

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mentouri Constantine 1

Faculté des sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie animal

Master II

Filière :

Toxicologie et santé

Thème

Evaluation de l'activité biologique de l'extrait éthyle acétate du thé vert et l'extrait butanolique de la plante *Chrysanthemum sp* vis à vis la toxicité induite par la streptozotocine

Présenté par :

SAFI FOUZIA et BOUABID SARAH

Devant le jury :

Président : Mm .S. AMEDAH.

Prof. Université Mentouri-Constantine

Rapporteur : Mm .N. BOUBEKRI.

MTA. Université Mentouri-Constantine

Examineurs : Mm BOUMAAZA

MTA. Université Mentouri-Constantine

Mr ZOUAGHI

MC. Université Mentouri-Constantine

Sommaire

Introduction.....	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
Etude de la relation entre le diabète et le stress oxydant	
1. Le diabète.....	3
1.1. Le diabète de type 1.....	3
1.2. Le diabète de type 2.....	4
1.3. Autres types de diabète.....	4
2. Relation entre le diabète et le stress oxydant.....	5
2.1. Le Stress Oxydant: cause ou conséquence du diabète?.....	5
2.2. Stress oxydant	5
2.2.1 Définition de stress oxydant.....	5
2.2.2 Radicaux libres.....	6
2.2.3 Les principales espèces réactives de l'oxygène.....	7
2.2.4 Sources et formation des radicaux libres	10
2.2.4.1 Origine Endogène	10
2.2.4.2 Origine Exogène.....	14
2.2.4.3 Conséquences de stress oxydant.....	16
2.3 System antioxydant et régulation des espèces réactifs de l'oxygène in vivo.....	20
2.3.1 System enzymatique.....	21
2.3.1.1 Les superoxydesdismutases (SOD).....	21
2.3.1.2 Les catalases	22
2.3.1.3 La glutathion peroxydase.....	23
2.3.1.4 La thiorédoxine.....	25
2.3.1.5 Les Hèmes oxygénases.....	26
2.3.1.6 Autre enzymes antioxydantes.....	26
2.3.2 System non enzymatique.....	26
2.3.2.1 Le glutathion réduit.....	27
2.3.2.2 La vitamine E.....	27
2.3.2.3 La vitamine C.....	27
2.3.2.4 L'Acide urique.....	28
2.3.2.5 Les oligoéléments.....	28

2.3.2.6 La bilirubine en page 2.....	29
2.3.2.7 L'albumine.....	29
2.3.2.8 Le coenzyme 10.....	29
3. Le diabète expérimental.....	30
3.1 L'induction du diabète par la streptozotocine.....	31
3.1.1 Structure et propriétés chimiques de la STZ.....	31
3.1.2 Spécificité et sélectivité de la STZ.....	31
3.2 Mode d'action de la streptozotocine.....	32
3.3 Changements de la glycémie au cours de la diabétogénèse.....	33
3.4 Conséquences métaboliques et toxiques de la streptozotocine.....	34
4. Comment le diabète cause-t-il un stress oxydant.....	35
4.1 Hyperglycémie et complications dans le diabète de type 1.....	35
4.1.1 La glycation (glycosylation).....	36
4.1.2 Oxydation de l'ADN et le dysfonctionnement mitochondriale au cours du diabète.....	36
4.1.3 Augmentation de la voie de polyol.....	37
4.1.4 L'épuisement des anti-oxydant sérique et cellulaire.....	37
4.1.5 Maladies liées au diabète et stress oxydant.....	38
4.1.5.1.Hépatotoxicité.....	38
4.1.5.2.Néphropathie diabétique.....	38
4.1.5.3.Diabète et maladies cardiovasculaires.....	38

Thé vert et polyphénols

1 Le Thé vert	41
1.1 Nomenclature et taxonomie.....	41
1.2 Classification.....	42
1.3 Description botanique du thé vert.....	42
1.4 Composition et intérêt biologique du Thé vert.....	43
1.4.1 Composition.....	43
1.4.2 Intérêt biologique.....	44
2. Polyphénols.....	45
2.1 Généralité.....	45
2.2 Définition.....	45
2.3 Classification et structure chimique.....	45
2.3.1 Les acides phénoliques.....	47

2.3.2	Les stilbènes.....	47
2.3.3	Les lignanes.....	47
2.3.4	Les alcools phénoliques.....	48
2.3.5	Les flavonoïdes.....	48
2.3.5.1	Flavonols.....	48
2.3.5.2	Flavanones.....	49
2.3.5.3	Isoflavones.....	49
2.3.5.4	Anthocyanes.....	49
2.3.5.5	Flavones.....	50
2.4	Bioactivité des polyphénols.....	52
2.4.1	Propriétés de piégeage des radicaux libres.....	53
2.4.2	Propriété anti-inflammatoire.....	54
2.4.3	Polyphénols et maladies cardiovasculaires.....	54
2.4.4	Activité anti microbienne.....	55
2.4.5	Activité anti-tumorale.....	55
2.4.6	Propriétés antiallergiques.....	56
2.4.7	Polyphénols et diabète.....	56

Partie II : Etude expérimentale

	Matériels et méthodes.....	57
1.	Animaux et conditions d'hébergement.....	57
2.	Evaluation de l'activité antidiabétique de l'extrait butanolique du plant <i>Chrysanthemum</i> sp et l'extrait éthyle acétate du thé vert.....	57
2.1.	Induction de diabète expérimental.....	57
2.2.	Dosage des paramètres du stress oxydant.....	58
2.2.1	Dosage Peroxydation lipidique.....	58
2.2.2	Dosage de glutathion (GSH).....	59
2.3.	Dosage des paramètres biochimique.....	59
2.3.1	Préparation de sérum et le test de la fonction hépatique.....	59
2.3.2	Dosage du cholestérol total.....	60
2.3.3	Dosage des triglycérides.....	60
2.3.4	Dosage du glucose.....	60
2.4	Méthode Histologique.....	61

2.4.1 Préparation des blocs.....	61
2.4.2 Réalisation des coupes et coloration.....	61
2.4.Evaluation statistique.....	61

Partie III : Résultats et discussion

Résultats et interprétation.....	62
1. La variation de la glycémie.....	62
2. La variation du poids corporelle.....	63
3. Effet des deux extraits sur la peroxydation lipidique.....	64
4. Effet des deux extraits sur le GSH.....	65
5. Effet de diabète sur la fonction hépatique et l'action hépatoprotecteur de l'extrait butanolique de Chrysanthemum sp et l'extrait éthyle acétate du thé vert.....	66
6. Effet de diabète sur le cholestérol et les triglycérides et l'action protecteur des extraits	67
Discussion.....	68
Conclusion.....	63
Référence.....	74

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribose Nucléique.

AGE : produits avancés de la glycation.

AGPI : acide gras polyinsature

ALAT: Alanine Amino transférase.

ASAT: Aspartate amino transférase.

CAT : Catalase.

CHE: Cholestérol Estérase.

CHO: Cholesterol Oxidase.

CT: Cholesterol total.

Cu ⁺² : Cuivre.

DT 1: Diabète de Type 1.

eNOS : monoxyde d'azote syntase endothéliale.

GLUT4: Glucose Transporter 4.

GR: glutathion réductase.

GSH: Glutathionne.

GSSG: Glutathion oxydase.

GST: Glutathionne-S-Transférase.

HOCl : l'acide hypochloreux

H⁺: proton d'Hydrogène.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène (Eau oxygénée.).

IAA : anticorps anti insuline.

IARC: Centre international de recherche sur le cancer (International Agency for Research on Cancer).

iNOS : monoxyde d'azote syntase inductible.

IL : Inter Leukine.

Kg: Kilo gramme.

LDL: Low Density Lipoprotein.

MDA: Malon Dialdéhyde.

Mg : Milligramme.

Min : Minute.

μl : Microlitre.

ml : Millilitre.

Mn : Manganèse.

MPO : myéloperoxydase.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit.

nm : Nanomètre.

nNOS : monoxyde d'azote synthase neuronal.

NO : Monoxyde d'azote.

NOS : Nitrite oxyde synthase.

NOX : NADPH oxydase.

NO₂· : Nitrique Dioxyde.

O₂ : Oxygène.

O₂[°] : Radical super oxyde.

OH[°] : Radical hydroxyle.

OH Cl : Oxydants Chlorés.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

PH: Potentiel d'Hydrogène.

POD : Peroxydase.

PL:Phospholipide.

Q10: Quinone 10.

RL : radical libre.

ROS: Reactive Oxygen Species.

SOD: Super Oxyde Dismutasses.

STZ : Streptozotocine.

TG : Tri Glycérides.

TNFα: TumorNucrosis Factor.

UI: Unite internationale.

UV: Ultra-Violet.

Zn : Zinc.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales espèces réactives dans les systèmes biologiques	7
Tableau 2: Les isoformes de glutathion peroxydases chez les mammifères	25
Tableau 3 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées	30
Tableau 4 : Principales classes de composé phénoliques	46
Tableau 5 : Principales classes des flavonoïdes	51

Liste des figures

Figure 1 : Stress oxydant.....	6
Figure 2 : Formation des radicaux libres.....	6
Figure 3 : Différents espèces réactifs de l'oxygène et leur formation en cascade.....	10
Figure 4 : principales sources endogène des radicaux libres.....	11
Figure 5 : La chaine respiratoire	12
Figure 6 : Production des ROS par le phagocyte	13
Figure 7 : Les différentes lésions d'ADN	16
Figure 8 : Initiation de la peroxydation lipidique	17
Figure 9 : La propagation de la peroxydation lipidique à d'autres AGPI : réaction en chaine	17
Figure 10 : la propagation de la peroxydation lipidique a d'autres AGPI réaction en chaine	18
Figure 11 : system antioxidant	20
Figure 12 : Les types de la Super oxyde dismutase (SOD)	22
Figure 13 : Le système Thiorédoxine (TRX)	26
Figure 14 : Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique	28
Figure 15 : Structure de Streptozotocine et 1-Methyl-1-nitrosuré	31
Figure 16 : Toxicité de STZ dans les cellules B des ilots du Langerhans	33
Figure 17 : Conséquences systémiques et cellulaires d'hyperglycémie dans le diabète de type 1	35

Figure 18 : Les principales modifications des particules LDL dans l'intima des artères participant à la physiopathologie de l'athérosclérose	39
Figure 19 : Le thé vert	42
Figure 20 : Le théier	42
Figure 21 : la structure chimique de la théine.....	43
Figure 22 : La Structure chimique du théanine	44
Figure 23 : Les structures chimiques de quelques polyphénols alimentaires	46
Figure 24 : structure de base des flavonoïdes	48
Figure 25 : Structures des différentes classes des flavanols	48
Figure 26 : Effets biologiques des polyphénols	53
Figure 27 : Critères structuraux essentiels pour avoir une bonne activité antiradicalaire des flavonoïdes.....	54
Figure 28 : L'influence de l'administration de l'extrait butanolique et acétate d'éthyle sur la glycémie pendant les 20 jours.....	62
Figure 29 : L'influence de l'administration de l'extrait butanolique et acétate d'éthyle sur le poids corporel pendant 3 semaines.....	63
Figure 30 : Effet de l'extraits butanolique et acétate d'éthyle sur la production du MDA dans les différents tissus (foie, rein et pancréas).....	64
Figure 31 : Effet de l'extraits butanolique et acétate d'éthyle sur μ le niveau de GSH dans les différents tissus (foie, rein et pancréas).....	65
Figure 32 : Effet de l'extraits butanolique et acétate d'éthyle sur la fonction hépatique et sa libération des transaminases.....	66
Figure 33 : l'effet protecteur de l'extraits butanolique et acétate d'éthyle sur les paramètres biochimique (cholestérol et triglycéride) chez les déférents lots de rats traites et témoins.....	67



REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de biologie animale à l'université Mentouri-Constantine.

Tous d'abord, Je tiens à remercier vivement le professeur N. BOUBEKRI, sans elle, ce travail n'aurait jamais eu lieu. Nous la remercions pour sa disponibilité, pour ses éclaircissements scientifiques, ainsi que pour ses précieux conseils et surtout pour nous 'avoir laissé une grande liberté dans la conception de ce modeste travail.

Enfin, un grand merci à tous nos professeurs Mm S. AMEDAH, Mr K. LALAOUI. Mm D. ZAAMA, et à tous mes collègues et amis, à Tous ceux qui nous ont aidée ou soutenue et que je ne saurais citer ici.



Dédicace

Merci mon dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, La force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire "Ya Karim "

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère ...
A mon père, école de mon enfance, A tous mes enseignants, particulièrement professeur N. BOUBEKRI que dieu les gardes et les protège.*

A mes sœurs et mes frères, a Mahmoud, Mon ange, mon gardien dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse, qu'il m'a encouragé, m'a donné l'aide et m'a protégé, A mes amies, A tous ceux qui me sont chères, A tous ceux qui m'aiment, A tous ceux que j'aime.

Je dédie ce travail.

SAFI FOUZIA

Dédicace

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir.

Je dédie ce modeste travail à:

celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

Mes adorables sœurs: AMINA, LAMIS

Mes chers frères : RIAD, SAMI, MOHAMED, ZAKI

Pour la fille de mon frère Basmala

Toute ma famille

Mon binôme: Fouzia

Mes amis intimes: Djamilia. Houda. Chahra. Khadidja

Tous mes amies de la promotion 2009_2014 surtout: Meriem et Ibtissam

A professeur Boubekri Nassima

Tous ceux qui me sont chères.

Tous ceux qui m'aiment.

Tous ceux que j'aime.

À tous qui nous ont aidés à réaliser notre mémoire.

BOUABID SARA

INTRODUCTION

Introduction

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 200 millions de personnes sont aujourd'hui touchées par des troubles du métabolisme glucidique regroupés sous le terme de "diabète". Cette pathologie est devenue un véritable problème de santé publique, considérée comme une pandémie par l'OMS. Le nombre de personnes atteintes à travers le monde était estimé à 171 millions en 2000, à 265 millions en 2010, et pourrait atteindre 366 à 440 millions d'ici 2030 [1]. Il est aujourd'hui bien admis par la communauté scientifique que l'hyperglycémie est l'une des causes majeures de stress oxydant, qui contribue lui-même de façon importante à l'évolution des complications diabétiques, telle que les maladies cardiovasculaires [2].

Depuis toujours, les plantes médicinales ont été utilisées pour prévenir ou traiter diverses maladies [3] et parmi les plantes antidiabétique certains possèdent des propriétés hypolipémiantes [4] antioxydantes [5]. Et d'autres possèdent un effet hypoglycémiant tel que le thé vert qui est riche en polyphénols et spécifiquement les catéchines, Ces composés phénoliques possèdent des activités biologiques multiples et qui pourraient agir à la fois comme antioxydants.

Nous sommes proposés d'étudier les activités biologiques de *Camellia sinensis* et *Chrysanthemum sp* qu'ils sont utilisés dans la médecine traditionnelle dans le traitement de nombreuses pathologies tel que le diabète, en se basant sur ses compositions chimique, particulièrement riche en polyphénols,

Dans cette étude, on a basé sur 2 objectifs :

- ✚ Premièrement, d'évaluer l'effet hypoglycémiant et hypolipémiant de thé vert et de la plante *Chrysanthemum sp* dans les conditions de diabète induit par la streptozotocine, on mesurant la glycémie et certains paramètres lipidiques.
- ✚ Le deuxième objectif est de déterminer si ces deux extraits pourraient réduire le taux des radicaux libres et améliorer le système de défense dans ces mêmes conditions.

Avant d'aborder la partie pratique, on a fait une étude bibliographique concernant d'une part le diabète, le stress oxydatif et le système antioxydant, la relation entre le diabète et le

stress oxydant et le diabète expérimentale, d'autre part on a parlé les propriétés biologique des polyphénols du thé vert et comment peuvent-t-il inhiber ou réparer le les dommages causés par le stress oxydant

PARTIE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Etude de la relation entre le diabète et stress oxydant

5. Le diabète

Le diabète regroupe en réalité différentes formes, les deux principales étant le diabète de type 1 et le diabète de type 2. Le premier se déclare essentiellement chez l'enfant et le jeune adulte, et la survie nécessite une insulinothérapie quotidienne. Le second survient plutôt chez l'adulte, et est associé à l'âge, au surpoids et à l'inactivité [1]. Ces deux derniers facteurs survenant de plus en plus tôt, on observe également une augmentation du nombre de diabétiques de type 2 dès l'adolescence et chez l'adulte jeune.

5.1. Le diabète de type 1

Le diabète de type 1 (DT1) est une pathologie auto-immune médiée par des mécanismes oxydants et inflammatoires, conduisant à la destruction des cellules bêta du pancréas, puis par la suite, à de nombreuses complications. La pathogenèse du DT1 a récemment été attribuée à de multiples altérations du microbiote intestinal, qui déclenchent des processus inflammatoires via une réponse immunitaire anormale. Le développement de ce type passe par plusieurs étapes [6].

- Susceptibilité génétique.
- Déclenchement.
- Activation anti-immunitaire.
- La perte de la fonction des cellules β .
- Manifestation du diabète.

Bien que la destruction des cellules β par médiation des cellules T, l'implication des anticorps ont été d'une grande importance en permettant un diagnostic précis et la prédiction des individus risqué de développer ce type.

➤ **Anticorps anti insuline IAA**

Chez les patients DT1, l'insuline est la première protéine contre laquelle une réaction auto-immunitaire a été documentée [7]. En utilisant d'un système amélioré de dosage, près 70% de patients nouvellement diagnostiqués ont des anticorps circulants contre l'insuline [8].

- ***Anticorps antiacide glutamique décarboxylase (GAD)***

Uniquement cette enzyme se trouve dans les cellules β de l'homme .GAD est l'enzyme nécessaire à la conversion de l'acide glutamique en acide aminobutyrique (GABA) .GAD est exprimée dans le système nerveux périphérique des îlots pancréatiques et les cellules épithéliales de la trompe de Fallope et les spermatozoïdes. Ainsi contrairement à l'insuline, ce n'est pas une protéine spécifique [9].

- ***Anticorps Anti-ICA69***

L'expression de cette protéine ICA69 est détectée dans les cellules β et le cerveau, à des faibles quantités au niveau du cœur, la thyroïde et les reins. Les sujets à risque de développer le diabète de type 1 ont montré la présence des anticorps ICA69, dans 43% des cas ICA+ ont développé plus tard le DT1. Les études ultérieures ont montré que 30% des patients DT1 récemment diagnostiqués ont des anticorps anti-ICA69 [10].

5.2. Le diabète de type 2

Le diabète de type 2 apparaît généralement à l'âge adulte, voire avancé, chez des individus obèses la plupart du temps ; c'est généralement le résultat d'une résistance à l'insuline associée à un déficit relatif de la sécrétion d'insuline [11]. Il existe probablement plusieurs étiologies spécifiques au diabète de type 2 :

- Résistance à l'insuline.
- Dysfonction de la cellule β .
- Surproduction hépatique du glucose.

5.3. Autres types de diabète

Si la régulation de la glycémie est altérée dans le DT1 par l'absence d'insuline endogène, ces perturbations du contrôle métabolique peuvent, de plus, être aggravées par la résistance des tissus périphériques à l'action de l'insuline exogène. On parle alors de "double diabète" [12]. L'insulinorésistance résulte essentiellement d'une insulinothérapie inadaptée. Ainsi, l'insuffisance d'insuline et l'hyperglycémie associée sont à l'origine du phénomène de glucotoxicité. Celui-ci cause des altérations qui réduisent l'action de l'insuline, générant ainsi un cercle vicieux où l'hyperglycémie et l'insulinorésistance se renforcent mutuellement.

6. Relation entre le diabète et le stress oxydant

6.1. Le Stress Oxydant: cause ou conséquence du diabète?

Si l'interrelation entre le diabète et le stress oxydant ne fait aujourd'hui plus de doute, la chronologie des évènements reste sujette à controverse : le stress oxydant est-il impliqué dans le développement du diabète, ou apparaît-il plus tardivement, résultant de l'hyperglycémie persistante, et responsable des complications à long terme? [13], Avant de tenter de répondre à cette question, nous allons revenir sur la notion de stress oxydant, phénomène majeur en physiologie, dont la définition même est sans cesse remaniée au fil des récentes découvertes scientifiques.

6.2. Stress oxydant

2.2.1 Définition de stress oxydant

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux (Figure 1), l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant [14]. Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit [15]. L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé [16].

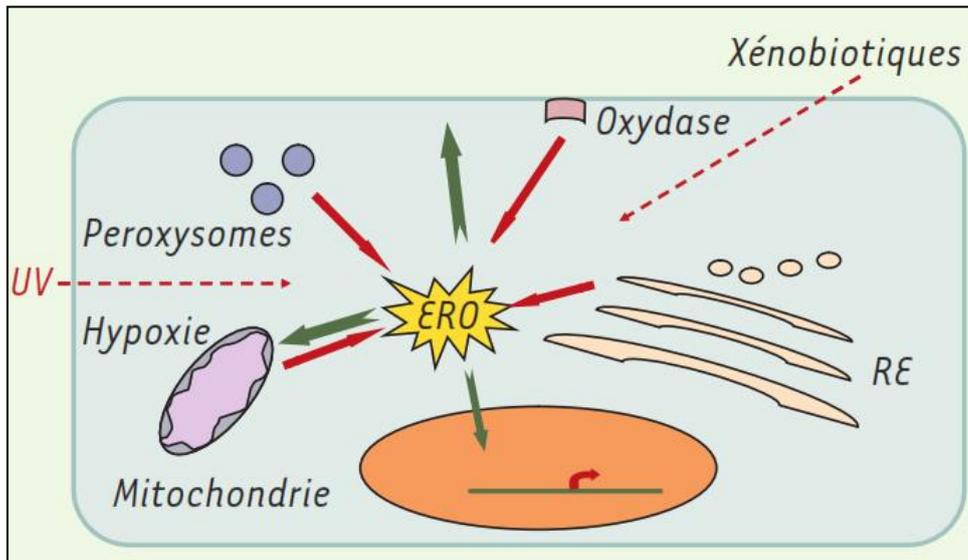


Figure 1 : Stress oxydants [17].

