

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة محمد الصديق بن يحيى
كلية علوم الطبيعة و الحياة
المكتبة
2699
رقم الترخيص

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Jijel

Faculté des Sciences de la Nature
et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et
Cellulaire

جامعة جيجل

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme
Master en Biologie

Option : Pharmacologie Expérimentale

Intitulé

**Contribution à l'étude de l'activité antidiabétique de
l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*
L.chez le rat diabétique**

Membres de Jury :

Présidente : Dr. RECHRECHE H.

Examineurs : Dr. ALYANE M.

Dr. BENGUEDOUER L.

Encadreur : Dr. KEBIECHE M.

Présenté par :

Bouchkara Samia

Laalam Fatima Zohra

Yessad Nassima

Années Universitaire : 2012- 2013

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu, le Tout-Puissant, qui nous a aidées à réaliser ce travail.

Nous remercions très sincèrement Dr. KEBIECHE Mohammed, Maître de conférences à l'Université de Jijel, d'avoir accepté de diriger ce travail, et M^{me} CHERBAL Asma, maître-assistante à l'Université de Jijel, d'avoir accepté de nous co-encadrer. Nous sommes très reconnaissantes envers eux pour leur aide, leurs conseils, leurs compétences et leur présence en tout moment.

Nous remercions vigoureusement Dr. RECHRECHE Hocine et Dr. ALYANE Mohammed, Maîtres de conférences à l'Université de Jijel et M^{me} BENGUEDOUER Lamia, maître-assistante à l'Université de Jijel, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous adressons également nos remerciements M^{me} ZINE Houria, ingénieur au laboratoire de Pharmacologie à l'Université de Jijel, pour son aide pendant les jours de travail les plus longs et sa capacité de supporter stoïquement notre impositions qui parfois exagérée.

Merci à tous les enseignants du département de la Biologie moléculaire et cellulaire et en particulier Mr. BAHRI Laid pour sa précieuse aide.

Enfin, nous remercions infiniment nos familles et nos amis qui ont été là dans les bons comme dans les mauvais moments, pour leur soutien inestimable et leur accompagnement jusqu' au jour de la soutenance.

Sommaire

Introduction	1
Analyse bibliographique	3
Chapitre I : Le diabète sucré	3
I.1. Définition et généralités	3
I.1.1. Diabète de type 1 (DT1).....	3
I.1.2. Diabète de type 2 (DT2).....	3
I.2. Physiopathologie de diabète	4
I.2.1. Rappel anatomique du pancréas.....	4
I.2.2. L'insuline.....	5
I.2.2.1. Structure et biosynthèse de l'insuline.....	5
I.2.2.2. La sécrétion de l'insuline.....	6
I.2.2.3. Mécanisme d'action de l'insuline	7
A. Récepteur de l'insuline (IR).....	7
B. Effets métaboliques de l'insuline.....	8
a. Effet sur le transport de glucose dans les cellules insulinosensibles.....	8
b. Action sur l'utilisation et le stockage de glucose.....	8
c. Action sur le métabolisme protéique.....	9
d. Action sur le métabolisme lipidique.....	9
I.2.2.4. L'insulinorésistance.....	9
I.3. Les diabétogènes.....	9
I.3.1. Structure d'alloxane.....	10
I.3.2. Propriétés physico-chimiques de l'alloxane.....	10
I.3.3. Mécanisme d'action.....	10
I.3.3.1. Inhibition sélective de la sécrétion d'insuline par inhibition de la glucokinase.....	10
I.3.3.2. Le cycle redox et la régénération des ERO toxiques.....	11
I.4. Stress et diabète.....	12
I.4.1. Rappel sur le stress oxydatif.....	12
I.4.1.1. Définition.....	12
I.4.1.2. Les cibles biologiques de stress oxydant.....	12
A. L'ADN.....	12
B. Les protéines.....	12
C. Les lipides.....	13
D. Les glucides.....	13
I.4.1.3. Système de défense antioxydante.....	13
A. Systèmes antioxydants enzymatiques.....	13
a. Catalase	13
b. Glutathionne-S-transférase.....	14
B. Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	14
I.4.2. Stress oxydant et Complications du Diabète.....	14
I.4.2.1. la glucotoxicité liée à l'hyperglycémie.....	14
A. L'auto-oxydation	14
B. Voie des polyols.....	14
C. La voie de la protéine kinase C (PKC).....	15
D. Glycosylation non enzymatique des protéines.....	15
I.5. Les Complications liées au diabète sucré.....	16
I.5.1. Les complications aiguës.....	16
I.5.1.1. L'acidocétose.....	16
I.5.1.2. Coma hyperosmolaire.....	16
I.5.1.3. L'acidose lactique.....	16
I.5.1.4. L'hypoglycémie.....	16

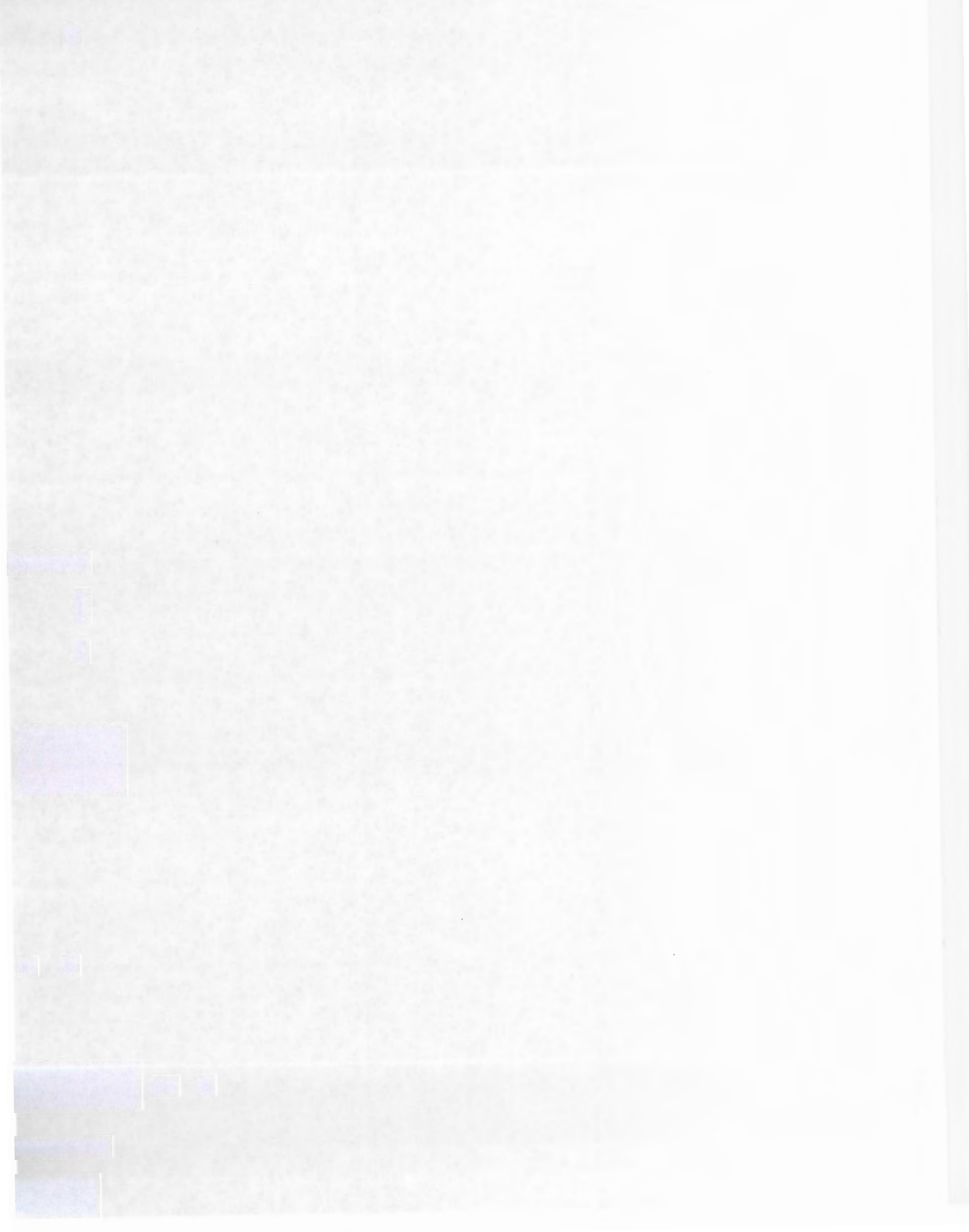
I.5.2. Les complications chroniques dégénératives.....	16
I.5.2.1. Angiopathie.....	17
A. La microangiopathie.....	17
B. La macroangiopathie.....	17
I.5.2.2. Neuropathie.....	17
I.6. Traitement antidiabétique.....	17
I.6.1. Insulinothérapie.....	17
I.6.2. Hypoglycémiantes oraux.....	18
I.6.2.1. Les biguanides.....	18
I.6.2.2. Les sulfamides hypoglycémiantes.....	18
I.6.2.3. Les inhibiteurs de l'alpha-glucosides.....	18
Chapitre II : Les composés phénoliques.....	19
II.1. Généralités.....	19
II.2. Les principales classes des composés phénoliques.....	19
II.2.1. Les acides phénoliques.....	20
II.2.2. Flavonoïdes.....	21
II.2.3. Les tannins.....	21
II.2.3.1. Les tannins hydrolysables.....	21
II.2.3.2. Les tannins condensés.....	21
II.3. Biodisponibilité.....	22
II.4. Intérêt biologique des composés phénoliques.....	23
II.4.1. Activité anti-oxydante.....	23
II.4.1.1. Piégeage direct de radicaux libres.....	23
II.4.1.2. Chélation des ions Métalliques.....	24
II.4.2. Activité antidiabétique.....	24
Chapitre III : <i>Pistacia Lentiscus L.</i>.....	25
III.1. Généralité.....	25
III.2. Présentation de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	25
III.2.1. Classification taxonomique.....	25
III.2.2. Présentation et description.....	26
III.2.3. Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce.....	27
III.2.4. Utilisations thérapeutiques traditionnelles.....	27
III.2.5. Propriétés thérapeutiques.....	28
Partie expérimentale.....	29
Chapitre I : Matériel et Méthodes.....	29
Partie I: L'extraction de la plante de <i>Pistacia lentiscus L.</i>.....	29
I.1. Echantillonnage des plantes.....	29
I.2. Conservation et séchage.....	29
I.3. Broyage et tamisage.....	29
I.4. Préparation des extraits méthanoliques.....	29
Partie II. Etude de l'effet antihyperglycémique et antioxydant de l'extraithydrométhanolique chez le rat <i>wistar albinos.</i>.....	31
II.1. Les Animaux.....	31
II.2. Test de tolérance au glucose.....	31
II.3. Induction du diabète (Diabète expérimental).....	31
II.4. Traitement des animaux.....	32
II.5. Prélèvement sanguin et mesure du poids.....	32
II.6. Sacrifice des animaux et Prélèvement des organes.....	33
II.7. Dosage des paramètres biochimiques.....	33
II.7.1. Mesure de la glycémie.....	33
II.7.2. Dosage des paramètres lipidiques.....	33
II.7.2.1. Dosage du cholestérol total.....	33
II.7.2.2. Dosage des triglycérides.....	34

II.7.2.3. Le dosage plasmatique de l'insuline.....	35
II.8. Méthode de dosage des paramètres du stress oxydant	36
II.8.1. Dosage des substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBARS)	36
II.8.2. Evaluation de l'activité des enzymes antioxydantes	37
II.8.2.1. Prélèvement du cytosol	37
II.8.2.2. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase	37
II.8.2.3. Dosage des protéines totales.....	38
II.8.2.4. Mesure de l'activité Glutathion S-Transférase	38
II. 9. Evaluation statistique	39
Chapitre II : Résultats et discussion	40
II.1. Test de tolérance au glucose	40
II.2. L'influence du traitement sur le poids corporels chez des rats diabétiques	41
II.3. Evaluation du taux de la glycémie	43
II.4. Détermination de taux de l'insuline plasmatique	44
II.5. Détermination du cholestérol total dans le sang	45
II.6. Détermination du taux des triglycérides sériques	47
II.7. Evaluation des différents paramètres du statut redox dans le foie et le pancréas	48
II.7.1. Evaluation du taux du MDA cytosolique au niveau du foie et du pancréas	48
II.7.2. Evaluation de l'activité de la catalase cytosolique au niveau du foie et du pancréas.....	50
II.7.3. Evaluation de l'activité de la glutathion-s-transférase (GST) cytosolique au niveau du foie et du pancréas	52
Conclusion	55
Références bibliographiques	56

Liste des figures

Figure 1 : Structure de pancréas humain	4
Figure 2 : Synthèse de l'insuline	6
Figure 3 : Sécrétion de l'insuline en réponse au glucose par les cellules β du pancréas	7
Figure 4 : Le récepteur de l'insuline	8
Figure 5 : Structure chimique de l'alloxane	10
Figure 6 : Cycle redox entre alloxane et acide dialurique	
Figure 7 : Exemple de quelques acides phénoliques de la série benzoïque	11
Figure 8 : Exemple de quelques acides phénols de la série cinnamique	
Figure 9 : structure de base des flavonoïde	19
Figure10 : Exemple de quelques tannins	20
Figure 11 : Piégeage des ERO (R°) par les flavonoïdes	20
Figure 12 : Sites de chélation des flavonoïdes (quercétine)	22
Figure 13 : Description botanique de <i>Pistacia lentiscus</i>	23
Figure 14 : protocole de l'extraction des polyphénols	24
Figure 15 : Evolution de la tolérance au glucose chez les rats hyperglycémiques traités ou non par l'extrait hydro-méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	27
Figure 16 : Evaluation de poids corporel chez les rats traité ou non par l'extrait hydro-méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	30
Figure17 : Variation de la glycémie pendant une semaine de traitement par l'extrait hydro-méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	40
Figure 18 : Variation de l'insulinémie après 7 jours de traitement par l'extrait de <i>Pistacia lentiscus</i> L. et le glibenclamide.	42
Figure 19 : Variation de concentration du cholestérol total après 7 jours de traitement par l'extrait de <i>Pistacia lentiscus</i> L. et le glibenclamide.	43
Figure 20 : La variation de concentration du triglycéride total à la fin de traitement	45
Figure 21 : Variation du taux du MDA cytosolique au niveau du foie après 7 jours de traitement par l'extrait de <i>Pistacia lentiscus</i> L. et le glibenclamide	46
Figure 22 : Variation du taux de MDA cytosolique au niveau du pancréas après 7 jours de	47
Figure 23 : Variation du taux de la catalase cytosolique au niveau du foie à la fin du traitement	49
Figure 24 : Variation du taux de la catalase cytosolique au niveau du pancréatique à la fin du traitement.	49
Figure 25 : Variation du taux de GST cytosolique au niveau du foie à la fin du traitement.	51
	53

Figure 26 : Variation du taux de GST cytosolique au niveau du foie à la fin du traitement.



Liste des Tableaux

Tableau 1: Principales classes des flavonoïdes 25

Tableau 2 : les noms vernaculaires du *Pistachia lentiscus* L... 33

Liste des abréviations

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AGEs : Advanced Glycation End Products

ARNm : Acide RiboNucléique Messenger

ADP : Adénosine Di-phosphate

ATP : Adénosine Tri-phosphate

CAT : Catalase

CDNB : Chlorodinitrobenzène

Cu/Zn-SOD : Superoxyde Dismutase à Cuivre/Zinc

DAG : Diacylglycérol

DS : Diabète Sucré

DID : Diabète Insulinodépendant

DNID : Diabète Non Insulinodépendant

DO : Densité Optiques

DT1 : Diabète de Type 1

DT2 : Diabète de Type 2

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra-Acétique

ERA : Espèces Réactives D'azote

ERO : Espèces Réactives D'oxygène

Glib : Glibenclamide

T⁻ : Témoin négatif

T⁺ : Témoin positif

GLUT2 : Glucose Transporteur 2

GLUT-4 : Glucose Transporteur 4

GPx : Glutathion Peroxydase

GR : Glutathion Réductase

Grb2 : Growth Factor Receptor-bound Protein 2

GS• : Radicaux Thiyles

GSH : Glutathion réduit

GSK3-beta : Glycogène Synthase Kinase 3-beta

GST : Glutathion S-Transférase

HDL : Lipoprotéines de Haute Densité

HMG-COA réductase : 3-Hydroxy-3-Méthyle-Glutaryl Coenzyme A réductase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HO• : Radical Hydroxyl

LCAT : Lecithin-Cholestérol Acyl Transférase

LDL : Lipoprotéine de Basse Densité

MDA : Malondialdéhyde

NO : Nitric Oxide

NOS : Synthase de l'Oxyde Nitrique

NBT : Nitoblu-Tétrazolim

OH : Hydroxyle

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

O₂ : Oxygène

O₂^{•-} : Anion Superoxide

1O₂ : Oxygène Singulet

PI 3-Kinase: Phosphatidyl-Inositol-3-kinase

PKB : Protéine kinase B

PKC : Protéine kinase C

PTP : Pore de Transition de Perméabilité

SOD : Superoxyde Dismutase

STZ : Streptozotocine

TBA : Acide Thiobarbiturique

TBARS : Thiobarbituric Acid-Reactive Substances

TCA : Acide Trichloracétique

TG : Triglycérides

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

Introduction

Ce présent travail consiste :

- A étudier l'effet de l'administration de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. à la dose quotidienne de 300 mg/kg pendant 7 jours sur la concentration sérique de glucose, de l'insuline et des lipides (cholestérol total et triglycérides) chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane.
- A étudier du pouvoir antioxydant de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. par la mesure du taux du malonyldialdéhyde (MDA), de la catalase (CAT) et de glutathion-s-transférase (GST) hépatique et pancréatique des rats rendus diabétiques par l'alloxane.

Analyse bibliographique

Chapitre I

Diabète sucré

Chapitre I : Le diabète sucré

I.1. Définition et généralités

Le mot diabète signifie « passé à travers » en référence à la forte polyurie qui caractérise la maladie (Khalifa et *al.*, 2009).

Le diabète sucré (DS) est un syndrome regroupant un ensemble de maladies métaboliques et caractérisé par une hyperglycémie chronique, suite à une anomalie de sécrétion ou action de l'insuline, ou à la combinaison des deux (Chevenne et Trivin, 1998 ; Buyschaert, 2006). Cette hyperglycémie provoque à long terme des complications touchant de nombreux organes : les yeux, les reins, ainsi que le système nerveux et l'appareil cardiovasculaire (Chevenne et Trivin, 1998). Selon les recommandations de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), il y a diabète quand la glycémie à jeun est supérieure à 7 m mol/l (1.26 g/l) mesurée consécutivement à deux reprises ou une glycémie post- prandiale supérieure à 11.1 m mol/l (2 g/l) (Sambo, 2005 ; Buyschaert, 2006).

On peut distinguer plusieurs types de diabète :

I.1.1. Diabète de type 1 (DT1)

Le DT1 dit insulino-dépendant (DID) ou diabète juvénile représente 10-15 % (Silbernagl et Lang, 2000). Il est particulièrement présent chez l'enfant et l'adolescent. Ce diabète se caractérise par une destruction à médiation immunitaire des cellules β pancréatiques qui conduit à une déficience en insuline (Ménat, 2012).

L'apparition des manifestations cliniques est brutale et est marquée par une série de symptômes spécifiques tels que polyurie, polydipsie, polyphagie, amaigrissement et asthénie, cétonurie accompagnée d'une glycosurie (Talbert et *al.*, 2006).

I.1.2. Diabète de type 2 (DT2)

Le DT2, appelé diabète non insulino-dépendant (DNID), représente plus de 80 % des cas de diabète, c'est la forme la plus fréquente de diabète chez l'adulte de plus de 40 ans (Silbernagl et Lang, 2000). Il est causé à la fois par une résistance de l'organisme à l'action de l'insuline (insulinorésistance) et par une diminution de l'insulinosécrétion pancréatique (Clark et Nilsson, 2004).

Le diabète de type 2 entraîne peu des symptômes cliniques : fatigue, jambes lourdes et mictions nocturnes ...etc (Talbert et *al.*, 2006).

L.2. Physiopathologie de diabète

L.2.1. Rappel anatomique du pancréas

Le pancréas est un organe situé profondément dans l'abdomen, derrière l'estomac, devant et au-dessus des reins. Il est formé d'une tête enchâssée dans le duodénum (Martin et Forest, 2009).

