extract protects mice against MCD diet-induced steatohepatitis via activation of colonic FXR-FGF15 pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111587>
- Li, H., Liu, G., Wan, X., Zhou, L., Qin, Z.-B., Zhang, H., ... Zhang, W. J. (2022).** ZBTB20 regulates plasma triglyceride metabolism by repressing lipoprotein lipase gene transcription in hepatocytes. *Hepatology*, 75, 1169. <https://doi.org/10.1002/hep.32176>
- Li, W., Yao, R., Xie, L., Liu, J., Weng, X., Yue, X., & Li, F. (2021).** Dietary supplementation of grape seed tannin extract stimulated testis development, changed fatty acid profiles and increased testis antioxidant capacity in pre-puberty hu lambs. *Theriogenology*, 172, 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.06.015>
- Li, X., Wang, Z., Jiang, Z., Guo, J., Zhang, Y., Li, C., ... Chen, H. (2016).** Regulation of seminiferous tubule-associated stem Leydig cells in adult rat testes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(10), 2666–2671. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519395113>
- Lima, C. F., Valentao, P. C. R., Andrade, P. B., Seabra, R. M., Fernandes-Ferreira, M., & Pereira-Wilson, C. (2007).** Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 167(2), 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.01.020>
- Liu, X., Kim, J. K., Li, Y., Li, J., Liu, F., & Chen, X. (2005).** Tannic acid stimulates glucose transport and inhibits adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *The Journal of Nutrition*, 135(2), 165–171. <https://doi.org/10.1093/jn/135.2.165>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010).** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Review*, 4, 118–126.
- Lucas, X. (2014).** Clinical use of deslorelin (GnRH agonist) in companion animals: a review. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(4), 64–71. <https://doi.org/10.1111/rda.12388>

- Ludwig, I. A., Mena, P., Calani, L., Borges, G., Pereira-Caro, G., Bresciani, L., ... Crozier, A. (2015).** New insights into the bioavailability of red raspberry anthocyanins and ellagitannins. *Free Radical Biology and Medicine*, 89, 758–769. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.10.400>
- Luño, V., Gil, L., Olaciregui, M., González, N., Jerez, R. A., & de Blas, I. (2014).** Rosmarinic acid improves function and in vitro fertilising ability of boar sperm after cryopreservation. *Cryobiology*, 69(1), 157–162. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.07.002>
- Lv, Z., Ling, M., & Chen, C. (2020).** Comparative proteomics reveals protective effect of resveratrol on a high-fat diet-induced damage to mice testis. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 66(1), 37–49. <https://doi.org/10.1080/19396368.2019.1701138>
- Macheix, J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques.
- Mahdizadeh, R., Moein, S., Soltani, N., Malekzadeh, K., & Moein, M. (2018).** Study the molecular mechanism of Salvia species in prevention of diabetes. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(11), 4512–4521. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9\(11\).4512-21](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(11).4512-21)
- Mahomoodally, M. F., Subratty, A. H., Choudhary, M. I., & Khan, S. N. (2012).** Traditional medicinal herbs and food plants have the potential to inhibit key carbohydrate hydrolyzing enzymes in vitro and reduce postprandial blood glucose peaks in vivo. *The Scientific World Journal*, 2012, 1–9. <https://doi.org/10.1100/2012/285284>
- Maliki, I., Almehdi, A. M., Abdel-Rahman, I., El Moussaoui, A., & Ouahbi, A. (2020).** Phytochemical screening and the antioxidant, antibacterial and antifungal activities of aqueous extracts from the leaves of Lippia triphylla planted in Morocco. *Moroccan Journal of Chemistry*, 8(4), 943–956.
- Maliki, I., El Moussaoui, A., El msellem, H., Ramdani, M., & El badaoui, K. (2021).** Phytochemical screening and the antioxidant, antibacterial and antifungal activities of aqueous extracts from the leaves of Salvia officinalis planted in Morocco. *Moroccan Journal of Chemistry*, 9(2), 354–368. <https://doi.org/10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v9i2.24840>
- Mann, U., Shiff, B., & Patel, P. (2020).** Reasons for worldwide decline in male fertility. *Current Opinion in Urology*, 30(3), 296–301. <https://doi.org/10.1097/MOU.0000000000000745>
- Mannucci, A., Argento, F. R., Fini, E., Coccia, M. E., Taddei, N., Becatti, M., & Fiorillo, C. (2022).** The impact of oxidative stress in male infertility. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.799294>
- Mao, L., Hochstetter, D., Yao, L., Zhao, Y., Zhou, J., Wang, Y., & Xu, P. (2019).** Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) attenuates neuroinflammation in palmitic acid-stimulated BV-2 microglia and high-fat diet-induced obese mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 5081. <https://doi.org/10.3390/ijms20205081>
- Marković, Z., Amić, D., Milenković, D., Dimitrić-Marković, J. M., & Marković, S. (2013).** Examination of the chemical behavior of the quercetin radical cation towards some bases. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15, 7370–7378.

- Marrag, I., Hajji, K., Braham, M. Y., Dhifallah, M., & Nasr, M. (2015).** Antipsychotics and hyperprolactinemia: prevalence and risk factors. *Ann Psychiatry Ment Health*, 3(6), 1047.
- Martins, A. D., Moreira, A. C., Sá, R., Monteiro, M. P., Sousa, M., Carvalho, R. A., ... Alves, M. G. (2015).** Leptin modulates human Sertoli cells acetate production and glycolytic profile: a novel mechanism of obesity-induced male infertility? *Biochimica et Biophysica Acta*, 1852(9), 1824–1832. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.06.005>
- Martoja, R., & Martoja-Pierson, M. (1967).** *Initiation aux techniques de l'histologie animale*. Eds Masson et cie, Paris, 343p. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(81\)90112-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(81)90112-3)
- Maxwell, S. R. J., Thomason, H., Sandler, D., Leguen, C., Baxter, M. A., Thorpe, G. H. G., ... Barnett, A. H. (1997).** Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *European Journal of Clinical Investigation*, 27(6), 484–490. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.1997.1390687.x>
- Mazzachi, B., Peake, M., & Ehrhardt, V. (2000).** Reference range and method comparison studies for enzymatic and Jaffé creatinine assays in plasma and serum and early morning urine. *Clin Lab*, 46, 53–55.
- Mazzilli, R., Medenica, S., Di Tommaso, A. M., Fabozzi, G., Zamponi, V., Cimadomo, D., ... Defeudis, G. (2023).** The role of thyroid function in female and male infertility: a narrative review. *Journal of Endocrinological Investigation*, 46, 15–26. <https://doi.org/10.1007/s40618-022-01883-7>
- Mbaveng, A. T., Hamm, R., & Kuete, V. (2014).** *Harmful and protective effects of terpenoids from african medicinal plants. Toxicological Survey of African Medicinal Plants*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800018-2.00019-4>
- Medjeldi, S., Bouslama, L., Benabdallah, A., Essid, R., Haou, S., & Elkahoui, S. (2018).** Biological activities, and phytochemicals of northwest algeria *Ajuga reptans* (L.) extracts: partial identification of the antibacterial fraction. *Microbial Pathogenesis*, 212, 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.022>
- Mehraban, Z., Novin, M. G., Golmohammadi, M., Sagha, M., Ali Ziai, S., Abdollahifar, M. A., & Nazarian, H. (2020).** Protective effect of gallic acid on testicular tissue, sperm parameters, and DNA fragmentation against toxicity induced by cyclophosphamide in adult NMRI mice. *Urology Journal*, 17, 78–85. <https://doi.org/10.22037/uj.v0i0.4858>
- Menad, R., Smaï, S., Moudilou, E., Khammar, F., Exbrayat, E.-M., & Gernigon-Spychalowicz, T. (2014).** Immunolocalization of estrogen and androgen receptors in the caput epididymidis of the fat sand rat (*Psammomys obesus*): Effects of seasonal variations, castration and efferent duct ligation. *Acta Histochemica*, 116, 559–569. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2013.11.004>
- Merabti, R. (2006).** Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien. Université Mentouri, Constantine. p. 85.
- Merviç, M., Bival Štefan, M., Kindl, M., Blažeković, B., Marijan, M., & Vladimir-Knežević, S. (2022).** Comparative antioxidant, anti-acetylcholinesterase and anti- $\alpha$ -glucosidase activities of mediterranean *Salvia* species. *Plants*, 11(5), 1–18. <https://doi.org/10.3390/plants11050625>