2.2.2 Radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (Figure 2). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ROS) [14].

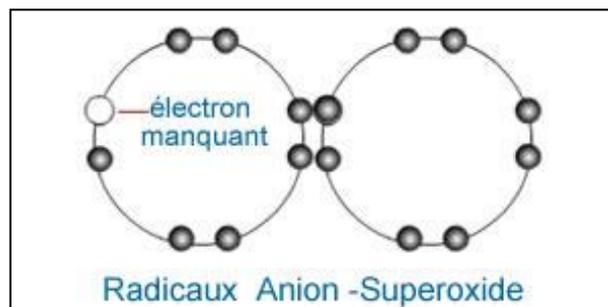


Figure 2: Formation des radicaux libres (Wikipédia)

Les radicaux libres sont électriquement neutres ou chargés (ioniques) et comprennent l'atome d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée). Les radicaux libres sont des espèces chimiques très instables, leur structure comprend un électron célibataire qu'ils cherchent à appairer en attaquant et en endommageant

les molécules voisines. L'appellation " dérivés réactifs de l'oxygène n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), peroxydinitrite (ONOO⁻) [18].

2.4.3 Les principales espèces réactives de l'oxygène

Les radicaux libres sont divisés en deux groupes (Tableau 1), les espèces radicalaires (l'anion superoxyde, le radical hydroxyle...) et les espèces non radicalaires (l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène, le peroxydinitrite...).

Tableau 1: Principales espèces réactives dans les systèmes biologiques [19].

Les radicaux libres			
Espèces radicalaires		Espèces non-radicalaires	
Espèce réactif d'oxygène	Espèce réactif azote	Espèce non réactif de O ₂	Espèce non réactif d'azote
O₂^{•-} : Anion superoxyde	NO[•] : Monoxide d'azote	ONOO[•] : Anion peroxydinitrite	ONOO⁻ : Anion peroxydinitrite
HO₂[•] : Radical hydroperoxyde	NO₂[•] : Dioxide d'azote	OONO[•] : Anion peroxydinitrate	OONO⁻ : Anion peroxydinitrate
OH[•] : Radical Hydroxyle	N₃[•] : Nitrate	H₂O₂ : peroxide d'hydrogène	ONOOH : Acide peroxydinitreux
RO[•] : Radical alkoxy		O₂ : Oxygène singulet	ROONO : Alkyl peroxydinitrate
alkoxyROO[•] : Radical alkoperoxy		O₃ : Ozone	HNO₂ : Acide nitreux
ROOH[•] : Radical hydroperoxy		HOCl : Acide hypochloreux	NO⁺ : Cation nitrosyl
		ROOH : Peroxydes organiques	NO⁻ : Anion nitrosyl

a. L'oxygène singulet

Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité [20]. Le radical superoxyde O₂^{•-}, le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et le radical hydroxyle OH[•] sont encore appelés espèce réactive de l'oxygène (ROS) car, ces

espèces sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance. Toutefois, il existe d'autres ROS tels que les radicaux peroxydes ROO, hydro peroxydes ROOH° ainsi que les radicaux alkoxyde RO, et des espèces réactives d'azote (ERN) tels que le NO, produit par le NO synthétase [20].

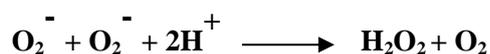
b. L'anion superoxyde

L'anion superoxyde est l'espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d'oxygène. Cette réaction semble surtout catalysée par des NADPH oxydases membranaires [21]. L'O₂[°] peut également être formé dans certains organites cellulaires tels que les peroxysomes via la conversion de l'hypoxanthine en xanthine, puis en acide urique, catalysée par la xanthine oxydase et les mitochondries où 2% à 5% d'oxygène consommé est transformé en radicaux superoxydes [14].



c. Le peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène peut être obtenu soit par oxydation soit par dismutations. Celui-ci réagit avec le fer, composé pouvant être toxique pour les cellules. Ainsi le peroxyde d'hydrogène participe à un mécanisme de protection.

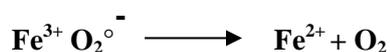


d. le radical hydroxyle

Le plus important des produits est le radical hydroxyle (OH°). C'est une espèce oxygénée très réactive qui provient de la coexistence de l'anion superoxyde et de peroxyde d'hydrogène. Comme on va voir dans la réaction suivante, le peroxyde d'hydrogène réagit avec le fer (forme ferreux) et produit du fer oxydé (forme ferrique) et le radical hydroxyle. **C'est la réaction de Fenton.**



Ensuite le fer ferrique est réduit en fer ferreux par l'anion superoxyde principalement.



L'ensemble de ces réactions forme la réaction d'Haber Weiss.



e. Le monoxyde d'azote

L'oxyde azotique NO° est principalement produit par un système enzymatique, la NO synthase, qui transforme l'arginine en citrulline en présence de la NADPH.

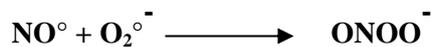


f. Nitrique dioxyde NO_2^\bullet :

Formé à partir de la réaction du radical peroxyde avec NO. Le nitrique dioxyde est un puissant déclencheur du lipide peroxydation par sa capacité d'arracher un atome d'hydrogène d'une double liaison au niveau des acides gras polyinsaturés.

g. Le peroxyde nitrite

Le monoxyde d'azote par concomitance avec un ion superoxyde va entraîner la formation de peroxyde nitrite (ONOO^-) qui est hautement cytotoxique. Cette réaction est surtout retrouvée au niveau des vaisseaux sanguins.



h. L'acide hypochloreux

L'acide hypochloreux (HOCl) Comme le peroxyde d'hydrogène, ne rentre pas dans la définition stricte du radical. Cependant, au cours de l'inflammation, la métabolisation du peroxyde d'hydrogène en acide hypochloreux par La myéloperoxydase (MPO) est élevée et l'acide hypochloreux est un agent chlorant et oxydant fort.



L'acide hypochloreux est considéré comme 100 à 1000 fois plus toxique que le radical superoxyde ou le peroxyde d'hydrogène et a des cibles bien marquées : inactivation enzymatique, oxydation des groupements thiols de la membrane plasmique, diminution des propriétés d'adhésion de certains composés de la matrice extracellulaire.

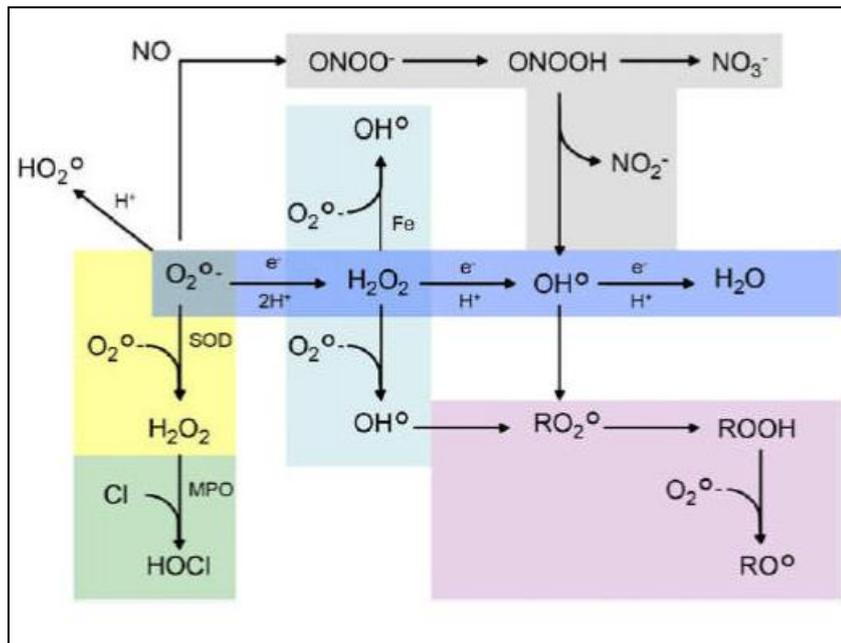


Figure 3 : Différents espèces réactifs de l'oxygène Et leur formation en cascade [22].

2.4.4 Sources et formation des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être d'origine endogène par le biais de différents mécanismes physiologiques dans l'organisme, mais aussi d'origine exogène, provoqués par plusieurs sources chimiques et physiques.

2.4.4.1 Origine Endogène

Aux doses faibles, les ROS sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques (figure 4) tel que :

- La chaîne respiratoire.
- La réaction immunitaire.
- La transduction de signaux cellulaires.
- Les NADPH oxydases.
- Les oxydes nitriques synthases.
- Autres sources endogènes.

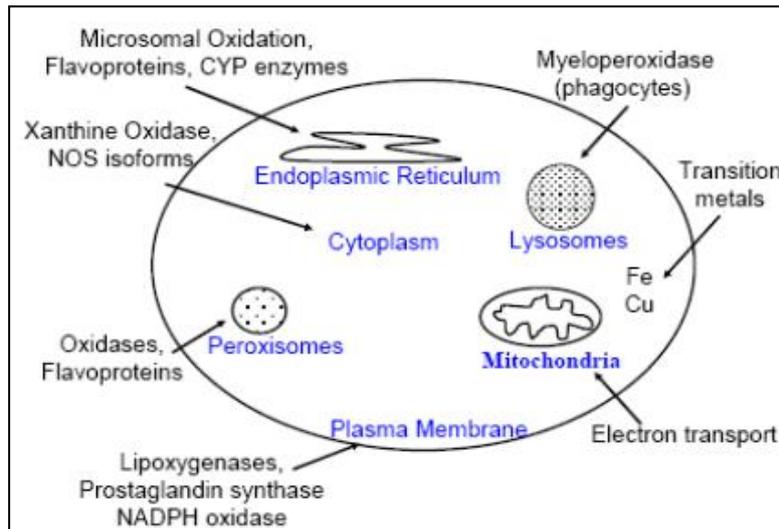


Figure 4 : Principales sources endogène des radicaux libres.

a. La chaîne respiratoire

La vie en aérobose se traduit au niveau cellulaire par l'existence d'une chaîne respiratoire mitochondriale nécessaire au stockage de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). La chaîne respiratoire est une succession de phénomènes d'oxydoréduction au cours des quels il existe des transferts d'électrons (Figure 5). Ces électrons peuvent réagir avec une molécule avoisinante pour aboutir à la formation d'un radical libre. A l'état normale, L'oxygène respiré subie une réduction tétravalente, conduisant à la production d'eau. Cette réaction est catalysée par le cytochrome oxydase, le récepteur terminal d'électrons présent dans le complexe IV de la chaine de transport des électrons située de la membrane interne mitochondriale.



Environ de 2% de l'oxygène subit une réduction univalente conduisant à la formation du radicale superoxyde au niveau de l'ubiquinone (ou coenzyme Q) [23].



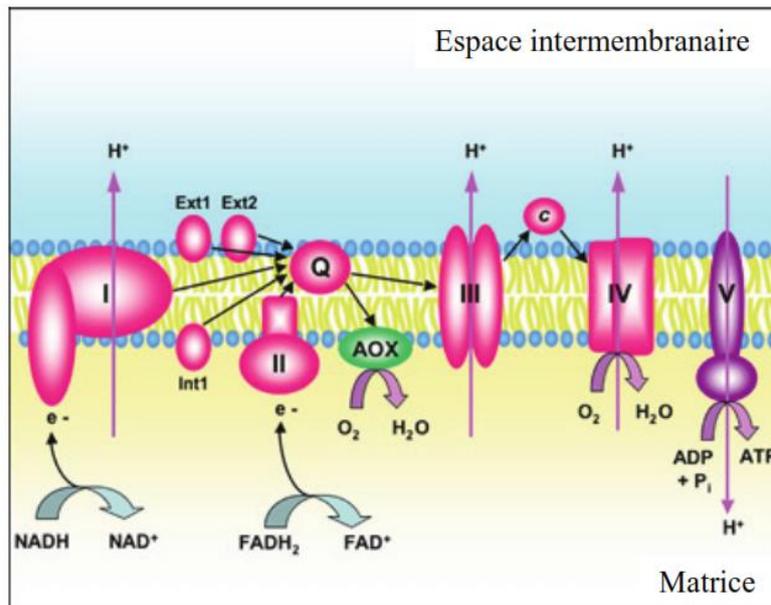


Figure 5: La chaîne respiratoire [19].

b. La réaction immunitaire

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire. La phagocytose des bactéries et parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène (Figure 6) si brutale et intense qu'elle est connue, sous le nom de « burst oxydatif », c'est-à-dire explosion respiratoire. Au sein du phagosome, l'activation de la NADPH oxydase et l'action des superoxydes dismutase (SOD) et NOS (oxyde nitrite syntase) aboutissent à un mélange très corrosif de $O_2^{\circ-}$, H_2O_2 , HO° , $ONOOH$, avec en plus dans le polynucléaire $HOCl$ et O_2° . Ce mélange réactionnel, que l'Homme utilise comme désinfectant l'eau de javel ou l'eau oxygénée, détruit par oxydation l'ensemble des composants bactériens [20].

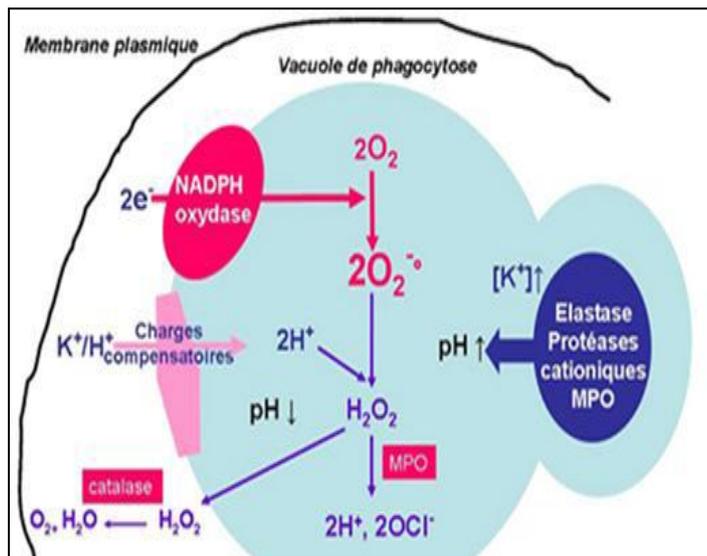


Figure 6 : Production des ROS par le phagocyte [24].

c. La communication cellulaire

Si la production des ROS est relativement modérée, ils peuvent jouer un rôle de messager intra et/ou extracellulaire [14]. Ils sont ainsi impliqués dans les phénomènes d'apoptose (mort cellulaire programmée), dans la prolifération des cellules musculaires lisses (cellules vasculaires), dans l'adhésion des monocytes aux cellules endothéliales, ou bien encore dans l'agrégation plaquettaire [25], et permettent aussi l'expression de gènes de défense [14].

La vasodilatation est un exemple de phénomène biologique issu de la signalisation à l'aide du NO [26]. Des messagers cellulaires, dépendants des forces hémodynamiques du flux sanguin, vont permettre d'activer la NOS endothéliale (qui est exprimée de manière constitutive dans l'endothélium, l'épithélium et les cardiomyocytes [27]).

d. Les NADPH oxydase

Plusieurs types cellulaires dont les cellules endothéliales vasculaires, les cellules musculaires lisses, les fibroblastes, les polynucléaires, les neutrophiles et les macrophages possèdent la NADPH oxydase (NOX), enzyme membranaire spécialisée dans la production de $O_2^{\bullet -}$ d'électrons dérivés de la NADPH pour réduire l'oxygène moléculaire [28].



La NADPH oxydase est une enzyme avec plusieurs multi-sous-unités qui semble être l'enzyme en amont des autres sources de production des ROS, dû au fait que les anions superoxide dérivés de la NADPH oxydase ont été impliqués dans l'activation de la xanthine oxydase. L'activation de la NADPH oxydase dans le système vasculaire a été montrée dans des modèles animaux d'hypertension induite par l'AngII [29], d'hypertension génétique [30], de diabète [31] et d'hypercholestérolémie [32].

e. Les oxydes nitriques synthases

Les NOS représentent une famille de protéines qui catalysent l'oxydation de la L-arginine en L-citrulline pour produire du NO°, Trois isoenzymes ont été référencées. L'isoforme I ou NOS neuronale (nNOS) retrouvée dans les cellules neuronales et épithéliales, l'isoforme II ou NOS inductible (iNOS) est en général exprimée dans le contexte d'une réponse inflammatoire, tel qu'un choc septique, une relâche de cytokines ou un infarctus [33] et l'isoforme III ou eNOS est retrouvée dans les cellules endothéliales.

f. Autres source d'origine endogène

- Le fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire.
- La fécondation de l'ovule.
- La régulation des gènes [14].
- Le règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire [34].
- libération de fer libre à partir des protéines chélatrices ou d'une oxydation de certaines molécules [35].
- lacyclo-oxygénase et les lipoxygénases, ainsi que les enzymes du réticulum endoplasmique (cytochrome P450) [36].

2.4.4.2 Origine Exogène

Des facteurs environnementaux peuvent contribuer à la formation d'entités radicalaires. Une production importante des ROS est observée lors d'une intoxication par des métaux lourds (cadmium, mercure, arsenic) ou dans les phénomènes d'irradiations provoquant des dommages au niveau de l'ADN. Par ailleurs la fumée de tabac, l'alcool ou même certains médicaments (Xénobiotiques) peuvent être source de radicaux libres par oxydations de ces composés au niveau du cytochrome P450 [14].

➤ **Origine Chimiques**

a. Métabolisme des xénobiotiques

Le métabolisme des médicaments, pesticides et produits cosmétiques génère des radicaux impliquant les différents enzymes de la phase I et la phase II de métabolisme tel que les cytochromes p450.

b. Fumé du tabac

La fumée de cigarette est un mélange complexe de plus de 4700 produits chimiques. Elle se compose de deux phases, l'une gazeuse, l'autre solide et constituée de goudrons, qui se caractérisent toutes deux par une concentration très élevée des donneurs des radicaux libres

A chaque bouffée de cigarette, la phase gazeuse contient de l'ordre de 1015 radicaux libres principalement dérivés de l'azote (radicaux du monoxyde d'azote NO° et du dioxyde d'azote NO_2°) ou de type organique ayant une durée de vie inférieure à la demi-seconde une fois inhalé. Le radical NO_2° se dissout dans l'eau pour générer les acides nitrique (HNO_3) et nitreux (HNO) extrêmement irritants pour le poumon. Le radical NO° semble être moins toxique puisque, produit naturellement par notre organisme, il est impliqué dans la régulation de la pression sanguine. Généré en quantité excessive (500-1.000ppm) comme c'est le cas dans la fumée de cigarette, il réagit toutefois rapidement avec l'oxygène pour former le radical NO_2° beaucoup plus nocif.

➤ **Origine Physiques**

Par des radiations ionisantes, on peut distinguer deux voies qui provoquent des lésions de la molécule d'ADN :

- a.** la voie directe: Des ionisations se produisent dans les nucléotides et/ou dans le(s) brin(s) de l'ADN lui-même, ce qui peut provoquer des mutations ou des lésions. Cet évènement se produit dans 40% des cas d'irradiation.
- b.** la voie indirecte : Le corps de l'homme est constitué de 60% d'eau. Ainsi dans la plupart des cas, les rayonnements ionisants interagissent avec des molécules d'eau. Il se produit alors un phénomène appelé radiolyse de l'eau qui transforme l'eau en radicaux libres HO° et H .

➤ *Autres sources d'origine exogènes*

L'ingestion d'alcool est suivie par la formation de radicaux libres, également des antibiotiques, des anticancéreux. L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme [37]. Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant [35].

2.4.4.3 *Conséquences de stress oxydant*

Les ROS deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives. Cette surproduction au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement [22]. Ces ROS attaquent principalement les lipides membranaires, mais aussi les protéines et les acides nucléiques.

a. L'ADN

Au niveau de l'ADN, les radicaux libres peuvent induire des effets oxydatifs et mutagènes ou un arrêt des réplifications. Ils agissent en provoquant des altérations des bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures simples et doubles brins (Figure 7) [38].

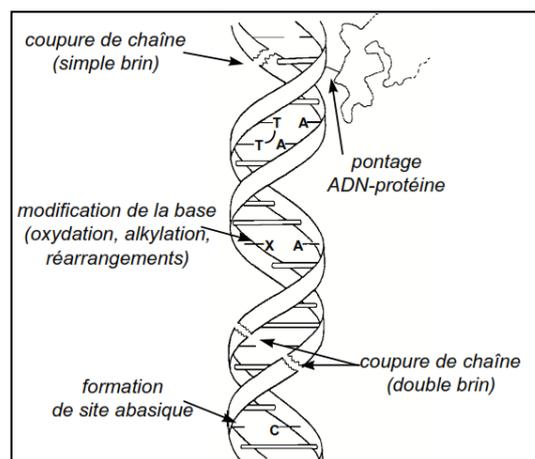


Figure 7: Les différentes lésions d'ADN [39].

b. Peroxydation des lipides

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information [22]. Le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, qui en présence d'oxygène va être oxydé en radical peroxy. (Figure 8), C'est l'étape d'initiation [40].