Le pancréas est une glande mixte composée de cellules exocrines et de cellules endocrines (Kein, 2009). Les cellules exocrines représentent 98 % des cellules pancréatiques, elles sont organisées en acini et produisent des enzymes qui seront libérées dans la lumière duodénale au cours de la digestion (Silverthorn, 2007). Les cellules endocrines sont organisées en îlots anciennement appelés "îlots de Langerhans" ; elles sécrètent des hormones qui interviennent dans le métabolisme glucidique mais qui affectent également beaucoup d'autres processus, ces hormones sont libérées dans la veine pancréatique qui débouche dans la veine porte. Quatre types de cellules endocrines ont été identifiés :

- Cellules alpha α : elles représentent environ 25 % des cellules endocrines et sont responsables de la synthèse de glucagon, hormone hyperglycémiant et hyperlipidémiant.
- Cellules bêta β : elles représentent près de 70 % des cellules endocrines et sont responsables de la synthèse d'insuline, une hormone hypoglycémiant et hypolipidémiant.
- Cellules D ou δ : elles sont très minoritaires (< 5 %) et sont responsables de la synthèse de somatostatine qui inhibe l'activité sécrétoire des cellules α et β (Hennen, 2001) (Figure 1).

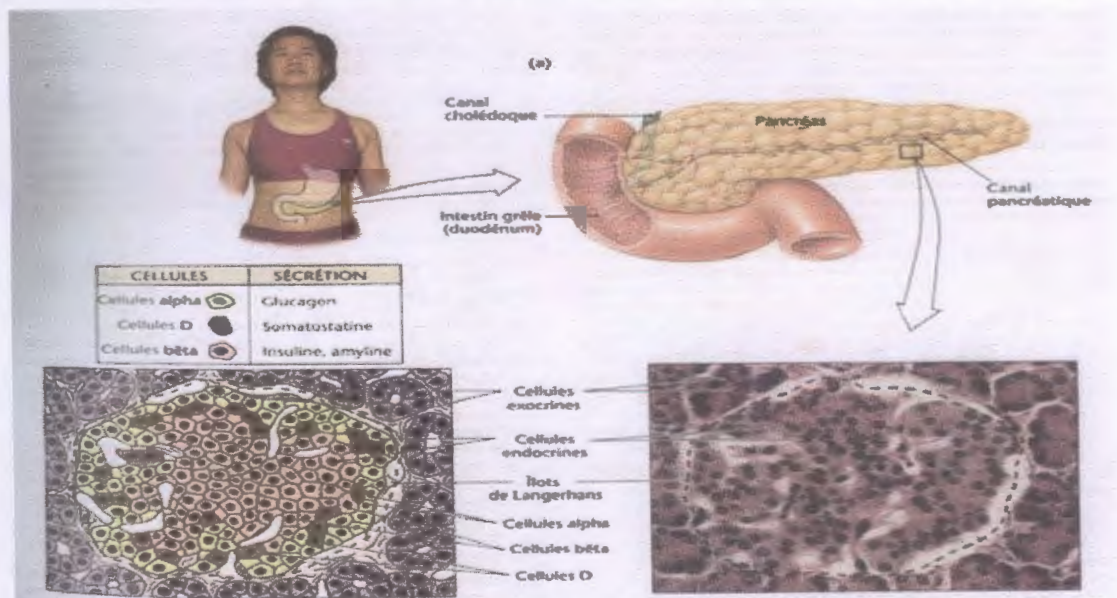


Figure 1 : Structure de pancréas humain (Silverthorn, 2007)

I.2.2. L'insuline

I.2.2.1. Structure et biosynthèse de l'insuline

L'insuline est un polypeptide de taille plutôt modeste, d'un poids moléculaire d'environ 6 kDa, c'est un hétéro-dimère constitué de deux chaînes polypeptidiques, la chaîne A et la chaîne B, reliées par deux ponts disulfures inter-chaînes qui relient A7 à B7 et A20 à B19 (Magnan et Ktorza, 2005 ; Bouglé et Annane, 2009). Un troisième pont disulfure intrachaîne relie les résidus 6 et 11 de la chaîne A. Le site de ces trois ponts disulfure est constant et dans la plupart des espèces, les chaînes A et B renferment respectivement 21 et 30 acides α -aminés (Figure 2) (Murray et al., 1993). La synthèse de l'insuline commence dans le noyau des cellules β pancréatiques par la transcription d'un gène porté par le bras court du chromosome 11 codant pour une molécule précurseur de haut poids moléculaire qui est la pré-pro-insuline. L'ARNm obtenu est ensuite traduit, grâce aux ribosomes au niveau des citernes du réticulum, en une protéine de 11.5 kDa, la pré-pro-insuline. Cette molécule est alors déversée dans la lumière du réticulum endoplasmique où des enzymes protéolytiques vont cliver la séquence signal, formant ainsi la pro-insuline qui contient l'insuline mature d'une taille finale de 51 acides aminés et de poids moléculaire de 6 kDa et un peptide de connexion (ou peptide-C de 31 acides aminés ayant un poids moléculaire de 3 kDa) ce peptide relie la fin de la chaîne A au début de la chaîne B (Magnan et Ktorza, 2005). Après son passage dans le réticulum endoplasmique, la pro-insuline est transportée dans des microvésicules intermédiaires vers l'appareil de Golgi et enveloppée dans des vésicules, les granules β . Puis, des endopeptidases spécifiques (les prohormones convertases 2 et 3) et la carboxypeptidase H vont cliver le peptide C et l'insuline mature conservée jusqu'à son excrétion sous forme d'hexamère contenant du zinc, les granules sont excrétées par exocytose (De Meyts, 2004) (Figure 2).

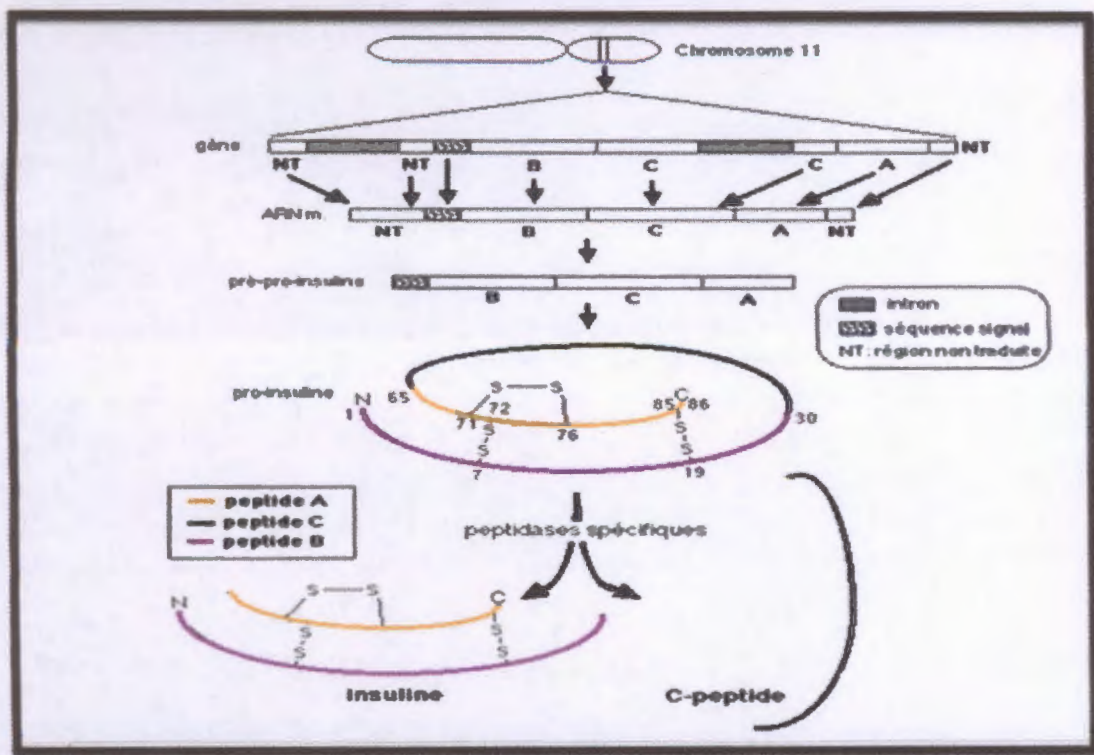


Figure 2 : Synthèse de l'insuline (Magnan et Ktorza, 2005)

I.2.2.2. La sécrétion de l'insuline

Le glucose induit la sécrétion d'insuline. Il pénètre tout d'abord dans la cellule β à l'aide d'un transporteur spécifique, le GLUT2 (*glucose transporter*) dont les caractéristiques biochimiques permettent un passage de cet hexose dans la cellule de manière proportionnelle à sa concentration environnante. Cette propriété aboutit à un équilibre de la concentration en glucose de part et d'autre de la membrane cytoplasmique. En d'autres termes, la concentration intracellulaire en glucose reflète la concentration extracellulaire. Le glucose est ensuite rapidement phosphorylé en glucose-6-phosphate par la glucokinase (Magnan et Ktorza, 2005). Le glucose-6-phosphate alors obtenu est utilisé en grande majorité par la voie de la glycolyse et de la respiration oxydative. Ce métabolisme est à l'origine notamment d'ATP, ce qui va conduire à l'inactivation des canaux K^+ /ATP. Celle-ci va alors entraîner une dépolarisation membranaire et une ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. Il y a donc une augmentation massive de calcium intracytosolique, va induire l'exocytose des vésicules contenant l'insuline (Malaisse *et al.*, 1985) (Figure 3).

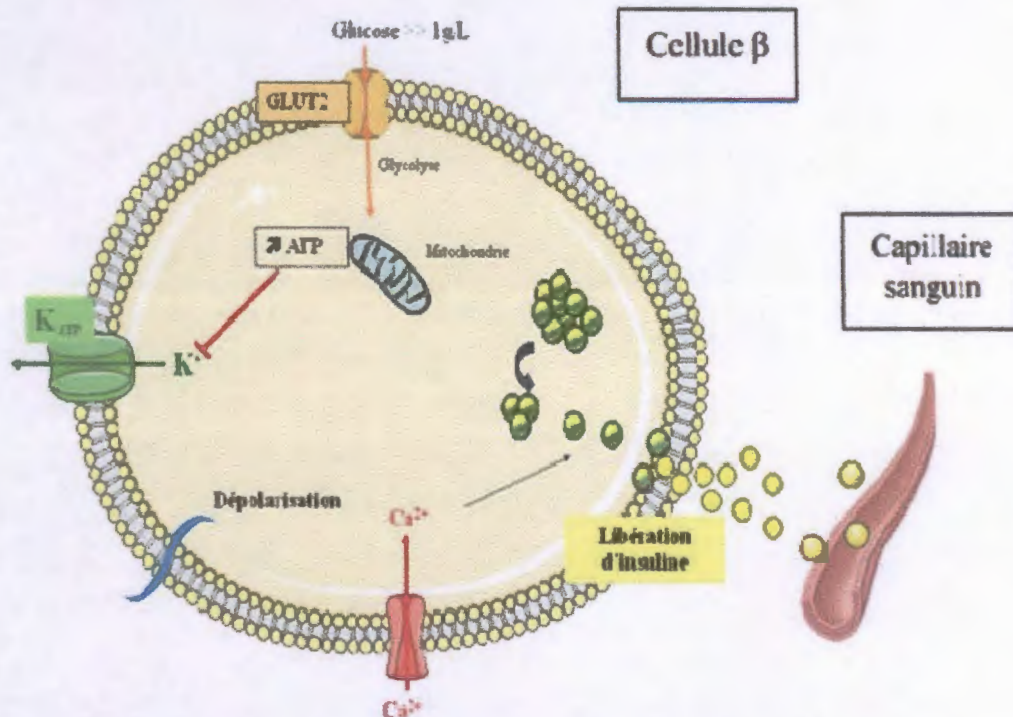


Figure 3 : Sécrétion de l'insuline en réponse au glucose par les cellules β du pancréas (Guillad –maximin, 2007).

I.2.2.3. Mécanisme d'action de l'insuline

A. Récepteur de l'insuline (IR)

Le IR est une protéine spécifique de type tyrosine kinase situé à la surface de toutes les cellules et composé de deux sous-unités alpha (~135 kDa) et de deux sous-unités beta (~95 kDa), le tout lié par des ponts disulfures et formant un hétéro dimère. Chacune des deux sous-unités glycoprotéiques a une structure et des fonctions propres (figure 4) (Capeau *et al.*, 1996). L'insuline doit tout d'abord se lier à la sous-unité α de son récepteur membranaire, pour que ce dernier puisse subir un changement conformationnel afin de provoquer l'autophosphorylation sur des résidus tyrosines de la sous unité β du récepteur. D'autres protéines substrats, essentiellement cytosoliques, recrutées par phosphorylation des résidus tyrosine, telles que les protéines IRS (Insulin Receptor Substrate), interviennent dans la transmission du message insulinique en recrutant à leur tour des protéines effectrices. Les IR sont exprimés par les cellules des tissus insulinosensibles comme les cellules du tissu adipeux, des muscles squelettiques et le foie (Bouglé et Annane, 2009).

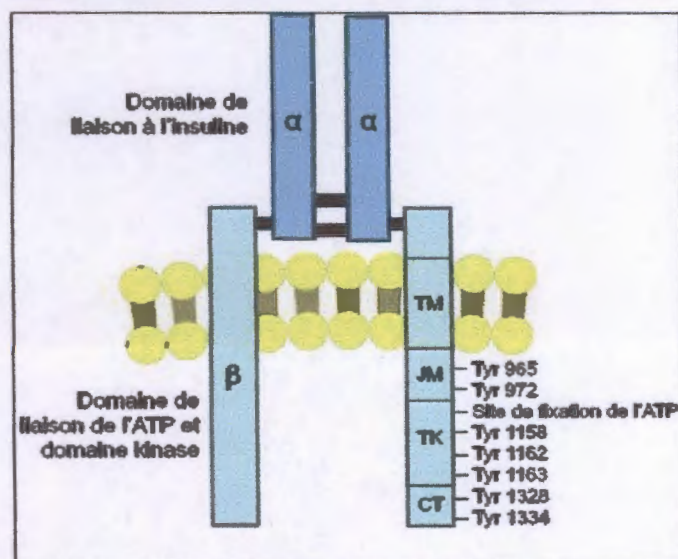


Figure 4 : Le récepteur de l'insuline (Jensen et De Meyts, 2009)

B. Effets métaboliques de l'insuline

Les cibles essentielles de l'insuline sont le foie, les tissus adipeux et les muscles squelettiques. Elle abaisse la glycémie de quatre façons :

a. Effet sur le transport de glucose dans les cellules insulinosensibles

Le tissu adipeux et le muscle squelettique au repos demandent de l'insuline pour prélever le glucose. En absence d'insuline, leur transporteurs GLUT4 sont retirés de la membrane et stockés dans des vésicules cytoplasmiques. Quand l'insuline se lie au récepteur et l'active, la cascade de transduction du signal provoque le transport des vésicules vers de la membrane et l'insertion des transporteurs GLUT4 par exocytose (Silverthorn, 2007). Dès lors, le glucose entre dans la cellule par diffusion facilitée. Les hépatocytes ont des transporteurs GLUT2 toujours présents dans la membrane cellulaire (Capeau, 2003).

b. Action sur l'utilisation et le stockage de glucose

S'il y a plus de glucose ingéré que nécessaire pour l'énergie et les synthèses, l'insuline active les enzymes de glycolyse et de la glycogénogenèse (Guillod-Maximin, 2007 ; Silverthorn, 2007). En même temps, elle inhibe les enzymes de la dégradation du glycogène (glycogénolyse) et de la synthèse du glucose (néoglucogenèse) (Silverthorn, 2007).

c. Action sur le métabolisme protéique

L'insuline active les enzymes de la synthèse protéique et inhibe celles de leur dégradation. Elle favorise la captation des acides aminés par les tissus, en général dans les muscles squelettiques, dans le muscle cardiaque et dans le foie. Les acides aminés en excès sont transformés en acides gras (Silverthorn, 2007 ; Kein, 2009).

d. Action sur le métabolisme lipidique

L'insuline favorise la lipogenèse et inhibe la lipolyse au niveau du foie, du tissu adipeux et des muscles striés (Moussard, 2005). Elle inhibe la beta-oxydation des acides gras et favorise la transformation du glucose et des acides aminés en excès en triglycérides. Ces excès sont stockés sous forme de gouttelette dans les tissus adipeux (Silverthorn, 2007).

I.2.2.4. L'insulinorésistance

Le terme insulino-résistance désigne une réponse biologique à l'insuline diminuée ou défectueuse *in vivo*. Elle est caractéristique du diabète non insulino-dépendant et concerne la majorité des tissus cibles (foie, muscle, tissus adipeux) (Dagogo-Jack et Santiago, 1997). D'où une diminution de l'utilisation du glucose par ces tissus et de son stockage hépatique, l'insulinorésistance semble être liée à une réduction du nombre des transporteurs intracellulaire du glucose ou à la présence d'un défaut de phosphorylation de la tyrosine kinase du récepteur de l'insuline au niveau du foie. Ces anomalies de l'insuline entraînent une hyperglycémie qui à tour, va aggraver ces anomalies. Cet effet délétère de l'hyperglycémie constitue le concept de glucotoxicité (khalifa *et al.*, 2009 ; Zhande, 2002).

I.3. Les diabétogènes

Les substances chimiques diabétogènes les plus courantes sont l'alloxane (ALX) et la streptozotocine (STZ), tous deux analogues du glucose. Ils peuvent être soit des agents toxiques pour les cellules B, soit des inhibiteurs la synthèse et/ou la sécrétion insulinique (Hazard, 1977). L'alloxane a fait une contribution remarquable dans le domaine de la biologie expérimentale. En effet, il est utilisé dans les recherches concernant essentiellement le syndrome du diabète sucré depuis qu'on a constaté que cette substance produit, chez certains animaux de laboratoire tels que le rat et le lapin, un état diabétique très analogue au diabète sucré humain. C'est pourquoi l'alloxane a été employé dans les études du diabète par beaucoup des chercheurs (Jaamri *et al.*, 2012).

L3.1. Structure d'alloxane

L'alloxane est un composé organique formé d'un squelette hétérocyclique de la pyrimidine. C'est un composé chimique très instable avec une forme moléculaire très similaire à celle du glucose (Lenzen et Munday, 1991) (figure 5).

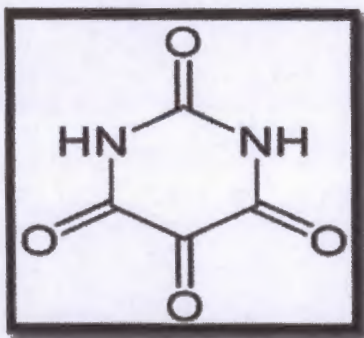


Figure 5 : Structure chimique de l'alloxane (Lenzen, 2008)

L3.2. Propriétés physico-chimiques de l'alloxane

Nom chimique : 2, 4, 5,6(1H, 3H)-pyrimidine tétraone monohydrate.

Structure chimique : $C_4H_2O_4N_2$

Masse moléculaire : 160,09 g/mol

Point de fusion : 253°C

La demi-vie de l'alloxane est minimale. Dans une solution aqueuse, il se décompose spontanément en acide alloxanique non diabétogène dans quelques minutes. L'alloxane est un composé hydrophile avec une haute affinité pour l'eau (Lenzen et Munday, 1991).

L3.3. Mécanisme d'action

Le diabète alloxanique est causé par la toxicité des cellules bêta pancréatiques sélective de ce composé (Lenzen et Panten, 1988). Qui détruit les cellules productrices d'insuline et induit un état de diabète sucré insulino-dépendant. L'alloxane, en raison de sa similarité structurale avec la molécule de glucose, ne pénètre pas dans les cellules β à travers la bicouche lipidique de la membrane plasmique, mais pénètre par l'intermédiaire du transporteur de glucose de faible affinité de glucose (GLUT 2) de la membrane plasmique. L'alloxane a deux effets pathologiques distincts interférents avec le fonctionnement physiologique des cellules β pancréatiques (Szkudelski, 2001 ; Soto et *al.*, 2004 ; Lenzen, 2008).

L3.3.1. Inhibition sélective de la sécrétion d'insuline par inhibition de la glucokinase

L'alloxane inhibe sélectivement la sécrétion de l'insuline induite par le glucose au niveau des cellules β via l'inhibition de l'enzyme glucokinase. Ce composé a un groupement 5-carbonyle qui réagit avec les groupes thiols situés au niveau du site de fixation de glucose à

l'enzyme qui est particulièrement sensible à l'oxydation par l'alloxane et inhibée au sein d'une minute après l'exposition.

L'inhibition de la glucokinase réduit l'oxydation de glucose et la génération d'adénosine triphosphate (ATP) qui joue un rôle du signal de sécrétion de l'insuline (Lenzen, 2008).

L3.3.2. Le cycle redox et la régénération des ERO toxiques

L'alloxane établit un cycle d'oxydoréduction avec formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO). La réaction cyclique se fait entre cette substance et le produit de sa réduction, acide dialurique (AH₂) (Lenzen et Panten, 1988).