- Minhas, S., Bettocchi, C., Boeri, L., Capogrosso, P., Carvalho, J., Cilesiz, N. C., ... Salonia, A. (2021).** European association of urology guidelines on male sexual and reproductive health: 2021 update on male infertility. *European Urology*, 80(5), 603–620. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2021.08.014>
- Mohamed, M. A., Ahmed, M. A., & El Sayed, R. A. (2019).** Molecular effects of moringa leaf extract on insulin resistance and reproductive function in hyperinsulinemic male rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 18, 487–494. <https://doi.org/10.1007/s40200-019-00454-7>
- Mokhtari, M., Chabani, S., Aberkane, M.-C., AmmarMouffouk, S., Dibi, A., Benkhaled, M., & Haba, H. (2021).** Phytochemicals, antihemolytic, anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial activities from *Thymus algeriensis*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 27(3), 253–266. <https://doi.org/10.1080/10496475.2021.1891174>
- Monaco, D., Fatnassi, M., Padalino, B., Aubé, L., Khorchani, T., Hammadi, M., & Lacalandra, G. M. (2015).** Effects of a GnRH administration on testosterone profile, libido and semen parameters of dromedary camel bulls. *Research in Veterinary Science*, 102, 212–216. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.08.011>
- Mongioi, L. M., Perelli, S., Condorelli, R. A., Barbagallo, F., Crafa, A., Cannarella, R., ... Calogero, A. E. (2021).** The role of resveratrol in human male fertility. *Molecules*, 26(9), 2495. <https://doi.org/10.3390/molecules26092495>
- Mora, S., Millán, R., Lungenstrass, H., Díaz-Véliz, G., Morán, J. A., Herrera-Ruiz, M., & Tortoriello, J. (2006).** The hydroalcoholic extract of *Salvia elegans* induces anxiolytic- and antidepressant-like effects in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 106(1), 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.12.004>
- Mostari, A., Benabdeli, K., & Vela, E. (2020).** Le littoral de Mostaganem (Algérie), une "zone importante pour les plantes"(ZIP) autant négligée que menacée. *Fl. Medit*, 30, 207–233. <https://doi.org/10.7320/FlMedit30.207>
- Motlagh, M. K., Sharafi, M., Zhandi, M., Mohammadi-Sangcheshmeh, A., Shakeri, M., Soleimani, M., & Zeinoaldini, S. (2014).** Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in soybean lecithin-based semen extender following freeze-thawing process of ram sperm. *Cryobiology*, 69(2), 217–222. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.07.007>
- Moukhfi, F., Dakir, M., Nait Irahah, I., Chninigue, J., Outlioua, A., JamalEddine, J., & Chadli, N. (2022).** Antioxidant potential and inhibitory effect of essential oil from the aerial parts of *Origanum vulgare* L. against *Salmonella* poultry in morocco. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 25, 1–12. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2022.2091955>
- Mu, Y., Yan, W., Yin, T., Zhang, Y., Li, J., & Yang, J. (2017).** Diet-induced obesity impairs spermatogenesis: a potential role for autophagy. *Scientific Reports*, 7(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep43475>
- Mu, Y., Yin, T., lang, Zhang, Y., Yang, J., & Wu, Y. ting. (2022).** Diet-induced obesity impairs spermatogenesis: the critical role of NLRP3 in Sertoli cells. *Inflammation and Regeneration*, 42(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s41232-022-00203-z>
- Munro, N. C., Currie, D. C., Rutman, A., Dewar, A., Greenstone, M. A., Cole, P. J., ... Cole, P. J. (1994).** Fertility in men with primary ciliary dyskinesia presenting with respiratory infection. *Thorax*, 49(7), 684–687. <https://doi.org/10.1136/thx.49.7.684>

- Mustafa, Mohammad, Dar, S. A., Azmi, S., & Haque, S. (2022).** The role of environmental toxicant-induced oxidative stress in male infertility. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1391, 17–32. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-12966-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-031-12966-7_2)
- Mustafa, Murtaza, Sharifa, A., Hadi, J., Ilzam, E., & Aliya, S. (2019).** Male and female infertility: causes, and management. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 18(9), 27–32. <https://doi.org/10.9790/0853-1809132732>
- N’guessan, K., Soro, D., & Amon, A. D. E. (2011).** Plantes utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des maladies cardiovasculaires, en pays Abbey et Krobou, dans le Sud de la Côte-d’Ivoire. *Ethnopharmacologie Plantes*, 9(4), 199–208. <https://doi.org/10.1007/s10298-011-0636-3>
- Naikoo, M. I., Dar, M. I., Raghieb, F., Jaleel, H., Ahmad, B., Raina, A., ... Naushin, F. (2019).** Role and regulation of plants phenolics in abiotic stress tolerance: an overview. In *Plant Signaling Molecules: Role and Regulation under Stressful Environments* (pp. 157–168). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816451-8.00009-5>
- Nakamura, M., & Sadoshima, J. (2020).** Cardiomyopathy in obesity, insulin resistance and diabetes. *Journal of Physiology*, 598(14), 2977–2993. <https://doi.org/10.1113/JP276747>
- Naso, L. G., Valcarcel, M., Roura-Ferrer, M., Kortazar, D., Salado, C., Lezama, L., ... Ferrer, E. G. (2014).** Promising antioxidant and anticancer (human breast cancer) oxidovanadium(IV) complex of chlorogenic acid. Synthesis, characterization and spectroscopic examination on the transport mechanism with bovine serum albumin. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 135, 86–99. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.02.013>
- Naumann, H. D., Tedeschi, L. O., Zeller, W. E., & Huntley, N. F. (2017).** The role of condensed tannins in ruminant animal production: Advances, limitations and future directions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(12), 929–949. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017001200009>
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A., Khan, G. J., M, S., & Z, X. (2018).** Chlorogenic acid (CGA): a pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.064>
- Neves da Silva, H. V, Meller, R. L., Ogundipe, E. A., & Rochon, P. J. (2022).** Varicoceles: overview of treatment from a radiologic and surgical perspective. *Semin Intervent Radiol*, 39(05), 490–497. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1757939>
- Ng, M., Fleming, T., Robinson, M., Thomson, B., Graetz, N., Margono, C., & Gakidou, E. (2014).** Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the global burden of disease study 2013. *The Lancet*, 384(9945), 766–781. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60460-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60460-8)
- Nguyen, T. Van, Do, L. T. K., Somfai, T., Otoi, T., Taniguchi, M., & Kikuchi, K. (2019).** Presence of chlorogenic acid during in vitro maturation protects porcine oocytes from the negative effects of heat stress. *Animal Science Journal*, 90(12), 1–7. <https://doi.org/10.1111/asj.13302>
- Nickavar, B., Abolhasani, L., & Izadpanah, H. (2008).**  $\alpha$ -Amylase inhibitory activities of six salvia species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7(4), 397–303.

- Nosrati, R., Gong, M. M., San Gabriel, M. C., Pedraza, C. E., Zini, A., & Sinton, D. (2016).** Paper-based quantification of male fertility potential. *Clinical Chemistry*, *62*(3), 458–465. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2015.250282>
- Nouadri, T. (2011).** L'α-amylase de *Penicillium camemberti* PL21 : Production, purification, caractérisation et immobilisation. Université Mentouri, Constantine. p. 160.
- Nouri Serati, H., Khayat Nouri, M. H., Safavi, S. E., & Khaki, A. R. A. S. H. (2009).** Histological and spermatogenesis indexes study of testis after Methotrexate administration in adult male rat. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, *16*, 9–15.
- Novakovic, R., Rajkovic, J., Gostimirovic, M., Gojkovic-bukarica, L., & Radunovic, N. (2022).** Resveratrol and reproductive health. *Life*, *12*, 1–17. <https://doi.org/10.3390/life12020294>
- Nwagha, U. I., Ikekpeazu, E. J., Ejezie, F. E., Neboh, E. E., & Maduka, I. C. (2010).** Atherogenic index of plasma as useful predictor of cardiovascular risk among postmenopausal women in Enugu, Nigeria. *African Health Sciences*, *10*(3), 248–252.
- Nwonuma, C. O., Osemwegie, O. O., Irokanulo, E. O., Alejlowo, O. O., Kayode, O. T., Olaolu, T. D., ... Ojo, O. A. (2021).** Comparative effects of combined use of alcohol with cannabis and tobacco on testicular function in rats. *Toxicology Research*, *10*(4), 761–770. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfab060>
- O'Donnell, L., McLachlan, R. I., Wreford, N. G., De Kretser, D. M., & Robertson, D. M. (1996).** Testosterone withdrawal promotes stage-specific detachment of round spermatids from the rat seminiferous epithelium. *Biology of Reproduction*, *55*(4), 895–901. <https://doi.org/10.1095/biolreprod55.4.895>
- O'Donnell, L., Smith, L. B., & Rebourcet, D. (2022).** Sertoli cells as key drivers of testis function. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, *121*, 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2021.06.016>
- O'Flaherty, C. (2019).** Orchestrating the antioxidant defenses in the epididymis. *Andrology*, *7*(5), 662–668. <https://doi.org/10.1111/andr.12630>
- Oalde Pavlović, M., Kolarević, S., Đorđević, J., Marić, J. J., Lunić, T., Mandić, M., ... Duletić-Laušević, S. (2021).** A study of phytochemistry, genoprotective activity, and antitumor effects of extracts of the selected lamiaceae species. *Plants*, *10*(11), 1–23. <https://doi.org/10.3390/plants10112306>
- Ojo, O. A., Nwafor-Ezeh, P. I., Rotimi, D. E., Ogunlakin, A. D., & Ojo, A. B. (2023).** Apoptosis, inflammation, and oxidative stress in infertility: a mini review. *Rapports Toxicologiques*, *10*, 448–462. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2023.04.006>
- Olszowy, M., & Dawidowicz, A. L. (2016).** Essential oils as antioxidants: Their evaluation by DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, and β-carotene bleaching methods. *Monatshefte Für Chemie-Chemical Monthly*, *147*(12), 2083–2091.
- Omolaoye, T. S., & du Plessis, S. S. (2018).** Diabetes mellitus and male infertility. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, *7*(1), 6–14. <https://doi.org/10.4103/2305-0500.220978>
- Omolaoye, T. S., El Shahawy, O., Skosana, B. T., Boillat, T., Loney, T., & du Plessis, S. S. (2022).** The mutagenic effect of tobacco smoke on male fertility. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(41), 62055–62066. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16331-x>