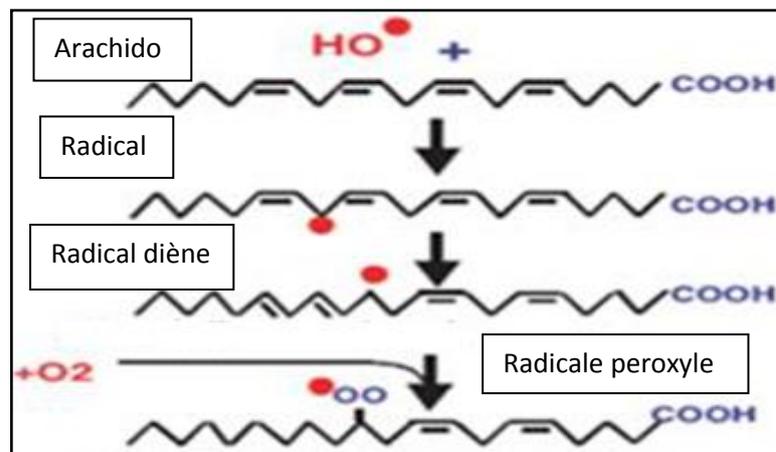


Figure 8 : Initiation de la peroxydation lipidique [14].

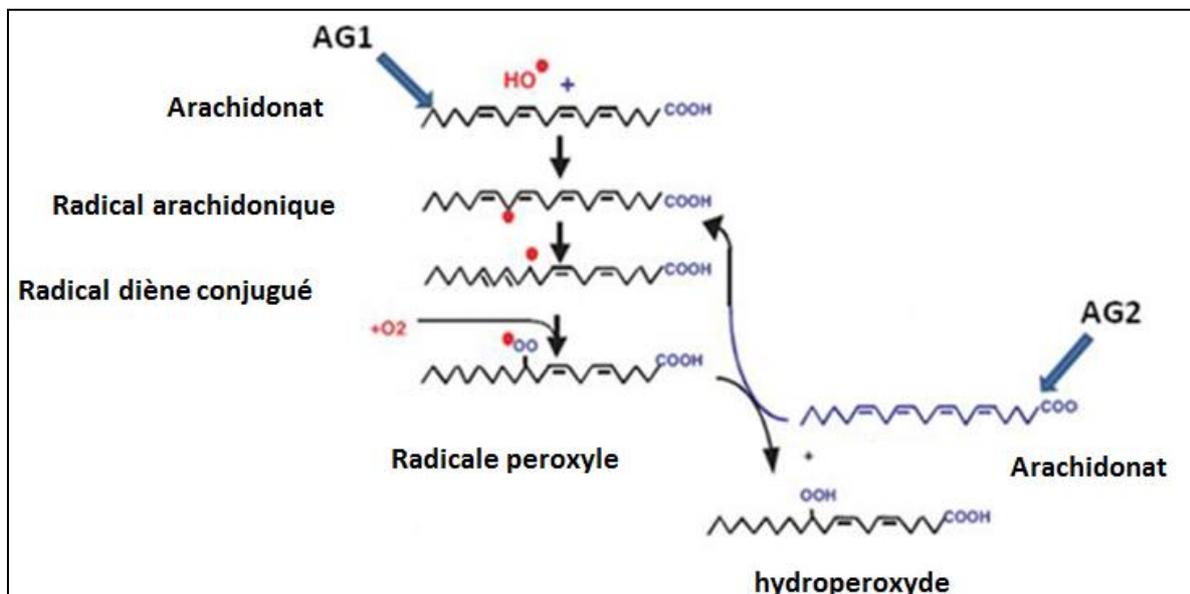


Figure 9 : La propagation de la peroxydation lipidique à d'autres AGPI : réaction en chaîne [14].

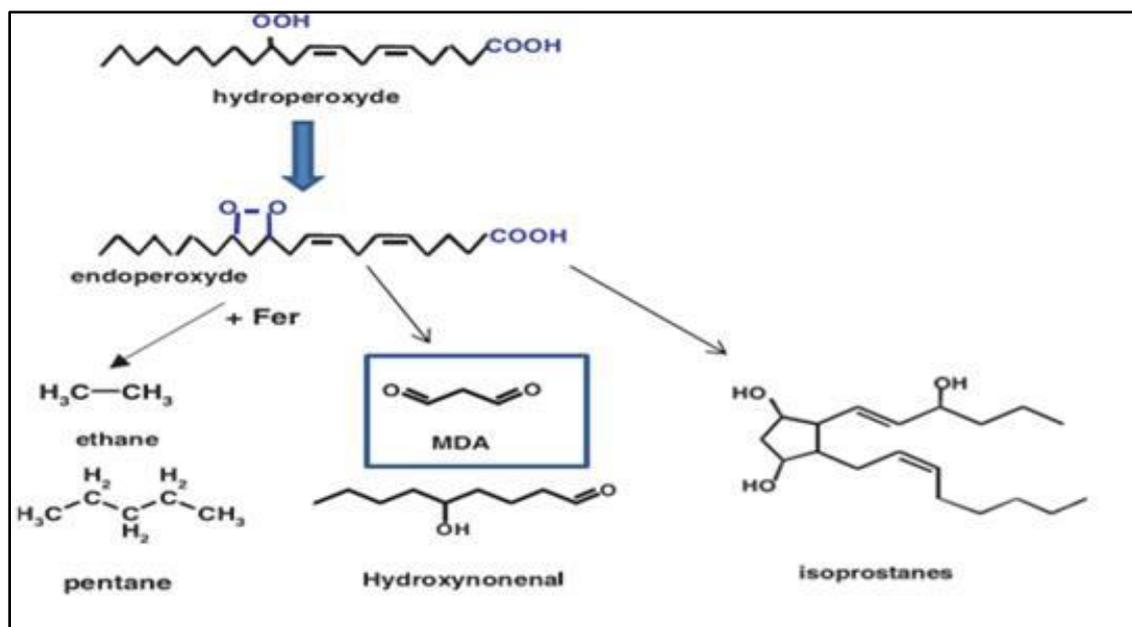


Figure 10 : la propagation de la peroxydation lipidique a d'autres AGPI réaction en chaine [14]

Les trois principaux groupes d'aldéhydes formés par la peroxydation lipidique sont les 4-hydroxy-2-alcenals (ex : HNE) et les cetoaldéhydes (ex : MDA) et Les F-isoprostanes.

➤ **les 4-hydroxy-2-alcenals (HNE)**

Cet aldéhyde est formé à partir des hydroperoxydes émanant de l'oxydation de l'acides linoléique et arachidonique [41]. Il agit comme un second messenger toxique, capable d'altérer des activités biologiques cellulaires allant de l'inhibition de la synthèse et de la fonction des peptides (GSH), jusqu'à l'inactivation des enzymes (enzymes contenant des fonctions -SH) en passant par la stimulation de processus inflammatoires (induction de la cyclo-oxygénase 2) et l'inhibition des gènes de la réponse antioxydante [42]. La formation d'adduits covalents avec les protéines (HNE-protéines) représente également un évènement toxique à travers lequel les molécules perdent leur activité biologique [43].

➤ **Manol dialdéhyde (MDA)**

Ce β-dialdéhyde tricarboné le plus simple et le plus connu, est produit lors de la coupure des acides gras polyinsaturés (n-6 et peu de n-3) possédant au moins deux doubles liaisons [44]. Cependant la formation de ce composé manque de spécificité en termes de biomarqueur de la lipoperoxydation. En effet, d'autres composés non lipidiques tels que le désoxyribose ou

le saccharose mais aussi la biosynthèse des éicosanoïdes sont capables de générer du MDA [45]. Tout comme le HNE et même s'il est beaucoup moins réactif, il est capable de réagir avec des groupements ϵ -aminés de lysine au sein des protéines, pour former des adduits MDA-protéines.

➤ *Les F-isoprostanes*

Cette famille de substances semblables aux prostaglandines PGF résultants d'attaque radicalaire des espèces réactives sur l'acide arachidonique [46]. Les F2- isoprostanes sont tout d'abord estérifiés sur les phospholipides puis détachés sous forme libre dans la circulation sanguine par des phospholipases [46] avant leur excrétion dans les urines. Ils sont relativement stables, présents en quantité dosable en conditions physiologiques et les concentrations urinaires et plasmatiques sont modulés par un stress oxydant in vivo tout comme leur formation est modulée par certains antioxydants [47].

c. Oxydation des protéines

Les ROS sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. L'oxydation de ces acides aminés conduit à une modification de la conformation spatiale et à une altération de la fonction protéique.

Les protéines oxydées perdent leur capacité à se fixer correctement sur un récepteur ou à fixer spécifiquement un ligand, altérant la signalisation cellulaire [22]. L'histidine, la proline, l'arginine et la lysine sont particulièrement prédisposées à cette attaque [48].

d. Oxydation des lipoprotéines

Le dommage oxydatif provoque des changements dans la structure des lipoprotéines de faible densité (low density lipoproteins ou LDL) qui sont riches en acides gras polyinsaturés. La peroxydation induite dans les LDL par les ROS provoque in situ la formation d'aldéhyde (MDA et HNE) qui peuvent à leur tour oxyder les LDL. Ces LDL modifiées sont captés par les macrophages au sein des quels elles s'accumulent en formant des cellules spumeuses (foam cells). En s'accumulant dans l'espace interstitiel, ces cellules contribuent au développement de l'athérosclérose [49].

e. Oxydation des glucides

L'oxydation du glucose conduit à la formation de différents intermédiaires réactifs, dont les produits terminaux de la glycation protéique, les AGE (Advanced Glycosylation End Products) s'accumulent au niveau des protéines à durée de vie longue, entraînant notamment une perte d'élasticité tissulaire au niveau des vaisseaux sanguins et du cristallin, et pourraient ainsi participer au dysfonctionnement endothélial et aux complications vasculaires du diabète. Si la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides a été beaucoup moins étudiée que celle des autres macromolécules, il n'en demeure pas moins que les ERO attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage.

2.5 System antioxydant et régulation des espèces réactifs de l'oxygène in vivo

La survie des organismes dans un milieu contenant de l'oxygène dépend donc d'interactions complexes entre la production des radicaux libres par les réactions d'oxydation (Figure 11) et des systèmes destinés à éviter leur action toxique.

Les principaux mécanismes impliqués dans la prévention de l'activité des antioxydants sont:

- de transformer les ROS en espèces moins toxiques.
- d'empêcher l'interaction entre espèces chimiques.
- de prévenir ou réparer les lésions induites par les ERO.

Ces systèmes peuvent être soit enzymatiques, soit moléculaires. Ils peuvent être d'origine endogène ou exogène et peuvent être des composés naturels ou synthétiques.

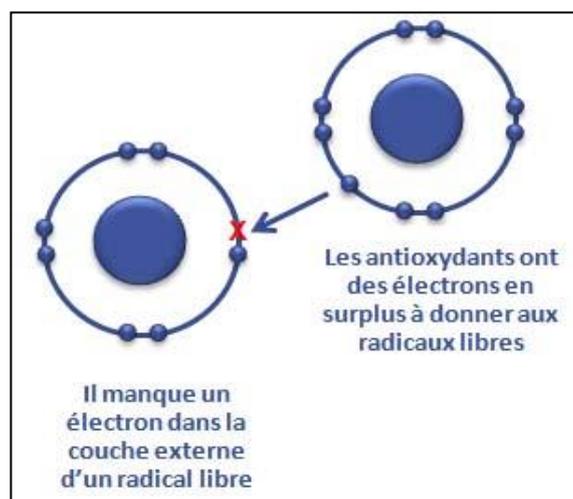


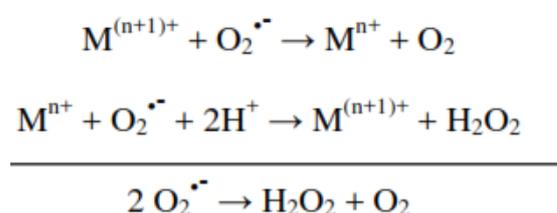
Figure 11: system antioxydant (Wikipedia)

2.3.3 System enzymatique

Les enzymes existe à l'état endogène (cytoplasme, cytosol mitochondrie) et permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au coure de métabolisme cellulaire normale [50].

2.3.3.1 Les superoxy dedismutases (SOD)

Les superoxy dedismutases (SOD) sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation des anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène 10000 fois plus rapidement que la dismutation spontanée de l'anion superoxyde [51]. Ces enzymes sont largement distribuées dans l'ensemble des organismes vivants. Selon le cofacteur métallique présent dans le centre actif et le nombre de sous-unités constituant l'enzyme, on distingue quatre isoformes (Figure 12) : la SOD à cuivre et à zinc (SOD1), la SOD à manganèse (SOD2), la SOD à cuivre et à zinc extracellulaire (SOD3) et la SOD à nickel récemment décrite [48]. Le mécanisme catalytique des SOD a été appelé mécanisme en « ping-pong » impliquant une étape de réduction suivie d'une oxydation de l'atome métallique (M) concomitantes à l'oxydation puis à la réduction de radicaux superoxydes [52].



La SOD à cuivre et à zinc (SOD1) est un homodimère de 32 kDa. Chaque sous-unité contient un atome de cuivre et de zinc. Les ions cuivre (Cu²⁺) sont nécessaires à son activité catalytique alors que les ions zinc (Zn²⁺) stabilisent la molécule. Elle est principalement localisée dans le cytoplasme, dans une moindre mesure dans le noyau et absente dans les mitochondries. Il s'agit de l'isoforme la plus abondante, représentant environ 70% de l'activité SOD totale. En plus de l'anion superoxyde, la SOD1 accepte le peroxyde d'hydrogène et le peroxydinitrite comme substrats générant respectivement des radicaux hydroxyles et des ions nitronium [53].

La SOD à manganèse (SOD2) est un homotétramère de 96 kDa contenant un atome de manganèse par sous-unité. Cette isoforme est exclusivement située dans la mitochondrie et représente environ 15% de l'activité SOD totale.

La SOD extracellulaire (SOD3) est la forme dominante dans le plasma et l'espace extracellulaire. Il s'agit d'une glycoprotéine tétramérique de 135 kDa contenant des atomes de cuivre et de zinc avec une forte affinité pour les glycosaminoglycanes tels que l'héparine. Son activité est estimée comme allant de 0,5 à 17% de l'activité SOD totale [54].

La SOD à nickel, dernière isoforme décrite, présente une structure hexamérique de 80 kDa dont chaque monomère contient un atome de nickel [52]. Elle a été découverte chez des *Streptomyces* et dans les cyanobactéries et ne présente pas d'homologie de séquences avec les autres enzymes de la famille [53].

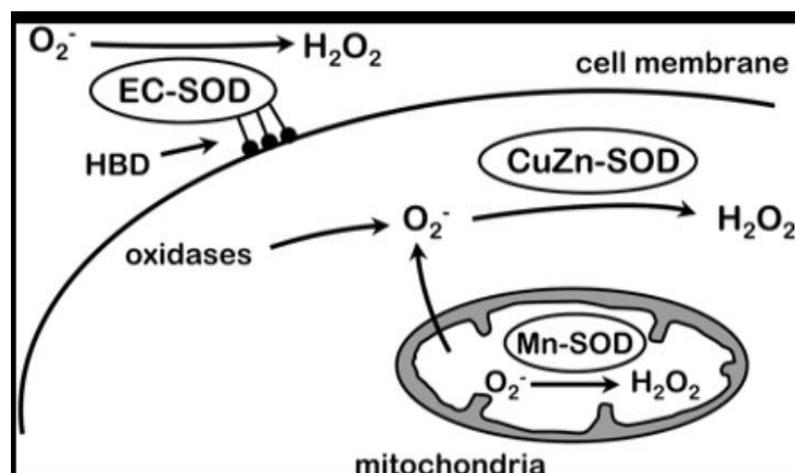
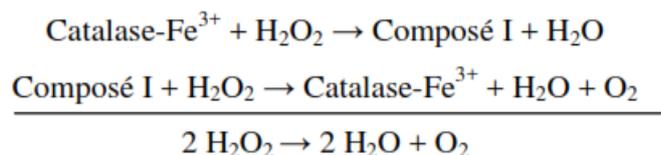


Figure 12 : Les types de la Super oxyde dismutase (SOD) [54].

2.3.3.2 Les catalases

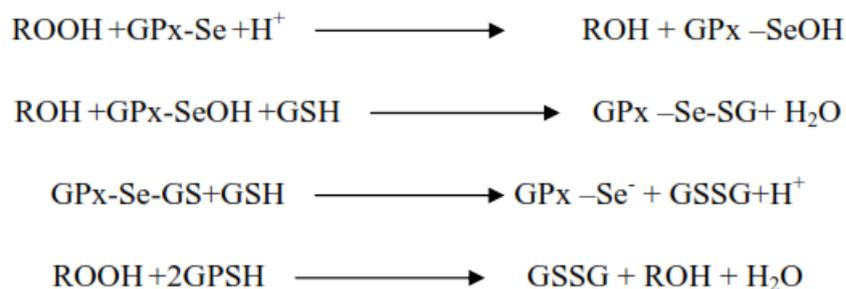
La catalase (CAT) est une enzyme héminique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes et les érythrocytes [53]. D'un poids moléculaire de 220 kDa, elle est formée de quatre sous-unités, chacune comportant un groupement ferriprotoporphyrine avec un atome de fer à l'état Fe^{3+} . La réaction se déroule en deux étapes : dans un premier temps, une molécule de peroxyde d'hydrogène oxyde l'atome de fer de l'enzyme et forme un groupement

oxyferryle avec une radicale porphyrine nommée composé I ; dans un second temps le composé I oxyde une seconde molécule de peroxyde d'hydrogène. L'enzyme peut être inactivée par le peroxyde d'hydrogène à des concentrations supérieures à 100 μM [55]. Son activité est la plus importante dans les globules rouges, les hépatocytes et les reins [56].



2.3.3.3 La glutathion peroxydase

Les GPx jouent le même rôle catalytique que la catalase, à savoir la détoxification du peroxyde d'hydrogène et des peroxydes lipidiques en couplant leur réduction à l'oxydation d'un substrat réducteur, le glutathion. Les différentes isoenzymes (5 isoformes, GPx1-4 et GPx6), (Tableau 2), contiennent dans leurs sous-unités (une ou quatre selon l'isoforme) un atome de sélénium sous forme de sélénocystéine. Elles fonctionnent toutes selon un même schéma catalytique:



La GPx présente une meilleure affinité pour le peroxyde d'hydrogène que la CAT mais n'en est pas spécifique et peut réagir avec des hydroperoxydes d'esters de cholestérol ou de phospholipides membranaires, de lipoprotéines ou d'ADN. Par contre, la GPx est spécifique de son cofacteur, le glutathion [57].

- La GPx1 est localisée dans le cytoplasme à 90% et les mitochondries à 10%. Elle est l'isoforme la plus abondante et est exprimée dans la plupart des cellules. Sa structure est tétramérique avec une masse moléculaire de 85 à 95 kDa et elle possède une sélénocystéine dans son site actif [57].
- La GPx2 a structure tétramérique de 80 kDa. Elle est située dans le cytoplasme des cellules du tractus gastro-intestinal et est également détectable dans le foie. Elle joue un rôle particulier pour réduire spécifiquement les hydroperoxydes d'origine alimentaire et ceux produits au cours de la peroxydation lipidique intestinale [57].
- La GPx3 est une glycoprotéine tétramérique dont chaque sous-unité de 22 kDa contient une sélénocystéine. Elle est présente dans le plasma mais également dans les reins, les poumons, le cœur et le placenta. Cette isoforme peut réagir avec un autre cofacteur tel que GSH, la thiorédoxine [56].
- La GPx4 ou PH-GPx (Phospholipid hydroperoxyde glutathione peroxidase) est une protéine monomérique possédant une sélénocystéine dans le site actif. Sa masse moléculaire est de 22-23 kDa dans les cellules animales et de 18 kDa dans les cellules humaines. Elle est située dans la mitochondrie et dans le cytoplasme. Elle joue un rôle primordial dans la protection des membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique [57].
- L'expression de la GPx6 serait restreinte au développement embryonnaire ainsi qu'à l'épithélium olfactif chez l'adulte [59]. Cependant, peu de données sont actuellement disponibles quant à la caractérisation de sa fonction, de sa distribution dans les autres tissus ou de son éventuelle implication pathologique [24]. La régénération du GSH réduit à partir du GSSG se fait par l'action de la GR, une enzyme à flavine qui fonctionne par oxydation du NADPH fourni par la voie des pentoses phosphates [56].

Tableau 2: Les isoformes de glutathion peroxydases chez les mammifères [19].

GPx	Synonymes	Distribution	Structure	Substrats
GPx1	Cytosolique (cGPx)		Homo tétramère	Hydroperoxydes Solubles(H₂O₂). Organiques (Acide gras peroxydes)
GPx2	Gastro- intestinale (GIGPx)	Cytosolique/Tractus Gastro- intestinale foie	Homo tétramère	Identiques à GPx1
GPx3	Plasma (pGPx)OU extracellulaire (eGPx)	Rein .Plasma	Homo tétramère	Identiques à GPx1
GPx4	Phospholipide hydroxyperoxyl (PHGPx)	Testicules	Monomère	Identiques à GPx1
GPx5	Rongeurs uniquement (sans Se-cys)	épididyme	-	-
GPx6	Homme uniquement	Epithélium olfactif	-	-

2.3.3.4 La thiorédoxine

Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR) Les thiorédoxines sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH), (Figure 13). Elles jouent aussi un rôle important dans la régulation du système immunitaire. Une fois oxydée, la thiorédoxine est réduite par la thiorédoxine réductase (TRxR) qui est une enzyme possédant un groupement sélénocystéine dans son site actif. La TRxR intervient aussi dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique [59].

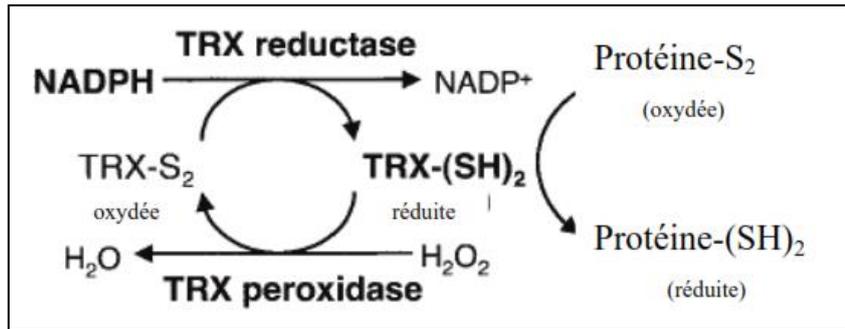


Figure 13: Le système Thiorédoxine (TRX) [60].