Pour que l'alloxane puisse générer les ERO, il doit tout d'abord être réduit en acide dialurique. Cela exige la présence d'un thiol approprié, typiquement le tripeptide glutathion (GSH). La production de l'acide dialurique passe par deux étapes, la première produit le radical d'alloxane (AH) et la deuxième produit l'acide dialurique AH₂. Ce dernier n'est pas toxique dans la forme réduit (Nayeemunisa, 2009).

L'autoxydation de l'acide dialurique a été montrée pour produire des radicaux libres l'anion superoxide et de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), et dans la présence d'un métal ferreux une troisième oxydation dépendant de peroxydation d'hydrogéné pouvant produire le radical hydroxyle (OH). Ces radicaux libres provoquent ainsi la destruction rapide des cellules β (Dallatu et al., 2009) (Figure 6).

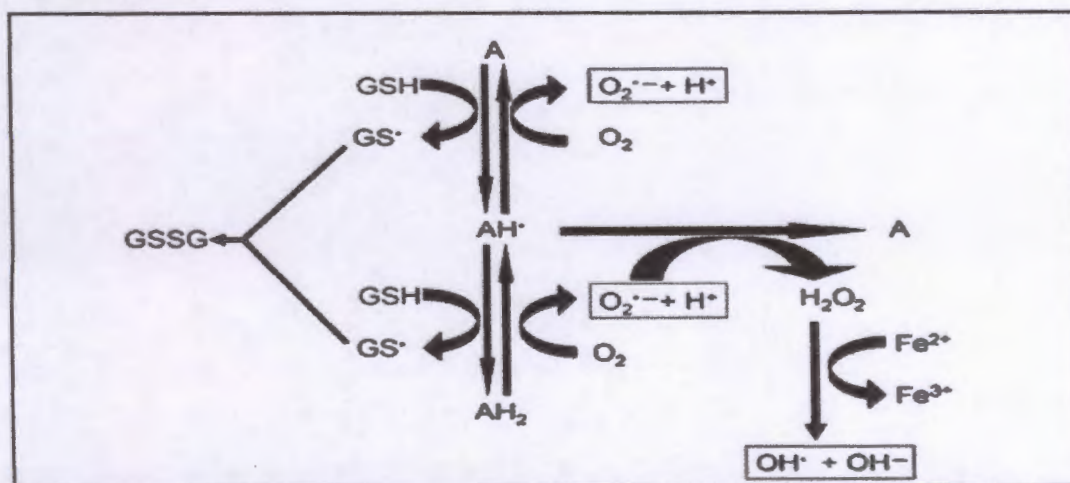


Figure 6 : Cycle redox entre alloxane et acide dialurique (Lenzen, 2008)

I.4. Stress et diabète

I.4.1. Rappel sur le stress oxydatif

I.4.1.1. Définition

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives d'oxygène (ERO) appelées radicaux libres, et les défenses antioxydantes (Thomas et *al.*, 2003). Ce déséquilibre résulte soit par production excessive de radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défense antioxydante ou les deux, ce qui peut provoquer des dégâts cellulaires irréversibles (Racciah, 2004 ; Kangralkar et *al.*, 2010).

Les radicaux libres peuvent être définis comme des molécules contenant un nombre impair d'électrons, ce qui modifie leur réactivité chimique (Carmona-Bayonas, 2013). Les ERO sont formés le plus souvent par gain d'électron à partir de l' O_2 . Elles regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène (l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, les radicaux hydroxyles HO^{\cdot} , peroxyde ROO^{\cdot} , alkoxyde RO^{\cdot}), mais également les composés non radicalaires (le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , l'oxygène singulet 1O_2 et le nitroperoxyde) (Wiernsperger, 2003 ; Racciah, 2004).

I.4.1.2. Les cibles biologiques de stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides (Favier, 2003).

A. L'ADN

Les attaques radicalaires de l'ADN seront sources de coupure et de mort cellulaire, mais surtout de mutations carcinogènes, cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par OH^{\cdot} peuvent être générées. Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaux, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines. La prévention de ce processus par l'addition de catalase montre le rôle du peroxyde d'hydrogène dans les lésions de l'ADN (Favier, 2003).

B. Les protéines

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées (Levine, 2002). Les protéines subissent des modifications sous l'action des radicaux libres oxygénés, soit en présence de métaux de transition, s'ensuit plusieurs types de modification : fragmentation des protéines, oxydation des chaînes latérales des acides aminés et formation de liaisons croisées entre deux protéines. Les

b. Glutathionne-S-transférase

La glutathion-S-transférases (GST) est un système très important dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes. En plus de l'activité de conjugaison du GSH et la réduction des peroxydes, GST est associée avec d'autres processus biologiques (Gattás et al., 2004).

B. Systèmes antioxydants non enzymatiques

Le glutathion (GSH) piège les espèces réactives de l'oxygène car il réagit notamment avec le radical hydroxyle (Nzengue et al., 2008). Il est intéressant de noter que le GSH peut chélater les ions Cu^+ et ainsi limiter leur participation à la génération de radicaux libres par la réaction de Fenton (Michiels et al., 1994).

Les vitamines et les oligo-éléments antioxydants participent à l'activation du système de défense contre les dommages cellulaires causées par les radicaux libres et par conséquent à la prévention des complications du diabète, soit en agissant comme coenzymes ou cofacteurs dans les réactions métaboliques, soit par l'amélioration du contrôle de la glycémie (Opara, 2002).

I.4.2. Stress oxydant et complications du diabète

Différentes études ont pu montrer que le stress oxydant engendré par la glucotoxicité joue un rôle important dans la genèse des complications du diabète qui touche principalement le rein, les artères périphériques et les microvaisseaux des nerfs périphériques (Raccach, 2004).

I.4.2.1. la glucotoxicité liée à l'hyperglycémie

Les mécanismes de la toxicité du glucose au niveau des tissus cibles des complications du diabète sont multiples. Le glucose exerce son effet toxique et forme des ERO par différents mécanismes (Rachison, 2010). Les mécanismes conduisant à la formation de ERO sont notamment, le phénomène d'auto-oxydation du glucose, la voie des polyols, la voie de la PKC et la glycation des protéines (Niedowicz et Daleke, 2005 ; Choi et al., 2008).

A. L'auto-oxydation du glucose

Les métaux de transition tels que le fer sont capables de catalyser l'auto-oxydation du glucose en produisant les radicaux hydroxyles très réactifs (Ahmed, 2005).

B. Voie des polyols

En présence d'un excès de glucose, une fraction non oxydée de ce substrat est dirigée vers la voie des polyols. Sous l'effet de l'aldose réductase, le glucose est réduit en sorbitol par le nicotinamide-adénosine-dinucléotide phosphate (NADPH). Le sorbitol est ensuite oxydé en

fructose en présence de NAD⁺ par la sorbitol-déshydrogénase. (Lee et Chung, 1999 ; Beaudeau et Dominique, 2005). L'accumulation de sorbitol et de fructose, peu diffusibles à travers la membrane cellulaire et augmentation de la pression osmotique intracellulaire, a pour conséquences l'augmentation du rapport NADH/NAD⁺ qui conduit à une activation de la protéine kinase C via la biosynthèse de novo de diacyl-glycérol au détriment du fonctionnement de nombreux enzymes antioxydantes comme la glutathion-réductase, l'ascorbate -réductase et la NOS qui utilisent NADH comme un cofacteur, ce qui s'ensuit de la production accrue de radicaux libres (rétine, rein, vaisseaux) (Raccach, 2004 ; Moussard, 2005)

C. La voie de la protéine kinase C (PKC)

L'hyperglycémie chronique stimule une synthèse accrue de diacylglycérol (DAG) à partir des intermédiaires de glycolyse, qui est un cofacteur activateur des différentes isoformes de la PKC qui s'ensuit de inhibition du récepteur de l'insuline (IRS-1) et active le Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires (VEGF) (au niveau de la rétine) (Raccach, 2004). En effet, elle augmente l'expression de facteurs vasoconstricteurs (endothéline-1) en diminuant ceux vasodilatateurs (NO). Elle induit également l'expression de gènes pro-inflammatoires et l'activation de nombreuses NADPH oxydases associées à la membrane plasmique conduisant à une hyperproduction des ERO (Brownlee, 2005).

D. Glycosylation non enzymatique des protéines

Une des conséquences essentielles de l'hyperglycémie est la glycosylation non enzymatique ou glycation des protéines (Ahmed, 2005). Le groupement aldéhyde du glucose réagit avec la fonction amine N-terminal des protéines ou d'un acide aminé, ce qui permet la formation d'une base de Schiff qui se réarrange en produit dit « Amadori » qui se dégrade irréversiblement en α -céto-aldéhyde qui peut encore réagir avec des protéines pour former des adduits fluorescents appelés produits de Maillard ou produit de la glycation avancés (AGEs) (Jain et Palmer, 1997). La formation AGEs est source de ERO, au niveau du macrophage, des cellules endothéliales, des fibres musculaires lisses et des fibroblastes, les AGEs peuvent se fixer sur des récepteurs spécifiques appelés RAGE (Receptor for Advanced Glycation End products) en provoquant la formation de radicaux libres, par activation de la NADPH oxydase notamment par activation de la NADPH oxydase dans les cellules endothéliales et le cortex rénal (Raccach, 2004 ; Ahmed, 2005).

I.5. Les Complications liées au diabète sucré

I.5.1. Les complications aiguës

Les complications aiguës du diabète de type I sont parfois des malaises ou des comas par hyperglycémie et acidocétose, mais beaucoup plus souvent par hypoglycémie, due respectivement à une insuline non traitée ou mal dosée (Ouedraogo *et al.*, 2000).

I.5.1.1. L'acidocétose

L'acidocétose est définie de façon arbitraire par un pH 7.5 et une hyperglycémie $\geq 3\text{g/l}$ en rapport avec l'accumulation excessive de corps cétoniques dans le sang qui est de loin la plus fréquente. Elle complique surtout le DID mais aussi certains DNID lorsque s'y associe intercurrente (Moussard, 2005 ; Khalfa *et al.*, 2009).

I.5.1.2. Coma hyperosmolaire

C'est une urgence métabolique, elle est défini par une glycémie supérieur à 6 g/l, pH > ou égale 7. 2 et l'absence des corps cétonique et hyperosmolarité plasmatique (Khalfa *et al.*, 2009).

I.5.1.3. L'acidose lactique

L'acidose lactique est une complication rare mais grave du diabète sucré, définie par un tableau clinique et biologique d'acidose sévère avec un pH <7. 25 due à une mortalité de plus de 50 % collapsus et anurie (Khalfa *et al.*, 2009). Cette complication survient sur un terrain particulier : DNID du sujet âgé (English et Williams, 2004 ; Kitabchi *et al.*, 2006).

I.5.1.4. L'hypoglycémie

L'Accident de loin le plus fréquent mais non traitée, elle peut aussi conduire au coma avec des séquelles neurologiques irréversibles. L'apparition d'un épisode d'hypoglycémie résulte d'un déséquilibre entre l'insuline, l'alimentation et l'activité physique (Davis *et al.*, 1997 ; Amin, 2003).

I.5.2. Les complications chroniques dégénératives

Ces complications sont classées en deux groupes :

I.5.2.1. Angiopathie

A. La microangiopathie

Elle résulte d'une atteinte diffuse des artéoles et des capillaires. Elle touche tous les organes mais les localisations les mieux étudiées sont les vaisseaux de la rétine (rétinopathie) et les capillaires des glomérules (néphropathie) (Khalifa et *al.*, 2009).

B. La macroangiopathie

Elle est liée à une atteinte des artères de gros et moyen calibre. Son support anatomique est une athérosclérose non spécifique, comparable à celle des non diabétiques (Moussard, 2005). Elle intéresse préférentiellement les artères coronaires se manifestant par un angor ou un infarctus du myocarde, les artères des membres inférieurs réalisant une artériopathie dont l'aspect le plus évocateur est la gangrène et enfin les troncs artériels supraaortique pouvant se traduire par des accidents vasculaires cérébraux (Khalifa et *al.*, 2009).

I.5.2.2. Neuropathie

Elle touche le système nerveux périphérique, surtout au niveau des membres inférieurs avec perte sensorielle et risque d'ulcération secondaires, surtout chez les patients ayant une artérite des membres inférieure au niveau du système nerveux autonome, les principaux signes de neuropathie sont la diarrhée, la gastroparésie, l'hypotension orthostatique, une vessie neurogène (Talbert et *al.*, 2006).

I.6. Traitement antidiabétique

I.6.1. Insulinothérapie

L'insulinothérapie consiste en la substitution de l'insuline manquante par des injections quotidiennes d'insuline exogène dont la quantité est déterminée au préalable en fonction de la glycémie. Le traitement du diabète insulino dépendant comporte une injection d'insuline avant chaque repas, adaptée au menu et à la glycémie du moment (Gimenez et *al.*, 2008). Trois types principaux d'insulines sont utilisés : les insulines d'action rapide, d'action intermédiaire et d'action retardée (Khalifa et *al.*, 2009). La principale voie d'injection est la voie sous cutanée, quel que soit le type d'insuline, cette voie est obligatoire pour les insulines d'action retardée. La vitesse d'absorption est variable d'un site à l'autre : elle est plus rapide dans l'abdomen, puis dans le bras, puis dans la cuisse. La voie intra-musculaire est utilisée, elle aurait l'avantage de donner une insulinémie plus stable. La voie intraveineuse est réservée au traitement d'urgence lors de coma diabétique (Khiati, 1986).

Chapitre II

Les composés phénoliques

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sinaptique (Haslam, 1994 ; Griendling et *al.*, 2000 ; Bruneton, 2009) ; dont certains sont représentés dans (figure 8).

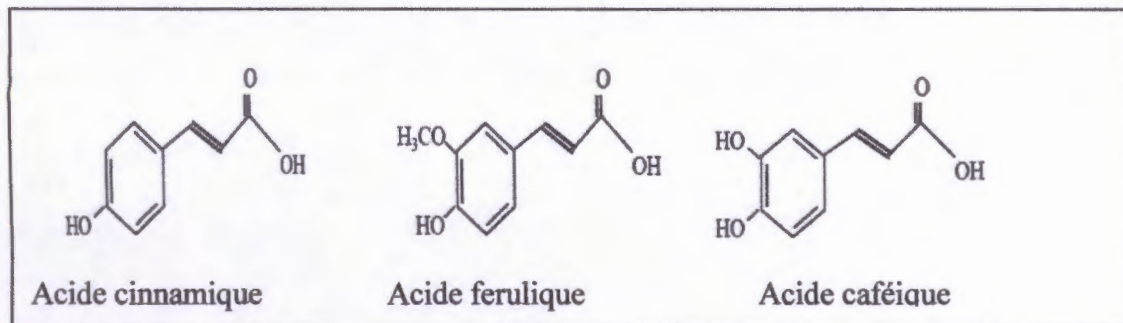


Figure 8 : Exemple de quelques acides phénols de la série cinnamique (Bruneton, 2009; Pawlowska et *al.* 2006).

II.2.2. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus" signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Gàbor, 1988). Ils sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. La structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C). Le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base (Figure 9). Ces composés existent sous forme libre dit aglycone ou sous forme d'hétérosides (Bruneton, 1993 ; Milane, 2004).

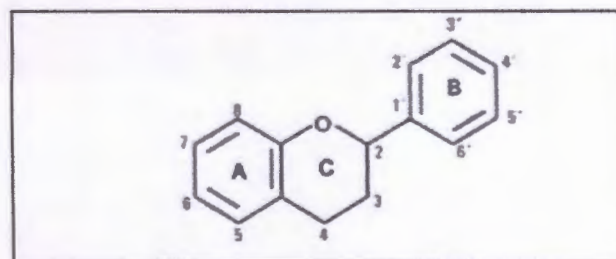
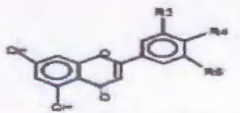
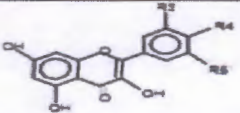
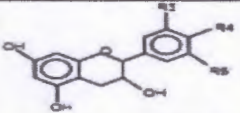
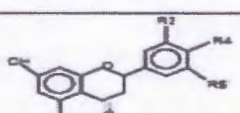
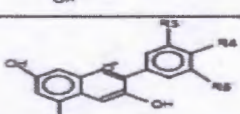
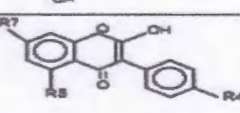


Figure 9 : structure de base des flavonoïde (Heim et *al.*, 2002).

Les principaux groupes de flavonoïdes peuvent être définis et classés en plusieurs groupes selon le degré d'oxydation du noyau pyramique central, dont les plus importants sont les flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isoflavanones, chalcones, aures et anthocyanes (Manach et *al.*, 2004 ; Stefan et Mithöfer, 2006) (Tableau 1) :

Tableau 1: Principales classes des flavonoïdes (Narayana et al., 2001)

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myricétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genistéine
		H	O-Glu	OH	Daïdezine

II.2.3. Les tannins

Les tannins sont des polyphénols polaires d'origine végétale. Le terme « tannin » ou « tanin » vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir. Dans ce processus, les molécules de tannins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes. Le poids moléculaire des tannins varie entre 500 et 2000 Dalton (3000 pour les structures les plus complexes) (Dangles et al., 1992). Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes principaux (Figure 10) :

II.2.3.1. Les tannins hydrolysables : sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose. Plus précisément, un glucose se lie à plusieurs molécules d'acide gallique (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

II.2.3.2. Les tannins condensés : proanthocyanidines ce sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5-desoxy-3-flavonols et flavan-3,4-diols (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

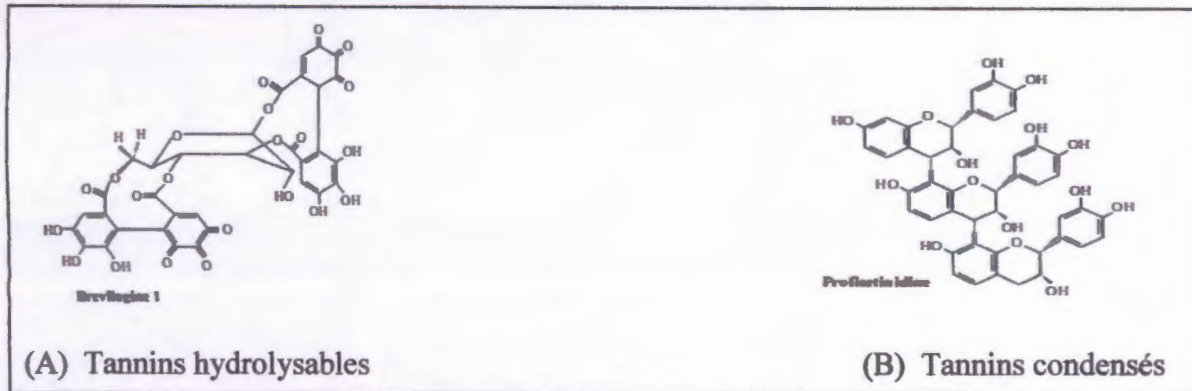


Figure 10 : Exemple de quelques tannins (Bruneton, 1999).

II.4. Biodisponibilité

Les polyphénols sont présents dans la plupart des végétaux. Leur nature chimique et leurs teneurs sont extrêmement variables d'une espèce à l'autre et donc d'un aliment à l'autre. Les effets des polyphénols dépendent essentiellement de leur biodisponibilité ; cette dernière qui signifie la part d'un nutriment présent dans un aliment qui est effectivement assimilée par l'organisme.

Les sites associés à la biodisponibilité (estomac, intestin supérieur et colon) permettent aux polyphénols d'assurer la première de leur fonction : l'effet antioxydant (Martin et Andriantsitohain, 2002). Afin de comprendre les effets de la consommation des polyphénols sur la santé, il est essentiel de connaître leur devenir dans l'organisme une fois ingérés afin de déterminer s'ils atteignent ou non les tissus cibles présumés. La biodisponibilité des polyphénols varie très largement d'une molécule à l'autre. Certains polyphénols sont bien absorbés à travers la barrière intestinale et se retrouvent dans le sang. Leur concentration plasmatique est maximale environ 2 heures après leur consommation.

Cette concentration diminue ensuite pour atteindre une valeur nulle 6 à 9 heures plus tard. Elle ne peut être maintenue élevée que par une consommation renouvelée au cours de la journée. L'absorption des polyphénols est conditionnée par leur différence de structure. L'absorption intestinale des polyphénols est d'autant plus limitée que leur masse moléculaire est élevée (Scalbert, 2001).

Les métabolites des polyphénols peuvent suivre 2 voies d'excrétion, la voie biliaire ou la voie urinaire. Ils sont sécrétés par la voie biliaire dans le duodénum, où ils sont soumis à l'action des enzymes bactériennes, particulièrement de la β -glucuronidase, dans les segments distaux de

l'intestin, ensuite ils peuvent être réabsorbés. Cette réutilisation entérohépatique peut mener à une plus longue présence des polyphénols dans le corps (Remesy, 1996).