- OMS. (2016).** Obesity and overweight. Fact sheet N°311 January 2015 [cited 2016 20 April 2016]. <https://doi.org/http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
- OMS. (2022).** Regional office for europe. (2022). WHO european regional obesity report 2022. World health organization. Regional office for europe. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/353747>. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Ondera, A., Izigib, M. N., Cinar, A. S., Zengin, G., & Yilmaz, M. A. (2022).** The characterization of phenolic compounds via LC-ESI-MS/MS, antioxidant, enzyme inhibitory activities of *Salvia absconditiflora*, *Salvia sclarea*, and *Salvia palaestina*: a comparative analysis. *South African Journal of Botany*, 150, 313–322. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.07.030>
- Ong, K. C., Khoo, H. E., & Das, N. P. (1995).** Tannic acid inhibits insulin-stimulated lipogenesis in rat adipose tissue and insulin receptor function in vitro. *Experientia*, 51(6), 577–584. <https://doi.org/10.1007/BF02128747>
- Onyije, F. (2012).** Drug: a major cause of infertility in male. *Asian Journal of Medical and Pharmaceutical Researches*, 2(2), 30–37.
- Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019).** extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. In *Polyphenols in Plants* (2nd ed., pp. 243–259). London: Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813768-0.00025-6>
- Orman, D., Vardi, N., Ates, B., Taslidere, E., & Elbe, H. (2015).** Aminoguanidine mitigates apoptosis, testicular seminiferous tubules damage, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Tissue and Cell*, 47(3), 284–290. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2015.03.006>
- Oršoli, N., Jurčević Landeka, I., Đikić, D., Jutrić, D., Odeh, D., Balta, V., & Jutrić, D. (2019).** Effect of propolis on diet-induced hyperlipidemia and atherogenic indices in mice. *Antioxidants*, 8, 156. <https://doi.org/10.3390/antiox8060156>
- Ortega, R., Valdés, M., Alarcón-Aguilar, F. J., Fortis-Barrera, Á., Barbosa, E., Velazquez, C., & Calzada, F. (2022).** Antihyperglycemic effects of *Salvia polystachya* Cav. and its terpenoids:  $\alpha$ -glucosidase and SGLT1 inhibitors. *Plants*, 11(5), 1–21. <https://doi.org/10.3390/plants11050575>
- Othman, M. S., Khaled, A. M., Aleid, G. M., Fareid, M. A., Hameed, R. A., Abdelfattah, M. S., ... Abdel Moneim, A. E. (2022).** Evaluation of antiobesity and hepatorenal protective activities of *Salvia officinalis* extracts pre-treatment in high-fat diet-induced obese rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 75043–75056. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21092-2>
- Otunctemur, A., Bozkurt, M., Beşiroğlu, H., Polat, E. C., Ozcan, L., & Ozbek, E. (2015).** Erectile dysfunction is positively correlated with mean platelet volume and platelet count, but not with eosinophil count in peripheral blood. *Urology Journal*, 12(5), 2347–2352.
- Owumi, S. E., Adedara, I. A., Akomolafe, A. P., Farombi, E. O., & Oyelere, A. K. (2020).** Gallic acid enhances reproductive function by modulating oxido-inflammatory and apoptosis mediators in rats exposed to aflatoxin-B1. *Experimental Biology and Medicine*, 245(12), 1016–1028. <https://doi.org/10.1177/1535370220936206>
- Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307–315. <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>

- Pai, S. A., Munshi, R. P., Panchal, F. H., Gaur, I., Mestry, S. N., Gursahani, M. S., & Juvekar, A. R. (2019).** Plumbagin reduces obesity and nonalcoholic fatty liver disease induced by fructose in rats through regulation of lipid metabolism, inflammation and oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *111*, 686–694. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.139>
- Palmer, N. O., Bakos, H. W., Fullston, T., & Lane, M. (2014).** Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis*, *2*, 253–263. <https://doi.org/10.4161/spmg.21362>
- Pasquariello, R., Verdile, N., Brevini, T. A. L., Gandolfi, F., Boiti, C., Zerani, M., & Maranesi, M. (2020).** The role of resveratrol in mammalian reproduction. *Molecules*, *25*, 4554. <https://doi.org/10.3390/molecules25194554>
- Pavan, F. R., de Carvalho, G. S. G., da Silva, A. D., & Leite, C. Q. (2011).** Synthesis and anti-Mycobacterium tuberculosis evaluation of aza-stilbene derivatives. *The Scientific World Journal*, *11*, 1113–1119. <https://doi.org/10.1100/tsw.2011.110>
- Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., & Andrade, P. B. (2009).** Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, *14*(6), 2202–2211. <https://doi.org/10.3390/molecules14062202>
- Petersen, M. (2013).** Rosmarinic acid: New aspects. *Phytochemistry Reviews*, *12*(1), 207–227. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9282-8>
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018).** Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiological Reviews*, *98*(4), 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>
- Petraglia, F., Serour, G. I., & Chapron, C. (2013).** International journal of gynecology and obstetrics management of infertility today. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, *123*, 54–58. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2013.09.005>
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008).** Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, *4*, 89–96.
- Phillips, K. P., & Tanphaichitr, N. (2010).** Mechanisms of obesity-induced male infertility. *Expert Review of Endocrinology and Metabolism*, *5*(2), 229–251. <https://doi.org/10.1586/eem.09.65>
- Pigeyre, M., Yazdi, F. T., Kaur, Y., & Meyre, D. (2016).** Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clinical Science*, *130*(12), 943–986. <https://doi.org/10.1042/CS20160136>
- Pisani, T., Gebiski, C. P., Leary, E. T., Warnick, G. R., Ollington, J., Ollington, J., & Ollington, J. (1995).** Accurate direct determination of low-density lipoprotein cholesterol using an immunoseparation reagent and enzymatic cholesterol assay. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, *119*(12), 1127–1135.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., & Bitto, A. (2017).** Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2017*, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Poltronieri, P., Xu, B., & Giovinazzo, G. (2021).** Resveratrol and other stilbenes: effects on dysregulated gene expression in cancers and novel delivery systems. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, *21*, 567–574. <https://doi.org/10.2174/1871520620666200705220722>

- Polumbryk, M., Ivanov, S., & Polumbryk, O. (2013).** Antioxidants in food systems. Mechanism of action. *Ukrainian Journal of Food Science*, *1*, 15–40.
- Pourmirzaei, F., Ranjbaran, M., Kadkhodae, M., Kianian, F., Lorian, K., Abdi, A., ... Seifi, B. (2021).** Sperm and testicular dysfunction during cecal ligation and puncture-induced sepsis in male rats and effects of tannic acid through reducing testicular oxidative stress and inflammation. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *24*(11), 1554–1560. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2021.59375.13183>
- Prashant, T., Bimlesh, K., Mandeep, K., Gurpreet, K., & Harleen, K. (2011).** Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, *1*(1), 98–106.
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, *269*(2), 337–341.
- Querales, M., Domínguez, M. I., & Rojas, S. (2015).** Estimación del colesterol LDL a través de la ecuación brasilera: comparación con otras metodologías. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, *62*(2), 91–96.
- Quézel, P., & Santa, S. (1962).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. France: CNRS.
- Rad, I., Saberi, A., Koochakzadeh-nematollahi, N. S., Habibzadeh, V., Salarkia, E., Amanollahi, S., & Nikpour, S. (2021).** The effects of folic acid on testicular histology, sperm quality, and spermatogenesis indices following 3,4-Methylenedioxymethamphetamine exposure in adult male rats. *Addiction & Health*, *13*(1), 36–44. <https://doi.org/10.22122/ahj.v13i1.295>
- Radebe, N., Rode, K., Pizzi, A., Giovando, S., & Pasch, H. (2013).** MALDI-TOF-CID for the microstructure elucidation of polymeric hydrolysable tannins. *Journal of Applied Polymer Science*, *128*(1), 97–107. <https://doi.org/10.1002/app.38156>
- Rae, P., Mofarahe, Z. S., Nazarian, H., Abdollahifar, M. A., Novin, M. G., Aghamiri, S., & Ghaffari Novin, M. (2023).** Male obesity is associated with sperm telomere shortening and aberrant mRNA expression of autophagy-related genes. *Basic and Clinical Andrology*, *33*, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12610-023-00188-w>
- Ray, P. F., Toure, A., Metzler-Guillemain, C., Mitchell, M. J., Arnoult, C., & Coutton, C. (2017).** Genetic abnormalities leading to qualitative defects of sperm morphology or function. *Clinical Genetics*, *91*(2), 217–232. <https://doi.org/10.1111/cge.12905>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *29*(9–10), 1231–1237.
- Reddy, M. N. (2014).** Lesions of the seminal vesicles and their MRI characteristics. *Journal of Clinical Imaging Science*, *4*(61). <https://doi.org/10.4103/2156-7514.143734>
- Remok, F., Saidi, S., Gourich, A. A., Zibouh, K., Maouloua, M., El Makhoukhi, F., ... Zair, T. (2023).** Phenolic content, antioxidant, antibacterial, antihyperglycemic, and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of aqueous extract of *Salvia lavandulifolia* Vahl. *Pharmaceuticals*, *16*, 395. <https://doi.org/10.3390/ph16030395>

- Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A., Kiliñarslan, Ö., Mammadov, R., & Bardaweel, S. K. (2019).** Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2556-y>
- Ricci, A., Olejar, K. J., Parpinello, G. P., Kilmartin, P. A., & Versari, A. (2015).** application of fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy in the characterization of tannins. *Applied Spectroscopy Reviews*, 50(5), 407–442. <https://doi.org/10.1080/05704928.2014.1000461>
- Richard, T., Tamsamani, H., Delaunay, J. C., Krisa, S., & Mérillon, J. M. (2014).** Stilbènes: de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 49(4), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2014.03.001>
- Righi, N., Boumerfeg, S., Deghima, A., Fernandes, P. A. R., Coelho, E., Baali, F., ... Coimbra, M. A. (2021).** Phenolic profile, safety assessment, and anti-inflammatory activity of *Salvia verbenaca* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 272, 113940. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113940>
- Rim, K. T. (2017).** Reproductive toxic chemicals at work and efforts to protect workers' health: a literature review. *Safety and Health at Work*, 8(2), 143–150. <https://doi.org/10.1016/j.shaw.2017.04.003>
- Roberts, A. E., Allanson, J. E., Tartaglia, M., & Gelb, B. D. (2013).** Noonan syndrome. *The Lancet*, 381(9863), 333–342. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61023-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61023-X)
- Robinson, D., Rock, J., & Menkin, M. (1986).** Control of human spermatogenesis intrascrotal temperature. *Jama*, 204(4), 290–297. <https://doi.org/10.1001/jama.1968.03140170006002>
- Romano, R. M., Gomes, S. N., Cardoso, N. C. S., Schiessl, L., Romano, M. A., & Oliveira, C. A. (2017).** New insights for male infertility revealed by alterations in spermatid function and differential testicular expression of thyroid-related genes. *Endocrine*, 55(2), 607–617. <https://doi.org/10.1007/s12020-016-0952-3>
- Rotimi, D. E., Olaolu, T. D., & Adeyemi, O. S. (2022).** Pharmacological action of quercetin against testicular dysfunction: a mini review. *Journal of Integrative Medicine*, 20(5), 396–401. <https://doi.org/10.1016/j.joim.2022.07.001>
- Rymbai, I., Cindy, L., Ningombam, V., Sutnga, T., Sashikanta Singh, N., & Devi, M. A. (2017).** Variability of lipid Profile in pre and post menopausal women. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences*, 5, 282–285. <https://doi.org/10.36347/sjams.2017.v05i01.054>
- Saad, B., Ghareeb, B., & Kmail, A. (2021).** Metabolic and epigenetics action mechanisms of antiobesity medicinal plants and phytochemicals. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2021/9995903>
- Sahraoui, A., Dewachter, C., de Medina, G., Naeije, R., Aouichat Bouguerra, S., & Dewachter, L. (2016).** Myocardial structural and biological anomalies induced by high fat diet in *Psammomys obesus* gerbils. *PLOS ONE*, 11(2), e0148117. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148117>
- Saidi, S., Remok, F., Handaq, N., Drioiche, A., Gourich, A. A., El Menyiy, N., ... Zair, T. (2023).** Phytochemical profile, antioxidant, antimicrobial, and antidiabetic activities of *Ajuga iva* (L.). *Life*, 13(5), 1165. <https://doi.org/10.3390/life13051165>

- Sakr, S. A., & Nooh, H. Z. (2013).** Effect of *Ocimum basilicum* extract on cadmium- induced testicular histomorphometric and immunohistochemical alterations in albino rats. *Anatomie & Biologie Cellulaire*, 46, 122–130. <https://doi.org/10.5115/acb.2013.46.2.122>
- Sautin, Y., & Johnson, R. (2008).** Uric acid: The oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 27, 608–619. <https://doi.org/10.1080/15257770802138558>
- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130, 2073S–2085S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2073S>
- Schumann, G., Bonora, R., Ceriotti, F., Féraud, G., Ferrero, C. A., Franck, P. F. H., ... Schimmel, H. G. (2002).** IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 5. reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate Aminotransferase. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 40(7), 739–745. <https://doi.org/10.1515/cclm.2002.127>
- Schwartz, M. W., Seeley, R. J., Campfield, L. A., Burn, P., & Baskin, D. G. (1999).** Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *The Journal of Clinical Investigation*, 98(5), 1101–1106. <https://doi.org/10.1172/JCI118891>
- Sen, C. G. S., Holstein, A., & Schirren, C. (1971).** über die Morphogenese rundköpfiger Spermatozoen des Menschen. *Andrologia*, 3(3), 117–125. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1971.tb02106.x>
- Sferra, R., Vetusch, A., Catitti, V., Ammanniti, S., Pompili, S., Melideo, D., & Latella, G. (2012).** *Boswellia serrata* and *Salvia miltiorrhiza* extracts reduce DMN-induced hepatic fibrosis in mice by TGF-beta1 downregulation. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 16(11), 1484–1498.
- Shah, S. M., Saini, N., Ashraf, S., Zandi, M., Singh, M. K., Manik, R. S., ... Chauhan, M. (2015).** Comparative expression analysis of gametogenesis-associated genes in foetal and adult bubaline (*bubalus bubalis*) ovaries and testes. *Reproduction in Domestic Animals*, 50(3), 365–377. <https://doi.org/10.1111/rda.12489>
- Sharma, Aditi, Minhas, S., Dhillo, W. S., & Jayasena, C. N. (2021).** Male infertility due to testicular disorders. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 106(2), e442–e459. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa781>
- Sharma, Anket, Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019).** Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 24(13), 1–22. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
- Sharma, R., & Agarwal, A. (2011).** Spermatogenesis: an overview. In *Sperm Chromatin: Biological and Clinical Applications in Male Infertility and Assisted Reproduction* (pp. 17–44). New York: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6857-9>
- Sharpe, R M. (1997).** Do males rely on female hormones? *Nature*, 390(6659), 447–448. <https://doi.org/10.1038/37236>
- Sharpe, R M, Donachie, K., & Cooper, I. (1987).** Re-evaluation of the intratesticular level of testosterone in the rat. *Journal of Endocrinology*, 117, 19–26. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1170019>

- Sharpe, Richard M. (1998).** The roles of oestrogen in the male. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 9(9), 371–377. [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(98\)00089-7](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(98)00089-7)
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021).** Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay : A critical evaluation. *LWT - Food Science and Technology*, 150(May), 111932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- Singh, R. P., Sharad, S., & Kapur, S. (2004).** Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine*, 5, 218–225.
- Skrypnik, L., Golovin, A., & Savina, T. (2022).** Effect of salicylic acid on phenolic compounds, antioxidant and antihyperglycemic activity of Lamiaceae plants grown in a temperate climate. *Frontiers in Bioscience-Elite*, 14(1), 3. <https://doi.org/10.31083/j.fbe1401003>
- Smith, C., Lombard, K., Peffley, E., & Liu, W. (2003).** Genetic Analysis of Quercetin in Onion (*Allium cepa* L.) ‘Lady Raider.’ *Texas Journal of Agriculture and Natural Resources*, 16, 24–28.
- Sofowora, A., Ogunbodede, E., & Onayade, A. (2013).** The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10(5), 210–229. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v10i5.2>
- Solares-pascasio, J. I., Ceballos, G., Calzada, F., Barbosa, E., & Velazquez, C. (2021).** Antihyperglycemic and lipid profile effects of diabetic mice. *Molecules*, 26, 2–16. <https://doi.org/10.3390/molecules26040947>
- Spencer, J. P., Abd El Mohsen, M. M., Minihane, A. M., & Mathers, J. C. (2008).** Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: Strengths, limitations and application in nutrition research. *British Journal of Nutrition*, 99(1), 12–22. <https://doi.org/10.1017/S0007114507798938>
- Šrámek, J., Němcová-Fürstová, V., & Kovář, J. (2021).** Molecular mechanisms of apoptosis induction and its regulation by fatty acids in pancreatic  $\beta$ -cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8), 4285. <https://doi.org/10.3390/ijms22084285>
- Stanton, P. G., Foo, C. F., Rainczuk, A., Stephens, A. N., Condina, M., O’Donnell, L., ... McLachlan, R. I. (2016).** Mapping the testicular interstitial fluid proteome from normal rats. *Proteomics*, 16(17), 2391–2402. <https://doi.org/10.1002/jssc.201200569>
- Staveckienė, J., Kulaitienė, J., Levickienė, D., Vaitkevičienė, N., & Vaštakaitė-Kairienė, V. (2023).** The effect of ripening stages on the accumulation of polyphenols and antioxidant activity of the fruit extracts of *Solanum* species. *Plants (Basel)*, 12(14), 2672. doi: 10.3390/plants12142672.
- Stouffs, K., Seneca, S., & Lissens, W. (2014).** Genetic causes of male infertility. *Annales d’Endocrinologie*, 75(2), 109–111. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2014.03.004>
- Streicher, W., Luedeke, M., Azoitei, A., Zengerling, F., Herweg, A., Genze, F., ... Cronauer, M. V. (2014).** Stilbene induced inhibition of androgen receptor dimerization: Implications for AR and AR $\Delta$ LBD-signalling in human prostate cancer cells. *PLoS ONE*, 9(6), e98566. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098566>