2.3.3.5 Les Hèmes oxygénases

Les hèmes oxygénases (HO) sont des protéines qui catalysent la dégradation des molécules d'hème en biliverdine et génèrent du monoxyde de carbone et du fer [61]. Le mécanisme enzymatique des Hème oxygénases n'est pas encore complètement élucidé mais le fait que la biliverdine et le monoxyde de carbone soient des piègeurs d'espèces radicalaires [62] expliquerait en partie le rôle antioxydant de ces protéines, par conséquent leur capacité à réduire le stress oxydant.

2.3.3.6 Autre enzymes antioxydantes

Les protéines liant les métaux, également considérées comme éléments du système antioxydant. En effet, les métaux de transition (fer, cuivre) impliqués dans de nombreuses réactions radicalaires produisent des espèces hautement réactives. Les formes de stockage et de transport de ces métaux (transferrine, ceruloplasmine, lactoferrine) ont une fonction antioxydante via un effet chélateur, la formation de ces complexes protéines-métaux permet ainsi d'inhiber les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss, évitant la production du radical hydroxyle [19].

2.3.4 System non enzymatique

Les antioxydants non enzymatiques, sont des micronutriments exogènes apportés par l'alimentation ou des constituants endogènes (Tableau 3). On distingue les antioxydants hydrosolubles comme le glutathion, l'acide ascorbique (vitamine C), l'acide urique, l'albumine et les antioxydants liposolubles: l'alpha tocophérol (vitamine E), l'ubiquinone (CoQ10), les caroténoïdes.

2.3.4.1 Le glutathion réduit

Le glutathion (GSH) est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Avec son groupement sulfhydryle, il est le thiol majoritaire au niveau intracellulaire, est essentiellement présent sous forme réduite (la concentration de la forme oxydée disulfures GSSG est au moins 10 fois plus faible). Le GSH joue son rôle d'antioxydant en tant que substrat d'enzymes antioxydantes telles que les glutathion peroxydases (GPx), mais également par ses propriétés intrinsèques. En effet, le glutathion prévient l'oxydation des groupements thiols grâce à son pouvoir réducteur. Il peut également chélater les ions cuivreux Cu^+ et limiter ainsi leur participation à la réaction de Fenton. Il est directement impliqué dans la réparation des atteintes oxydatives à l'ADN. La régénération de la fonction thiol GSH à partir de la forme oxydée se fait grâce à l'activité de la glutathion réductase (GR) [56].

2.3.4.2 La vitamine E

La vitamine E est le principal antioxydant lipophile pouvant réduire les radicaux peroxylys et réagir avec l' O_2 , l' HOCl et l' ONOO^- . Il se transforme en radical hydroxyle après l'échange d'un électron libre. Le radical tocophéroxyl est peu réactif de par sa structure cyclique et peut être régénéré par l'acide ascorbique. La vitamine E existe sous huit formes naturelles : quatre tocophérols (α , β , γ et δ) et quatre tocotriénols (α , β , γ et δ). Chez l'homme, les formes prédominantes sont l' α et le γ -tocophérol, l' α -tocophérol étant la plus active. Du fait de sa nature lipophile, la vitamine E peut agir au site même de la peroxydation lipidique membranaire, elle est essentielle dans la prévention de l'oxydation des lipides et des lipoprotéines [19].

2.3.4.3 La vitamine C

L' α -tocophérol peut être régénéré lors de la réduction du radical tocophéryle par la vitamine C (Figure 14) ou acide ascorbique [57]. Ce dernier est le plus fréquemment présent sous forme d'ascorbate et est considéré comme l'antioxydant le plus important des fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace de l'ensemble des ERO. Il réagit particulièrement avec les peroxydes aqueux en formant le radical ascorbyle ce qui protège les lipoprotéines et les membranes de la peroxydation lipidique.

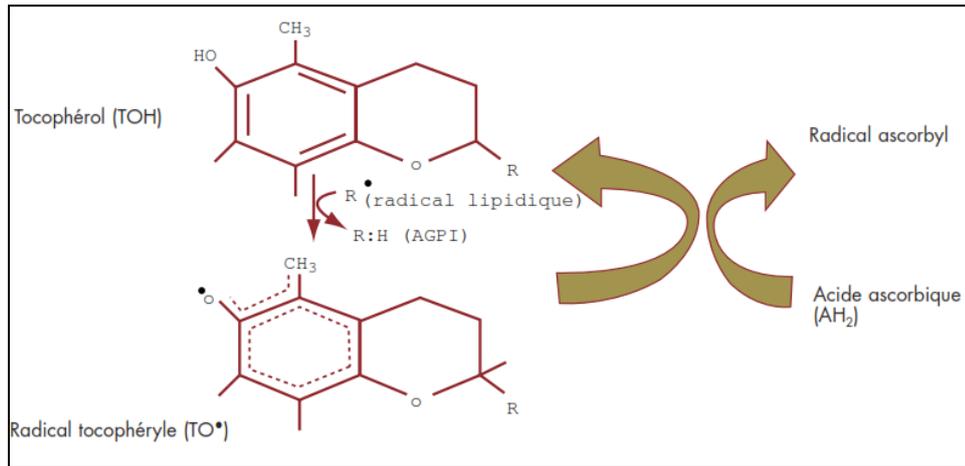


Figure 14: Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique [63].

2.3.4.4 L'Acide urique

L'acide urique est produit par oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine par la xanthine oxydase et la xanthine déshydrogénase. Au pH physiologique, il est majoritairement présent sous la forme ionisée (urate) pouvant interagir avec les radicaux hydroxyles et conduisant à la formation de l'espèce radicalaire UrH^{\ominus} stable. Celle-ci est à son tour réduite par l'ascorbate régénérant l'urate. L'urate protège les protéines de la nitration en réagissant avec le peroxy-nitrite. Il peut également chélater les ions métalliques et donner des chélates peu réactifs sur le plan catalytique [64].

2.3.4.5 Les oligoéléments

Les oligoéléments sont indispensables aux différentes réactions et spécifiques aux enzymes qui catalysent ces réactions:

- ❖ le passage de l'anion superoxyde au peroxyde d'hydrogène fait intervenir les SOD, qui fonctionnent avec du cuivre, zinc et manganèse.
- ❖ le passage du peroxyde d'hydrogène en eau fait intervenir le glutathion peroxydase qui fonctionne avec le sélénium, la catalase avec le fer et la hioredoxine réductase (équivalent du glutathion peroxydase dans d'autres tissus) avec le sélénium.

2.3.4.6 La bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hémoglobine, un puissant agent réducteur et un potentiel antioxydant physiologique [65]. Dans les fluides extracellulaires, principalement liée à l'albumine elle est une molécule hydrosoluble hydrophobe. La molécule libre et tout comme celle liée à l'albumine peuvent réduire la vitamine E et inhiber la peroxydation lipidique dans le plasma et les lipoprotéines [66].

2.3.2.7 L'albumine

L'albumine est la protéine circulante la plus abondante, possède de nombreux groupements thiols qui lui permettent, tout comme le GSH, de jouer le rôle de trappe radicalaire; même si la vitesse des réactions dans lesquelles elle est impliquée est plus lente, elle constitue un important antioxydant plasmatique [19].

2.3.4.7 Le coenzyme 10

La famille des ubiquinones, molécules liposolubles synthétisées par les animaux et l'homme, contient le coenzyme Q10. Celui-ci constitue la forme prédominante d'ubiquinone et il est retrouvé virtuellement dans toutes les membranes cellulaires ainsi que dans les lipoprotéines. Sa capacité à donner et à recevoir des électrons est importante pour les fonctions physiologiques. Il joue aussi un rôle essentiel comme élément de transfert d'électrons et de protons dans la production mitochondriale d'ATP et le maintien d'un pH optimal dans les lysosomes [67]. La forme entièrement réduite du coenzyme Q 10, l'ubiquinol, est un efficace antioxydant pouvant inhiber l'oxydation des lipides membranaires et des protéines [68].

Tableau 3: Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées [22].

Principaux nutriments Antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs ,noix
β-carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poisson, œufs viandes, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins, vin
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou Œufs, poissons, viandes

7. *Le diabète expérimental*

Le diabète sucré est une maladie chronique humaine largement répandue. L'induction expérimentale d'un diabète dans des modèles animaux est essentiel pour la promotion de la connaissance et la compréhension des différents aspects de la pathogénie et de trouver finalement de nouvelles thérapies et guérir [69].

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour induire un diabète sucré chez les animaux de laboratoire, avec un succès variable, et à de nombreuses difficultés. L'ablation chirurgicale du pancréas est la méthode efficace; Toutefois, pour induire un diabète, d'au moins 90 à 95 % du pancréas doit être enlevé. L'injection de l'extrait de l'hypophyse antérieure a été utilisée pour induire un diabète avec des résultats moins fiables. Un autre procédé qui est plus uniformément efficace et largement utilisé est l'injection de la streptozotocine [69] ou d'alloxane qui ont un effet diabétogène.

L'effet diabétogène de la STZ a été signalé pour la première fois en 1963 par Rakieten et al. Suite à une injection d'une dose unique par voie intraveineuse chez le rat et le chien [70].

3.4 L'induction du diabète par la streptozotocine

La streptozotocine est un antibiotique isolé à partir de *Streptomyces achromogenes*. C'est une glucosamine nitrosurée possédant une forte activité antinéoplasique. La STZ est un analogue du glucose pour le récepteur Glut 2. Elle pénètre ainsi spécifiquement dans les cellules bêta où son pouvoir alkylant induit de nombreux dommages. Elle est ainsi utilisée dans le traitement des insulinomes [71].

3.1.1 Structure et propriétés chimiques de la STZ

La streptozotocine a une structure similaire au glucose et de N-acétylglucosamine [72]. Il est composé de la fraction cytotoxique, 1-méthyl-n-nitroso (MNU) attaché au carbone numéro 2 du glucose (Figure 15) [73]. C'est un composé hydrophile [74] absorbé par les cellules β -pancréatiques à travers le transporteur Glut2 [70]. La STZ n'est pas un donneur spontané d'oxyde nitrique. Cette molécule est libérée lorsque la STZ est métabolisée dans les cellules [72].

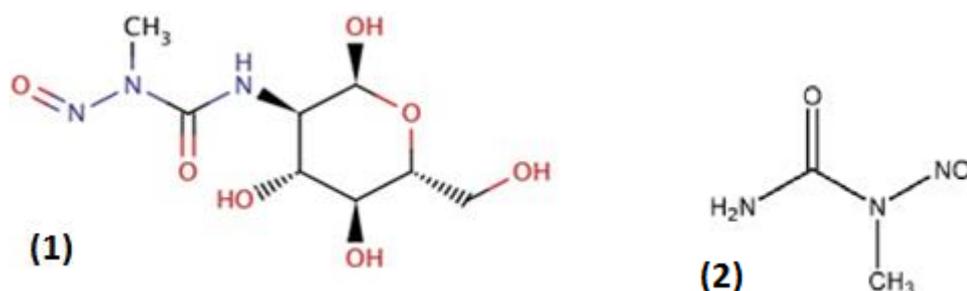


Figure 15 : Structure de : (1) Streptozotocine, (2) 1-Méthyl-1-nitrosuré [74].

3.1.2 Spécificité et sélectivité de la STZ

Le pancréas est l'organe cible de la STZ grâce à sa carence en système antioxydant et à sa capacité de capter cette molécule par ses récepteurs (Glut2). Le Glut2 est un transporteur du glucose exprimé au niveau du foie, reins, les intestins grêles, mais majoritairement dans les cellules bêta de Langerhans.

L'une des caractéristiques des cellules bêta du pancréas est leur faible équipement en enzymes antioxydantes, ce qui les rend particulièrement sensibles au stress oxydant. Pourtant, de façon surprenante, les ERO/ERN sont nécessaires à la sécrétion d'insuline, et sont impliqués dans différentes étapes des voies de signalisation menant à sa synthèse. Dans les

cellules bêta, le glucose (en concentration physiologique) augmente la concentration en H_2O_2 , qui stimule lui-même la sécrétion d'insuline. En effet, la production d' H_2O_2 est une condition nécessaire à l'activation de la production d'insuline [1] car la présence de différents piègeurs (ou scavengers en anglais) comme la CAT, par exemple, bloque la transmission du signal et inhibe la production d'insuline. A l'inverse, il semble qu'un stress oxydant trop élevé inhibe également la production d'insuline, car il est associé à une up-régulation des systèmes antioxydants qui vont piéger l' H_2O_2 .

3.5 Mode d'action de la stréptozotocine

Des expériences récentes ont prouvé que la raison principale de la mort des cellules bêta induite par la STZ est l'alkylation de l'ADN (Figure 16), L'activité d'alkylation de la STZ est liée à son groupement nitrosourea, en particulier à la position O6 de la guanine. Les Lésions d'ADN active la poly ADP-ribosylation. Ce procédé conduit à un appauvrissement de NAD^+ cellulaire, une réduction supplémentaire de la teneur en ATP [72]. L'augmentation de la déphosphorylation d'ATP augmente l'apport de substrat pour la xanthine-oxydase (les cellules bêta possèdent une grande activité de cette enzyme) et augmente la production d'acide urique le produit final de la dégradation d'ATP. Ensuite, la xanthine oxydase catalyse la réaction dans laquelle l'anion superoxyde est formé [72].

Suite à la génération d'anion superoxyde le peroxyde d'hydrogène et des radicaux hydroxyles sont formés. Le NO et les espèces réactives de l'oxygène peuvent agir séparément ou former la peroxynitrate (ONOO) hautement toxique [72]. Le NO se lie à l'aconitase (enzyme intervenant dans le cycle du Krebs et qui transforme le citrate en isocitrate) contenant du fer ce qui inhibe son activité enzymatique. Et donc l'inhibition du cycle de Krebs et diminution de la consommation d'oxygène par les mitochondries. Ces effets limitent fortement la production mitochondriale de l'ATP [72]. Après tous ces mécanismes toxicologiques les cellules bêta se détruisent par la nécrose cellulaire.

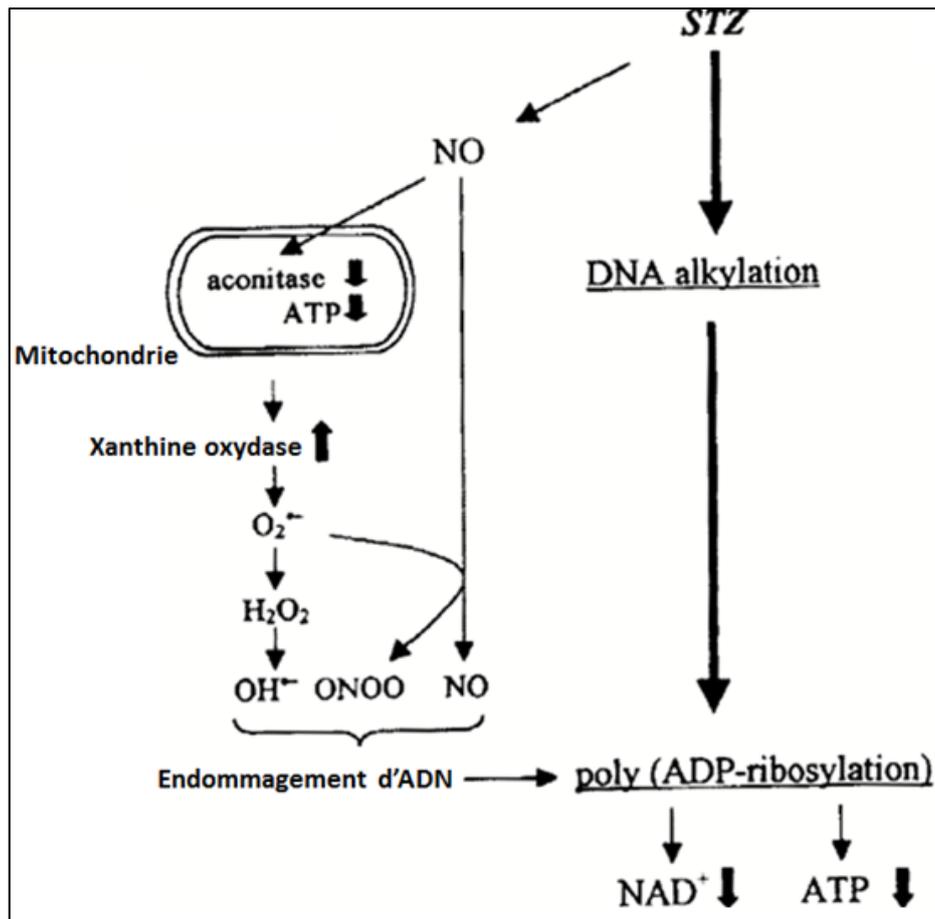


Figure 16 : Toxicité de STZ dans les cellules BÊTAdes ilots du Langerhans [72].

3.3 Changements de la glycémie au cours de la diabèteogénèse

D'après les études de Sigurd Lenzen qui a fait une comparaison entre le mécanisme d'action de la STZ et de l'alloxane. Ces deux diabétogènes ont le même résultat sur les cellules bêta de Langerhans mais leurs mécanisme d'action est différent. L'insulinémie et la glycémie se changent parallèlement avec les changements morfo-pathologiques des cellules bêta selon les trois phases suivantes :

La phase I

C'est la première phase hyper-glycémique après le premier contact des cellules bêta de Langerhans avec la STZ, cette hyperglycémie persiste généralement 2-4 heures, la concentration plasmique de l'insuline diminue considérablement à cause d'une inhibition de son sécrétion par les cellules bêta suite à une altération par la STZ. Morphologiquement, cette phase est caractérisée par une vacuolisation intracellulaire, dilatation du réticulum

endoplasmique, réduction des granules sécrétrices d'insuline, diminution de la zone du Golgi, gonflement des mitochondries avec une perte des crêtes dans les membranes intérieures, et en effet une diminution de la production d'énergie [74] pour les différentes fonctions physiologique des cellules bêta.

La phase II

Une hypoglycémie se manifeste encore une fois après 4-8 heures d'injection de la STZ, c'est une phase très sévère, elle peut provoquer des convulsions et peut même être fatale sans l'administration du glucose, particulièrement lorsque le dépôt du glycogène dans le foie est épuisé, cette hypoglycémie est le résultat d'une inondation de la circulation sanguine par l'insuline suite aux ruptures des membranes plasmiques des cellules bêta et des granules sécrétrices d'insuline [74].

La libération d'insuline en fortes quantité dans la circulation sanguine et accompagnée par la libération de tous les organites subcellulaires, ces signes sont irréversibles et ce sont les signes critères d'une nécrose des cellules bêta de Langerhans [74].

La phase III

C'est une hyperglycémie diabétique permanente, les analyses ultra-structurelles montrent une dégranulation complète, après 12-24-48 heures de l'injection de la STZ. Les autres cellules du pancréas restent intactes, prouvant la sélectivité de la STZ. Les débris cellulaires sont captés par les macrophages [74].

La différence entre la destruction des cellules bêta par la STZ est leur destruction par l'auto-immunité dans le diabète de type 1 c'est que la première est une nécrose cellulaire et la deuxième est une apoptose cellulaire.

3.5 Conséquences métaboliques et toxiques de la stréptozotocine

L'effet de la STZ sur les tissus et les organes peut être direct, grâce au Glute2 qui facilite son transport vers le milieu intracellulaire, mais aussi indirect par le biais du stress oxydant provoqué par l'hyperglycémie qui augmente le SO dans de nombreux organes, par l'auto-oxydation du glucose.

L'induction du diabète chez l'animal s'accompagne d'une élévation brutale du SO, qui s'atténue progressivement puis augmente à nouveau sur le long terme. En effet,

l'augmentation initiale du stress oxydant déclencherait une réponse adaptative de l'organisme, qui premièrement consomme les antioxydants non enzymatiques pour lutter contre les ROS, diminuant ainsi la capacité antioxydante totale, et deuxièmement augmente au fil des semaines l'activité des enzymes antioxydantes. L'ensemble de ces réactions permet de lutter temporairement contre le stress oxydant, avant que la persistance de l'hyperglycémie n'épuise le système antioxydant et que le stress oxydant ne resurgisse à nouveau.

8. *Common le diabète cause-t-il un stress oxydant*

4.1 *Hyperglycémie et complications dans le diabète de type 1*

Le stress oxydant induit par l'hyperglycémie constitue le mécanisme central impliqué dans la survenue et le développement des complications du diabète. Si l'insuline assure la survie des patients, elle ne parvient pas toujours à normaliser la glycémie car les épisodes hyperglycémiques persistent, engendrant un SO et les complications associées.