II.5. Intérêt biologique des composés phénoliques

De nos jours, les propriétés thérapeutiques des composés phénoliques sont largement étudiée dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités : antivirales, antiallergiques, anti-Inflammatoires, anticancéreuses, anti-radicalaires, antibactériennes, anti-oxydantes et antidiabétique.

II.5.1. Activité anti-oxydante

II.5.1.1. Piégeage direct de radicaux libres

Les flavonoïdes possèdent une structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de leurs formes radicalaires. C'est pourquoi les propriétés antioxydantes des flavonoïdes sont souvent associées à leur potentiel antiradicalaire. De nombreuses études soutiennent le fait que l'activité antioxydante des flavonoïdes (Flavonoïde-OH) est essentiellement liée à leur capacité à piéger les espèces réactives de l'oxygène comme les radicaux superoxide, hydroxyle, peroxy, alkoxy et le OH• par transfert d'hydrogène (Cornell et al., 1993 ; Koter et al., 2002).



Le radical flavonoxy (FL-O•) peut réagir avec un autre radical libre pour former une structure quinone stable (figure 11).

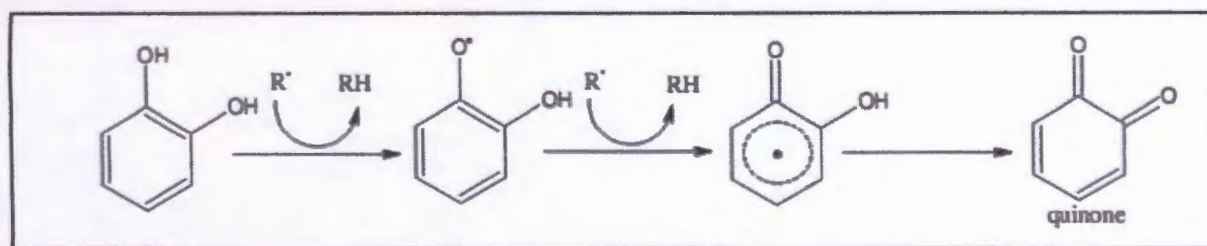


Figure 11 : Piégeage des ERO (R•) par les flavonoïdes (Cotelle, 1996).

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur pouvoir piégeur (scavenger) des radicaux libres (Jovanovic, 1994 ; Cotelle, 1996 ; Pietta, 2000). Ces travaux ont pu conclure que les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les critères suivants : La structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement

catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons, La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo et la présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3. A titre d'exemple, la quercétine satisfait à tous ces critères et par conséquent, elle est le composé le plus actif de la famille des flavonoïdes (Balasundram *et al.*, 2006).

II.5.1.2. Chélation des ions métalliques

Les ions métalliques sont nécessaires pour le fonctionnement des processus biochimiques et physiologiques cellulaires, Ils peuvent être, soit des constituants des hémoprotéines, soit des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant, mais dans certains cas et lorsque leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'une peroxydation lipidique, un stress oxydatif, ou une blessure des tissus, à titre d'exemple Cu^{+2} est un stimulateur de la peroxydation des LDL (Tiwari, 2001 ; Cotelle, 2001).

Grâce à leur structure chimique spécifique, les flavonoïdes peuvent facilement chélater les ions métalliques en créant des composés complexes inactifs (Malešev et Kuntić, 2007). les sites essentiels pour la chélation sont un noyau catéchol sur le cycle B, les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C, et les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (Pietta, 2000 ; Heim *et al.*, 2002) (Figure 12) .

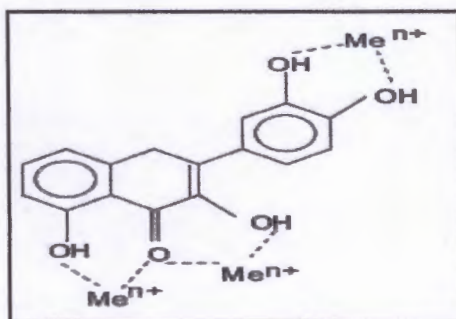


Figure 12 : Sites de chélation des flavonoïdes (quercétine) (Pietta, 2000).

II.5.2. Activité antidiabétique

De nombreuses plantes médicinales sont traditionnellement utilisées dans le traitement du diabète et les polyphénols contenus dans certaines de ces plantes seraient à l'origine de leurs effets thérapeutiques (Scalbert *et al.*, 2005). L'administration aiguë ou chronique de polyphénols dans des modèles animaux a montré des effets sur la glycémie : les polyphénols agissent par différents mécanismes dont l'inhibition de l'absorption du glucose au niveau intestinal ou encore son assimilation dans les tissus périphériques (Matsumoto *et al.*, 1993).

Chapitre III

Pistacia lentiscus L.

Chapitre III : *Pistacia lentiscus* L.

III.1. Généralité

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuse étude. La plupart des ces plantes sont utilisées dans des préparations galéniques, teintures, extraits, pommades, sirops qui, sous une forme concentrée, renferment le principe actif de la drogue (Zeghad, 2009).

De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme "anti-diabétiques" ; certaines sont à l'origine de la mise au point de médicaments. Une trentaine de plantes médicinales hypoglycémiantes ont été sélectionnées parmi les quelles *Pistacia lentiscus*. (Dey et al., 2002).

III.2. Présentation de *Pistacia lentiscus* L.

III.2.1 Classification taxonomique

Le *Pistacia lentiscus* L. est une espèce appartenant à la famille des Anacardiaceae (syn. Pistaciaceae). Les espèces les plus importantes dans le monde du genre *Pistacia* sont :

- *Pistacia atlantica*
- *Pistacia chinensis*
- *Pistacia lentiscus* L. (pistachier lentisque)
- *Pistacia terebinthus* L. (pistachier térébinthe)
- *Pistacia vera* L. pistachier vrai (qui donne la pistache)
- *Pistacia integerrima*
- *Pistacia palestina*
- *Pistacia khinjuk*

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (Quezel et Santa, 1962).

Parmi les espèces du genre *Pistacia*, le *Pistacia lentiscus* L. est un arbrisseau très commun dans notre pays (Mitchel, 1986 ; Baudière et al., 2002) :

l'aisselle d'une feuille et égalant au plus la longueur d'une foliole. Le fruit petit, subglobuleux, apiculé, rouge, puis noir à la maturité (Iserin, 2001).



Figure 13 : Description botanique de *Pistachia lentiscus* L. (Boukeloua, 2009).

III.2.3. Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce

La chimie de la plante est relativement peu étudiée. La plante est connue pour contenir une huile essentielle et fixe (Grosjean, 2007), une huile grasse (Charef, et al, 2008), des tanins condensés et hydrolysables (Abbas et Boudriche, 2007), des glycosides flavonoïques (Vaya et Mahmood, 2006), des anthocyanes (Longo *et al.*, 2007), une résine « mastic de chio » (Leonti, *et al.*, 2001), et des triterpènes (Atmani, *et al.*, 2009).

De la résine extraite du tronc et des tiges de *Pistacia lentiscus* L. ont été isolé une huile essentielle, riche en monoterpènes (α - pinène et β - myrcène) en quantité majoritaire, des monoterpénols (terpinène-4-ol, alpha-terpinéol, linalol) et des sesquiterpènes en quantité moyenne, et des esters terpéniques en quantité mineure. (Baudoux, 2003 ; Grosjean, 2007). La résine a été analysé par la chromatographie gazeuse pour obtenir le α - pinène, β - pinène, limonène, terpène-4-ol et terpeneol (Raffaele *et al.*, 2002).

Les constituants principaux des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. ont été isolés des tanins proanthocyanidiques et galliques, les flavonoïdes (catéchine, les glycosides de kaempférol-3-glucoside, la lutéoline et les glycosides de quercétine) et des anthocyanes, et des dérivés à noyau gallique et quinique (Benhammou *et al.*, 2008). Le schéma 4 montre les structures des divers constituants chimiques principaux.

III.2.4. Utilisations thérapeutiques traditionnelles

Les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée, attribuent au lentisque des vertus dans le traitement des ulcères, des plaies et brûlures légères. La

médecine traditionnelle algérienne utilise surtout l'huile grasse obtenue par expression des fruits de lentisque dans le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes. L'huile est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac. Ces usages sont surtout répandus à l'Est du pays (région d'El-Milia, Skikda, Guelma). L'huile est également très utilisée pour les mêmes indications en Tunisie. (Yahia, 1992, Iserin, 2001, Baudoux, 2003 et Grosjean, 2007). Les feuilles sont appliquées en médecine traditionnelle pour traitement de maladies telles que l'eczéma, la diarrhée et les infections de la gorge surtout des infusions. La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère (Benhammou et al., 2008).

III.2.5. Propriétés thérapeutiques

Les études expérimentales effectuées sur cette plante ont mis en évidence différents activités biologiques et pharmacologiques. Les feuilles de *pistacia lentiscus L.* possèdent des propriétés anti-inflammatoire (Esmat, 2012), antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, anti-cancéreux, hypoglycémiant et antioxydant (Piluzza et Bullitta, 2011). Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, ulcère, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires (Ali -Shtayeh et Coll, 1998). La résine obtenue de *Pistacia lentiscus* est connue par son effet analgésique, antibactérienne, antithérogénique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique (Zeghad, 2009).

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Partie I: L'extraction de la plante de *Pistacia lentiscus* L.

I.1. Echantillonnage de plante

La récolte de la plante a été effectuée en mois d'avril 2013 au niveau de la wilaya de jijel (Algérie) : *Pistacia lentiscus* L. est récolté de la région d'El Mzaer.

I.2. Conservation et séchage

L'échantillon de feuille fraîchement récolté et nettoyé puis mis à sécher à température ambiante dans un endroit aéré à l'ombre pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière. Après le séchage, les feuilles sont récupérées dans un sac en papier propre dans un endroit sec et à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

I.3. Broyage et tamisage

Le broyage de échantillon est effectué à l'aide d'un broyeur électrique (Sayona, model : Sy-601) d'obtenir une poudre de granulométrie plus ou moins fine (Awika et *al.*, 2005). Le tamisage est réalisé avec une série de tamis dont le diamètre des mailles successif (250 μm -100 μm). Les poudres ont été conservées dans un flacon en verre fumé pour éviter l'oxydation de leurs différents composés.

I.4. Préparation de L'extrait hydro-méthanolique

L'extraction à été réalisée par une méthode solide-liquide selon la procédure d'Owen et Johns (1999) légèrement modifiée (Figure 14). Elle est réalisée comme suit : 100 g de poudre de plante (diamètre 100 μm) sont macérés dans un litre de méthanol aqueux (80 %) à température ambiante pendant trois jours sous agitation mécanique. Après filtration du macérât sur papier wattman, la phase aqueuse ainsi obtenu sont soumises à une évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif à une évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 40 °C (Nacket *et al.*, 2006). L'extrait ainsi obtenu subit une délipidation à l'hexane en se référant à la procédure de Yu *et al.* (2005). Ensuite les extraits sont introduits dans une étuve à 40°C jusqu'à l'obtention des extraits secs (Stanojevié *et al.*, 2009).

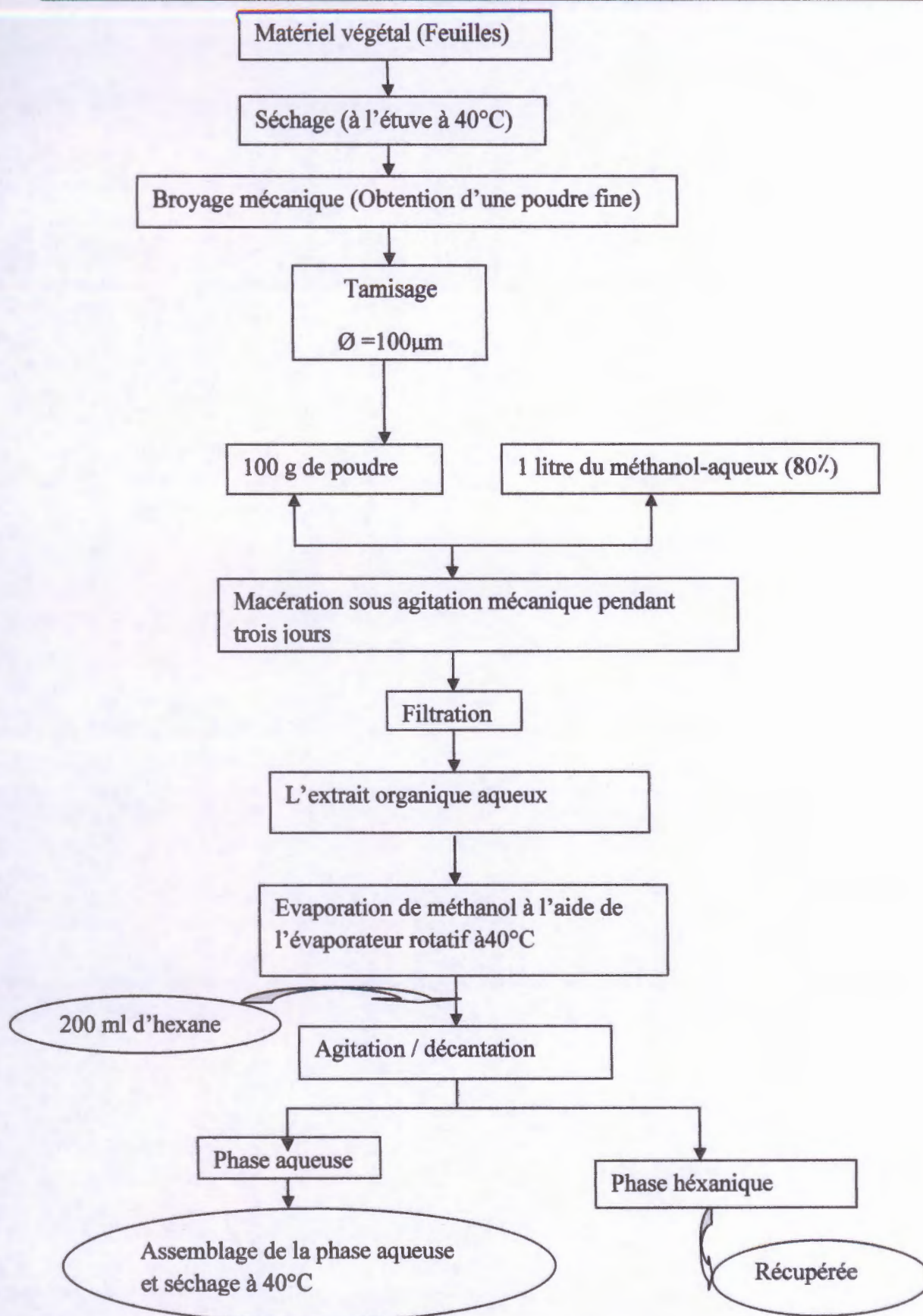


Figure 14 : protocole de l'extraction des polyphénols (Owen et Johns, 1999).

Partie II. Etude de l'effet antihyperglycémique et antioxydant de l'extrait hydro-méthanolique chez le rat *wistar albinos*

II.1. Les Animaux

L'étude a été réalisée sur 28 rats femelles de souche *Wistar albinos* dont le poids initial varie de 114 à 216 g provenant de l'institut pasteur d'Alger. Les animaux sont installés dans des cages métalliques avec accès libre de nourriture standard et d'eau et à température ambiante avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité, au sein de l'animalerie du département de la Biologie à l'université de Jijel (Annexe 1).

II.2. Test de tolérance au glucose

Le pouvoir hypoglycémiant est mesuré afin de déterminer la dose la plus efficace de l'extrait méthanolique de *Pistacia Lentiscus* L. L'extrait est met en suspension dans une solution de sérum physiologique (Na Cl 0.9%) puis administrés à des rats par voie orale à une dose de 300 mg/Kg (Rajacopal et Sasikala, 2008) une heure avant le gavage gastrique d'une solution de glucose à la dose de 2g/kg. Les animaux témoins sont répartis en groupe témoin (4rats) recevant une solution physiologique, un groupe (4 rats) hyperglycémique recevant une solution de glucose (2g/ kg) et un troisième groupe (4 rats) standard recevant la glibenclamide (médicament hypoglycémiant) à la dose de 2.5 mg/kg (Silva et *al.*, 2002) une heure avant l'administration du glucose par voie orale.

L'évolution de la glycémie est suivie avant et chaque demi heure sur une durée de 2 heures de traitement.

Le dosage du glucose dans le sang prélevé au niveau de l'œil par ponction dans le sinus retro-orbital est effectué à l'aide d'un glucomètre (*On Call Plus*).

II.3. Induction du diabète (Diabète expérimental)

La méthode la plus commune est de provoquer, au moyen de médicaments une destruction des cellules β pancréatiques. La substance les plus employée comme diabétoènes est l'alloxane (Myers, 2002).

les rats ont été mis à jeun pendant un nuit (privation de la nourriture pendant 16 heures mais pas de l'eau), puis leur glycémie de base a été déterminée à l'aide d'un glucomètre (*On Call Plus*), le diabète a été induit chez les rats par l'injection intra-péritonéale (IP) d'une solution fraichement préparer de l'alloxane à une dose unique de 150 mg/kg de poids corporel.

L'alloxane monohydrate, reconstitué juste avant l'administration dans une solution physiologique (NaCl 0.9 %) (Manickama et Periyasamy, 2013).

Après 4 heures de l'injection, les bouteilles d'eau ont été remplacées par des bouteilles contenant une solution de glucose de 5 % pendant 24 heures afin de surmonter l'hypoglycémie induite par l'alloxane suite à la destruction des cellules β pancréatiques et la libération massive d'insuline. Cette hypoglycémie peut être fatale pour les rats (Stanely et al., 2004).

Après 72 heures de l'injection (temps de développement du diabète), le diabète a été confirmé chez tous les rats par mesure de la glycémie à jeun à l'aide d'un glucomètre de Seuls les rats ayant le taux de glucose sanguin supérieur à 1.7 g/l ont été considérés comme diabétiques et retenus pour cette expérimentation.

II.4. Traitement des animaux

Après l'induction du diabète, l'ensemble des rats, diabétiques et non diabétiques ont été divisés en 4 groupes de 4 rats :

Groupe 1 (4 rats) Contrôle sain ou témoin négatif (T⁻) : ces rats reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 5 ml/kg d'eau distillée pendant 7 jours.

Groupe 2 (4 rats) Contrôle diabétique ou témoin positif (T⁺) : ces rats diabétiques reçoivent chaque jour par gavage gastrique 5 ml/kg d'eau distillée pendant 7 jours (Annexe 2).

Groupe 3 (4 rats) diabétique : ces rats reçoivent chaque jour par gavage gastrique 300 mg/kg de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. pendant 7 jours.

Groupe 4 (4 rats) diabétique : ces rats reçoivent chaque jour par gavage gastrique de Glibenclamide 2.5 mg/kg pendant 7 jours.

II.5. Prélèvement sanguin et mesure du poids

Le prélèvement de sang est effectué à l'aide d'une tube capillaire au niveau de l'œil par ponction dans le sinus retro-orbital (annexe 3), sur des rats à jeun (18 heures), une journée avant le début de l'expérimentation (72 heures après l'injection de l'alloxane) puis après une semaine de traitement J7.

Pour chaque rat, les échantillons de sang prélevés ont été utilisés pour la mesure de la glycémie. Les échantillons de sang prélevés dans le dernier jour de traitement ont été récupérés dans des tubes héparines, qui subissent une centrifugation à 3600 tours/minutes pendant 15

minutes, puis le sérum a été récupéré pour effectuer les dosages des paramètres biochimique, cholestérol total, des triglycérides (TG)

La mesure du poids a été effectuée dans le premier et le dernier jour de traitement de façon régulière.

II.6. Sacrifice des animaux et Prélèvement des organes

Des compresses imbibées d'éther sont introduites avec le rat dans une cage fermée hermétiquement. Le rat est asphyxié par inhalation de l'éther de pétrole, ensuite il est fixé sur son dos à l'aide d'épingles. Après la dissection, le foie et le pancréas ont été prélevés, débarrassés de leurs tissus adipeux, rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0.9%, puis ils ont été pesés. Le foie et de pancréas sont maintenus à (-20°C) pour effectuer le dosage du MDA, l'activité enzymatique de la catalase et du glutathion- s-transférase (GST) (annexe 4).

II.7. Dosage des paramètres biochimiques

Le dosage des paramètres biochimiques a été réalisé de la manière suivante :

II.7.1. Mesure de la glycémie

Les valeurs de la glycémie peuvent être mesurées à partir de sang total ou de plasma, à l'aide du glucomètre. Les résultats obtenus à partir les bandelettes réactives (ACCU-CHEK).

Principe

Chaque bandelette est munie d'une zone réactive contenant des réactifs. La zone réactive n'est pas visible. Le sang, aspiré par capillarité, est à l'origine d'une réaction chimique (test à la glucose-dye-oxydoréductase avec médiateur d'oxydo-réduction se traduisant par un changement de la couleur de la zone réactive. Le lecteur calcule alors la valeur de la glycémie correspondant à la coloration obtenue.