- Sudeep, H., Venkatakrishna, K., Patel, D., & Shyamprasad, K. (2016).** Biomechanism of chlorogenic acid complex mediated plasma free fatty acid metabolism in rat liver. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 4–8. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1258-y>
- Suh, K. S., Oh, S., Woo, J. T., Kim, S. W., Kim, J. W., Kim, Y. S., & Chon, S. (2012).** Apigenin attenuates 2-deoxy-D-ribose-induced oxidative cell damage in HIT-T15 pancreatic  $\beta$ -cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 35(1), 121–126. <https://doi.org/10.1248/bpb.35.121>
- Suleiman, J. B., Nna, V. U., Zakaria, Z., Othman, Z. A., Eleazu, C. O., Bakar, A. B. A., ... Mohamed, M. (2020).** Protective effects of bee bread on testicular oxidative stress, NF- $\kappa$ B-mediated inflammation, apoptosis and lactate transport decline in obese male rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110781. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110781>
- Suliga, E. (2019).** The relationship between diet, energy balance and fertility in men. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 90, 1–13. <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000577>
- Sullivan, R., Légaré, C., Lamontagne-Proulx, J., Breton, S., & Soulet, D. (2019).** Revisiting structure/functions of the human epididymis. *Andrology*, 7(5), 748–757. <https://doi.org/10.1111/andr.12633>
- Sullivan, R., & Miesusset, R. (2016).** The human epididymis: its function in sperm maturation. *Human Reproduction Update*, 22(5), 574–587. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw015>
- Sun, X., Wang, J., Peng, Y., Gao, Q., Song, T., Yu, W., ... Dai, Y. (2018).** Bilateral is superior to unilateral varicocelectomy in infertile males with left clinical and right subclinical varicocele: a prospective randomized controlled study. *International Urology and Nephrology*, 50(2), 205–210. <https://doi.org/10.1007/s11255-017-1749-x>
- Süntar, I., Akkol, E. K., Şenol, F. S., Keles, H., & Orhan, I. E. (2011).** Investigating wound healing, tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of the ethanol extracts of *Salvia cryptantha* and *Salvia cyanescens* using in vivo and in vitro experimental models. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(1), 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.02.022>
- Swinburn, B. A., Sacks, G., Lo, S. K., Westerterp, K. R., Rush, E. C., Rosenbaum, M., ... Ravussin, E. (2009).** Estimating the changes in energy flux that characterize the rise in obesity prevalence. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89, 1723–1728. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.27061.1>
- Szeja, W., Gryniewicz, G., & Rusin, A. (2017).** Isoflavones, their glycosides and glycoconjugates. synthesis and biological activity. *Current Organic Chemistry*, 21(3), 218–235. <https://doi.org/10.2174/1385272820666160928120822>
- Tan, J., Huang, C., Luo, Q., Liu, W., Cheng, D., Li, Y., ... Chen, Z. (2019).** Soy isoflavones ameliorate fatty acid metabolism of visceral adipose tissue by increasing the AMPK activity in male rats with diet-induced obesity (DIO). *Molecules*, 24(15), 2809. <https://doi.org/10.3390/molecules24152809>
- Tanaka, M., Sugama, A., Sumi, K., Shimizu, K., Kishimoto, Y., Kondo, K., & Iida, K. (2020).** Gallic acid regulates adipocyte hypertrophy and suppresses inflammatory gene expression induced by the paracrine interaction between adipocytes and macrophages in vitro and in vivo. *Nutrition Research*, 73, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2019.09.007>

- Tapia, J. A., & Pena, F. (2014).** apoptotic events in male germ cells and in mature mammalian spermatozoa apoptotic events in male germ cells. In *Apoptosis: Involvement of Oxidative Stress and Intracellular Ca<sup>2+</sup> Homeostasi* (pp. 165–209). <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9873-4>
- Teng, H., & Chen, L. (2019).** Polyphenols and bioavailability: an update. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(13), 2040–2051. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1437023>
- Toplan, G. G., Kürkçüoğlu, M., Göger, F., Taşkın, T., Civaş, A., İşcan, G., ... Başer, K. H. C. (2022).** Phytochemical screening and biological evaluation of *Salvia hydrangea* Dc. ex Benth. growing in eastern Anatolia. *South African Journal of Botany*, 147, 799–807. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.03.021>
- Tosun, A., Akkol, E. K., & Yes, E. (2009).** Anti-inflammatory and antinociceptive activity of coumarins from *seseli gu mmiferum* subsp. *corymbosum* (Apiaceae). *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 64, 56–62. <https://doi.org/10.1515/znc-2009-1-210>.
- Tousson, E., & Elbandrawy, M. (2022).** Can thyroid gland impact your fertility? *Current Overview on Disease and Health Research*, 2, 1–13. <https://doi.org/10.9734/bpi/codhr/v2/3071A>
- Trinder, P. (1969).** Determination of Glucose in Blood Using Glucose Oxidase with an Alternative Oxygen Acceptor. *Annals of Clinical Biochemistry*, 6(1), 24–27.
- Tsai, E. C., Matsumoto, A. M., Fujimoto, W. Y., & Boyko, E. J. (2004).** Association of bioavailable, free, and total testosterone with insulin resistance. *Diabetes Care*, 27(4), 861–868. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.4.861>
- Tsai, Y. H., Wang, T. W., Wei, H. J., Hsu, C. Y., Ho, H. J., Chen, W. H., ... Chao, J. C. (2013).** Dietary intake, glucose metabolism and sex hormones in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) compared with women with non-PCOS-related infertility. *British Journal of Nutrition*, 109(12), 2190–2198. <https://doi.org/10.1017/S0007114512004369>
- Tsoumanis, A., Hens, N., & Kenyon, C. R. (2018).** Is screening for chlamydia and gonorrhea in men who have sex with men associated with reduction of the prevalence of these infections? a systematic review of observational studies. *Sexually Transmitted Diseases*, 45(9), 615–622. <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000824>
- Turer, A. T., Hill, J. A., Elmquist, J. K., & Scherer, P. E. (2012).** Adipose tissue biology and cardiomyopathy: translational implications. *Circulation Research*, 111(12), 1565–1577. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.262493>
- Turner, T. T. (1984).** Resorption versus secretion in the rat epididymis. *Journal of Reproduction and Fertility*, 72(2), 509–514. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0720509>
- Van der Spuy, W. J., & Pretorius, E. (2009).** Is the use of resveratrol in the treatment and prevention of obesity premature? *Nutrition Research Reviews*, 22(2), 111–117. <https://doi.org/10.1017/S0954422409990084>
- Vasileva, L. V, Savova, M. S., Tews, D., Wabitsch, M., & Georgiev, M. I. (2021).** Rosmarinic acid attenuates obesity and obesity-related inflammation in human adipocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 149, 112002. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112002>

- Vermeulen, A., Kaufman, J. M., Deslypere, J. P., & Thomas, G. (1993).** Attenuated luteinizing hormone (LH) pulse amplitude but normal LH pulse frequency, and its relation to plasma androgens in hypogonadism of obese men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 76(5), 1140–1146. <https://doi.org/10.1210/jcem.76.5.8496304>
- Vianna, D. R., Hamerski, L., Figueiró, F., Bernardi, A., Visentin, L. C., Pires, E. N. S., ... Pinto, A. C. (2012).** Selective cytotoxicity and apoptosis induction in glioma cell lines by 5-oxygenated-6,7 methylenedioxy coumarins from *Pterocaulon* species. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 57, 268–274. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.09.007>
- Vincent, H. K., & Taylor, A. G. (2006).** Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *International Journal of Obesity*, 30(3), 400–418. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803177>
- Virant-Klun, I., Imamovic-Kumalic, S., & Pinter, B. (2022).** From oxidative stress to male infertility: review of the associations of endocrine-disrupting chemicals (bisphenols, phthalates, and parabens) with human semen quality. *Antioxidants*, 11(8), 1617. <https://doi.org/10.3390/antiox11081617>
- Vuksan, V., Jenkins, A. L., Brissette, C., Choleva, L., Jovanovski, E., Sievenpiper, J. L., ... Hanna, A. (2017).** Salba-chia (*Salvia hispanica* L.) in the treatment of overweight and obese patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 27(2), 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2016.11.124>
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Junior, M. R. M. (2019).** Phenolic compounds: structure, classification, and antioxidant Power. In *Bioactive Compounds* (Woodhead P, pp. 33–50). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
- Wahid, F., Jan, T., Al-joufi, F. A., Wadood, S., Shah Ali Shah, S., Nisar, M., & Zahoor, M. (2022).** brain sciences amelioration of scopolamine-induced cognitive dysfunction in experimental mice using the Medicinal Plant *Salvia moorcroftiana*. *Brain Sciences*, 12, 1–16. <https://doi.org/10.3390/brainsci12070894>
- Wake, D. J., Strand, M., Rask, E., Westerbacka, J., Livingstone, D. E., Soderberg, S., ... Walker, B. R. (2007).** Intra-adipose sex steroid metabolism and body fat distribution in idiopathic human obesity. *Clinical Endocrinology*, 66(3), 440–446. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02755.x>
- Walczak–Jedrzejowska, R., Wolski, J. K., & Slowikowska–Hilczer, J. (2013).** The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Central European Journal of Urology*, 66(1), 60–67. <https://doi.org/10.5173/cej.2013.01.art19>
- Walker, J. B., Sytsma, K. J., Treutlein, J., & Wink, M. (2004).** *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91(7), 1115–1125. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.7.1115>
- Wang, D., Li, Y., Zhai, Q. Q., Zhu, Y. F., Liu, B. Y., & Xu, Y. (2022).** Quercetin ameliorates testosterone secretion disorder by inhibiting endoplasmic reticulum stress through the miR-1306-5p/HSD17B7 axis in diabetic rats. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(2), 191–204. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2021.6299>