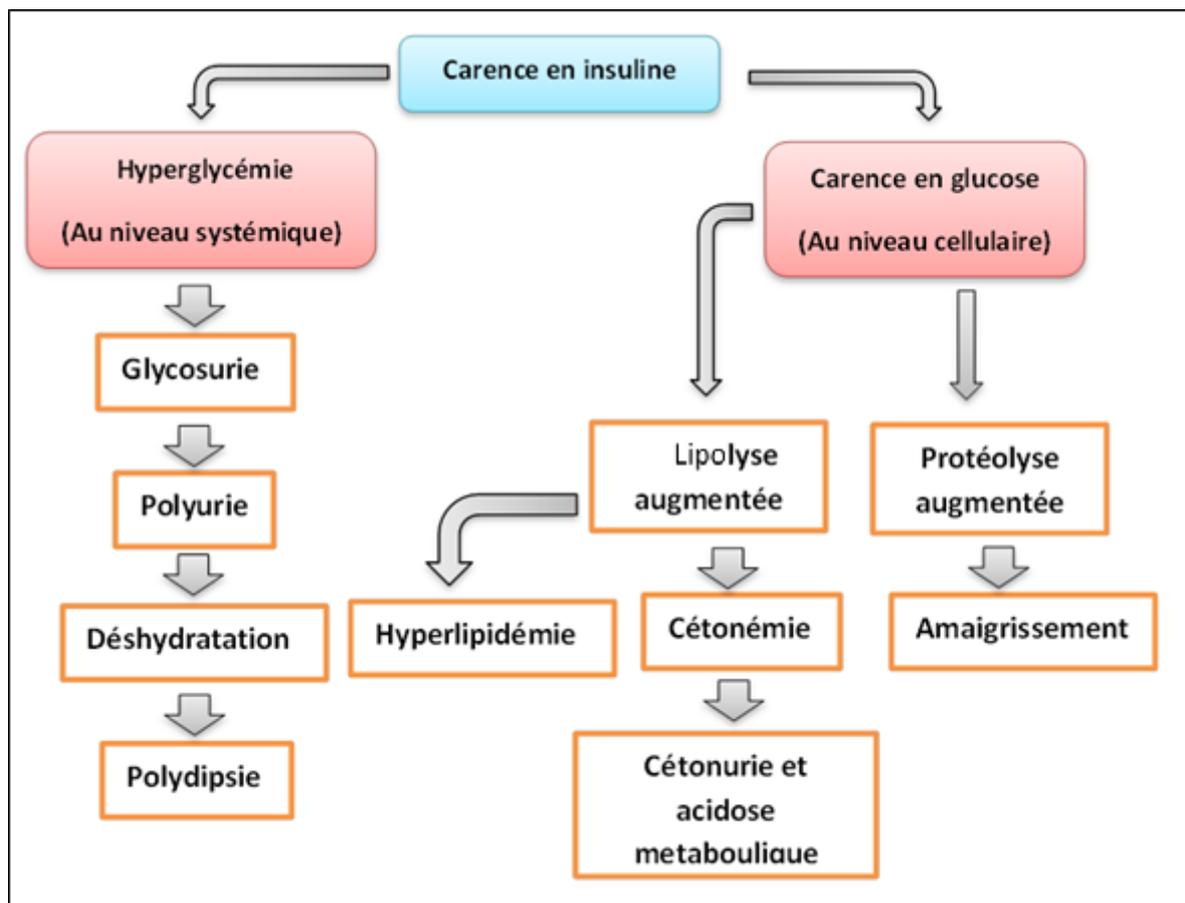


Figure 17 : conséquences systémiques et cellulaires d'hyperglycémie dans le diabète de type 1 [1].

4.1.6 La glycation (glycosylation)

La glycation des peptides et des protéines est une réaction chimique lente des sucres réduits en modifiant les groupements aminés. La première de ces intermédiaires non enzymatique de glycosylation est les produits Amadori [75]. La dégradation des produits Amadori génère des produits cétoniques tels que le 1 et 3 desoxyglucosone [76] avec la production des radicaux libres et de peroxyde d'hydrogène. De nombreuses preuves suggèrent que les radicaux libres et le peroxydes d'hydrogène, produit par l'auto-oxydation du glucose en présence de métaux de transition, sont une cause importante des dommages de la structure des protéines au cours de l'exposition au glucose in vitro [77].

Les 1 et 3 desoxyglucosone sont des composés très réactifs aux protéines que le parent monosaccharide et sont capable de réagir avec les protéines pour former des liens croisés, ainsi que des adduits appelé les produits de Maillard ou les produits de glycation avancée [78].

La formation d'AGE cause des dommages aux cellules par trois mécanismes principaux [79] : la glycation des protéines impliquées dans la régulation des facteurs de transcription, une altération du collagène composant la matrice extracellulaire, ce qui va modifier les propriétés physiques des vaisseaux, et la fixation des AGE sur des récepteurs spécifiques, les Récepteurs aux AGE (RAGE). L'interaction des AGE et ces récepteurs conduits à la génération intracellulaire des radicaux libres de l'oxygène [80] et parallèlement, l'épuisement des antioxydants.

4.1.7 Oxydation de l'ADN et le dysfonctionnement mitochondriale au cours du diabète

Le stress Oxydant induit des lésions de l'ADN dans les cellules mononuclées de type 1 et 2, il a été noté que chez les patients diabétiques, des niveaux élevés de base purine oxydé ,8-hydroxy-deoxyguanosine, un oxydant reconnu comme biomarqueur des lésions de l'ADN [81] La forte concentration intracellulaire du glucose due à l'hyperglycémie provoque une production accrue des donneurs des électrons (NADH₂, FADH₂) à partir de cycle de Krebs . Ce phénomène induit un grand gradient de potentiel intermembranaire et par conséquent le transfert des électrons au niveau du complexe III, a ce point l'anion superoxyde se produit avec des quantités où la SOD ne soit jamais capable de les neutraliser [82].

4.1.8 Augmentation de la voie de polyol

Les nerfs périphériques, cellules de Shwan, glomérule rénal et, éventuellement, la rétine contiennent deux enzymes qui constituent la voie de polyol. Le premier enzyme est l'aldose réductase, C'est une enzyme nécessitant le NADPH comme un cofacteur, il réduit le glucose en sorbitol, la deuxième enzyme est la Sorbitol déshydrogénase NAD-nécessitant transforme le sorbitol en fructose [83]. L'aldose réductase a un grand km pour le glucose, seulement au cours de l'hyperglycémie, cette voie est quantitativement importante. Il est connu que chez le patient diabétique le contenu en Sorbitol de la lentille, les nerfs et la glomérule est élevé et la voie de sorbitol lié au stress, joue un rôle clé dans l'apparition des complications tardives de diabète de type 1 et 2 [84]. Aussi, l'activation de la voie de polyol contribue à la formation du triose phosphate et de son auto-oxydation, se traduit par la formation d'une espèce réactive qui est l'alpha oxo-aldéhyde. En outre, l'épuisement de NADPH cellulaire rétablit par l'aldose réductase conduit au mal fonctionnement même une inhibition de l'enzyme clé dans la physiologie de la cellule comme le monoxyde d'azote synthase et le glutathion réductase. Le Sorbitol déshydrogénase, la deuxième enzyme de la voie de polyol qui converti le Sorbitol en fructose, contribue au stress oxydatif très probablement, par l'épuisement du cofacteur NAD [95].

4.1.9 L'épuisement des antioxydants sériques et cellulaires

La concentration de l'acide ascorbique au niveau du sang et les globules blancs diminué d'une façon significative chez les patients diabétiques alors que son produit d'oxydation est trouvé avec des concentrations très élevés [86]. Il a été observé que l'acide urique, qui présente 30-65 % de la défense contre le radical pyroxyde est trouvé avec des concentrations réduite chez les diabétiques de type 1 [87]. Ainsi les patients diabétiques présentent une faible concentration en Q10 par apport aux seins [88]. L'élévation de la concentration des métaux de transition comme celle du cuivre ou de fer joue un rôle dans le stress oxydatif lies au diabète car ils catalysent la réaction de formation des radicaux libres, d'autre part, il y a une carence en zinc chez le diabétique, cet élément joue un rôle principale dans l'activité de la SOD [89].

4.2 Maladies liées au diabète et stress oxydant

4.2.1 Hépatotoxicité

L'hyperglycémie renforce un déséquilibre des réactions d'oxydo- réduction dans les hépatocytes, qui contribue à l'augmentation des radicaux libres, qui provoque la peroxydation lipidique, l'endommagement des membranes et donc la lyse cellulaire.

Dans une étude cytologique et histochimique du foie et du pancréas au cours de la progression du diabète induit par la streptozotocine chez le rat Wistar Albinos et la protection éventuelle de certains antioxydants naturels, réalisé par Waer et Helmy en 2012, ils ont montré qu'il y avait beaucoup de changements pathologiques dans le foie, la dégénérescence d'hépatocytes avec des noyaux polymorphes, sinusoides dilatés, une infiltrat des cellules mononucléaires s'étendant à travers le tissu hépatique. Des cellules de Kupffer semblaient englober des débris, une hyperplasie des canaux biliaires est également constatée chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la STZ.

4.2.2 Néphropathie diabétique

La néphropathie diabétique est la cause la plus courante d'insuffisance rénale [90]. Cliniquement, la progression de la néphropathie diabétique est accompagnée par la mise au point d'une protéinurie et une hyperfiltration glomérulaire rapide suivie d'une baisse du débit de filtration glomérulaire. Morphologiquement, elle est caractérisée par une accumulation excessive de la matrice extracellulaire dans les glomérules et dans l'espace tubulo-interstitielle provoquant la glomérulosclérose et la fibrose tubulo-interstitielle. Cela conduit finalement à l'insuffisance rénale terminale [90].

Dans le diabète de type 1, les lésions rénales touchent à la fois les glomérules, les artérioles, l'interstitium et les tubes, mais l'atteinte glomérulaire est la lésion la plus importante. Elle est caractérisée par un épaississement des membranes basales glomérulaires et une expansion du mésangium. Cependant, les tubes, l'interstitium et les artérioles sont aussi le siège d'altérations notables [91].

4.2.3 Diabète et maladies cardiovasculaires

L'implication du stress oxydatif dans les maladies cardiovasculaires est un des sujets les mieux documentés dans la littérature scientifique. La responsabilité des LDL (low density

lipoprotéines) oxydées dans la genèse de la plaque d'athérome n'est plus à démontrer. De nombreuses publications ont confirmé le rôle essentiel du stress oxydatif dans la pathogénie des maladies cardiovasculaires. En 1989 déjà, le Dr Daniel Steinberg explique que c'est l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui initie le processus d'athérosclérose (Figure 18), et non les LDL natives, c'est-à-dire celles qui ne sont pas oxydées. En 2005, une équipe de recherche américaine explique que le stress oxydatif joue un rôle central dans le développement des maladies cardiovasculaires.

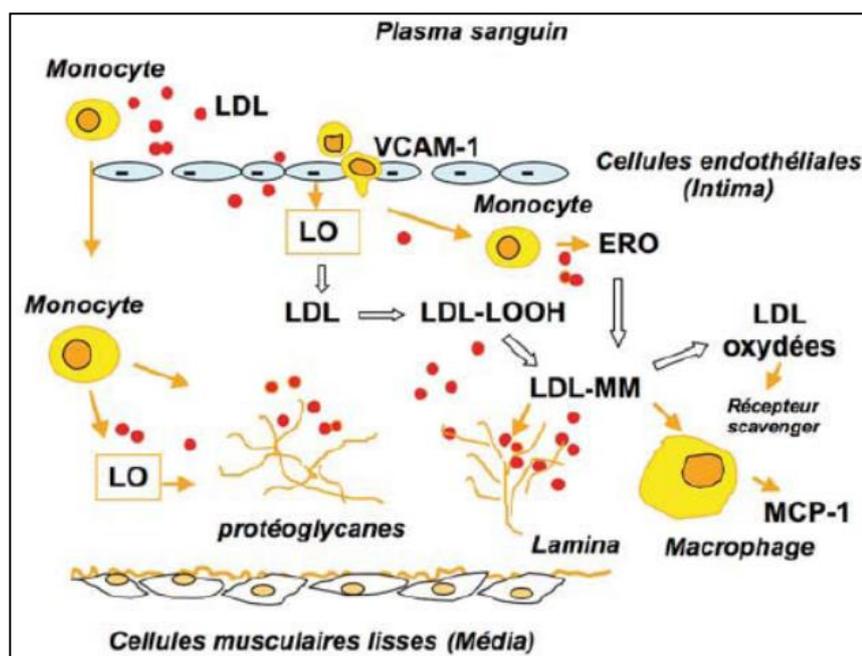


Figure 18: Les principales modifications des particules LDL dans l'intima des artères participant à la physiopathologie de l'athérosclérose [92].

Dans le cadre du diabète, l'hyperglycémie et la production des ERO qui lui sont associée stimulent un ensemble de mécanismes perturbant le bon fonctionnement cellulaire, et surtout la fonction vasculaire. Les vaisseaux vont en effet être touchés d'une part, par des modifications structurales, résultant de la glycation des protéines de la matrice et d'altérations du remodelage vasculaire; et d'autre part, par des modifications fonctionnelles, causées principalement par une baisse de la biodisponibilité du NO°.

Une étude morphologique et morphométrique de l'aorte, artère pulmonaire, et le cœur de rats Wistar rendus diabétiques par streptozotocine, réalisées par Komolafe et ses collaborateurs, en 2009, ont montré que le diabète sucré provoque des transformations qui

peuvent contribuer au développement de maladies cardiaques et cardio-vasculaires. Il s'agit d'une réduction dans les fibres élastiques et collagènes dans le cœur diabétiques (en particulier le ventricule gauche).

Une autre étude sur la Performance cardiaque chez des rats Sprague Dawley rendus diabétiques par la streptozotocine réalisée par Riad et ses collaborateurs en 2010, a montré que dans des conditions basales, la STZ induit après deux semaines une faculté systolique ventriculaire gauche et une dysfonction diastolique indexé par diminution de la pression ainsi qu'une diminution de la rigidité cardiaque conduisant à une diminution du débit cardiaque.

La mort des cellules favorisées par le stress oxydatif et la glycation des résidus de lysine sont la cause d'inhibition de la dégradation du collagène, et donc son accumulation interstitielle dans le myocarde, Fredersdorf et ses collaborateurs (2004), ont observé une augmentation de la fibrose interstitielle au niveau de cœurs des rats diabétiques, d'après leur étude sur l'hypertrophie myocardique et l'amélioration de la contractilité ventriculaire gauche chez des rats Zucker diabétiques.

Durant ces dernières années une recrudescence d'intérêt est a remarqué concernant les effets biologiques des antioxydants naturels inclus dans la lutte contre le stress oxydatif impliqué dans le déclenchement et la progression de plusieurs maladies telles que le diabète, l'athérosclérose et les maladies neurodégénératives ex, De nombreuses recherches scientifiques faites sur les composés bioactifs notamment sur les polyphénols qui agissent contre les espèces réactives de l'oxygène, La consommation de polyphénols, largement répandus dans les aliments d'origine végétale, a été associée à la diminution du risque de développement de nombreuses pathologies, parmi les plantes médicinales les plus riches en polyphénols, le thé vert.

1. Le Thé vert

Le thé est la boisson la plus consommée dans le monde après l'eau. Cette plante est connue depuis plusieurs millénaires, en particulier dans les populations asiatiques, qui lui attribuent des propriétés médicinales. Le thé vert est un thé peu oxydé lors de sa fabrication, conservant ainsi intactes ses propriétés. Ce type de thé est très populaire en Chine et au Japon, où il est réputé avoir les propriétés thérapeutiques les plus efficaces. Il existe plusieurs types de thé. Leur composition qualitative et quantitative est dépendante du mode de fabrication, du type de culture et du type de cueillette. Le thé est particulièrement riche en composés phénoliques, puisque ceux-ci représentent le tiers de la matière sèche de la feuille [93].

De nombreuses études épidémiologiques ont associé la consommation de thé à des bénéfices pour la santé et à la prévention de pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, les maladies neurodégénératives ou l'ostéoporose [94]. Plus récemment, le rôle du thé comme modulateur de la sensibilité à l'insuline et facteur de prévention du diabète et de l'obésité, a été évoqué [95].

1.1 Nomenclature et taxonomie

Le nom signifie *sinensis* chinois en Amérique. *Camellia* est tiré du nom latin de Georg Kamel, SJ (1661-1706), un d'origine tchèque prêtre qui devient à la fois un botaniste éminent et un missionnaire à l'Philippines. Bien que Kamel n'a pas découvrir ou nom de l'usine, Carlvon Linne a choisi son nom pour le genre d'honorer les contributions de Kamel à la science. Âgées noms de l'usine de thé comprennent BOHEA Thea, *Thea sinensis* et *Thea viridis* [96].

1.2 Classification

La classification du thé vert [97].

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Theales

Famille : Theaceae

Genre : Camellia



Figure 19: Le thé vert [97].

1.3 Description botanique du thé vert

Le théier est un arbre à feuilles persistantes, pouvant atteindre de 10 m à 15 m, jusqu'à 20 m pour certaines variétés. Sa hauteur est limitée par la taille en culture

Les feuilles alternes, persistantes, ont une forme allongée, elliptiques longues de 4 à 15 cm, sur 2 à 7 cm de large. Elles sont brillantes, vert foncé, relativement coriaces, avec une texture assez épaisse. Le pétiole est court, de 4 à 10 mm. La base est canée, l'apex est aigu à acuminé et les marges sont sciées. Les fleurs du théier sont blanches à jaune clair, et mesurent entre 2,5 et 4 cm de diamètre. Solitaires ou en petits groupes de 3 à 4, elles comptent cinq sépales persistants, cinq pétales, parfois plus jusqu'à 7 ou 8, de couleur jaune clair ou blanc crème, et de très nombreuses étamines jaunes souvent soudées entre elles. L'ovaire est trilobulaire (Figure 20).

Les fruits sont des capsules à déhiscence de 1,5 - 3 cm de diamètre environ. Les graines peuvent être pressées pour donner une huile. Les différentes sortes de thé sont obtenues à partir de cette seule espèce. En traitant différemment les feuilles de thé, on obtient du thé vert, blanc, noir etc... [96].



Figure 20: Le théier (Wikipédia)

1.4 Composition et intérêt biologique du Thé vert

Selon la médecine traditionnelle, le thé vert posséderait des propriétés stimulantes, digestives, diurétiques, analgésiques et antitoxiques. Toutes ces propriétés c'est grâce à ses composants chimiques, qui une fois traités forment des complexes et de nouveaux composés aux propriétés intéressantes.

1.4.1 Composition

✓ polyphénols

Près des trois-quarts des polyphénols appartiennent au groupe des catéchines [98], Dont Les plus actives sont l'épicatechine (EC), l'épigallocatechine (EGC), l'épicatechine-3-gallate (ECG) et l'épigallocatechine-3-gallate (EGCG). La teneur en chacun de ces composés dépend de paramètres comme la variété de théier, les conditions de cultures et le procédé de manufacture.

✓ Vitamines

Le thé est riche en vitamines du groupe B telles que thiamine (B1), riboflavine (B2), niacine (B3). La vitamine C se trouve aussi en quantité significative dans le thé vert. Enfin l'infusion de thé contient la vitamine P qui favorise la perméabilité capillaire et l'élasticité de la paroi des vaisseaux sanguins [99].

✓ Théine

La théine et la caféine sont une seule et même substance appelée triméthylxanthine (Figure 21). Dans le thé, l'action stimulante de la théine est significativement modifiée par la présence des polyphénols qui génèrent un effet prolongé et modéré. L'analyse pharmaceutique met en évidence le phénomène d'effet retard et confirme la tradition populaire qui rapporte que le thé est moins excitant que le café [100].

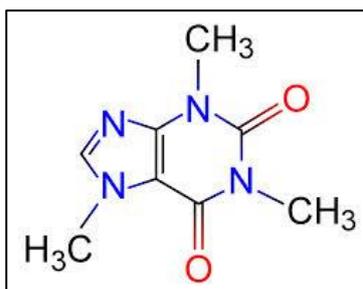


Figure 21: La structure chimique de la théine [101].

✓ *Théanine*

La théanine est un acide aminé connu pour être présent principalement dans les feuilles de thé (Figure 22), ainsi que dans un champignon nommé *bolet bai*. C'est l'acide aminé prédominant. Il représente de 1 à 2 % du poids total des feuilles noires, vertes ou semi-fermentées et plus de 50 % des acides aminés [102]. La théanine possède une saveur à la fois astringente, sucrée et umami, elle contribue au goût umami des thés verts en agissant comme un exhausteur de goût [103]. L'activité de la théanine sur le cerveau a montré une réduction du stress mental et physique [104] et produit un effet relaxant [105].

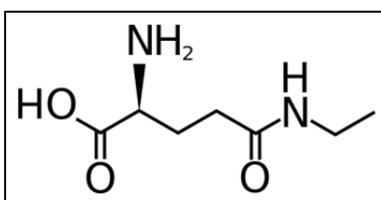


Figure 22: La Structure chimique du théanine (Wikipedia)

✓ *Les oligoéléments*

Le thé contient beaucoup de minéraux, parmi eux, seuls le fluor, le manganèse et le nickel sont susceptibles de contribuer à l'apport nutritionnel conseillé [106].

✓ *Acides organiques*

Parmi les autres composés mineurs présents dans le thé, on trouve les acides organiques comme l'acide malique, l'acide succinique, l'acide oxalique et l'épigallocatechine-3-gallate, ainsi qu'un petit pourcentage de lipides.

1.4.2 Intérêt biologique

D'après les dernières recherches en date, la consommation de thé vert pourrait avoir les effets suivants :

- Une augmentation de la dépense énergétique
- Une meilleure oxydation des graisses et des glucides
- Une meilleure sensibilité à l'insuline ainsi qu'une diminution de la glycémie [107].
- Une diminution de l'inflammation.
- Un ralentissement du déclin cognitif.
- Une activité anticarcinogénique.

2. Polyphénols

2.1 Généralité

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, de puis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production [108].

2.2 Définition

L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles.

Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique. Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière [108].

2.3 Classification et structure chimique

Les polyphénols naturels regroupent donc un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants (Tableau 4). Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques (acide gallique), à des composés hautement polymérisés, de plus de 30 000 Dalton, comme les tanins (figure 23).

Tableau 4: Principales classes de composées phénoliques [109].