II.7.2. Dosage des paramètres lipidiques

II.7.2.1. Dosage du cholestérol total

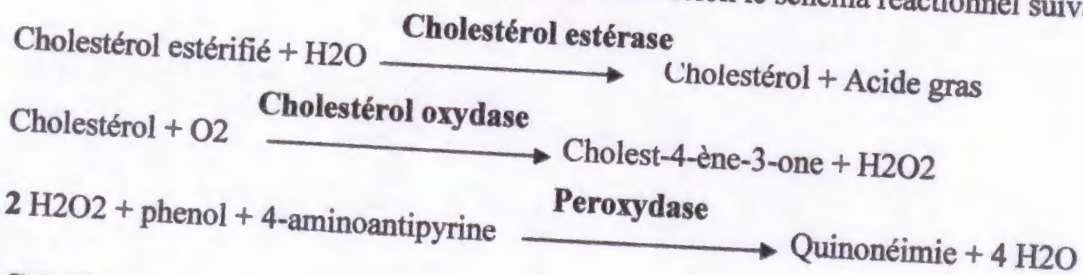
Le cholestérol est un composé lipidique insoluble apporté par l'alimentation ou synthétisé dans le foie, il est transporté par la lipoprotéine, en particulier les lipoprotéines de faible densité (LDL) et les lipoprotéines de Haute densité (HDL). Il entre dans la constitution des membranes des cellules de l'organisme.

Une partie du cholestérol de l'organisme circule dans le sang, c'est l'excès de cette fraction circulante qui est pathologique (Turpin et Bruckert, 1999).

Le dosage du cholestérol total, associé aux autres dosages de lipides sériques est utile dans le diagnostic de l'hyperlipoprotéinémie. Ce dosage est notamment important dans le diagnostic et le suivi des maladies telles que l'athérosclérose. L'hypercholestérolémie est aussi observée dans certains cas de diabète (Tietz, 1999).

Principe

Dans notre étude, le cholestérol a été déterminé suivant une méthode enzymatique décrite par Allain et *al.*, qui, après hydrolyse enzymatique puis oxydation, l'inducteur quinoneimine formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino-4-antipyrine en présence du phénol et de peroxydase permet la quantification du cholestérol selon le schéma réactionnel suivant :



Calcul

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$[\text{CT}] \text{ (g/l)} = (\text{DO dosage} / \text{DO etalon}) \times n$$

Où

[CT] : présente la concentration du cholestérol total.

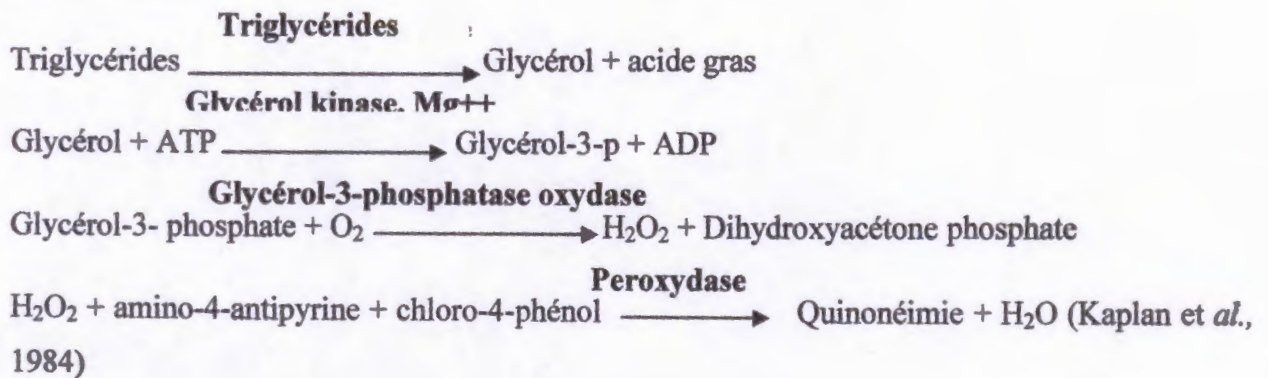
N : présente la concentration de l'étalon.

II.7.2.2. Dosage des triglycérides

Les triglycérides (TG) sont constitués de trois acides gras (AG) reliés par une molécule de glycérol et représentent la forme de stockage des AG dans l'organisme, et donc la principale réserve d'énergie (Kaplan et *al.*, 1984). Le dosage des triglycérides a été effectué suivant une méthode enzymatique colorimétrique (Fossati et Prencipe, 1982) quantifiant le glycérol libéré après action de la lipase.

Principe

Le glycérol libéré par hydrolyse des triglycérides par la lipoprotéine-lipase est transformé en glycérol-3-phosphate par le glycérol kinase. Le glycérol-3-phosphate subit l'action de la glycérol-3-phosphate oxydase pour former la déshydroxyacétone-phosphate (DHAP) et du peroxydase d'hydrogène. Celui-ci en présence de peroxydase oxyde un groupement chromogène (amino-4-phénazone/acide dichloro 3,5-hydroxy-2-benzène sulfonique) pour former un composé coloré en rose.



Calcul

Les concentrations plasmatiques des triglycérides sont données par la formule suivante :

$$[\text{TG}] \text{ (g/l)} = (\text{DO dosage} / \text{DO étalon}) \times N$$

Où :

[TG] : est la concentration du triglycéride en g/l.

N : est la concentration de l'étalon.

II.7.2.3. Le dosage plasmatique de l'insuline

L'insulinémie est mesurée par une méthode immuno-enzymatique de type ELISA (Monti et al., 1995), (AxSYM Insulin reagent pack, Abbott Laboratory, USA). Ce dosage est effectué sur le sérum, après centrifugation en évitant l'hémolyse qui gêne le dosage immuno-enzymatique et dans les plus brefs délais afin d'éviter la destruction de l'hormone par les insulinasés plasmatiques.

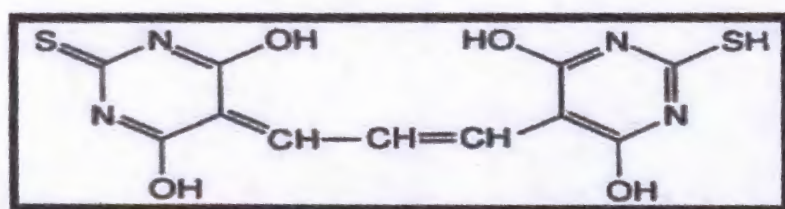
II.8. Méthode de dosage des paramètres du stress oxydant

II.8.1. Dosage des substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBARS)

La quantité des TBARS est exprimée en termes d'un équivalent biochimique qui est le «Malonyldi aldéhyde MDA», un des produits terminaux formés lors de la peroxydation des acides gras polyinsaturés (PUFA) méditée par les radicaux libres. La mesure de l'MDA à l'aide du TBA selon la méthode d'Okhawa et *al.* (1979) permet la quantification de la peroxydation lipidique qui constitue le marqueur majeur du stress oxydant (annexe 5).

Principe

Le dosage de l'MDA repose sur la formation, en milieu acide et à chaud (100°C), entre une molécule d' MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique d'un pigment coloré absorbant à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le n-butanol.



Formation d'adduit MDA – TBA (1 : 2)

Réactifs et solvants

- a- L'acide thiobarbiturique TBA 0.67 %.
- b- L'acide trichloroacétique TCA 20 %.
- c- Le n-butanol.

Procédure

La quantité de l'MDA est évaluée au niveau du foie et du pancréas, selon la méthode d'Okhawa et *al.* (1979). En résumé 0.5 g de foie et 0,1g du pancréas sont broyés dans un potter en verre dans une solution de KCl (1,15M) puis 0,5 ml de cet l'homogénat est récupéré et additionné à 0,5 ml de TCA 20 % et 1ml de TBA 0.67 %. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, refroidis puis additionné de 4 ml de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours /minutes, la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 530 nm. Le MDA est exprimé en nmol/g de tissu de l'organe étudié et calculé à partir d'une gamme préparée sous les même conditions avec une solution de « 1,1,3,3-tetraetoxypropane »qui donne le MDA après son hydrolyse (annexe 6).

II.8.2. Evaluation de l'activité des enzymes antioxydantes

II.8.2.1. Prélèvement du cytosol

Les fractions cytosoliques sont extraites par la méthode d'Iqbal et *al.* (2003) avec des modifications : 0,5 g de foie ou 0,1 g de pancréas a été homogénéisé dans 3 volumes d'un tampon contenant KH_2PO_4 (0.1M, pH 7.4) et du KCl (1.17 %). Ensuite, l'homogénat est centrifugé à 3000 rpm pendant 15 min, puis le surnageant est récupéré et centrifugé 15 min et le surnageant final représente la source utilisé pour l'évaluation de l'activité des enzymes (catalase et glutathion-s-transférase).

II.8.2.2. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus, ce sont des enzymes tétramériques à groupement hème. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre stress oxydant en catalysant la dismutation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) toxique en eau et en oxygène (Regoli et principato, 1995).

L'activité de catalase est mesuré à laide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde 240 nm par nm par la variation de la densité optique consécutive optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène en faisant réagir dans le tampon phosphate (100 Mm ; pH 7.5), selon les étapes suivantes pendant 1 minute :

780 μl de tompon phosphate (0.1 ; pH 7.5)

200 μl H_2O_2 (0.5 M)

20 μl homogénat

La lecture après 15 sec durant 1 min

A une température d'icubation de 25°C . Les résultats sont exprimés en μmole d' H_2O_2 par minute dans un mg de protéines.

Pour le blanc on utilise 800 μl de tompon phosphate (0.1 M ; Ph 7.5) et 200 μl H_2O_2 (0.5M).

L'activité de la catalase décroît rapidement, il est important de mettre le toujours le même temps entre le pipetage et le moment de la lecture qui se fait, l'activité de CAT est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité CAT } (\mu\text{mol /min /mg de prot}) = \frac{\Delta\text{DO} \cdot 10}{\epsilon \cdot L \cdot X \cdot O}$$

Ou :

DO : densité optique

L : longueur de la cuve utilisée

X : la lecture des protéines

La valeur trouvée par le calcul du t peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

$P > 0.05$ = la différence n'est pas significative (NS).

$0,05 > P > 0.01$ = la différence est significative (*).

$0.01 > P > 0.001$ = la différence est hautement significative (**).

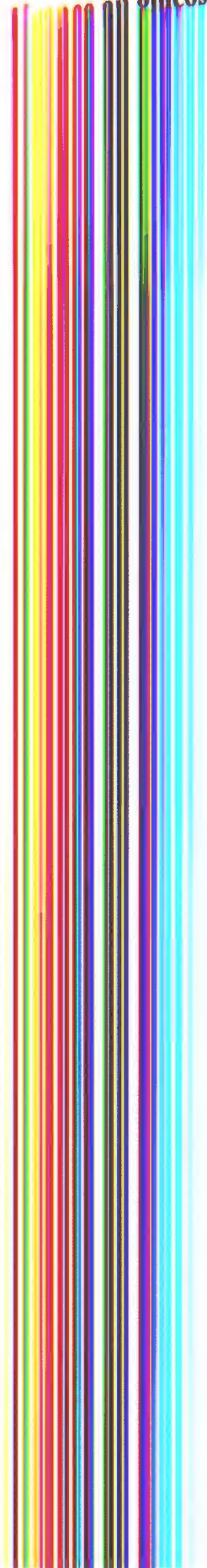
$P < 0.001$ = la différence est très hautement significative (***)).

Le calcul statistique est réalisé par EXEL6.0 program.

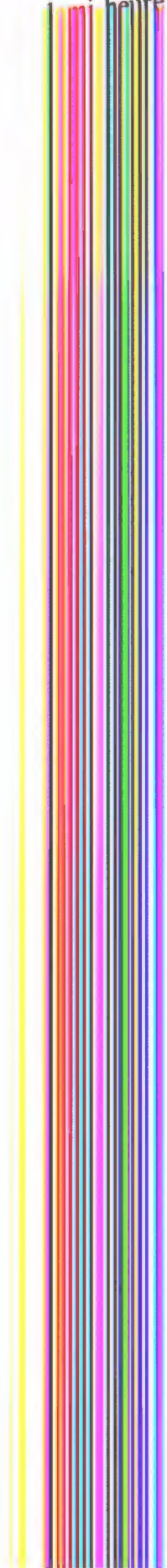
Résultats et Discussion

Chapitre II : Résultats et discussion

glucose



1 heure



ainsi d'atteindre le pic glycémique obtenu avec le témoin hyperglycémique à 30 min du gavage. Plus encore, ils ont provoqué une hypoglycémie plus ou moins importante à partir de 60 min de l'administration tel que l'a bien montré la courbe de l'effet temps de l'extrait de *Pistacia lentiscus* L. sur la glycémie des animaux traités. Ces résultats montrent à l'évidence une utilisation très active de glucose par les tissus périphériques, expliquée par une élévation de la tolérance au glucose au niveau de ces tissus quand les animaux sont traités par les composés phénoliques. L'augmentation de la tolérance des tissus au glucose est mentionné dans des rapports de plusieurs travaux sur les extraits hydro-méthanoliques des différentes plantes telles que *Potentilla fulgens* L. (Syiema *et al.*, 2002) et *Decalepis hamiltonii* (Choudhary *et al.*, 2013 ; Manickam *et Periyasamy*, 2012).

II.2. L'influence du traitement sur le poids corporels chez des rats diabétiques

La figure 16 représente les résultats obtenus de la variation des poids corporels des groupes des rats normaux et des rats rendus diabétiques par alloxane après un traitement quotidien de 7 jours soit par un extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L a une dose de 300 mg/ kg soit par 5 ml/ kg d'eau distillée.

Le poids corporel du premier lot des rats sain qui reçoivent l'eau distillé, une très faible augmentation du poids corporel de façon significative ($P < 0.05$) de (144.22 ± 1.40) à (147.72 ± 1.90). Le poids corporel chez le groupe des rats diabétiques traité par l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. à la dose quotidienne de 300 mg/ kg pendant une semaine, a diminué de façon hautement significative ($P < 0.05$) de (134.74 ± 16) à (118.47 ± 3.52) par rapport à sa valeur initiale (0j), alors que, le poids corporel chez le groupe des rats diabétiques traité par glibenclamide la dose quotidienne de 2.5 mg/kg pendant une semaine a diminué de façon non significative ($P > 0.05$) de (116 ± 2.10) à (105 ± 1.83) par rapport à sa valeur initiale (0j). par contre, chez les rats diabétiques non traité, on a remarqué une diminution significative ($P < 0.05$) du poids corporel de (194.92 ± 3.35) à (157.57 ± 4.68).

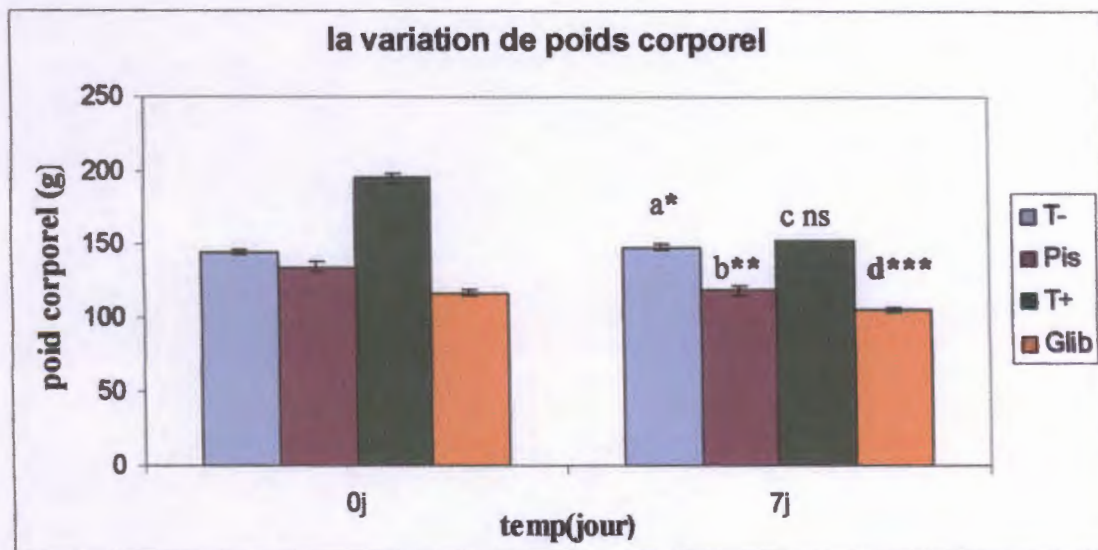


Figure 16 : Evaluation de poids corporel chez les rats traité ou non par l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L.

T- :groupe sans traité, T+ : groupe diabétique sans traité, Pis : groupe traité par glibenclamide

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 4$. (a) comparaison entre les rats normaux. (b) comparaison entre les rats rendus diabétique par alloxane. (c) comparaison entre les rats traité par l'extrait de *Pistacia lentiscus* L. (d) comparaison entre les rats traité par glibenclamide. ns : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

L'alloxane induit un diabète caractérisé par une polyphagie et une perte sévère de poids corporel qui peut mener à plusieurs complications liées au diabète (Sarkhail et al., 2007 ; Yang et al., 2008). Ces caractéristiques sont associées au diabète sucré (Yang et al., 2008). Dans notre étude, une perte de poids corporel est observée chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane, où le groupe des rats témoins positif a subi une perte de 16 g par rapport à leur poids initial après une semaine de l'installation du diabète, alors que les rats témoins négatif ont gagné 3.5 g durant la même période. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Sharmal et al., 2010 et Choudhary et al., 2013. Dans notre étude, nous avons constaté que l'administration orale et journalière de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. à une dose journalière de 300 mg/kg et pendant une semaine a permis de protéger les rats diabétiques de la perte massive de poids corporel. Encore mieux, elle a même permis d'augmenter d'une manière significative ($P < 0.05$) le poids corporel des rats diabétiques par rapport au groupe témoin positif. De même, l'administration orale de glibenclamide à une dose journalière de 2,5mg/kg pendant une semaine présente un effet similaire à celui de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. Comme, il a été décrit auparavant, l'alloxane inhibe la sécrétion de l'insuline par le pancréas endocrine, après destruction sélective et irréversible des cellules β pancréatiques (McLetchie, 1982). Deux mécanismes fondamentaux causeraient une

hyperglycémie lors d'un diabète alloxanique, d'une part par un mécanisme de surproduction du glucose (excès de la néoglucogenèse et la glycogénolyse), d'autre part par la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques (Shirwaikar *et al.*, 2004). Il est hautement soutenu que la réduction de l'hyperglycémie diminue le risque du développement des complications liées au diabète

II.3. Evaluation du taux de la glycémie

Nous avons obtenus dans notre étude après 72 heures de l'injection d'alloxane (0j) une augmentation significative de la glycémie chez les trois groupes des rats diabétiques (T+, Pis et Gli) de (2.66 ± 0.19) , (2.77 ± 0.11) , (2.70 ± 0.17) respectivement par rapport au T- de (0.74 ± 0.04) . Chez le groupe des rats traité par l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L pendant une semaine a provoquée une baisse hautement significative la glycémie ($P < 0.01$) de (2.66 ± 0.19) à (2.09 ± 0.16) , en comparable le groupe traité par glibenclamide de (2.76 ± 0.15) à $(2.00 \pm 0.17$ g/l). par contre au groupe diabétique témoin la concentration sérique de glucose a élever pendant une semaine de traitement par l'eau distillée de façon non significatif ($P > 0.05$) de $(2.70 \pm 0.11$ g/l) contre $(3.06 \pm 0.12$ g/l).