- Wang, L. N., Wang, W., Hattori, M., Daneshtalab, M., & Ma, C. M. (2016).** Synthesis, anti-HCV, antioxidant and reduction of intracellular reactive oxygen species generation of a chlorogenic acid analogue with an amide bond replacing the ester bond. *Molecules*, *21*(6), 1–9. <https://doi.org/10.3390/molecules21060737>
- Warnick, G. R., & Wood, P. D. (1995).** National cholesterol education program recommendations for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: executive summary. The National cholesterol education program working group on lipoprotein measurement. *Clinical Chemistry*, *41*, 1427–1433. <https://doi.org/10.1093/clinchem/41.10.1427>
- Wdowiak, A., Raczkiewicz, D., Stasiak, M., & Bojar, I. (2014).** Levels of FSH, LH and testosterone, and sperm DNA fragmentation. *Neuroendocrinology Letters*, *35*(1), 73–79.
- Wikström, A. M., & Dunkel, L. (2011).** Klinefelter syndrome. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, *25*(2), 239–250. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2010.09.006>
- Wroblewski, F., & Ladue, J. S. (1956).** Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac with hepatic disease. *Annals of Internal Medicine*, *45*(5), 801–811. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-45-5-801>
- Wu, L., Wang, X., Xu, W., Farzaneh, F., & Xu, R. (2009).** The structure and pharmacological functions of coumarins and their derivatives. *Current Medicinal Chemistry*, *16*(32), 4236–4260. <https://doi.org/10.2174/092986709789578187>
- Xi, L., Xiao, C., Bandsma, R. H., Naples, M., Adeli, K., & Lewis, G. F. (2011).** C-Reactive protein impairs hepatic insulin sensitivity and insulin signaling in aats: oole of mitogen-activated protein kinases. *Hepatology*, *53*, 127–135. <https://doi.org/10.1002/hep.24011>
- Xia, X., Li, G., Song, J., Zheng, J., & Kan, J. (2018).** Hypocholesterolaemic effect of whole-grain highland hull-less barley in rats fed a high-fat diet. *British Journal Of Nutrition*, 1102–1110. <https://doi.org/10.1017/S0007114518000831>
- Xu, H., Shen, L., Chen, X., Ding, Y., He, J., Zhu, J., ... Liu, X. (2015).** mTOR/P70S6K promotes spermatogonia proliferation and spermatogenesis in Sprague Dawley rats. *Reproductive BioMedicine Online*, *32*(2), 207–217. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.11.007>
- Xiong, G., Deng, Y., Cao, Z., Liao, X., Zhang, J., & Lu, H. (2019).** The hepatoprotective effects of *Salvia plebeia* R. Br. extract in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish & Shellfish Immunology*, *95*, 399–410. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.040>
- Xu, Y., Tang, G., Zhang, C., Wang, N., & Feng, Y. (2021).** Gallic acid and diabetes mellitus: Its association with oxidative stress. *Molecules*, *26*(23), 7115. <https://doi.org/10.3390/molecules26237115>
- Yamamoto, Y., & Oue, E. (2006).** Antihypertensive effect of quercetin in rats fed with a high-fat high-sucrose diet. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, *70*(4), 933–939. <https://doi.org/10.1271/bbb.70.933>
- Yan, H. H. N., Mruk, D. D., Lee, W. M., & Yan Cheng, C. (2008).** Blood-testis barrier dynamics are regulated by testosterone and cytokines via their differential effects on the kinetics of protein endocytosis and recycling in Sertoli cells. *The FASEB Journal*, *22*(6), 1945–1959. <https://doi.org/10.1096/fj.06-070342>

- Yan, Y., Zhou, X., Guo, K., Zhou, F., & Yang, H. (2020).** Use of chlorogenic acid against diabetes mellitus and its complications. *Journal of Immunology Research*, 2020, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2020/9680508>
- Yang, Z., Qi, J., Ping, D., Sun, X., Tao, Y., Liu, C., & Peng, Y. (2022).** Salvia miltiorrhiza in thorax and abdominal organ fibrosis: a review of its pharmacology. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 999604. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.999604>
- Ye, L., Li, X., Li, L., Chen, H., & Ge, R. (2017).** Insights into the development of the adult Leydig cell lineage from stem Leydig cells. *Frontiers in Physiology*, 8(June), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00430>
- Yilmaz, G., Eruygun, N., Eksi, G., Bona, M., Akdeniz, M., Yilmaz, M. A., & Ertas, A. (2023).** Phytochemical analysis, antioxidant, and enzyme inhibition activity of five Salvia taxa from Turkey. *South African Journal of Botany*, 152, 212–221. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.11.027>
- Yin, Y., Yu, Z., Xia, M., Luo, X., Lu, X., & Ling, W. (2012).** Vitamin D attenuates high fat diet-induced hepatic steatosis in rats by modulating lipid metabolism. *European Journal of Clinical Investigation*, 42(11), 1189–1196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2012.02706.x>
- Young, K. A., Maturu, A., Lorenzo, C., Langefeld, C. D., Langefeld, L. E., Wagenknecht, L. E., ... Rasouli, N. (2018).** The triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol (TG/HDL-C) ratio as a predictor of insulin resistance,  $\beta$ -cell function, and diabetes in Hispanics and African Americans. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 22(2), 118–122. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2018.10.018>
- Youngson, N. A., Uddin, G. M., Das, A., Martinez, C., Connaughton, H. S., Whiting, S., ... Morris, M. J. (2015).** Impacts of obesity, maternal obesity and nicotinamide mononucleotide supplementation on sperm quality in mice. *Reproduction*, 158(2), 169–179. <https://doi.org/10.1530/REP-18-0574>
- Yu, P. L., Pu, H. F., Chen, S. Y., Wang, S. W., & Wang, P. S. (2010).** Effects of catechin, epicatechin and epigallocatechin gallate on testosterone production in rat Leydig cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 110(2), 333–342. <https://doi.org/10.1002/jcb.22541>
- Yu, R., Kim, C. S., Kwon, B. S., & Kawada, T. (2006).** mesenteric adipose tissue-derived monocyte chemoattractant protein-1 plays a crucial role in adipose tissue macrophage migration and activation in obese mice. *Obesity*, 14(8), 1353–1362. <https://doi.org/10.1038/oby.2006.153>
- Yudkin, J. S., Stehouwer, C. DA, Emeis, J. J., & Coppack, S. W. (1999).** C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 19(4), 972–978. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.19.4.972>
- Zakaria, Z., Aziz, R., Lachimanan, Y. L., Sreenivasan, S., & Rathinam, X. (2008).** Antioxidant activity of Coleus blumei, Orthosiphon stamineus, Ocimum basilicum and Mentha arvensis from Lamiaceae family. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 2(1), 93–95.
- Zaman, K., Adibah, M., & Azzreena, M. A. (2019).** Plant toxins : alkaloids and their toxicities. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 06(02), 21–29. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2019.6.2.0003>