Squelette carboné	Classe
C_6	Phénols simples
$C_6 - C_1$	Acides hydroxybenzoïques
$C_6 - C_3$	Acides hydroxycinnamiques Coumarines
$C_6 - C_4$	Naphtoquinones
$C_6 - C_2 - C_6$	Stilbènes
$C_6 - C_3 - C_6$	Isoflavonoïdes, Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanonones • Flavanolols
$(C_6 - C_3)_2$	Lignanes
$(C_6 - C_3)_n$	Lignines

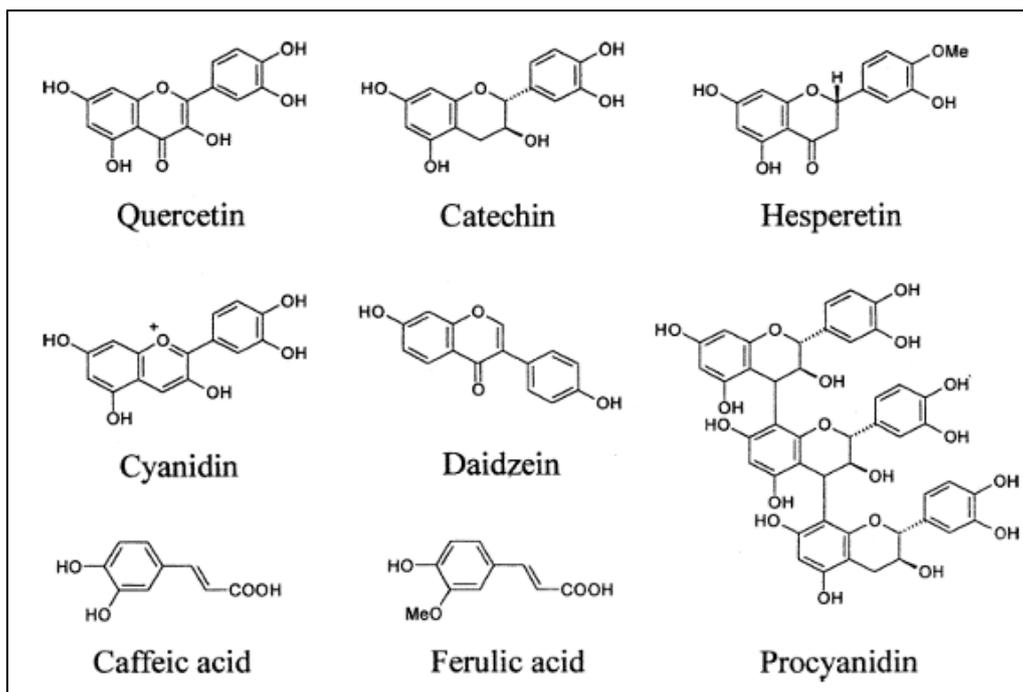


Figure 23: es structures chimiques de quelques polyphénols alimentaires [110].

2.3.1 Les acides phénoliques

On distingue deux classes d'acides phénoliques : les dérivés de l'acide benzoïque ou acides hydroxybenzoïques et les dérivés de l'acide cinnamique ou acides hydroxycinnamiques.

➤ Les acides hydroxybenzoïques

Présents dans peu de végétaux de l'alimentation courante, ils sont peu étudiés. Ils ont une formule de base de type C. Dérivés de l'acide benzoïque, leur diversité structurale est due aux hydroxylations et/ou méthylation du noyau aromatique en diverses positions (2, 3 et 4) donnant ainsi les acides 4-hydroxybenzoïque, 3-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique,

Figure N° 5: structure chimique de quelques polyphénols alimentaire (Xiuzhen Han et al., 2007)

➤ Les acides hydroxycinnamiques

Très répandus dans le règne végétal, ces composés ont une formule de base de type C₆_C₃ et leur diversité est également due à la variabilité des hydroxylations du noyau

aromatique [112]. Le composé le plus courant est l'acide caféique qui représente à lui seul 75 à 100% des acides hydroxycinnamiques totaux de la plupart des fruits [113]. L'acide férulique, sinapique et 4-coumarique sont également répandus dans les aliments [112]. Les acides hydroxycinnamiques sont rarement présents sous forme libre et sont retrouvés essentiellement sous formes conjuguées. Il s'agit de dérivés glycosylés ou d'esters avec les acides quinique, tartrique ou shikimique [109].

2.3.2 Les stilbènes

Les stilbènes présentent une structure en C6-C2-C, avec un cycle A portant deux fonctions hydroxyles en position méta et un cycle B portant des fonctions hydroxyles ou méthoxyles en méta, ortho et para. Ils sont synthétisés à partir de dérivés d'acides cinnamiques dont la substitution déterminera celle du cycle B et ainsi la molécule elle-même. Ils sont présents dans la plante sous forme de monomères, dimères, trimères ou polymères. La molécule la plus courante et la plus étudiée est le resvératrol (3, 5,4'trihydroxystilbène) qui existe sous forme cis ou trans [114].

2.3.3 Les lignanes

Les lignanes sont formés par la dimérisation oxydative de deux unités de phénylpropane [105]. Ils sont métabolisés par la flore colique libérant de l'entérodol et de l'entérolactone ; ils sont ainsi considérés comme des phytoestrogènes.

2.3.4 Les alcools phénoliques

Tyrosol (-hydroxyphénoléthanol) et hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphénoléthanol) sont principales alcools phénoliques ; elles sont contenues principalement dans les suppléments huile d'olive vierge. Le tyrosol est également présent dans les vins rouges et blancs et de la bière [110].

2.3.5 Les flavonoïdes

L'expression flavonoïde a été introduite en 1952 par Geissman et Hinreiner pour désigner les pigments ayant un squelette (C6-C3-C6), provenant du mot latin flavus qui signifie jaune [116]

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone [117] à 15 atomes de carbone (C6-C3-C), constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les

lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné (figure 24), que désigne la lettre C6 [118], portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides [117].

Parmi les flavonoïdes on a : les flavones, les flavonoles, les isoflavones et les anthocyanes (Tableau 5).

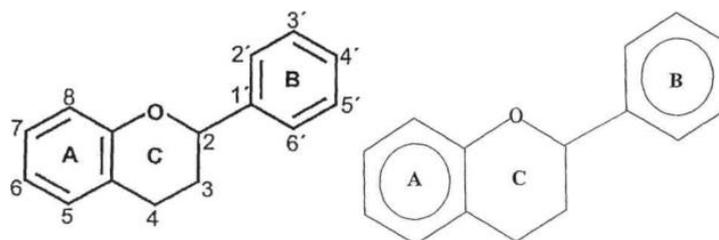


Figure 24 : structure de base des flavonoïdes [118].

2.3.5.1 Flavonols

Caractérisés par la présence d'une double liaison en position C2-C3 et d'un groupement hydroxyle en C, ce sont les flavonoïdes les plus répandus dans le règne végétal à l'exception des algues et des champignons. Les composés principaux sont le kaempférol, la quercétine, l'isorhamnétine et la myricétine. Ils sont le plus souvent présents sous forme de glycosides, avec une molécule de glucose ou de rhamnose [114].

2.3.5.2 Flavanones

Les flavanones se caractérisent par la saturation de l'hétérocycle C. Le plus souvent glycosilées par un disaccharide en C, on distingue deux sous-familles : les rutinosides (6-O-a-L-rhamnosyl-D-glucosides) et les néohespéridosides (2-O-a-L-rhamnosyl-D-glucosides) [113].

2.3.5.3 Isoflavones

Les isoflavones se différencient des flavones par la fixation du noyau benzénique B au carbone 3 de l'hétérocycle. Elles présentent de fortes similitudes avec les œstrogènes. En effet, la présence de groupements hydroxyles en C7 et C leur donne une structure similaire au 17- β -œstradiol leur conférant ainsi des propriétés pseudo-hormonales dont celle de se lier aux

récepteurs aux œstrogènes. Ainsi elles sont également nommées phyto-estrogènes. Les isoflavones sont présentes presque exclusivement dans les légumineuses et plus particulièrement dans les Fabacées. Le soja et ses produits dérivés en sont les sources principales dans l'alimentation humaine [119]. Trois molécules principales ont été mises en évidence dans le soja, la génistéine, la daidzéine et la glycitéine [120].

2.3.5.4 Anthocyanes

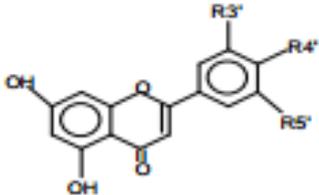
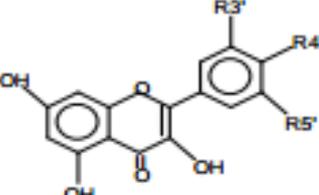
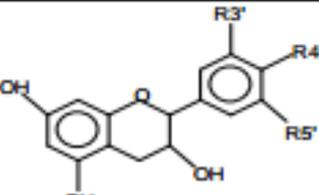
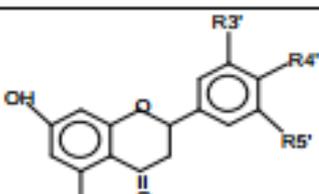
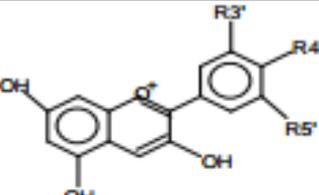
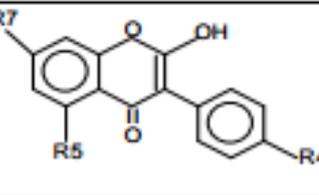
Les anthocyanes constituent le groupe de pigments solubles dans l'eau le plus important. Ils sont dissous dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs et des tissus auxquels ils donnent des couleurs rose, rouge, bleu et violet [121].

Plusieurs centaines de molécules sont connues. Elles varient selon le nombre et la position des différents groupements hydroxyles et méthoxyles, la nature, le nombre et la position des sucres et l'acylation éventuelle de ces sucres [112]. Très rarement présents sous forme aglycone (anthocyanidine), les anthocyanes les plus fréquents sont des 3-glycosides ou des 3,5-diglycosides de pélargonidine, cyanidine (anthocyanidine la plus répandue dans l'alimentation), péonidine, delphinidine, pétunidine et malvidine. Leur couleur varie en fonction du pH. Les anthocyanes sont particulièrement instables sous forme d'aglycones mais stabilisés par la glycosylation [125].

2.3.5.4.1 Flavones

Les flavones présentent une double liaison en position 2-3 et le noyau aromatique B est fixé en position 2. De manière générale, les flavones sont présentes sous forme de 7-O-glycosides. Moins répandues dans les fruits et légumes que les flavonols, les flavones sont principalement présentes sous forme de glycosides de lutéoline et d'apigénine. Les sources principales de flavones sont le persil (240 à 1850 mg/kg PF) et le céleri (20 à 140 mg d'apigénine /kg PF) ou de manière plus modérée le poivron rouge (5 à 10 mg/kg PF).

Tableau 5 : Principales classes des flavonoïdes [123].

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	Myrecétine
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	Daidezine

✚ Les catéchines

Les catéchines sont des composés que l'on retrouve en majorité dans le thé vert. D'autres aliments en contiennent en quantités plus faibles : thé noir, vin rouge, raisin, pomme, oignons et chocolat [124]. Ils diffèrent par leurs degré d'hydroxylation des noyaux phénoliques, l'existence d'acide gallique lié par une liaison ester et leur stéréochimie [125]. Les catéchines sont composées de quatre molécules distinctes, dont celle possédant l'effet anti-oxydant le plus puissant : le gallate d'épigallocatechine (EGCG). Il s'agit en fait des précurseurs des tanins [107].

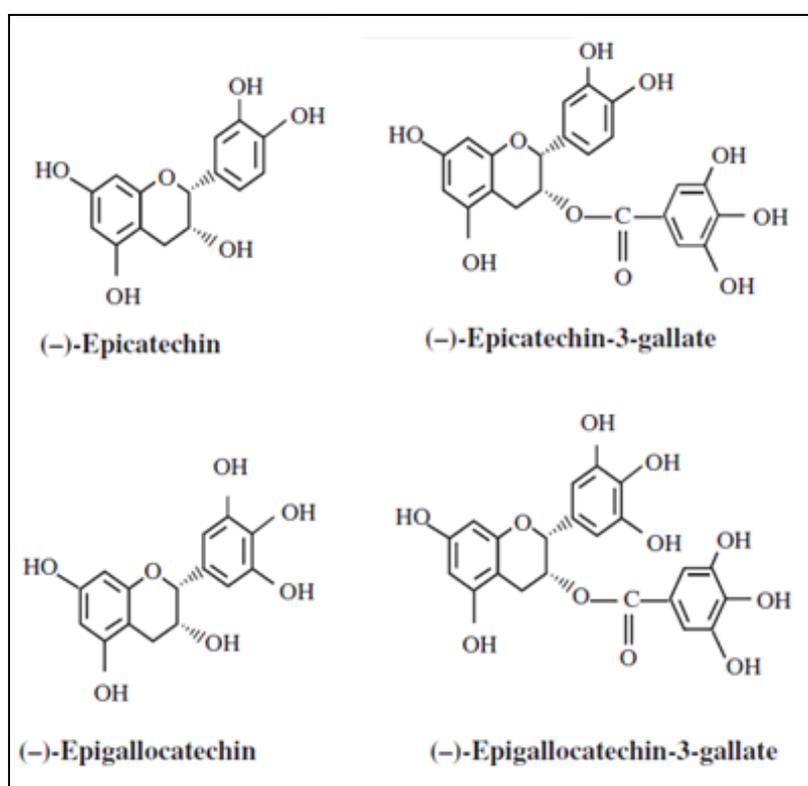


Figure 25 : Structures des différentes classes des flavanols [126].

2.4 Bioactivité des polyphénols

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques [127]. Ces composés montrent des

activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, anti-athérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux [128], anti-allergènes, vasodilatateurs [129] et antioxydants [130].

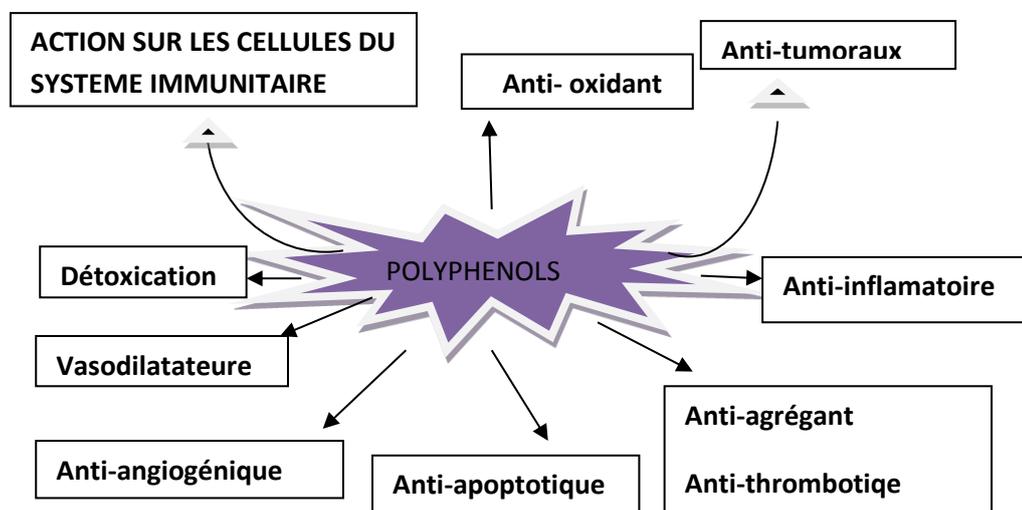
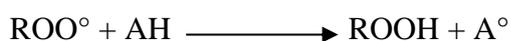


Figure 26: Effets biologiques des polyphénols [131].

2.4.1 Propriétés de piégeage des radicaux libres

Les polyphénols (AH) ont la possibilité de piéger les radicaux libres (tels que les perosxyles ou alcoxyles) grâce à la fonction donneur d'hydrogène (Figure 27).



Les polyphénols, selon leurs structures, et particulièrement la proximité de deux fonctions hydroxyles (par exemple deux fonctions –OH en position ortho sur le noyau B), ont aussi la possibilité de chélater des ions métalliques, et ainsi de prévenir la formation de radicaux libres catalysée par un métal de transition comme le fer dans la réaction de Fenton Haber-Weiss [132].

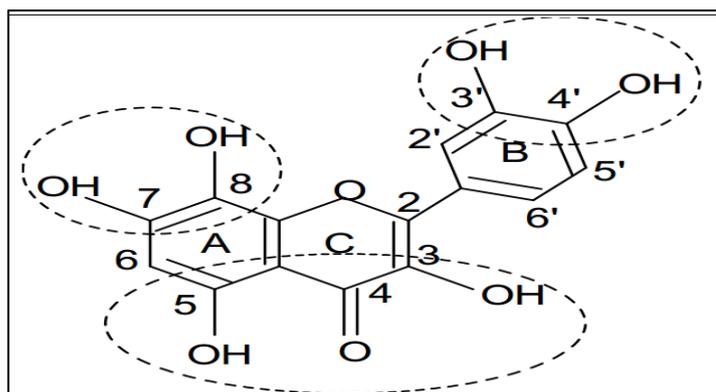


Figure 27: Critères structuraux essentiels pour avoir une bonne activité antiradicalaire des flavonoïdes [133].

2.4.2 Propriété anti-inflammatoire

L'inflammation excessive est considéré comme un facteur critique dans de nombreuses maladies humaines, notamment le cancer, l'obésité, le diabète de type II, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et le vieillissement [134].

Les composés dérivés de sources botaniques, tels que des composés phénoliques, ont montré une activité anti- inflammatoire *in vitro* et *in vivo*. Des données récentes suggèrent que les polyphénols peuvent travailler en tant que modificateurs de voies de transduction du signal pour obtenir leurs effets bénéfiques. Ces composés naturels expriment une activité anti-inflammatoire par modulation de l'expression des gènes pro-inflammatoires telles que la cyclo-oxygénase, la lipoxygénase, NO synthases et de plusieurs cytokines de pivotement, principalement en agissant par l'intermédiaire du facteur nucléaire kappa B et la protéine de signalisation de la kinase activée par le mitogène. Cet avis portera sur les données récentes sur le contrôle de la signalisation inflammatoire exercée par certains polyphénols alimentaires contenues dans l'alimentation méditerranéenne.

2.4.3 Polyphénols et maladies cardiovasculaires

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance [135].

Récemment, beaucoup d'études se sont concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une

incidence plus limitée en maladies du cœur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes [136]. Parmi les 17 flavonoïdes examinés par Xu et ses collaborateurs (2007), les agents de relaxation vasculaires les plus efficaces sont l'apigénine, lutéoline et la génisteine. Cette relaxation est attribuée à l'action directe des flavonoïdes sur le muscle lisse vasculaire,

2.4.4 Activité anti microbienne

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire [137].

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobiennes des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) [138].

Des flavonoïdes, une flavone et une flavanone, respectivement isolés des fruits de *Terminalia bellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont été montrés comme possédant l'activité contre le pathogène opportuniste *Candida albicans* [139].

Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia giraldi* ont été rapportés exhiber une activité contre l'espèce *Aspergillus flavus* une espèce de mycète qui cause la maladie envahissante chez les patients immunosuppresseurs [140].

2.4.5 Activité anti-tumorale

La plupart des flavonoïdes sont *in vitro*, antimutagènes ; à contrario, quelques flavonols sont sur les mêmes modèles mutagènes et un petit nombre d'entre eux sont anticancérogènes et inhibiteurs de la croissance des cellules tumorales *in vitro* [135].

Les effets anti-carcinogènes de la quercétine et d'autres flavonoïdes deviennent de plus en plus évidents. En 1996, Hollman et ses collaborateurs ont démontré que la quercétine n'était pas génotoxique et en revanche, elle a augmenté la stabilité génomique chez les rats ayant une cirrhose biliaire induite par la ligature cholagogue. En plus de l'activité anti-oxydante Li et

Jiang, (2007) ont observé une activité anticancéreuse, pour l'épicatéchine, procyanidine B2, procyanidine B4 de la fraction d'acétate d'éthyle.

2.4.6 Propriétés antiallergiques

Ces effets antiallergiques sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺ dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des monocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca²⁺ dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme [141].

2.4.7 Polyphénols et diabète

Des travaux multiples ont démontré les bienfaits des polyphénols sur les troubles et les complications métaboliques induites par le diabète. Les produits riches en polyphénols peuvent moduler le métabolisme des glucides et des lipides, atténuer l'hyperglycémie, la dyslipidémie et la résistance à l'insuline, améliorer le métabolisme du tissu adipeux, et atténuer le stress oxydatif et les voies de signalisation sensibles au stress et les processus inflammatoires. Les composés polyphénoliques peuvent également prévenir le développement de complications du diabète à long terme, y compris les maladies cardiovasculaires, neuropathie, néphropathie et la rétinopathie [142].

Les polyphénols du thé modulent la glycémie à travers plusieurs mécanismes incluant la modification de la production hépatique de glucose [143] ou l'augmentation de sa captation par les tissus périphériques. In vitro, des extraits de thé vert de thé brun, et l'épigallocatechine gallate (EGCG) augmentent la captation périphérique du glucose par des adipocytes de rats [144] Le thé inhibe également l'activité des transporteurs du D glucose dans l'épithélium intestinale [145].

PARTIE II

ETUDE EXPERIMENTALE

Matériels et méthodes

1. Animaux et conditions d'hébergement

Les animaux d'expérience sont des rats Malle de variété *Wistar*, pesant entre 200-250 g. Dès leur réception, les rats sont placés aléatoirement en groupe de 6 rats dans des cages standard pour une période d'acclimatation (2 semaines) avant d'être utilisés dans les différentes expériences. Pendant cette période les animaux ont un accès libre à la nourriture et à l'eau et sont maintenus dans une animalerie à température constante, soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h.

2. Evaluation de l'activité antidiabétique de l'extrait butanolique du plant *Chrysanthemum sp* et l'extrait éthyle acétate du thé vert

2.1. Induction de diabète expérimental

Le diabète sucré est induit chez le rat par injection intraveineuse de la streptozotocine "STZ" (S-0130 Sigma). La STZ est préparée dans du tampon citrate 100 mM, pH 4,5 d'une concentration de 55 mg/ml [146].