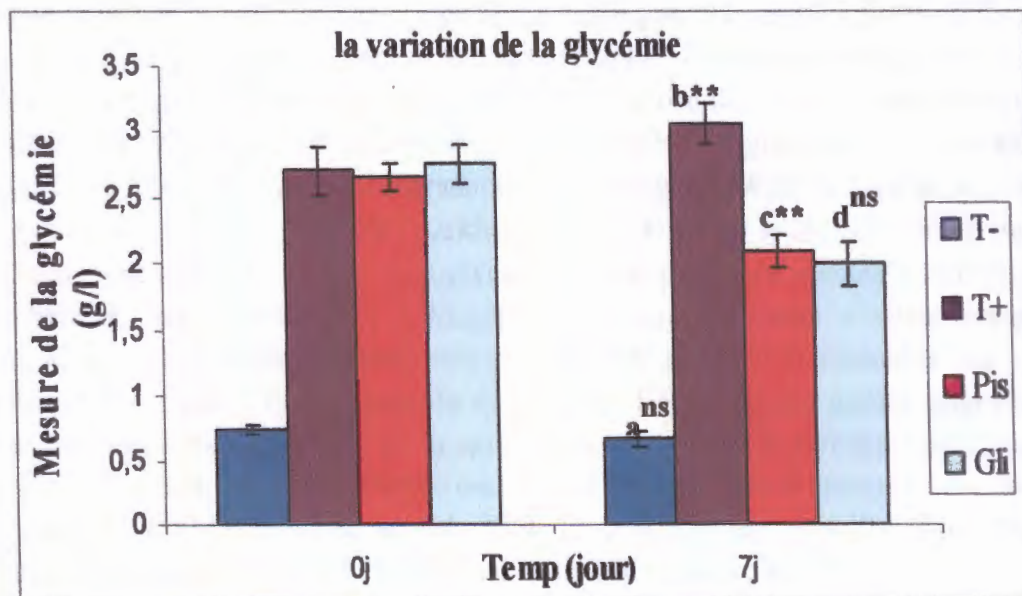


Figure 17 : Variation de la glycémie pendant une semaine de traitement par l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L

T- :groupe sans traité, T+ : groupe diabétique sans traité, Pis : groupe traité par glibenclamide. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 4$. (a) comparaison entre les rats normaux. (b) comparaison entre les rats rendus diabétique par alloxane.(c) comparaison entre les rats traité par l'extrait de *Pistacia lentiscus* L. (d) comparaison entre les rats traité par glibenclamide.ns : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

II.6. Détermination du taux des triglycérides sériques

Les résultats de l'influence de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. sur la concentration du triglycérides chez des rats rendus diabétiques par alloxane sont rassemblés dans figure 20.

La comparaison du changement du triglycéride, entre le groupe diabétique positif et le groupe témoin négative, a montré une augmentation très hautement significative ($P < 0.001$) du groupe (0.72 ± 0.05) contre (0.14 ± 0.02).

La réduction du taux du cholestérol sérique chez le groupe traité par *Pistacia lentiscus* L. et le groupe traité par glibenclamide est signalée de façon hautement significative ($P < 0.01$) par rapport au groupe diabétique positif de (0.41 ± 0.095 ; 0.48 ± 0.05) contre (0.72 ± 0.05).

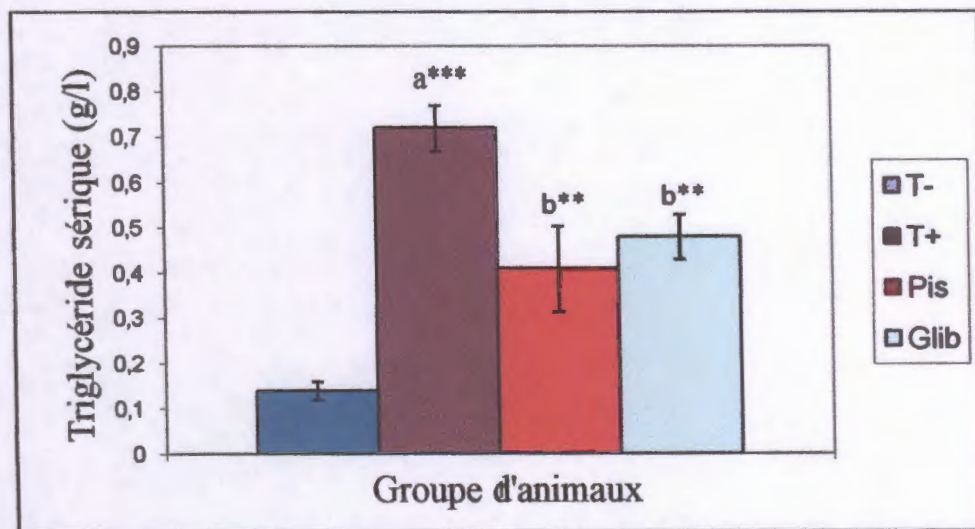


Figure 20 : Variation de concentration des triglycérides après 7 jours de traitement par l'extrait de *Pistacia lentiscus* L. et le glibenclamide.

T- : groupe sans traité, T+ : groupe diabétique sans traité, Pis : groupe traité par glibenclamide. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 4$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par alloxane. ns : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Dans cette étude, le taux des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques est augmenté suite à l'injection de l'alloxane d'une façon significative par apports aux rats non diabétiques (Uchida et al. 1994). L'augmentation de la concentration des triglycérides chez les rats diabétiques est associée à la surproduction hépatique des triglycérides (Dunn et al. 1984). L'administration de glibenclamide induit une réduction très importantes du

taux de triglycérides dans le sang, cela peut être attribué à l'effet de glibenclamide stimulateur de la sécrétion de l'insuline car il est bien connu que l'administration de l'insuline à des sujet diabétiques diminue fortement la concentration des triglycérides dans le sang (Langhi et Cariou, 2010). D'autre part, on a également constaté que l'administration journalière de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. pendant une semaine a provoqué une baisse significative de la concentration sérique des triglycérides par rapport aux rats diabétiques. L'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. a pu réduire le taux sérique des triglycérides par diminution de la synthèse des acides gras (Bopanna et al., 1997), augmentation du catabolisme des LDL, activation de la LCAT et des lipases tissulaires (Khanna et al., 2002) et/ou inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase (McCarty, 2001).

II.7. Evaluation des différents paramètres du statut redox dans le foie et le pancréas

II.7.1. Evaluation du taux du MDA cytosolique au niveau du foie et du pancréas

Les résultats de l'évaluation de la peroxydation lipidique dans le cytosol des cellules hépatique (MDA) sont illustrés par (figure 21 et 22).

Chez le groupe des diabétiques, une augmentation significative ($P < 0.05$) du taux du MDA cytosolique est marquée par rapport au groupe témoin négative au niveau du foie (25.60 ± 0.93) contre (13.62 ± 0.40) et au niveau pancréas (21.20 ± 1.18) contre (12.17 ± 0.49). Chez les rats traité par l'extrait le taux du MDA cytosolique a diminué de façon hautement significative ($P < 0.01$) par rapport au groupe diabétiques témoin, au niveau du foie de (21.42 ± 0.57) contre (25.63 ± 0.93) et au niveau du pancréas (17.45 ± 0.74) contre (21.20 ± 1.18). Chez le group traité par glibenclamide diminué le taux du MDA cytosolique de façons hautement significatif ($P < 0.01$) par rapport au groupe diabétique au niveau du foie et au niveau du pancréas (19.88 ± 0.68 ; 16.39 ± 0.30) contre (21.20 ± 1.18).

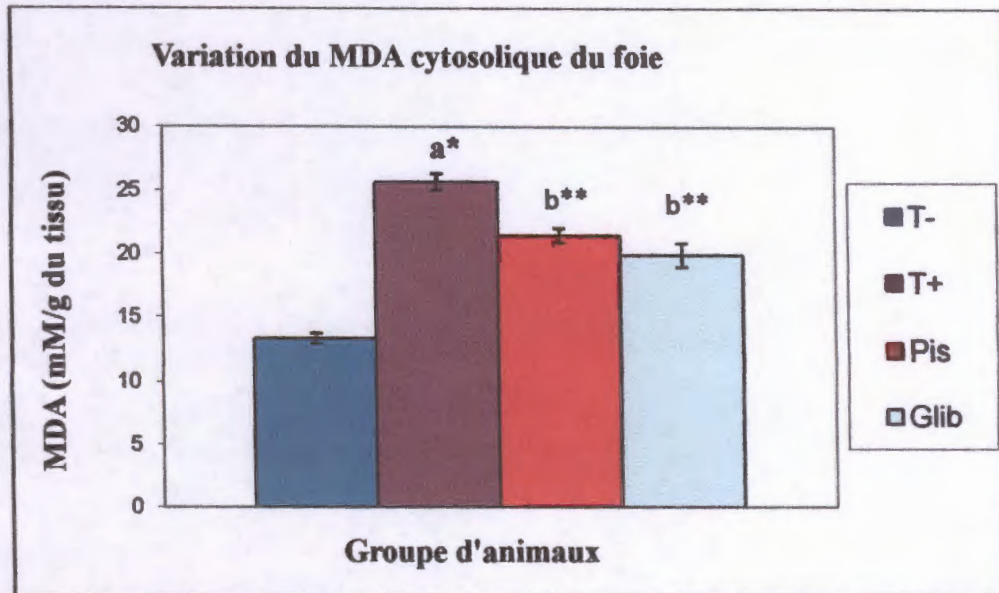


Figure 21 : Variation du taux du MDA cytosolique au niveau du foie après 7 jours de traitement par l'extrait de *Pistacia lentiscus* L. et le glibenclamide.

T- : groupe sans traité, T+ : groupe diabétique sans traité, Pis : groupe traité par glibenclamide. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 4$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par alloxane. ns : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

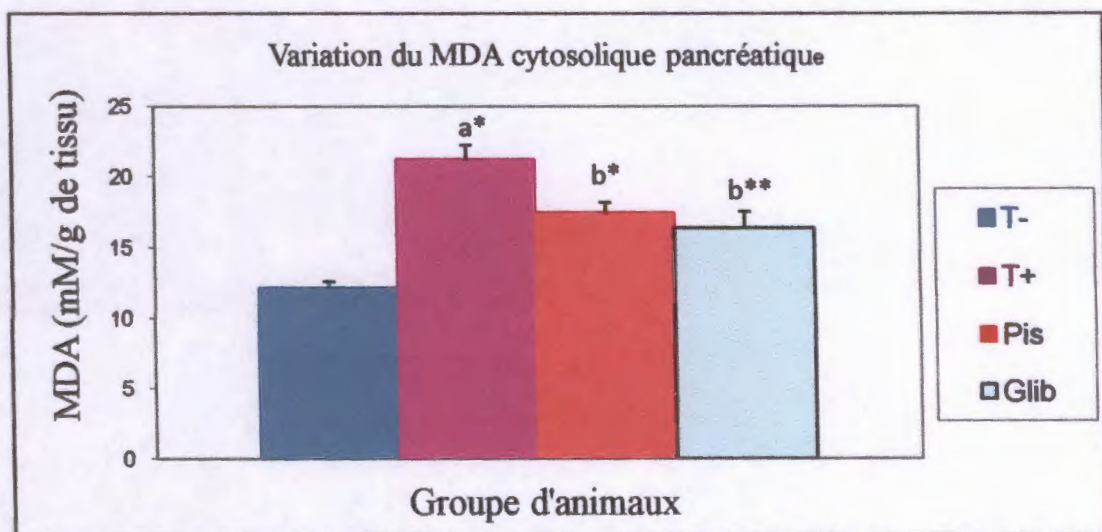


Figure 22 : Variation du taux du MDA cytosolique au niveau du pancréas après 7 jours de traitement par l'extrait de *Pistacia lentiscus* L. et le glibenclamide.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 4$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par alloxane. ns : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

La peroxydation lipidique représente un marqueur clé du stress oxydant et elle est déterminée par la mesure de la TBARS (MDA). Dans le diabète, la mesure des produits de la peroxydation lipidique peut refléter le degré du stress oxydant (Limaye et *al.*, 2003). L'augmentation du taux de MDA est le résultat de l'augmentation des ERO due, soit à l'augmentation de leur production, soit à la réduction de leur élimination suite à l'épuisement des systèmes antioxydants piègeurs. Lors d'un diabète, l'hypoinsulinémie augmente l'activité de l'enzyme Fatty acyl coenzyme A oxydase, qui initie la β oxydation lipidique des acides gras, ce qui provoque une augmentation de la peroxydation lipidique (Sivajothi et *al.*, 2008 ; Kebièche et *al.*, 2011). Les résultats obtenus dans notre étude ont révélé que l'administration quotidienne d'un extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. (300 mg/kg) pendant une semaine a permis de réduire d'une manière très significative ($P < 0.01$) le taux du MDA dans le foie et le Pancréas chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins positif diabétiques. L'extrait des composés phénolique s'est avéré pourvus d'un pouvoir antioxydant jouant un effet écran contre l'effet délétère des radicaux libres en agissant sur une ou plusieurs étapes de la peroxydation lipidique, ce qui explique la diminution de MDA au niveau cytosolique chez les rats traités par cet extrait. De plus, cet extrait peut prévenir la peroxydation lipidique indirectement via leur effet stimulateur de la sécrétion de l'insuline ou potentialisateurs de son effet au niveau des tissus périphériques (Assimacopoulos-jeannet et *al.*, 1995). Nos résultats concordent avec plusieurs d'autres études comme celle publiée par Elberry et *al.* (2011) qui ont constaté que, chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine, un traitement de 21 jours par un extrait hydro-méthanolique de *Marrubium vulgare* provoque une diminution hautement significative du taux hépatique en MDA.

II.7.2. Evaluation de l'activité de la catalase cytosolique au niveau du foie et du pancréas.

On note une diminution significative au niveau du foie et du pancréas ($P < 0.05$) chez le groupe diabétique par rapport au groupe témoin négatif, dont (0.047 ± 0.0008) contre (0.079 ± 0.0025) au niveau du pancréas et (0.231 ± 0.005) contre (0.575 ± 0.020) au niveau du foie.

Chez le groupe diabétique traité par l'extrait hydro-méthanolique l'activité de catalase cytosolique a augmenté significativement ($P < 0.05$) au niveau du foie et du pancréas par rapport au groupe diabétique témoin, dont (0.333 ± 0.0095) contre (0.231 ± 0.0085) au niveau du pancréas de (0.065 ± 0.0027) contre (0.047 ± 0.0008) au niveau du foie.

Chez les rats diabétique traité par glibenclamide l'activité de la catalase cytosolique a augmenté de manière significative ($P < 0.05$) au niveau de pancréas ($0,360 \pm 0.0029$) contre (0.231 ± 0.0085) par rapport aux rats diabétiques, et de façon hautement significative ($P < 0.01$) (0.071 ± 0.0008) contre (0.047 ± 0.0008) au niveau du foie.

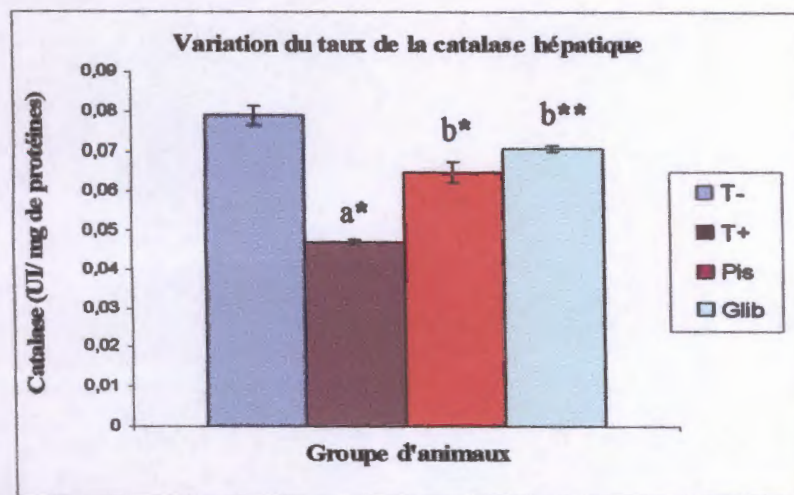


Figure 23 : Variation du taux de la catalase cytosolique au niveau du foie à la fin du traitement.

T- : groupe sans traité, T+ : groupe diabétique sans traité, Pis : groupe traité par glibenclamide. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 4$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par alloxane. ns : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

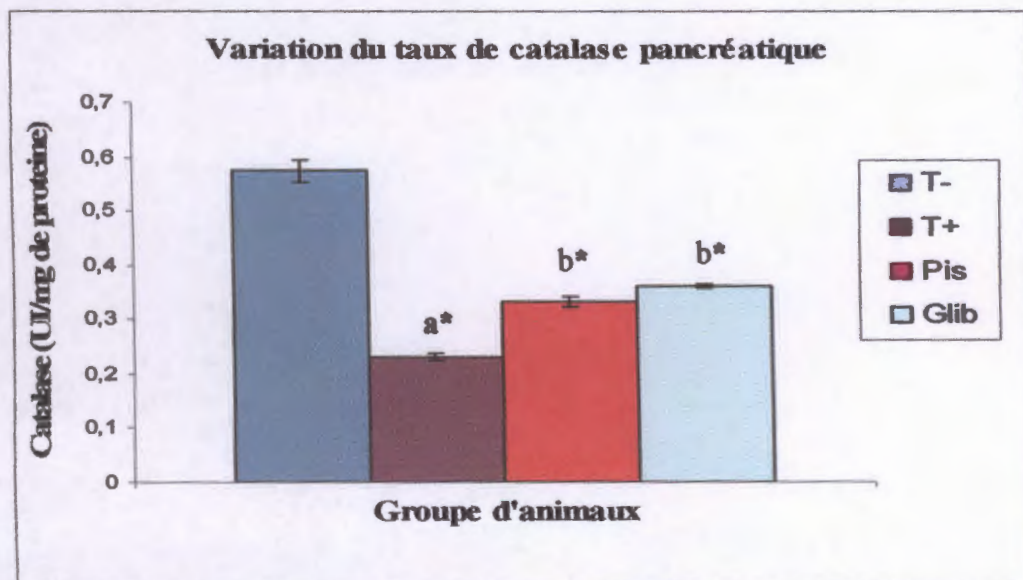


Figure 24 : Variation du taux de la catalase cytosolique au niveau du pancréatique à la fin du traitement.

T- : groupe sans traité, T+ : groupe diabétique sans traité, Pis : groupe traité par glibenclamide. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 4$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par alloxane. ns : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

La catalase (CAT) est une enzyme qui catalyse la réduction des peroxydes d'hydrogène en H₂O et en oxygène et protège les tissus des radicaux hydroxyles qui sont très réactifs (Sathishsekar et Subramanian, 2005). La destruction du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par la CAT améliore la toxicité induite par l'alloxane (Sivajothi et al., 2008). La modification de l'équilibre des enzymes antioxydantes causée par la baisse de l'activité de la CAT peut être responsable de l'insuffisance des défenses antioxydantes dans la lutte contre les ERO, ce qui provoquent des dommages tissulaires (Sivajothi et al., 2008). Plusieurs études ont montré la diminution de l'activité de la CAT dans le foie et le pancréas, ce qui pourraient être dû à l'effet néfaste directe des radicaux libres sur l'enzyme au cours du diabète sucré induit par l'alloxane, car, des études ont montré que l'augmentation de l'hypo-insulinémie augmente l'activité de l'enzyme fatty-acyl-CoA oxydase qui provoque une augmentation de la production de H₂O₂ (Kakkar et al., 1998), de telle sorte que la catalase ne puisse plus convertir le H₂O₂. Dans notre étude, on a constaté une baisse significative de l'activité de la CAT dans le foie et le pancréas chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane par rapport au groupe des rats sains témoins. Par ailleurs, le traitement pendant une semaine par un extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. a provoqué une augmentation significative de l'activité de la CAT dans le foie et le pancréas chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane par rapport aux rats diabétiques témoins. L'augmentation de l'activité de la CAT hépatique et pancréatique chez les rats diabétiques traités par l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. était significative et laisse penser que cette défense oxydante pourrait être réactivée par des principes actifs présents dans l'extrait, qui ont peut provoquer une augmentation de la capacité de détoxification par l'amélioration de la capture des radicaux libres. L'activité antioxydante des composés phénoliques de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. a été montré par Cherbal et al., 2012.

Babu et al., (2006) ont rapporté que les polyphénols peuvent inhiber la formation des ERO par inhibition de l'enzyme xanthine oxydase. Ils ont aussi rapportés que les polyphénols exercent une activité antioxydante en chélatant les métaux de transition qui peuvent contribuer dans la formation des radicaux libres via la réaction de fenton. Les polyphénols possèdent une structure chimique idéale pour capturer les radicaux libres, ainsi plusieurs études ont montré la capacité de capture des radicaux libres par les composés phénoliques (Babu et al., 2006 ; Santos-Gomes et al., 2002).

II.7.3. Evaluation de l'activité de la glutathion-s-transférase (GST) cytosolique au niveau du foie et du pancréas

On note une diminution très hautement significative de l'activité de GST au niveau du foie et du pancréas ($P < 0.001$) chez le groupe diabétique par rapport au groupe témoin négatif, dont (3.362 ± 0.394) contre (5.667 ± 0.035) au niveau du pancréas et (3.33 ± 0.275) contre (6.94 ± 0.135) au niveau du foie.

Chez le groupe diabétique traité par l'extrait hydro-méthanolique l'activité de GST cytosolique a augmenté hautement significative ($P < 0.01$) au niveau du foie et du pancréas

par rapport au groupe diabétique témoin, dont (5.84 ± 0.124) contre ($3,33 \pm 0,275$) au niveau du pancréas et de (4.46 ± 0.344) contre (3.36 ± 0.394) au niveau du foie.

Chez les rats diabétique traité par glibenclamide l'activité de GST cytosolique a augmenté de manière significative ($P > 0.05$) au niveau de pancréas ($6,03 \pm 0.063$) contre (3.33 ± 0.275) par rapport aux rats diabétiques et (5.09 ± 0.107) contre (3.36 ± 0.394) au niveau du foie.