- Zamarron, B. F., Mergian, T. A., Cho, K. W., Martinez-Santibanez, G., Luan, D., Singer, K., ... Lumeng, C. N. (2016).** Macrophage proliferation sustains adipose tissue inflammation in formerly obese mice. *Diabetes*, *66*, 1–39. <https://doi.org/10.2337/db16-0500>
- Zamora, M., & Villena, J. A. (2019).** Contribution of impaired insulin signaling to the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(11), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms20112833>
- Zang, M., Xu, S., Maitland-Toolan, K. A., Zuccollo, A., Hou, X., Jiang, B., ... Cohen, R. A. (2006).** Polyphenols stimulate AMP-activated protein kinase, lower lipids, and inhibit accelerated atherosclerosis in diabetic LDL receptor-deficient mice. *Diabetes*, *55*(8), 2180–2191. <https://doi.org/10.2337/db05-1188>
- Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018).** Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Medecine Therapeutique*, *24*(2), 134–141. <https://doi.org/10.1684/met.2018.0682>
- Zeng, L., Zhong, F., Chen, Z., Li, G., & Zhu, Q. (2022).** Polygonatum sibiricum polysaccharides protect against obesity and non-alcoholic fatty liver disease in rats fed a high-fat diet. *Food Science and Human Wellness*, *11*, 1045–1052. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.03.031>
- Zeroual, A., Eloutassi, N., Chaouch, M., & Chaqroune, A. (2020).** Antimicrobial, antioxidant activity, and chemical composition of *Origanum compactum* Benth from taounate province, north Morocco. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *13*(3), 126–131. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2020.v13i3.36319>
- Zhang, J., Li, Z., Qie, M., Zheng, R., Shetty, J., & Wang, J. (2016).** Sodium fluoride and sulfur dioxide affected male reproduction by disturbing blood-testis barrier in mice. *Food and Chemical Toxicology*, *94*, 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.05.017>
- Zhang, L., Xu, J., Song, H., Yao, Z., & Ji, G. (2014).** Extracts from *Salvia-Nelumbinis naturalis* alleviate hepatosteatosis via improving hepatic insulin sensitivity. *Journal of Translational Medicine*, *12*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12967-014-0236-8>
- Zhang, L., Chen, M., Wen, Q., Li, Y., Wang, Y., Wang, Y., ... Gao, F. (2015).** Reprogramming of Sertoli cells to fetal-like Leydig cells by *Wt1* ablation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(13), 4003–4008. <https://doi.org/10.1073/pnas.1422371112>
- Zhang, X., Tang, Y., Lu, G., & Gu, J. (2023).** Pharmacological activity of flavonoid quercetin and its therapeutic potential in testicular injury. *Nutrients*, *15*(9), 1–21. <https://doi.org/10.3390/nu15092231>
- Zhang, Y., Wang, H., Cui, L., Zhang, Y., Liu, Y., Chu, X., ... Chu, L. (2015).** Continuing treatment with *Salvia miltiorrhiza* injection attenuates myocardial fibrosis in chronic iron-overloaded mice, *10*(4), e0124061. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124061>
- Zhang, Z., Zhang, T., Feng, R., Huang, H., Xia, T., & Sun, C. (2019).** circARF3 alleviates mitophagy-mediated inflammation by targeting miR-103 /TRAF3 in mouse adipose tissue. *Molecular Therapy: Nucleic Acid*, *14*, 192–203. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.11.014>
- Zhao, A., Chen, Y., Li, Y., Lin, D., Yang, Z., Wang, Q., ... Wang, W. (2021).** Sulfated polysaccharides from *enteromorpha prolifera* attenuate lipid metabolism disorders in mice with obesity induced by a high-fat diet via a pathway dependent on AMP-activated protein kinase. *The Journal of Nutrition*, *152*, 939–949. <https://doi.org/10.1093/jn/nxab432>

**Zhao, J., Zhai, L., Liu, Z., Wu, S., & Xu, L. (2014).** Leptin level and oxidative stress contribute to obesity-induced low testosterone in murine testicular tissue. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2014/190945>

**Zhou, W., De Iuliis, G. N., Dun, M. D., & Nixon, B. (2018).** Characteristics of the epididymal luminal environment responsible for sperm maturation and storage. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00059>

**Zirkin, B. R., & Papadopoulos, V. (2018).** Leydig cells: formation, function, and regulation. *Biology of Reproduction*, 99(1), 101–111. <https://doi.org/10.1093/biolre/iory059>

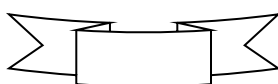
**Zorn, B., Vidmar, G. A. J., & Meden-vrtovec, H. (2003).** Seminal reactive oxygen species as predictors of fertilization, embryo quality and pregnancy rates after conventional in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *International Journal of Andrology*, 285, 279–285. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2605.2003.00424.x>

**Zych, M., Wojnar, W., Borymski, S., Szalabska, K., Bramora, P., & Kaczmarczyk-Sedlak, I. (2019).** Effect of rosmarinic acid and sinapic acid on oxidative stress parameters in the cardiac tissue and serum of type 2 diabetic female rats. *Antioxidants*, 8, 579. <https://doi.org/10.3390/antiox8120579>

*Listes des tableaux et des  
figures*

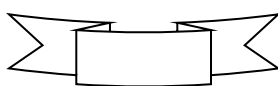
## Liste des tableaux

<b>Tableau 01 :</b>	Facteurs associés au développement de l'obésité .....	<b>19</b>
<b>Tableau 02 :</b>	Compositions du régime standard de laboratoire .....	<b>56</b>
<b>Tableau 03 :</b>	Composition chimique de la graisse de mouton .....	<b>56</b>
<b>Tableau 04 :</b>	Couleur, aspect et rendement d'extraction.....	<b>68</b>
<b>Tableau 05 :</b>	Criblage phytochimique de l'extrait aqueux de <i>S. balansae</i> .....	<b>68</b>
<b>Tableau 06 :</b>	Composés phénoliques totaux, flavonoïdes et tanin condensé dans l'extrait aqueux de <i>S. balansae</i> .....	<b>70</b>
<b>Tableau:07</b>	Valeurs d'IC <sub>50</sub> de l'extrait et du Trolox obtenue par le test DPPH .....	<b>71</b>
<b>Tableau 08 :</b>	Valeurs d'IC <sub>50</sub> de l'extrait et du Trolox obtenue par le test ABTS.....	<b>73</b>
<b>Tableau 09 :</b>	Valeur d'IC <sub>50</sub> de l'extrait et du Na <sub>2</sub> EDTA obtenu par le test de chélation du fer ferreux .....	<b>74</b>
<b>Tableau 10 :</b>	Valeur IC <sub>50</sub> de l'extrait et de l'Acarbose obtenus par le test d'inhibition de l' $\alpha$ - amylase .....	<b>76</b>
<b>Tableau 11 :</b>	Evolution du poids corporel (g) chez les rats témoins, HFD et HFD+SB .....	<b>78</b>
<b>Tableau 12 :</b>	Glycémie chez les rats témoins, HFD et HFD+SB .....	<b>79</b>
<b>Tableau 13 :</b>	Dosage des lipides plasmatiques chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB.....	<b>80</b>
<b>Tableau 14 :</b>	Transaminases hépatiques chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB .....	<b>81</b>
<b>Tableau 15 :</b>	La CRP chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB.....	<b>82</b>
<b>Tableau 16 :</b>	Créatinine chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB .....	<b>83</b>
<b>Tableau 17 :</b>	Acide urique chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB .....	<b>84</b>
<b>Tableau 18 :</b>	Testostérone sérique chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB .....	<b>85</b>
<b>Tableau 19 :</b>	Analyse morphométrique des tubes séminifères .....	<b>91</b>
<b>Tableau 20:</b>	Indices de la spermatogenèse.....	<b>93</b>

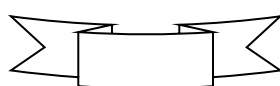


## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b>	Structure du testicule.....	<b>11</b>
<b>Figure 02 :</b>	Schéma de la barrière hémato-testiculaire.....	<b>12</b>
<b>Figure 03 :</b>	Présentation schématique de l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadique et du système de rétroaction hormonal.....	<b>13</b>
<b>Figure 04 :</b>	Différents phases de la spermatogenèse.....	<b>14</b>
<b>Figure 05 :</b>	Différents types de cellules épithéliales dans l'épididyme.....	<b>16</b>
<b>Figure 06 :</b>	Structure de la vésicule séminale.....	<b>17</b>
<b>Figure 07 :</b>	Diagramme schématique du lien entre l'obésité et le diabète.....	<b>21</b>
<b>Figure 08 :</b>	Obésité, stress oxydatif et infertilité masculine.....	<b>25</b>
<b>Figure 09 :</b>	Structure d'un phénol simple.....	<b>26</b>
<b>Figure 10 :</b>	Biosynthèse des polyphénols par la voie des chikimate/phénylpropanoïd... ..	<b>27</b>
<b>Figure 11 :</b>	Structure de base des acides phénoliques ( acide hydroxybenzoïque et acide hydroxycinnamique).....	<b>28</b>
<b>Figure 12 :</b>	Structure des flavonoïdes.....	<b>28</b>
<b>Figure 13 :</b>	Les classes de flavonoïdes.....	<b>30</b>
<b>Figure 14 :</b>	Structure des tanins hydrolysable (Gallotanins).....	<b>31</b>
<b>Figure 15 :</b>	Structure générale des tanins condensés.....	<b>31</b>
<b>Figure 16 :</b>	Structure de lignanes.....	<b>32</b>
<b>Figure 17 :</b>	Structure de stilbènes.....	<b>32</b>
<b>Figure 18 :</b>	Structure des coumarines simples.....	<b>33</b>
<b>Figure 19 :</b>	<i>Salvia balansae</i> (Feuilles, fleurs et graines).....	<b>41</b>
<b>Figure 20:</b>	Localisation géographique de la zone d'échantillonnage de <i>Salvia .balansae</i> (Google Earth).....	<b>42</b>
<b>Figure 21 :</b>	Mécanisme réactionnelle du DPPH avec un antioxydant ayant un radical hydrogène transférable.....	<b>49</b>
<b>Figure 22 :</b>	Réaction entre le radical ABTS et le composé antioxydant.....	<b>52</b>
<b>Figure 23 :</b>	Rat <i>Wistar</i> albinos.....	<b>54</b>
<b>Figure 24 :</b>	Diagramme du protocole expérimental .....	<b>55</b>
<b>Figure 25 :</b>	Principe du dosage du glucose.....	<b>57</b>
<b>Figure 26 :</b>	Principe du dosage du cholestérol.....	<b>58</b>
<b>Figure 27 :</b>	Principe du dosage des triglycérides.....	<b>59</b>
<b>Figure 28 :</b>	Principe du dosage du cholestérol HDL.....	<b>59</b>
<b>Figure 29 :</b>	Principe du dosage de L'aspartate aminotransférase.....	<b>60</b>
<b>Figure 30 :</b>	Principe du dosage de l'alanine aminotransférase.....	<b>60</b>
<b>Figure 31 :</b>	Principe du dosage de la créatinine.....	<b>61</b>
<b>Figure 32 :</b>	Principe du dosage de l'acide urique.....	<b>61</b>