****Action de cette substance chimique :***

Action diabétoène en détruisant de manière sélective les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas.

L'action de la STZ sur les cellules β des îlots de Langerhans est accompagnée par des altérations caractéristiques des concentrations sanguines d'insuline et de glucose. L'injection de la STZ conduit finalement à une hyperglycémie chronique et à une diminution de la concentration sanguine en insuline. Les rats contrôles reçoivent une injection de tampon citrate seul.

****Confirmation du diabète***

- 72 heures après l'injection de la STZ
- [glucose] sanguin mesurée au niveau de la veine de la queue à l'aide d'un glucomètre
- [glucose] sanguin > 250 mg/dL-1
- perte de poids

Pour évaluer l'effet préventif et antidiabétique de l'extrait butanolique de la plante *Chrysanthemum sp* et l'extrait éthyle acétate du thé vert sur les rats diabétique durant 20 jours, quatre groupes de rats sont utilisés à cet effet :

- groupe témoin reçoit une injection de citrate buffer (100 mM, pH 4,5)

- groupe diabétique.
- groupe diabétique reçoit un traitement par l'extrait butanolique de la plante *Chrysanthemum sp* une semaine avant l'induction du diabète (traitement par gavage), et 20 jours après.
- groupe diabétique reçoit un traitement par l'extrait éthyle acétate du thé vert une semaine avant l'induction du diabète (traitement par gavage), et 20 jours après.

Après le traitement, les rats sont sacrifiés par dislocation cervicale et le foie ; rein et pancréas sont prélevés, pour l'analyse des paramètres du stress oxydant. Le prélèvement du sang se fait à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil des rats. Le sang récupéré est immédiatement centrifugé à 4000 t/min pendant 10 minutes à 10°C, pour l'analyse des paramètres biochimiques.

2.2. Dosage des paramètres du stress oxydant

2.2.1. Dosage de la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique dans le foie ; rein et pancréas est évaluée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode d'Ohkawa *et al.*, 1979. Le MDA est l'un des produits terminaux de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) sous l'effet des radicaux libres libérés au cours du stress. En milieu acide et à chaud (pH 2 à 3, 100 °C) une molécule de MDA est condensée avec deux molécules de thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose (lecture à 532 nm). Le principe de cette méthode est résumé ainsi (figure 6)

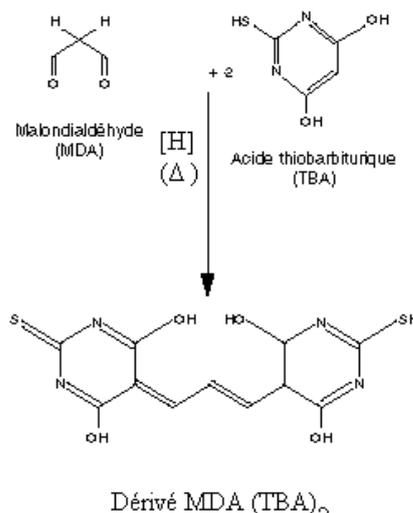


Fig6 : Principe du dosage du malondialdéhyde

Pour le dosage de l'MDA, 20% de chaque organe (foie, reins et le pancréas) est additionné à un solution de KCl (1.15 %) puis broyage par un homogénéiser de Dounce (Kontes, *Glass companyan ISO-9001 steered firm, New Jersey USA*). À 0,5 ml de l'homogénat 0,5 ml d'acide phosphorique 20 % et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 % sont additionnés. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 45 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/minute, l'absorbance est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 532 nm.

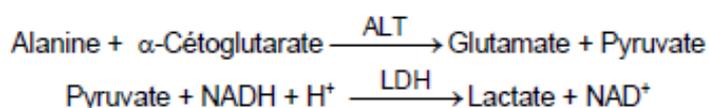
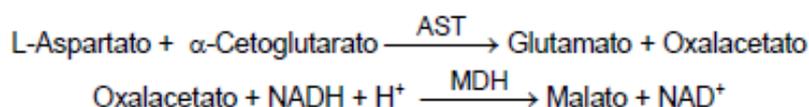
2.2.2. Dosage de glutathion (GSH)

Le dosage du GSH est basé sur la méthode colorimétrique d'Ellman (1959). Le dosage de glutathion est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- Dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm, Pour ce dosage, un gramme de chaque organes (frais ou congelé) est homogénéisé dans trois volumes de TCA 5 % à l'aide d'un broyeur de Dounce puis centrifugé à 2000 rpm. 50 µl de surnageant sont dilués dans 10 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 8). À 3 ml du mélange de dilution, 20 µl de DTNB (0,01 M) sont additionnés. L'absorbance est lue à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 5 %.

2.3. Dosage des paramètres biochimique

2.3.1. Préparation de sérum et le test de la fonction hépatique

Après les différents traitements, les rats sont décapités par dislocation cervicale le sang collecter dans des tubes non héparinés puis centrifuger à 3000 rpm pendant 10 min pour récupérer le sérum. Les activités enzymatiques de l'ASAT et de L'ALAT, biomarqueurs de la fonction hépatique, sont déterminées par colorimétrie en utilisant des Kits du commerce (SPINREACT, SPAIN). Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4-dinitrophénylhydrazones.



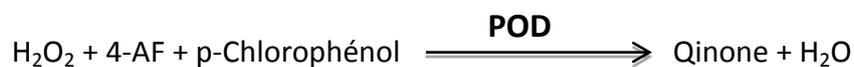
2.3.2. Dosage du cholestérol total

Dans notre étude, le cholestérol a été déterminé suivant une méthode enzymatique colorimétrique. Après hydrolyse enzymatique puis oxydation, l'indicateur 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. L'intensité de la coloration de la quinoneimine mesurée à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon du sérum.



2.3.3. Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides a été effectué suivant une méthode enzymatique colorimétrique quantifiant le glycérol libéré après action de la lipase. L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité de triglycérides contenue dans l'échantillon du sérum.



2.3.4. Dosage du glucose

Le dosage du glucose sérique est basé sur une technique enzymatique colorimétrique par Kit-Prochima par la méthode de Trinder (1969). Le D-glucose est transformé par le glucose oxydase en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène lequel oxyde, en présence de la peroxydase, le phénol en un complexe chromogène coloré en rouge dont l'absorbance est mesurée à 505 nm

2.5. Evaluation statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test t de Student. 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 est significative*;

$p < 0,01$ = la différence est significative** ;

$p < 0,001$ = la différence est très hautement significative*** ;

ns = la différence est non significatif par rapport au group témoin.

Le calcul statistique est réalisé par SPSS 13.0

PARTIE III

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats et interprétation

1. La variation de la glycémie

La STZ provoque une augmentation significative de la glycémie chez les deux groupes de rats diabétiques (témoin et traité) par rapport au groupe de rats sains témoins ($P < 0.001$). Les résultats de l'effet antidiabétique de l'extrait butanolique et l'extrait acétate d'éthyle du thé vert sur les rats diabétiques durant 20 jours sont illustrés par la figure 28.

Nous constatons qu'il y a une réduction très significative et /ou hautement significative de la glycémie ($p < 0.01$ et $p < 0.001$) chez les rats diabétiques traiter par les deux extraits.

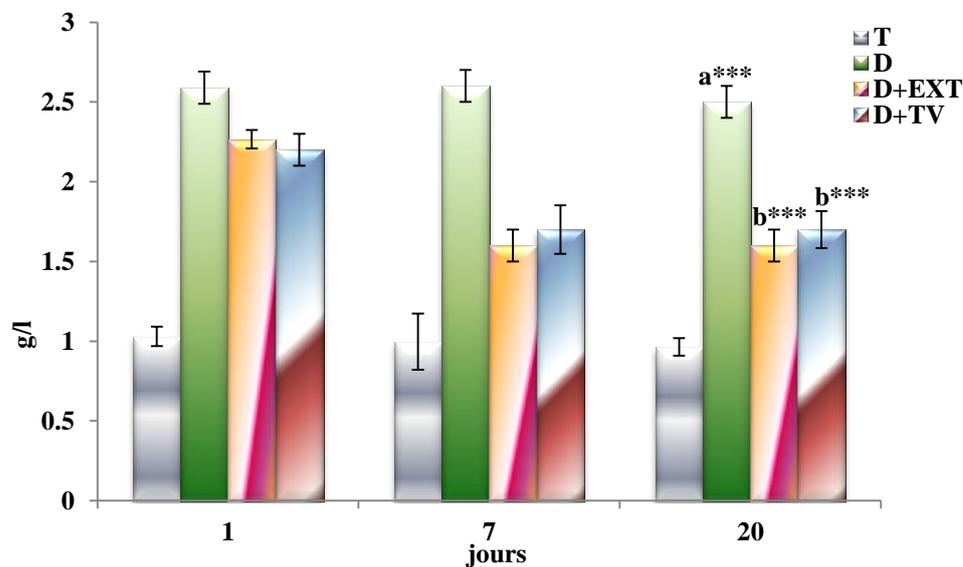


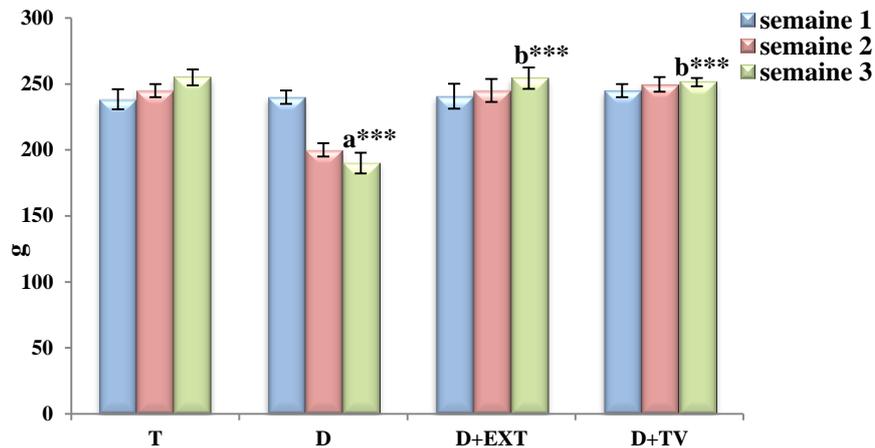
Figure 28 : L'influence de l'administration de l'extrait butanolique et acétate d'éthyle sur la glycémie pendant les 20 jours. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type, $n = 6$, *** : $P < 0.001$, (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats diabétiques.

2. La variation du poids corporelle

La figure 29 représente les résultats obtenus de la variation de poids corporel des groupes des rats normaux et des rats rendus diabétiques par STZ après un traitement quotidien de 20 jours soit par un extrait butanolique de la plante *Chrysanthemum sp* a une dose de (200 mg/kg) soit par l'extrait acétate d'éthyle du thé vert (100 mg/kg).

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que l'injection de la STZ induisait un diabète caractérisé par une perte sévère du poids corporel chez le groupe de rats diabétiques témoins, une variation significative par rapport aux rats témoins ($P < 0.001$)

Chez le groupe diabétique traité, l'administration par gavage soit de l'extrait butanolique ou acétate d'éthyle pendant trois semaines a permis d'améliorer le changement du poids corporel par rapport au groupe diabétique témoin ($P < 0.001$).



*Figure 29 : L'influence de l'administration de l'extrait butanolique et acétate d'éthyle sur le poids corporel pendant 3 semaines. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type, $n = 6$, *** : $P < 0.001$, (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats diabétiques.*

3. Effet des deux extraits sur la peroxydation lipidique

La figure 30 illustre l'effet des deux extraits sur la variation du MDA dans les différents tissus (foie, rein et pancréas) chez les rats diabétique.

Nous avons constaté (dans le foie et pancréas) une élévation très hautement significative ($p < 0.001$) du MDA chez les rats diabétiques et non traités par rapport au groupe témoin normal. Par ailleurs, aucune variation significative du MDA n'est constatée chez les rats diabétiques et traités par l'extrait (n'ont aucune différence significative avec celle obtenue avec le témoin normal). Ce résultat explique probablement la protection des animaux par les deux extraits contre le stress oxydatif dans le foie.

La lipoperoxydation est matérialisée par une augmentation significative ($p < 0.01$) du MDA (au niveau du rein) comparé au groupe témoin.

Le prétraitement par les deux extraits diminue l'oxydation des lipides chez les rats et normalise la valeur du MDA comparé au groupe témoin. Ce résultat explique probablement la protection des animaux par les flavonoïdes contre le stress oxydatif.

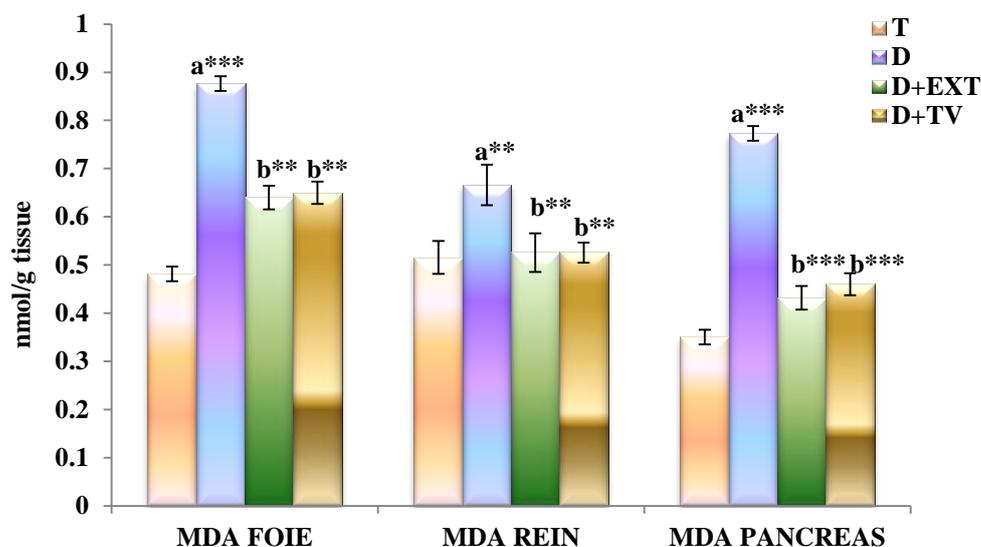


Figure 30 : Effet de l'extraits butanolique et acétate d'éthyle sur la production du MDA dans les différents tissus (foie, rein et pancréas). Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type, $n = 6$, *** : $P < 0.001$, ** : $P < 0.01$, (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats diabétiques.

4. Effet des deux extraits sur le GSH

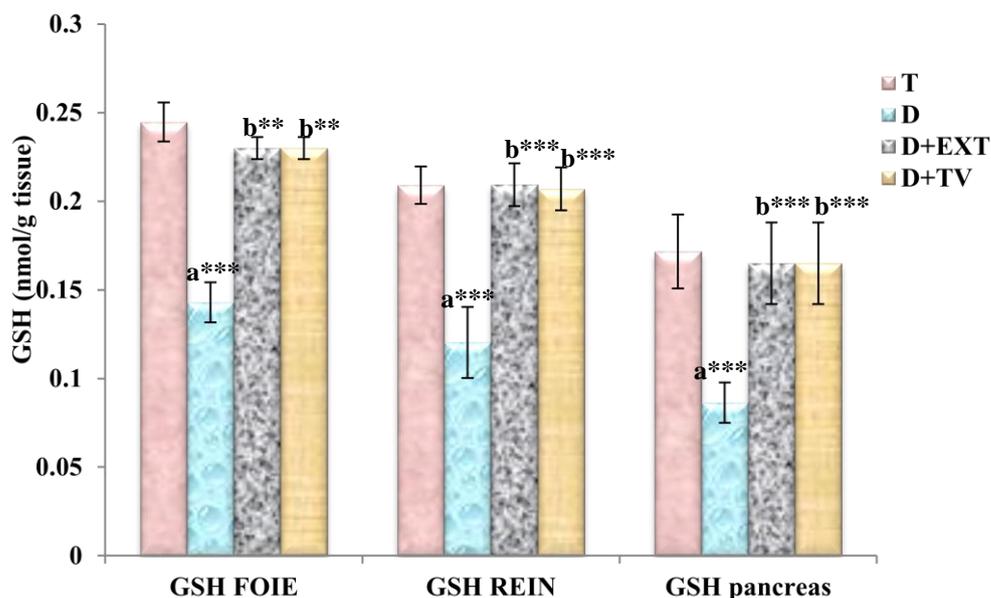


Figure 31: Effet de l'extraits butanolique et acétate d'éthyle sur μ le niveau de GSH dans les différents tissus (foie, rein et pancréas). Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type, $n = 6$, *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$, (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats diabétiques.

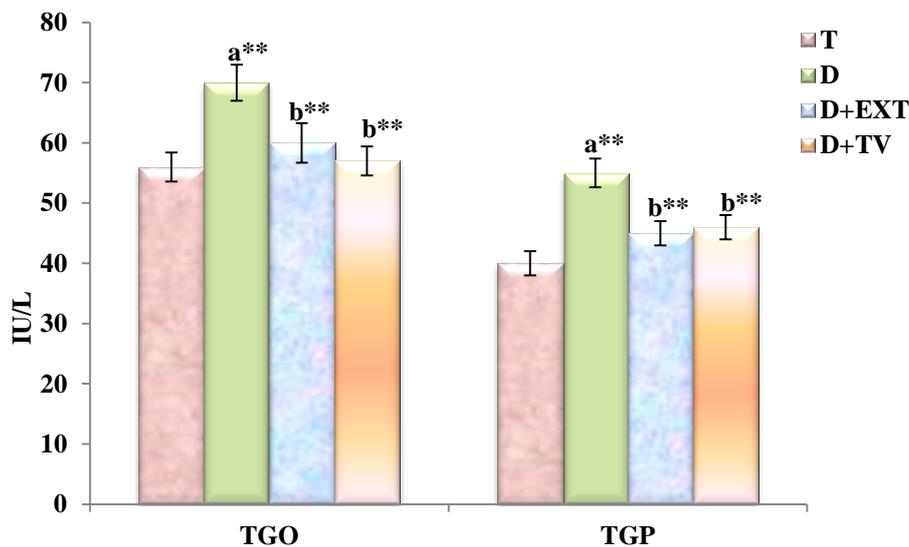
Nous avons remarqué au niveau du rein une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de GSH chez les rats diabétiques par rapport au groupe témoin normal. Par contre, aucune variation significative de GSH n'est constatée chez les rats diabétiques et prétraités par l'extrait n'ont aucune différence significative avec celle du témoin normal.

L'administration de l'extrait butanolique et acétate d'éthyle a augmenté le taux du glutathion réduit (GSH) dans les tissus des rats diabétiques (foie et pancréas) par rapport au groupe témoin positif. Une variation significative de GSH chez les rats diabétiques par rapport au groupe témoin normal ($p < 0.001$).

5. Effet de diabète sur la fonction hépatique et l'action hépatoprotecteur de l'extrait butanolique de *Chrysanthemum sp* et l'extrait éthyle acétate du thé vert

L'effet de diabète sur les fonctions hépatiques avec ou sans l'extrait est illustré par la figure 32. Sur cette figure on constate une élévation significative ($p < 0.01$) du niveau sérique de TGO chez les rats diabétique contre le groupe témoin.

L'administration de l'extrait de la plante et du thé vert temporise, l'effet de diabète et normalise la valeur de cette enzyme contre le témoin. Les mêmes remarques pour les variations de la TGP. L'extrait butanolique de la plante et l'extrait acétate d'éthyle du thé vert préservent le foie contre la toxicité provoquée par l'hyperglycémie.



*Figure 32 : Effet de l'extrait butanolique et acétate d'éthyle sur la fonction hépatique et sa libération des transaminases. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type, $n = 6$, **: $P < 0.01$, (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats diabétiques.*

6. Effet de diabète sur le cholestérol et les triglycérides et l'action protecteur des extraits

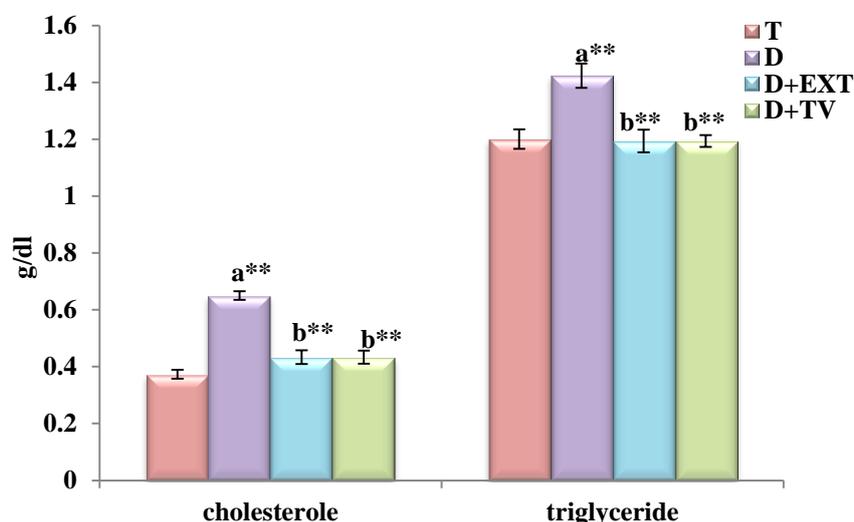


Figure 33 :l'effet protecteur de l'extraits butanolique et acétate d'éthyle sur les paramètres biochimique (cholestérol et triglycéride) chez les déférents lots de rats traités et témoins. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type, $n = 6$, **: $P < 0.01$, (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats diabétiques.

Selon ces résultats présentés dans la figure 10, on trouve que le taux du cholestérol augmente significativement ($p < 0.01$) chez les rats diabétiques contre le groupe témoin. Par contre chez les rats diabétique traités par l'extrait butanolique (200mg/kg) et l'extrait éthyle acétate du thé vert (100mg/kg), L'administration des deux extraits temporeise l'effet de l'hyperglycémie et normalise la valeur du cholestérol.