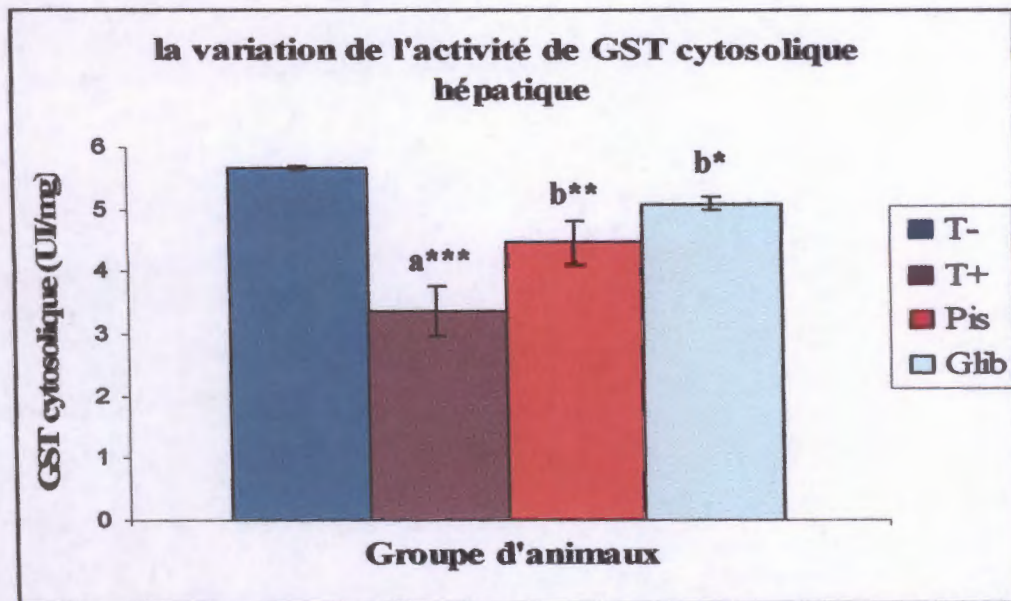


Figure 25 : Variation du taux de GST cytosolique au niveau du foie à la fin du traitement.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 4$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par alloxane. ns : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

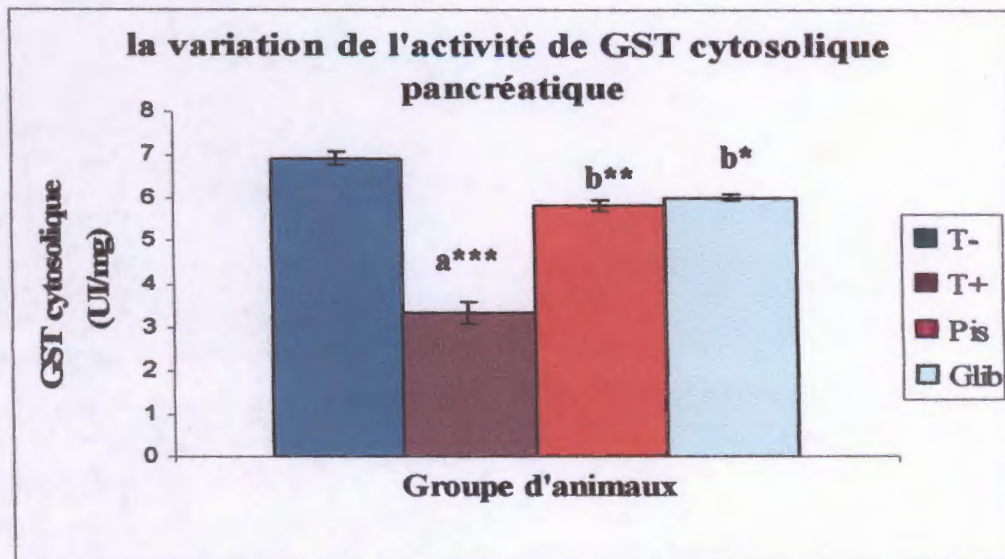


Figure 26 : Variation du taux de GST cytosolique au niveau du pancréas à la fin du traitement.

T- : groupe sans traité, T+ : groupe diabétique sans traité, Pis : groupe traité par glibenclamide. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 4$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par alloxane. ns : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

La glutathion-S-transférases (GST) est un antioxydant très important dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes (Gattás et *al.*, 2004 ; Zhihua et *al.*, 2004). Dans le foie et le pancréas, une diminution non significative de la GST est constatée chez les témoins diabétiques par rapport au témoin négatif. Par contre, l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. a augmenté de façon très significative l'activité de la GST par rapport au témoin diabétique. On suggère que la plante possède des composés qui augmentent l'activité la GST et la diminuent les ERO.

Conclusion

Conclusion

Le diabète est associé à une incidence élevée de plusieurs maladies. L'hyperglycémie chronique peut causer un état de stress oxydatif qui est, en partie, impliqué dans la pathogenèse des complications diabétiques.

Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que l'alloxane induit chez les rats un diabète caractérisé par une hyperglycémie, une hyperlipidémie, une diminution de manière significative la concentration sérique du glucose, du cholestérol total, des triglycérides et une élévation significative des marqueurs du stress oxydant et une diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique.

D'autre part, l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus*.L. Présente une haute activité hypoglycémiant chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane en diminuant d'une manière significative la concentration sérique du glucose.

L'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus*.L montre également une haute activité hypolipidémiant chez des rats rendus diabétique par l'alloxane diminuant la concentration sérique du cholestérol total et des triglycérides.

Nos résultats montrent que l'extrait de la plante provoque une nette amélioration du statut antioxydant hépatique et pancréatique. En effet, la diminution de la concentration du MDA. Ainsi l'augmentation de l'activité de la catalase (CAT) et de glutathion-s -transférase dans foie et pancréas chez les rats diabétiques traités par l'extrait montrent clairement les propriétés antioxydantes de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus*.L. Ces résultats laissent un grand espoir pour l'avenir avec le rôle protecteur que peuvent conférer de *Pistacia lentiscus*.L. dans la prévention et la limitation des effets toxiques des radicaux libres au cours

Du diabète.

En effet, il ressort du présent travail que *Pistacia lentiscus*.L est un produit fort intéressant et riche en possibilités thérapeutiques. Nos résultats sont pour nous remarquables car ils ouvrent dans le future des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet hypoglycémique, hypolipidémique et antioxydant de *Pistacia lentiscus*.L et d'avancer vers une meilleure connaissance du (des) mécanisme(s) moléculaire(s) intervenant dans les effets pharmacologiques observés.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abbas M. et Boudriche D. (2007).** Identification et Extraction des Molécules Bioactives de *Pictacia lentiscus L.* et Détermination de Quelques Effets Pharmacologiques, Centre de recherche et de développement, Sidal, Alger.
- Ahmed RG. (2005).** The physiological and biochemical effects of diabetes on the balance between oxidant defense system. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences.* **15** : (1) : 31-42.
- Ali-Shatayeh M.S., Yaghmour R.M., Faidi Y.R., Salem K. et Al-Nuri M.A. (1998).** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Ethnopharmacol.* **60** : 265-271.
- Al-Shamaony L., Al Khazraji MS. et Twaij HA. (1994).** Hypoglycemic effects of *Artemisia herba-alba*. II. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabetic animals. *J Ethnopharmacol.* **43** : (3) : 167 - 171.
- Amin R., Ross K. et Acerini C.L. (2003).** Hypoglycemia prevalence in prepubertal children with type 1 diabetes on standard insulin regimen: use of continuous glucose monitoring system. *Diabetes care.* **26** : 662-667.
- Atmani D., Chafer N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. et Atmani D. (2009).** Antioxydant Capacity and Phenol Content of Selected Algerian Medicinal Plants, *J. Elsevier, Food Chemistry.* **112** : 303-309.
- Assimacopoulos-jeannet F., Brichard S., Rencurel F., Cusin I. et Jeanrenaud B. (1995).** In vivo effects of hyperinsulinemia on lipogenic enzymes and glucose transporter expression in rat liver and adipose tissues. *Metabolism.* **44** : 228-233.
- Awika J.M., Rooney L.W. et Waniska R.D. (2005).** Anthocyanins from black sorghum and antioxidant properties. *Food chemistry.* **90** : 293-301.
- Babu P.V.A., Sabitha K.S. et Shyamaladevi C.S. (2006).** Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions.* **162** : 114 - 120.
- Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry.* **9** : 191-203.
- Baraibar MA., Friguet B. (2012).** Oxidative proteome modifications target specific cellular pathways during oxidative stress, cellular senescence and aging. *Experimental Gerontology.* 1-6.
- Baudière A., Monange Y. et Gauquelin Th. (2002).** Le Monde des Plantes; Intermédiaire des Botanistes, Toulouse; N° 477. pp : 2 - 5.

- Baudoux D. (2003).** L'aromathérapie : Se soigner par les Huiles Essentielles, édition Amyris. pp : 145-146.
- Beaudeau JL. et Dominique BR. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant. Aspectsbiologique et pathologiques. Edition médicales. Internationales. 550 pages.
- Benhammou N., Atik Bekkara F. et Panovska TK. (2008).** Antioxidant and antimicrobial activities of the Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2 : (2) : 022-028.
- Brownlee M. (2005).** The pathobiology of diabetic complications : a unifying mechanism. *Diabetes*. 54 : (6) : 1615-25.
- Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. La Voisier TEC et DOC. 2ème édition, Paris. p.268-277.
- Bruneton J. (1999).** Les tanins. Editions médicales internationales, Paris. p : 369-404.
- Bonnefont-Rousselot D., Bastard JP., Jaudon MC., Delattre J. (2000).** Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes & Metabolism*. 26 : 163-176.
- Bopanna KN., Kannan J., Gadgil S., Balaraman ER., Rathore SP. (1997).** Antidiabetic and antihyperglycaemic effects of neem seed kernel powder on alloxan diabetic rabbits. *Indian Journal of Pharmacology*. 29 : 162 - 167.
- Bouglé A., Annane D. (2009).** Les effets de l'insuline : de la cellule à l'organisme entier. *Science direct*. 28 : 19-193.
- Boukeloua A. (2009).** Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *pistacia lentiscus L.* (Anacardiaceae).
- Boumaza A. (2009).** Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutumcoss* contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. En vue de l'obtention du Diplôme de Magister en Biologie cellulaire et moléculaire. 11 pages.
- Bouldjadj R. (2009).** Etude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. Thèse de magistère : Université Mentouri Constantine. 90 pages.
- Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 4e Ed. Éditions médicales internationales (Tec & Doc), Paris. 1288 pages.
- Buysschaert M. (2006).** Diabétologie clinique. Edition de Boeck Université, Paris. 188 pages.
- Capeau J. et al. (1996).** Mécanismes moléculaires et cellulaires de l'action de l'insuline application à la physiologie et à la pathologie. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 10 : 231-242.

- Capeau J. (2003).** Insulin signaling: mechanisms altered in insulin resistance. *Med Sci.* 19 : 9-834.
- Carmona-Bayonas A., Font C. et Peña FA. (2013).** Stress-induced hyperglycemia is a valuable biomarker in febrile neutropenia. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 35 : (1) : 12-4.
- Charef M., Yousfi M., Saidi M. et Stocker P. (2008).** Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria, Springerlink.
- Cherbal A., Kebieche M., Madani K. et El-Adawi H. (2012).** Extraction and valorization of Phenolic Compounds of leaves of Algerian *Pistacia Lentiscus*. *Asian Journal of Plant Sciences.* 11: (3) : 131-136.
- Chevenne D., Trivin F. (1998).** Diabetes mellitus : proposal of new diagnostic and classification criteria. *Ann Biol Clin.* 56 (4) : 463-70.
- Choi SW., Iris FF., Benzie, Ma SW., Strain JJ. et Bernadette M. (2008).** Acute hyperglycemia and oxidative stress: Direct cause and effect?. *Free Radical Biology & Medicine.* 44 : 1217-1231.
- Clark A., Nilsson MR. (2004).** Islet amyloid : a complication of islet dysfunction or an aetiological factor in Type 2 diabetes. *Diabetologia.* 47 : 157-169.
- Cotelle N., Bernier JL., Catteau JP., Pommery J., Wallet JC. et Gaydou EM. (1996).** Antioxidant properties of hydroxy-flavones, *Free Radic. Biol. Med.* 20 : 35-43.
- Cotelle N. (2001).** Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry.* 1 : 569-590.
- Cornell W.D, Cieplak P., Bayly C.L et Kollman P. (1993).** Application of RESP charges to calculate conformational energies, hydrogen bond energies and free energies of solvation. *J. Am. Chem. Soc.* 115 : 9620-9631.
- Choudhary S., Sharma M., Tripathi J. et Mishra P. (2013).** Antihyperglycemic activity of *Vernonia cinerea* L. on alloxan-induced diabetic mice. *International Journal of Advanced Research.* 1 : (2) : 35-42.
- Dagogo-Jack S. et Santiago JV. (1997).** Physiopathology of type 2 diabetes and modes of action of therapeutic interventions. *Arch intern med.* 157 : 1802 - 1817.
- Dangles O., Stoeckel C., Wigand MC. et Brouillard R. (1992).** Two very distinct types of anthocyanin complexation : Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.* 33 : 5227-30.
- Dallatu MK., Anaja PO., Bilbis LS. et Mojiminiyi F.B.O. (2009).** Antioxidant micronutrient potentials in strengthening the antioxidant defense in alloxan-induced diabetic rats *Nig. Journ Pharm Sci.* 8 : 89-94.

- Jaamri K.E.U. et Helena T. (2012).** Le cycle vicinal au cour du diabète alloxinique chez le rat. *An Official Journal of European society of endocrinology.* 236-250.
- Jain SK. et Palmer M. (1997).** The effect of oxygen radical metabolites and vitamin E on glycosylation of proteins. *Free Radic Biol Med.* 22 : 593.
- JangYY., Song JH., Shin YK., Han ES. et Lee CS. (2000).** Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in STZ-induced diabetic rats. *Pharmacol Res.* 42 : 361 -371.
- Jensen M. et De Meyts P. (2009).** Molecular mechanisms of differential intracellular signaling from the insulin receptor. *Vitam Horm.* 80 : 51-75.
- Jovanovic S.V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B. et Simic M.G. (1994).** Flavonoids as antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.* 116 : 4846-4851.
- Kakkar R., Mantha S.V., Radhi J., Prasad K. et Kalra J. (1998).** Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *J Clin Sci.* 94 : 623 - 32.
- Kangralkar VA., Shivraj DP., Bandivadekar RM. (2010).** Oxidative stress and diabetes : a review. *International Journal of Pharmaceutical Applications* 1 : 38-45.
- Kaplan A. et al. (1984).** Triglycerides and Lipids. *Clinchem the C. V. Mosby Co St Louis. Toronto. Princeton.* 437 : 1194-1206.
- Kataria N., Kataria AK., Maan R. et Gahlot AK. (2010).** Evaluation of oxidative stress in brucella infected cows. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry.* 6 : (2) : 19-25.
- Kebièche M., Lakrounl Z., Mraïhi Z. et Soulimani R. (2011).** Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens L.* et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie.* 9 : 274-282.
- Kedar P. et Chakrabarti CH. (1982).** Effects of bittergourd (*Momordica charantia*) seed and glibenclamide in streptozotocin induced diabetes mellitus. *Indian Journal of Experimental Biology.* 20 : 232 - 235.
- Kein MF. (2009).** Relation entre le diabète de type 2 L'amyloides chez le chat etude bibliographique. thèse de doctorat. Université de paul sabatier de TOULOUSE. 117 pages.
- Khalfa S., Doud A. et Bouyahia AS. (2009).** Le Diabète sucré. Edition Office Des Publication Universitaires, Alger. 146 pages.
- Khanna K., Rizvi F. et Chander R. (2002).** Lipid lowering activity of *Phyllanthus niruri* in hyperlipemic rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 82 : 19 - 22.
- Khiati M. (1986).** Le diabète sucré chez l'enfant. Edition ledit. Alger. 68 pages.
- Kitabchi AE., Umpierrez GE., Murphy MB. et Kreisberg RA. (2006).** Management of hyperglycemic crises in patients with diabetes. *Diabetes Care.* 29 : 2739-2748.

- Koter I.M., Steiner R.A, Dijkstra B.W., van Noort P.I, Egmond M.R et Huber M. EPR. (2002). Characterization of the mononuclear Cu-containing *Aspergillus japonicus* quercetin 2,3-dioxygenase reveals dramatic changes upon anaerobic binding of substrates. *Eur. J. Biochem.* 269 : (12) : 2971-2979.
- Langhi C. et Cariou B. (2010). Cholesterol metabolism and beta-cell function. *MedSci.* 26 : (4) : 385-90.
- Lee A.Y. et Chung SS. (1999). Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *Faseb journal* 13 : 23-30.
- Lenzen S. et Panten U. (1988). Alloxan : history and mechanism of action. *Dia-betologia.* 31 : 337-342.
- Lenzen S. et Munday R. (1991). Thiol-group reactivity, hydrophilicity and stability of alloxane, its reduction products and its N-methyl derivatives and a comparison with ninhydrin. *biochem pharmacol.* 42 : 1385-1391.
- Lenzen S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin -induced Diabetes. *Diabetologia.* 51 : 216-226.
- Leonti M., Casu L., Sanna F. et Bonsegno L. (2001). A Comparison of Medicinal Plant Use in Sardinia and Sicily. *De Materia Medica* 72, Italy. 09122.
- Levine RL. (2002). Serial Review : Oxidatively Modified Proteins in Aging and Disease. *Free Radical Biology Medicine.* 32 : (9) : 790-796.
- Li WL., Zheng HC., Bukuru J. et De Kimpe N. (2004). Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *J. Ethnopharmacol.* 92 : 1 - 21.
- Limaye PV., Raghuram N., Sivakami S. (2003). Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin induced diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 243 : 147 - 152.
- Magnan C. et Ktorza A. (2005). Production and secretion of insulin by the pancreatic b-cell. *EMC Endocrinologie.* 2 : 241-264.
- Malaisse WJ., Malaisse-Lagae F., Sener A. et Hellerstrom C. (1985). Participation of endogenous fatty acids in the secretory activity of the pancreatic B-cell. *Biochem.* 227 : 995-1002.
- Malešev D. et Kuntić V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society.* 72 : (10) : 921-939.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C. et Jimenez L. (2004). polyphenols food sources and bioavailability. *Am .J.Clin .Nutr.* 79 : (5) : 727-747.

- Manickam D. et Periyasamy L. (2013).** Antidiabetic effect of methanolic extract of *Decalepis hamiltonii* root (wight and Arn) in normal and alloxan induced diabetic rats. *Journal of pharmacy research*. **6** : 166-172.
- Martin S., Andriantsitohaina R. (2002).** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Ann. Cardiol. Angéiol.* **51** : (6) : 304-15.
- Martin L. et Forest M. (2009).** Système digestif. In D'antonomie et de physiologie humaines. Edition du Renouveau Pédagogique Inc, France. pp. 417-498.
- Matsumoto N., Ishigaki F., et Ishigaki A. (1993).** Reduction of blood glucose levels by tea catechin. *Biosci Biotechnol Biochem.* **57** : 525-527.
- McCarty MF. (2001).** Inhibition of acetyl-CoA carboxylase by cystamine may mediate the hypotriglyceridemic activity of pantetheine. *Medical Hypotheses.* **56** : 314 - 317.
- McLetchie NGB. (1982).** Alloxan Diabetes : The sorcerer and his apprentice. *Diabetologia.* **23** : 72-75.
- Ménat E. (2012).** La diététique du diabète. Edition Alpen, France. 95 pages.
- Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur. pp. 13-36.
- Mitcheh A. (1986).** Tous les Arbres de nos Forêts, Edition Bordas. 319 pages.
- Michiels C., Raes M., Toussaint O. et Remacle J. (1994).** Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free radical biology & medicine.* **17** : 235-48.
- Monti L.D., Sandoli E.P. et Phan V.C. (1995).** A sensitive and reliable method for assaying true human insulin without interaction with human proinsulin-like molecules. *Acta Diabetol.* 32-57.
- Moulin M. et Coguerel A. (2002).** Pharmacologie. Masson, Paris. 300 pages.
- Moussard C. (2005).** Biologie moléculaire biochimie des communication cellulaire .De Boeck université, Bruxelles. 315 pages.
- Murray RK. (1993).** Harper's Biochemistry, 23^{ème} ed. Norwalk, Connecticut, U.S.A. : Appleton & Lange. 919 pages.
- Myers M., Mackay I. et Zimmet P. (2002).** Des toxins dans l'alimentation: qui veut la peau des légumes. **47** : (1) : 2.
- Nacz M. et Shahidi F. (2006).** Phenolics in cereals, Fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical Analysis.* **41**: 1523-1542.