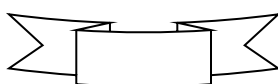
<b>Figure 33 :</b>	Principe du dosage de la testostérone sérique.....	<b>62</b>
<b>Figure 34 :</b>	Mesure du diamètre et la hauteur tubulaire par Axion Vision SE64 de CARL ZEIS.....	<b>65</b>
<b>Figure 35 :</b>	Quantification de la lumière tubulaire par Image J.....	<b>66</b>
<b>Figure 36 :</b>	Criblage phytochimique de l'extrait aqueux de <i>S. balansae</i> .....	<b>69</b>
<b>Figure 37 :</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	<b>69</b>
<b>Figure 38 :</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	<b>69</b>
<b>Figure 39 :</b>	Courbe d'étalonnage de la Catéchine.....	<b>70</b>
<b>Figure 40 :</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.....	<b>71</b>
<b>Figure 41 :</b>	Valeurs d'IC <sub>50</sub> DPPH de l'extrait (µgET/mL) et du Trolox (µg/mL).....	<b>72</b>
<b>Figure 42 :</b>	Taux d'inhibition du radical libre de DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux des feuilles de <i>S. balansae</i> .....	<b>72</b>
<b>Figure 43 :</b>	Taux d'inhibition du radical libre de DPPH en fonction des concentrations de Trolox.....	<b>72</b>
<b>Figure 44 :</b>	Valeurs d'IC <sub>50</sub> ABTS de l'extrait (µgET/mL) et du Trolox (µg/mL).....	<b>73</b>
<b>Figure 45 :</b>	Taux d'inhibition du radical-cation libre d'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait aqueux des feuilles de <i>S. balansae</i> .....	<b>74</b>
<b>Figure 46 :</b>	Taux d'inhibition du radical-cation libre d'ABTS en des concentrations de Trolox.....	<b>74</b>
<b>Figure 47 :</b>	Valeurs d'IC <sub>50</sub> de l'extrait (µgENa <sub>2</sub> EDTA/mL) et du NaEDTA (µg/mL).....	<b>74</b>
<b>Figure 48 :</b>	Activité chélatrice de l'extrait aqueux des feuilles de <i>S. balansae</i> .....	<b>75</b>
<b>Figure 49 :</b>	Activité chélatrice du Na <sub>2</sub> EDTA.....	<b>75</b>
<b>Figure 50 :</b>	Pouvoir réducteur du fer par l'acide l'extrait aqueux des feuilles de <i>S. balansae</i> .....	<b>76</b>
<b>Figure 51 :</b>	Pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique.....	<b>76</b>
<b>Figure 52 :</b>	Valeurs d'IC <sub>50</sub> de l'extrait (µgE A/mL) et de l'acarbose (µg/mL).....	<b>76</b>
<b>Figure 53 :</b>	Inhibition de l'α- amylase par l'extrait.....	<b>77</b>
<b>Figure 54 :</b>	Inhibition de l'α-amylase par l'acarbose.....	<b>77</b>
<b>Figure 55 :</b>	Evolution du poids corporel (g) chez les rats témoins, HFD et HFD+SB... .....	<b>78</b>
<b>Figure 56 :</b>	Glycémie chez les rats témoins, HFD et HFD+SB.....	<b>79</b>
<b>Figure 57:</b>	Transaminases hépatiques chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB.....	<b>82</b>
<b>Figure 58 :</b>	La CRP chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB.....	<b>83</b>
<b>Figure 59 :</b>	Créatinine chez les groupes témoin, HFD et HFD+SB.....	<b>84</b>
<b>Figure 60 :</b>	Acide urique chez le groupe témoin, HFD et HFD+SB.....	<b>85</b>
<b>Figure 61 :</b>	Testostérone sérique chez le groupe témoin, HFD et HFD+SB.....	<b>86</b>
<b>Figure 62 :</b>	Diamètre des tubes séminifères.....	<b>92</b>
<b>Figure 63 :</b>	Hauteur de l'épithélium germinale.....	<b>92</b>
<b>Figure 64 :</b>	Pourcentage de la lumière tubulaire.....	<b>92</b>



<b>Figure 65:</b>	Indice de différenciation tubulaire.....	<b>93</b>
<b>Figure 66 :</b>	Indice de spermiogenèse.....	<b>93</b>

### **Listes des planches**

<b>Planche I :</b>	Coupes histologiques du testicule des rats témoins .....	<b>87</b>
<b>Planche II :</b>	Coupes histologiques du testicule des rats HFD .....	<b>88</b>
<b>Planche III:</b>	Coupes histologiques du testicule des rats HFD .....	<b>89</b>
<b>Planche IV:</b>	Coupes histologiques du testicule des rats HFD+SB .....	<b>90</b>



# *Annexes*

**Annexe 1 : Réactifs des alcaloïdes**

**1. Réactif de Mayer**

Chlorure de mercure .....	1.36g
Iodure de potassium .....	05g
Eau distillée .....	100mL

**2. Réactif de Wagner**

Iodure de potassium .....	2 g
Iode .....	1.27g
Eau distillée .....	100mL

**3. Réactif de Dragendorff (Solution A+B (V/V))**

*Solution A*

Acide tartrique concentré .....	20g
Nitrate de bismuth .....	1.7g
Eau distillée .....	100mL

*Solution B*

Iodure de potassium .....	10g
Eau distillée .....	100mL

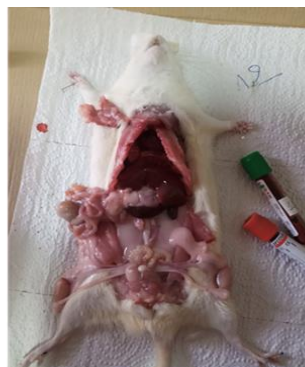
Annexe 02 : Preuves de la réalisation des expériences



Rats Wistar



Gavage



Dissection



Prélèvement du sang



Prélèvement et fixation des organes



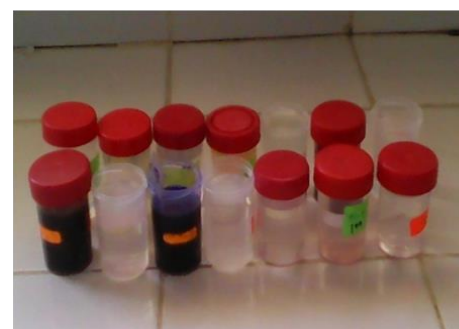
Déshydrations des organes



Imprégnation



Mis en blocs



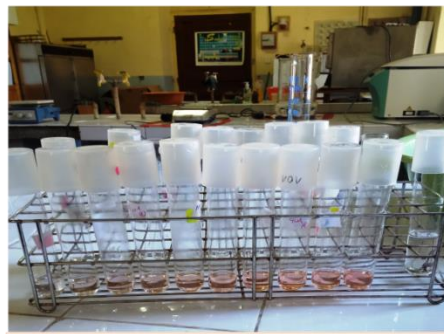
Coloration



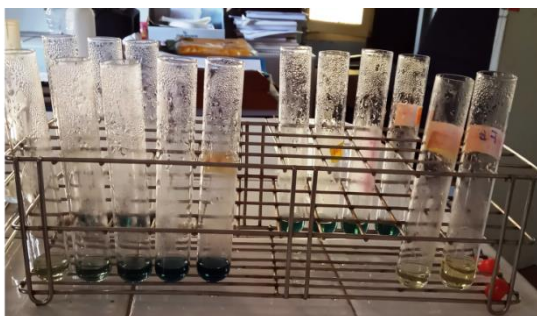
Dosage des polyphénols totaux



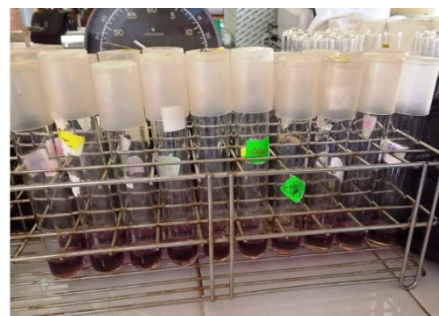
Dosage des flavonoïdes totaux



Dosage des tanins condensés



TAC



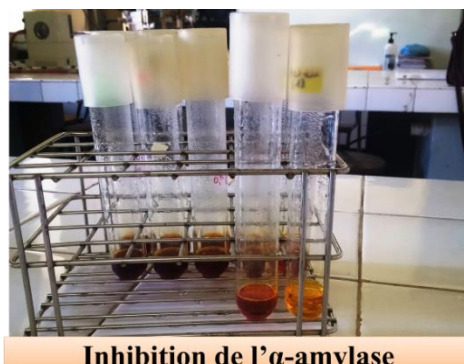
DPPH



FRAP



Chélation du fer ferreux



Inhibition de l' $\alpha$ -amylase