- Narayana K.R., Reddy M.S., Chaluvadi M.R. et Krishna D.R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*. 33 : 2-16.
- Nayeemunnisa A. (2009). Alloxan diabetes-induced oxidative stress and impairment of oxidative defense system in rat brain : neuroprotective effects of cichorium intybus. *Int Diabetes Metabolism*. 17 : 105-109.
- Niedowicz DM. et Daleke DL. (2005). Oxidative Stress in Diabetic Complications. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 43 : 298-329.
- Nzengue Y., Steiman R., Garrel C. et Lefebvre E. (2008). Pascale Guiraud Oxidative stress and DNA damage induced by cadmium in the human keratinocyte HaCaT cell line : Role of glutathione in the resistance to cadmium. *Toxicology*. 243 : 193-206.
- Okhawa H., Ohishi N. et Yagi K., (1979). Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*. 95 : 351-358.
- Opara E.C. (2002). Oxidative stress, micronutrients, diabète mellitus and its complications. *Diabètes care*. 148 pages.
- Ouedraogo M. et al. (2000). Complications aiguës du diabète sucre au centre hospitalier national yalgado ouedraogo. *Médecine d'Afrique Noire*. 47 : (12) : 2-10.
- Owen PL. et Johns T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of ethnopharmacology*. 64 : 149-160.
- Patel DK., Kumar R., Laloo D. et Hemalatha S. (2012). Diabetes mellitus : An overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 411-420.
- Pawlowska AM., De Leo M. et Braca A. (2006). Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits : Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 54 : (26) : 10234-38.
- Piluzza G., Bullitta S. (2011). Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. *Pharm. Biol.* 49 : 240-247.
- Pietta P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*. 63 : 1035-1042.
- Puri D. (2001). The insulinotropic activity of a Nepalese medicinal plant, *Biophytum sensitivum* : Preliminary experimental study. *Journal of Ethnopharmacology*. 78 : 89-93.
- Quezel P. et Santa S. (1962). Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Tome I, Centre Nationale de la Recherche Scientifique. p 611.
- Raccach D. (2004). Épidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*. 1 : 29-42.

- Rachison LA., Miu N. et Andreica MA. (2010).** Oxidative stress and metabolic memory a vicious circle in diabetes mellitus type 1. *Chujul Medical.* **83** : (3) : 411-413.
- Raffaele C., Danilo F., Bruno M., Alessandra P. et Silvia P. (2002).** Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO₂. *Journal of flavour and fragrance.* **17** : (4) : 239-244.
- Ramonatxo CK. (2006).** Stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme.* **20** : 165-177.
- Ravi K., Rajasekaran S. et Subramanian S. (2005).** Antihyperlipidemic effect of eugenia jambolana seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Food and Chemical Toxicology.* **43** : 1433 - 1439.
- Remesy C., Manach C., Demigne, Texier O. et Regeat F. (1996).** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Méd. Nut.* **32** (1) : 17-27.
- Ré DB., Nafia L, Nieoullon A., Kerkerian Le Goff L. et Had-Aissouni L. (2005).** Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation.* **24** : 502-509.
- Rodriguez-pérez C., Quirantes-Piné R., Amessis-Ouchemoukh N., Khodir M., Segura-Carretero A., Fernández-Gutierrez A. (2013).** A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 1-26.
- Sambo MH. (2005).** Etude de traitement traditionnel du diabète par une recette et les écorces de tronc de *Manilkara multinervis* Dub (Sapotaceae). Thèse de doctorat. Universitaire de Bamako. 125 pages.
- Santos-Gomes PC., Seabra RM., Andrade PB. et Fernandes-Ferreira M. (2002).** Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.). *Plant Science.* **162** : 981-987.
- Saravanan R. et Pari L. (2005).** Antihyperlipidemic and antiperoxidative effect of Diasulin, a polyherbal formulation in alloxan induced hyperglycemic rats. *BMC Complement Altern Med.* **5** :14 - 21.
- Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris. pp.300-398.
- Sarkhail P., Rahmanipour S., Fadyevatan S., Mohammadirad A., Dehghan G., Amin G., Shafiee A. et Abdollahi M. (2007).** Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta* : Effects on hepatic

- cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Pharmacological Research*. **56** : 261 - 266.
- Sathishsekar D. et Subramanian S. (2005)**. Antioxidant properties of Momordica Charantia (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr*. **14** : (2) : 153 - 158.
- Scalbert A. (2001)**. Polyphénols du thé : Sources alimentaires, consommation et biodisponibilité.
- Scalbert A., Manach C. et Morand C. (2005)**. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*. **45** : 287-306.
- Sharma SB., Nasir A., Prabhu KM., Murthy PS. Et Dev G. (2003)**. Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxaninduced diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*. **85** : 201 - 206.
- Sharma S.B., Nasir A., Prabhu K.M. et Murthy P.S. (2006)**. Antihyperglycemic effect of 300 the fruit-pulp of *Eugenia jambolana* in experimental diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology*. **104** : 367-373.
- Sharmal V.K., Kumar S., Patel H.J. et Hugar S. (2010)**. Hypoglycemic activity of ficus glomerata in alloxan induced diabetic rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. **1** : (2) : 18-22.
- Shimizu M., Kobayashi Y., Suzuki M., Satsu H. et Miyamoto Y. (2000)**. Regulation of intestinal glucose transport by tea catechins. *Biofactors*. **13** : 61 - 65.
- Shirwaikar A., Rajendran K., Dinesh Kumar C. et Bodla R. (2004)**. Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annonasquamosain* streptozotocin-nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **91** : 171 - 175.
- Syiema D., Syngai G., Khup P.Z., Khongwir B.S., Kharbuli B. et Kayang H. (2002)**. Hypoglycemic effects of *Potentilla fulgens* L. in normal and alloxan-induced diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*. **83** : 55-61.
- Silbernagl S. et Lang F. (2000)**. Atlas de poche physiopathologie. Edition Médecine Sciences, Paris. 400 pages.
- Silva B.M., Szpoganicz B., Pizzolatti M.G., Willrich M.V. et De Sousa E. (2002)**. Acute effect of *Bayhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethonopharmacology*. 1-5.
- Silverthorn D. (2007)**. Physiopathologie humaine 4^{ème} édition. Edition Pearson Education, France. 498 pages.

- Sivajothi V., Dey A., Jayakar B. et Raj Kapoor B. (2008). Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effect of *Phyllanthus rheedii* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 7 : (1) : 53 - 59.
- Slater HR., Packard CJ., Bicker S. et Shepherd. (1980). Effects of cholestyramine on receptor mediated plasma clearance and tissue uptake of human low density lipoprotein in the rabbit. *Journal of Biological Chemistry*. 255 : 10210 - 10213.
- Soto C. et al. (2004). Silymarin induces recovery of pancreatic function after Alloxan damage in rats. *Life Sciences*. 75 : 2167-2180.
- Stanojevic L., Stankovic M., Nikolic V., Nikolic L., Ristic D., Candanovic-Brunet J. et Tumbas V. (2009). Antioxidant activity and flavonoid contents of *Hieracium pilosella* L. extracts. *Sensors*. 9 : 5702-5714.
- Stanely P., Kamalakkannan N. et Venugopal P. (2004). Antidiabetic and antihyperlipidaemic effect of alcoholic *Syzygium cumini* seeds in alloxan induced diabetic albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 91 : 209-213.
- Stefan M. et Mithöfer A. (2006). *Phytochemistry*. 521 pages.
- Szkudelski T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B Cells of the rat pancreas. *Physiol. Res*. 50 : 537-546 .
- Talbert M., Willoquet G. et Gervais P. (2006). *Guide pharmaco*. Edition Lamarre, France. 568 pages.
- Thomas SR., Chen K. et Keaney JF Jr. (2003). Oxidative stress and endothelial nitric oxide bioactivity. *Antioxid Redox Signal*. 5 : (2) : 181-94.
- Tiqwari A.K. (2001). Imbalance in antioxidant defence and human diseases : Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science*. 81 : (9) : 1179-1181.
- Torkelson A.R. (1996). *The Cross Name Index to Medicinal Plants*, CRC Press. 1160 pages.
- Uchida K., Takase H., Nomura Y., Nakamura Y., Igimi H., Takasu N., Kurihara H., Takeuchi N. (1994). Development of atherosclerosis in alloxan diabetic rats. *J Atheroscler Thromb*. 1 : 118-128 .
- Urquiaga I. et Leighton F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*. 33 : (2) : 55-64.
- Valsa AK., Sudheesh S. et Vijayalakshmi NR. (1997). Effect of catechin on carbohydrate metabolism. *Indian J Biochem Biophys*. 34 : 406 - 408.
- Vaya J. et Mahmood S. (2006). Flavonoid Content in leaf Extracts of The fig (*Ficus carica* L.), Carob (*Ceratonia siliqua* L.) and Pistachio (*Pistacia lentiscus* L.), *Biofactors*. *PubMed PMID* : 17473377. 28 : (3-4) : 169-75.

- Venkateswaran S. et Pari L. (2002). Flavonoids in food. *Journal of Clinical Nutrition*. 11: 206.
- Waltner-Law ME., Wang XL., Law BK., Hall RK., Nawano M. et Granner DK. (2002). Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *J Biol Chem*. 277 : 34933 - 34940.
- Wiernsperger NF. (2003). Oxidative stress as atherapeutic target in diabetes : Revisiting the controversy. *DiabetesMeta*. 29 : 579-85.
- Wolff S.P., Bascal Z.A. et Hunt J.V. (1989). Autoxidative glycosylation : free radicals and glycation theory. *Progress in clinical and biological research*. 304 : 259-75.
- Yang N., Zhao M., Zhu B., Yang B., Chen C., Cui C. et Jiang Y (2008). Anti-diabetic effects of polysaccharides from *Opuntiamonacantha* cladode in normal and streptozotocininduced diabetic rats. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9 : 570 -574.
- Yahia M. (1992). La Thérapeutique par les Plantes Communes en Algérie, Ain Taya. 59 pages.
- Yu J., Ahmedna M. et Goktepe I. (2005). Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanuk skin phenolics. *Food chemistry*. 90 : 199-206.
- Zeghad N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de magister. Université Mentouri Constantine. 130 pages.
- Zhihua J., Elias S.J.A., Ying M., Linda J., Jinming S., Siqi Z., Shujun L., Ruiying W., Tianzhu Z., Ganglin Y., Junqiu L., Jiacong S., Guimin L. (2004). Expression of selenocysteine-containing glutathione S-transferase in *Escherichia coli*. *Biochem and Bioph Res Commun*. 321: 94-101.
- Zhande R., Mitchell J.J., Wu J. et Sun X.J. 2002. Molecular mechanism of insulin induced degradation of insulin receptor substrate 1. *Mol Cell Biol*. 22 : 1016-1026.

Annexe



Annexe 1 : Entretien des animaux



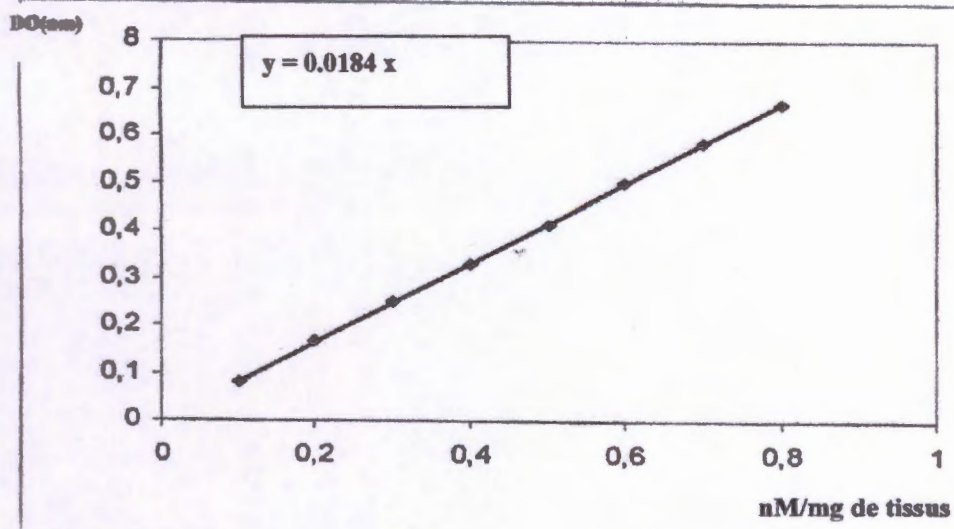
Annexe 2 : Voie d'administration du traitement (gavage gastrique)



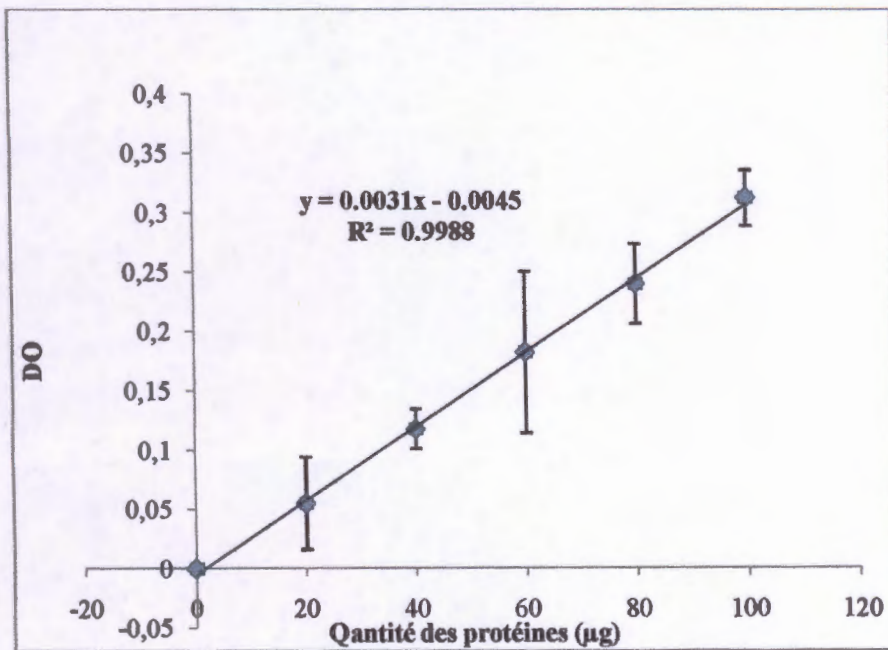
Annexe 3 : Prélèvement sanguin



Annexe 4 : La dissection et le prélèvement des organes



Annexe 6 : Courbe d'étalonnage du MDA avec 1, 1, 3,3tetraetoxypropane



Annexe7 : Réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

Contribution à l'étude de l'activité antidiabétique de l'extrait des feuilles de *Pistacia lentiscus* L.chez les rats diabétiques

Présenté par : Bouchkara Samia, Laalam Fatima Zohra , Yessad Nassima

Résumé

Le diabète sucré est aujourd'hui une maladie métabolique grave menaçant, d'une manière croissante, la santé publique dans le monde. Plusieurs métabolites secondaires isolés des plantes ont montré une activité antioxydante et une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant au cours du diabète. Cette étude est consacrée à l'évaluation de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. (à la dose de 300 mg/kg pendant 7 jours) et en les comparant avec l'effet d'un médicament antidiabétique commercial ; le glibenclamide (à la dose de 2.5 mg/kg) chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane (150 mg/kg). Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que l'alloxane induit chez l'animal un diabète caractérisé par une hyperglycémie, une hyperlipidémie, une élévation des marqueurs du stress oxydant et une diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique. Dans le cadre de la comparaison des paramètres biochimiques et ceux du stress oxydant entre le groupe diabétique et le groupe non diabétique, nous avons constaté une augmentation de la glycémie, du cholestérol total, des triglycérides et du MDA et une diminution du poids corporel, de GST et de la CAT chez le groupe diabétique en comparaison avec le groupe non diabétique. Cependant, l'administration orale de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. pendant 7 jours à une dose journalière de 300 mg/kg a provoqué une diminution significative de la concentration sérique de glucose, du cholestérol total et des triglycérides chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins, résultats similaires à ceux du groupe traité par la glibenclamide. D'autre part, l'extrait hydro-méthanolique a également entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans les tissus étudiés (pancréas et foie). En effet, la diminution de la concentration du mlonyldialdéhyde (MDA) et l'augmentation de l'activité de la catalase (CAT) dans le foie et le pancréas des rats diabétiques traités montrent que l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia lentiscus* L. possède une haute activité antioxydante. En conclusion, la présente étude suggère que *Pistacia lentiscus* L. possède un effet bénéfique sur le contrôle de diabète, ce qui permet de réduire le développement des complications associées au diabète.

Mots clés : *Pistacia lentiscus* L., diabète, antidiabétique, stress oxydant, antioxydant.

Abstract :

Diabetes mellitus is a serious metabolic disease increasingly threatening public health worldwide. Several secondary metabolites isolated from plants showed antioxidant activity and ability to prevent the toxic effects of oxidative stress in diabetes. The present study is devoted to evaluate the antidiabetic and antioxidant effects of *Pistacia lentiscus* L. hydro-methanolic leaves extract (300 mg / kg for 7 days) and to compare with the effect of glibenclamide; an oral antidiabetic drug (2.5 mg / kg) in rats made diabetic by the alloxan (150 mg / kg). The results obtained in this study clearly show that the alloxan induced diabetes in animals is characterized by hyperglycemia, hyperlipidemia, and increased markers of oxidative stress and decreased enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense systems. We realize an increase in blood glucose, total cholesterol, triglycerides and MDA and a decreased body weight, GST and CAT in diabetics contrary to the non diabetic group. However, oral administration of *Pistacia lentiscus* L. hydro-methanolic leaves extract for 7 days at a daily dose of 300 mg / kg caused a significant decrease in serum glucose, total cholesterol and triglycerides in diabetic rats compared to diabetic control, which was similar to the results obtained with the glibenclamide treated group. On the other hand, *Pistacia lentiscus* L. hydro-methanolic leaves extract also resulted in a significant improvement in antioxidant status in tissues studied (liver and pancreas). Indeed, the decrease in the concentration of mlonyldialdéhyde (MDA) and the increase of the activity of catalase (CAT) in liver and pancreas in diabetic treated rats indicates that the hydro-méthanolic extract of *Pistacia lentiscus* L. has a high antioxidant activity. In conclusion, this study suggests that *Pistacia lentiscus* L. has a beneficial effect on the control of diabetes, which can reduce the development of diabetes complications.

Keywords: *Pistacia Lentiscus* L, diabetes, antidiabetic, oxidative stress, antioxidant.

ملخص

داء السكري هو مرض استقلابي خطير يهدد الآن على نحو متزايد، الصحة العامة في جميع أنحاء العالم . أثبتت كثير من المركبات الثانوية المستخلصة من النباتات انها تملك تأثير مضاد للتأكسد و قدرة في تحسين اثار الاجهاد التاكسدي اثناء مرض السكري و تخصص هذه الدراسة لتقييم التأثير المضاد لداء السكري والاجهاد التاكسدي للمستخلص الميثانولي المائي لنبات الضرو (300 ملغ / كغ لمدة 7 ايام) ومقارنتها مع مفعول الدواء المضاد لداء السكري (الغليبينكلاميد بجرعة 2.5 ملغ / كغ) عند فتران سبب لها داء السكري بواسطة الوكسان (150 ملغ / كغ). النتائج التي تم الحصول عليها السكري في هذه الدراسة اظهرت بوضوح ان أ لوكسان يتسبب في مرض السكري الذي يتميز بارتفاع مستوى السكر و الدهون في الدم وارتفاع مؤشرات الاجهاد التاكسدي وانخفاض في نشاط الانزيمات المضادة للأكسدة الانزيمية وغير الانزيمية . ادى الاعطاء الفموي لمستخلص الضرو لمدة 7 ايام بجرعة يومية قدرها 300 مغ / كغ الى انخفاض كبير في مستوى السكر في الدم، والكوليسترول الكلي والدهون الثلاثية عند الجرذان المصابة بداء السكري بالمقارنة مع مجموعة غير مصابة بالسكري و نتائج مماثلة لتلك الواردة في المجموعة التي تلقت العلاج بواسطة غليبينكلاميد . من ناحية أخرى، ادى المستخلص الميثانولي المائي لنبات الضرو أيضا في حدوث تحسن كبير في حالة مضادات الأكسدة في الأنسجة الكبد والبنكرياس . في الواقع، فإن الانخفاض في تركيز mlonyldialdéhyde (MDA) وزيادة نشاط الكاتلاز (CAT) في الكبد والبنكرياس للجرذان المصابة بداء السكري تبين أن المستخلص الميثانولي المائي لنبات الضرو لديه نشاط عال مضاد للأكسدة عال في الختلم، تشير هذه الدراسة أن الضرو له تأثير مفيد في السيطرة على مرض السكري، والتي يمكن أن تقلل من تطور المضاعفات المرتبطة بمرض السكري.

الكلمات المفتاحية : الضرو، داء السكري، مضاد لداء السكري، الاجهاد التاكسدي، مضاد للأكسدة