Les mêmes remarques pour les variations des triglycérides: une élévation significative ($p < 0.01$) du taux des triglycérides chez les rats diabétique. Les deux extraits réduit les valeurs chez les diabétique. Ce qui montre que notre extrait a un effet efficace diminuant l'excès du cholestérol et Triglycérides dans le sang.

Discussion :

Le diabète Mellitus est un syndrome caractérisé par des troubles dans le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines, «le paramètre d'or» de diagnostic est l'hyperglycémie. Le stress oxydative, est un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la capacité de défense antioxydante. Ce stress est caractérisé par une augmentation de l'indice de peroxydation lipidique et la baisse de l'activité des enzymes antioxydantes dans les conditions d'hyperglycémie [147].

Le but de cette étude est :

- Confirmer l'effet hypoglycémique et hypolipidémique de l'extrait butanolique de la plante *Chrysanthemum sp* a une dose de (200 mg/kg) et l'extrait acétate d'éthyle du thé vert (100 mg/kg) chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine par mesure de la glycémie et du profil lipidique sanguin (cholestérol total, et triglycérides).
- Evaluer le pouvoir protecteur et antioxydant de l'extrait butanolique de la plante *Chrysanthemum sp* et l'extrait acétate d'éthyle du thé vert et de ses capacité de protéger les tissus hépatiques , rénaux et pancréatiques des dommages tissulaires qui peuvent être causés par la production excessive des espèces réactives de l'oxygène et des produits de peroxydation lipidiques lors du diabète par mesure du taux du mlonyldialdéhyde (MDA) et du Glutathion réduit (GSH) chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

La stréptozotocine est un anticancéreux utilisé dans la chimiothérapie systémique, cet analogue du glucose est l'un des médicaments les plus utilisés dans le traitements des tumeurs endocrines du pancréas à cause de son efficacité thérapeutique est sa forte spécificité, il est métabolisé dans les cellules bêta de Langerhans chez les animaux et l'homme pour donner deux métabolites, le glucose et 1-Methyl-1-nitrosuré, ce dernier qui possède un pouvoir alkylant est considéré comme un puissant toxique pour les cellules bêta, l'injection de la STZ induit la nécrose des cellules bêta par la génération des radicaux libres, provoquant une carence en insuline et donc une hyperglycémie permanente caractéristique d'un diabète de type 1.

Malgré que le pancréas est l'organe cible du STZ grâce à sa carence en système antioxydant et à sa capacité de capter cette molécule, autres tissus vont être aussi endommagés par celle-ci, s'il n'été pas directement par le pouvoir alkylant de cette molécule, leur endommagement sera le résultat finale d'un stress oxydant causé par l'hyperglycémie permanente.

Le thé est une source très importante des polyphénols notamment des flavonoïdes dont le rôle est la neutralisation des radicaux libre. Les propriétés pharmacologiques du thé vert sont dues principalement à la présence des polyphénols. Près de trois-quarts de ces derniers appartiennent au groupe des flavanols, couramment appelés les tannins, et largement représentés par des catéchines dont le plus important est l'épigallocatechine (EGC) et son gallate (de 48 à 55 % du contenu total en polyphénols).

L'activité bénéfique de thé vert sur la santé est essentiellement attribuée aux propriétés antioxydantes de ses polyphénols. Cet effet thérapeutique est dû à la présence des groupes hydroxyles du noyau B des catéchines non gallate (EC) et (EGC) et aussi des hydroxyles du noyau B et D des catéchines gallate (EGC) et (EGCG). La présence de 3,4,5- trihydroxyl sur le noyau B a montré une activité antioxydante très importante. Il est capable de piéger et neutraliser les radicaux libres. Les polyphénols du thé vert sont capables d'inhiber le stress oxydant non seulement en piégeant les ROS par transfert d'électron ou d'atome d'hydrogène, mais aussi, en chélatant les ions des métaux de transition sous des complexes inertes. De nombreux travaux scientifiques ont rapporté que les catéchines du thé vert ont un pouvoir antioxydant plus puissant que celui de la vitamine C et E [108], ils sont des réducteurs chimiques et donc oxydables. Cela est directement apparent lors de la transformation des feuilles de thé vert l'EGCG et oxydée en présence d'oxygène par le polyphénol oxydase [148].

Dans la présente étude, Les rats rendus diabétique par l'injection d'une dose de 55 mg/kg de la STZ ont montré une augmentation significative du taux du glucose dans le sang par rapport aux rats témoins. Ceci est consistant avec les résultats des autres études antérieures [149], [150], [151]. Cet effet est expliqué par la cytotoxicité du STZ aux cellules β de Langerhans pancréatique soit par une injection intraveineuse ou intrapéritonéale [151], l'action cytotoxique de la STZ est due à une fraction de sa structure similaire au glucose qui lui permet de se fixer sur les récepteurs du glucose et pénétrer dans ces cellules et provoquer la régénération des dérivés réactifs de l'oxygène et la formation des adduits au niveau d'ADN, ce qui va conduire au déclenchement de la mort programmé des cellules pancréatiques [152]. Par contre Le traitement des rats diabétiques par l'extrait d'acétate d'éthyle du thé vert (100mg/kg) ou l'extrait botanologique de la plante *Chrysanthemum sp* (200mg/kg) induit une diminution significative de la glycémie par rapport aux rats diabétique non traités. Cela est dû aux polyphénols qui modulent la glycémie à travers plusieurs mécanismes incluant la modification de la production hépatique de glucose [143] ou l'augmentation de sa captation

par les tissus périphériques. Le thé inhibe également l'activité des transporteurs du D glucose dans l'épithélium intestinale [145].

Dans la pressante étude on a noté une diminution du poids corporel chez Le groupe diabétique par rapport au groupe témoin. Cela est dû au manque d'insuline dans le sang, le sucre ne peut pas entrer à l'intérieur des cellules, et pour cela Le corps tente de se débarrasser l'excès de sucre par l'excrétion dans les urines, ce processus nécessite l'excrétion de l'eau en forte quantité, et par conséquence la réduction du poids corporel [153].

D'autre part une augmentation significative progressive du poids corporel a été observée chez les groupes traités par l'extrait butanolique de la plante *Chrysanthemum sp* et par l'extrait acétate d'éthyle du thé vert par rapport au groupe diabétique témoin, Cela est dû à l'effet hypoglycémiant du thé vert et de la plante *Chrysanthemum sp*.

La peroxydation lipidique représente un marqueur clé du stress oxydant, la mesure des produits de la peroxydation peut refléter le degré du stress oxydant. Selon les résultats qu'on a obtenu, le taux de l'MDA a augmenté significativement chez les rats diabétiques, cette élévation est un indice qui suggère qu'il y a une forte peroxydation lipidique au niveau hépatique, rénale et pancréatique suite à l'injection de la STZ, cette augmentation peut être due à la diminution des antioxydants enzymatique et non enzymatique [155] comme l'acide ascorbique et le tocophérol qui jouent un rôle coopératif très importants dans l'inhibition du phénomène de la peroxydation lipidique et la formation de ses produits dangereux au niveau cellulaire [156]. La diminution des antioxydants endogènes est due à l'hyperglycémie permanent qui génère des radicaux libres comme on a mentionné dans la synthèse bibliographique. Par ailleurs, les groupes traités par l'un des deux extraits ne montrent aucune différence significative avec celle obtenue chez les rats témoins. Cela et du à l'effet chimio-protecteur anti-radicalaire de thé vert et la plante *Chrysanthémum sp*, qui sont riches on polyphénols comme on a vu précédemment.

Le glutathion réduit (GSH) est l'antioxydant non enzymatique le plus abondant dans les cellules et qui joue un rôle très importants dans la maintenance du potentiel redox au niveau de la cellule, il constitue la première ligne de défense antiradicalaire [157]. le mécanisme moléculaire de la déplétion de la concentration du GSH est médié par la diminution de l'activité de l'enzyme clé de la synthèse du GSH, γ -glutamylcysteine synthetase (γ -GCS) ou par la dégradation importante du glutathion au cours du diabète [157], une autre explications est que cette déplétion due à l'augmentation de la concentration des intermédiaires de la

peroxydation lipidique observées dans ces conditions qui joue probablement un rôle très important dans la promotion des altérations du gène codant de cette enzyme ou la protéine elle-même [158], [159].

D'après les résultats obtenus, on a noté une diminution significative ($p < 0.01$) de la concentration du GSH au niveau du foie et reins, une diminution hautement significative au niveaux du pancréas ($p < 0.001$) chez les rats diabétiques par rapport au groupe témoin, par contre chez les rats diabétique traités par l'extrait butanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle, l'administration de ces deux extraits a augmenté le taux de GSH dans les différents tissus, ceci est expliqué par le pouvoir antioxydant des polyphénols contenus dans les deux extraits et qui ont diminué le statu redox et cela prévienne la déplétion de la concentration du GSH.

Dans la pressante étude le taux des transaminases chez les rats diabétiques a augmenté significativement par rapport au groupe témoin par contre les rats traités par les deux extrais n'ont montré aucune différence significative par rapport aux rats témoins, Plusieurs études ont investigué l'effet du diabète sur le foie, pendant une longue période de temps (de 2 mois à 10 ans). La présente étude démontre que, même à relativement court terme (3 semaines) le diabète induit des effets significatifs sur le foie. L'augmentation des transaminases est due à L'hyperglycémie qui renforce un déséquilibre des réactions d'oxydo-réduction dans les hépatocytes, contribuant à l'augmentation des radicaux libres, qui provoque la peroxydation lipidique comme on a vu dans la synthèse bibliographique, l'endommagement des membranes et donc la lyse cellulaire, les transaminases (ASAT, ALAT) avec le contenu des cellules finalement sont libérées dans le sang.

On a noté une augmentation significative du taux des triglycérides plasmatiques chez les rats diabétiques suite à l'injection de la STZ par rapports aux rats non diabétiques [160]. On peut expliquer cette augmentation par le fait que le diabète est un facteur hyperlipémiant [161], l'augmentation de la concentration des triglycérides dans les conditions diabétique est associée à la surproduction hépatique de ceux-ci [162] et la mauvaise clairance des lipoprotéines riches en triglycérides, celle-ci aussi se traduit par la diminution de la concentration de l'enzyme lipoprotéine lipase par rapport aux rats non diabétique [163]. Par contre chez les groupes diabétiques traités par l'extrait d'acétate d'éthyle de thé vert et l'extrait botanulique de la plante *Chrysanthemum sp* La concentration plasmatique des triglycérides (TG) est diminuée par rapport au groupe diabétique non traité. Ces résultats montrent que ces deux extraits ont un effet hypolipémiant.

Plusieurs études expérimentales ont montré que les flavonols et particulièrement l'épigallocatechin3-gallate (EGCG) de thé réduisent le taux de cholestérol *in vivo* et inhibe l'oxydation des lipoprotéines à basse densité (LDL) *in vitro* [108] et donc fourni une protection contre les maladies cardiovasculaires. Dans cette étude le taux du cholestérol a augmenté significativement chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins, cela est due à l'altération de son métabolisme à cause de la glycation de la lipoprotéine B riche en cholestérol [164] et la diminution de l'activité des récepteurs des LDL au niveau des hépatocytes. Par contre, on a noté une diminution significative du taux de cholestérol chez les rats diabétiques traités par l'extrait du thé vert ou l'extrait de la plante *Chrysanthemum sp*, cela et du a l'effet protecteur de ces deux extraits contre les maladies cardiovasculaires.

Conclusion

Le diabète est associé à une incidence élevée de maladies cardiovasculaires, hépatiques et rénales. 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 notre étude ont révélé que la consommation du thé vert ou la plante *Chrysanthemum sp* quotidiennement a permis de réduire d'une manière significative le taux de glucose, l'MDA, le cholestérol, les triglycérides, et les transaminases, ces deux extraits ont démontrés non seulement un pouvoir anti-radicalaire par l'augmentation du GSH qui représente la première ligne de défense anti-radicalaire, mais aussi un pouvoir hypoglycémiant, hypolipémiant, et hépato-protecteur vis-à-vis le diabète sucré induit par l'injection de la streptozotocine chez des rats Wistar, C'est deux plantes qui sont riches en polyphénols sont des moyens de contrôle des facteurs de risque hépatique et cardiovasculaires et qui jouent un rôle chimio-protecteur contre le stress oxydant et contre l'évolution du diabète vers ses complications.

.Référence :

- (1) **Malardé L. (2012).** Activité physique et produits dérivés du soja : intérêts dans la prise en charge du stress oxydant associé au diabète de type 1, thèse du doctorat.
- (2) **BENARABA R (2007).** Thèse de doctorat de l'université JOSEPH FOURIER
- (3) **Rai PK., Rai NK., Walter G. (2007).** Role of LIBS in elemental analyse of *Psidium guajava* esponsible for glycemc potential. 35 :507-522
- (4) **Boopathy R., Elanchezhiyan C., Senthupathy S. (2010).** Antihyperlipidemic activity of Helicteres Isora fruit extract on streptozocine induced diabetic mal Wistar rats. *European review for medical and pharmacological Sciences.* 14 :191-196
- (5) **Ramachandran V., Mandal D., Payyavala U., Sangai Palaniswami D., Muthureddy Nataraj S., Shanish A., kannan E. (2011).** Hypoglycemic, anioxidant and hypolipidemic activity of Asparagus racemosus on streptozotocin-induced diabetc in rats. *Advances in Applied Science Research.*2(3) :179-185.
- (6) **Devendra D., Eisenbarth G.S. (2003).** Immunologic endocrine disorders. *J Allergy Clin Immunol.* 111:624-636.
- (7) **Pugliese A., Eisenbarth .G.S. (2004).** Type 1 diabetes mellitus of man: genetic susceptibility and resistance. *Adv Exp Med Biol.* 552: 170-203.
- (8) **She J.X., Marron M.P. (1998).** Genetic susceptibility factors in type 1 diabetes: linkage disequilibrium and functional analyses. *Curr Opin Immunol.*10: 682-699.
- (9) **Hagopian W. A., Michelsen B., Karlsten A. E., Larsen F., Moddy A., Grubin C.E. (1993).** Autoantibodies in IDDM primarily recognize the 65,000-M(r) isoform of glutamic acid than the 67,000M(r) isoform of glutamic acid decarboxylase. *Diabetes.* 42: 631-636.
- (10) **Roep B.O., Duinkerken G., Schreuder G.M., Kolb H.De., Vries R.R., Martin S., HLA. (1996).** associated inverse correlation between T cell and antibody responsiveness to islet autoantigen in recent-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Immunol.* 26: 1285-1299.
- (11) **Jiwa F. (1997).** Diabetes in the 1990s-an overview. *Diabetes Care.* 20:1183-1197.
- (12) **Kilpatrick E. S., Rigby A. S., Atkin S. L. (2007).** Insulin resistance, the metabolic syndrome, and complication risk in type 1 diabetes: "double diabetes" in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care.* 30(3): 707-12.
- (13) **Rosen P., Nawroth P.P., King G., Moller W., Tritschler H. J., Packer L. (2001).** The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society. *Diabetes Metab Res Rev.*17(3): 189-212.

- (14) **Favier A. (2003)**. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. p108-115.
- (15) **Diallo A. (2005)**. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Mali.
- (16) **Aruoma OI., PhD., DSc., MBA., FRSC. (1999)**. Free radicals, antioxidants and international nutrition, *Asia Pacific J Clin Nutr*. 8(1): 53-63.
- (17) **Barouki R. (2006)**. Stress oxydant et vieillissement, *MEDECINE/SCIENCES* 2006. 22: 266-272.
- (18) **Haton C. (2005)**. Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, pp : 43.
- (19) **Yzydorkzyk C. (2011)**. Rôle du stress oxydant en période néonatale dans l'hypertension artérielle et la dysfonction vasculaire et métabolique de l'adulte.
- (20) **Delattre Beaudeau J.L., Bonnefont Roisselot. (2005)**. Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier edition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris. 1-405.
- (21) **Wolin M.S. (1996)**. Reactive oxygen species and vascular signal transduction mechanisms. *Microcirculation*. 3 :1-17.
- (22) **Koechlin-Ramonatxo C. (2006)**. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20: 165-177.
- (23) **Cadenas E., Davies J.A. (2000)**. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress and aging, *Free Radical Biology and Medicine*. 29. (3-4): 222-230.
- (24) **Reeves A. (2002)**. Métabolisme oxydatif du neutrophile, *Nature*. 416: 291-97.
- (25) **Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D. (2003)**. Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?, *L'actualité chimique*. P: 91-95.
- (26) **Crane B.R., Arvai A. S., Ghosh D. K., Wu C., Getzoff E. D., Stuehr D. J., Tainer J. A. (1998)**. Structure of nitric oxide synthase oxygenase dimer with pterin and substrate, *Science*. 297: 2121-2126.
- (27) **Zhu Y., Silverman R. B. (2008)**. Revisiting Heme Mechanisms. A Perspective on the Mechanisms of Nitric Oxide Synthase (NOS), Heme Oxygenase (HO), and Cytochrome P450s (CYP450s), *Biochemistry*. 47(8): 2231-2243.
- (28) **Griendling K.K., Sorescu D., Ushio-Fukai M. (2000)**. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ.Res*. 86: 494-501.

- (29) **Fukui T., Ishizaka N., Rajagopalan S. (1997).** P22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. *Circ.Res.* 80: 45-51.
- (30) **Li H., Witte K., August M. (2006).** Reversal of endothelial nitric oxide synthase uncoupling and up-regulation of endothelial nitric oxide synthase expression lowers blood pressure in hypertensive rats. *J Am. Coll.Cardiol.* 47: 2536-2544.
- (31) **Hink U., Li H., Mollnau H. (2001).** Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ.Res.* 88: 14-22.
- (32) **Warnholtz A., Nickenig G., Schulz E. (1999).** Increased NADH-oxidase-mediated Superoxide production in the early stages of atherosclerosis: evidence for involvement of the renin-angiotensin system. *Circulation.* 99: 2027-2033.
- (33) **Huemer M., Vonblon K., Fodinger M. (2006).** Total homocysteine, folate, and cobalamin, and their relation to genetic polymorphisms, lifestyle and body mass index in healthy children and adolescents. *Pediatr.Res.* 60: 764-769.
- (34) **Ardestani A., Yazdanparast R. (2007).** Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts, *Food chemistry.* 104 (1) : 21-29.
- (35) **Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme.* 16: 233-239.
- (36) **Cai H., Harrison D. G. (2000).** Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res.* 87(10): 840-844.
- (37) **Mohammedi Z. (2006)** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister.Tlemcen.
- (38) **Shimizu T., Bowers A. N., Budzynski C. A., Kahn M. C., Bingman V. P. (2004).** *What does a pigeon (Columba livia) brain look like during homing? Selective examination of ZENK expression.* 118: 845-851.
- (39) **Pouget J.P. (2000).** Effet du rayonnement ionisant sur l'ADN cellulaire : mesure des bases puriques et pyrimidiques modifiées.
- (40) **Hennebelle T., Sahpaz T., Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif, *Phytothérapie.* 1: 3-6.
- (41) **Gardner H.W., Hamberg M. (1993).** Oxygenation of (3Z)-nonenal to (2E)-4hydroxy-2-nonenal in the broad bean (*Vicia faba*L.). *J Biol. Chem.* 268: 6971-6977.
- (42) **Dessens A.B., Haas H.S., Koppe J.G. (2000).** Twenty-year follow-up of antenatal corticosteroid treatment. *Pediatrics,* 105, E77.

- (43) **Kumagai K., Abe T., Brechue W.F., Ryushi T., Takano S., Mizuno M. (2000).** Sprint performance is related to muscle fascicle length in male 100-m sprinters. *J Appl Physiol.* 88(3): 811-816.
- (44) **Esterbauer H., Schaur R.J., Zollner H. (1991).** Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, Malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic.Biol.Med.* 11: 811-828.
- (45) **Hecker M., Brüne B., Decker K., Ullrich V. (1989).** The sulfhydryl reagent thimerosal elicits human platelet aggregation by mobilization of intracellular calcium and secondary prostaglandin endoperoxide formation. *Biochem Biophys Res Commun.* 31(3): 961-8.
- (46) **Morrow J.D., Hill K.E., Burk R.F., Nammour T.M., Badr K.F., and Roberts L.J. (1990).** A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc.Natl.Acad Sci U.S.A.* 87: 9383-9387.
- (47) **Durand D., Scislowski V., Gruffat D., Chilliard Y., Bauchart D., (2005).** High-fat rations and lipids peroxidation in ruminants: consequences on the health of animals and quality of their products. In: Indicators of milk and beef quality. 137-148.
- (48) **Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S., Mc Cord JM. (2000).** The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.* 108: 652-659.
- (49) **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jurgens G. (1992).** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med.* 13: 341-390.
- (50) **Menon S.G., Goswami P.C. (2007).** A redox cycle within the cell cycle :ring in the old with the new. *Oncogene.* 26: 1101-9.
- (51) **Halliwel B. (1994).** Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews.* 52: 253-265.
- (52) **Abreu H et coll. (2010).** Performance of the electronic readout of the ATLAS liquid argon calorimeters, *JINST.* 5.P09003.
- (53) **Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin MT., Mazur M., Telser J. (2006).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 39(1): 44-84.
- (54) **Frank M., Faraci Sean P., Didion. (2004).** Vascular Protection Superoxide Dismutase Isoforms in the Vessel Wall. *Thrombosis and Vascular Biology.* 24: 1367.
- (55) **Kirkman H.N., Gaetani G.F. (2007).** mammalian catalase: a venerable with new mysteries. *Trends Biochem Sci.* 32: 44-50.
- (56) **Thérond P., Bonnefont-Rousselot D. (2005).** Systèmes antioxydants endogènes. In: Radicaux Libres et stress oxydants. Aspects biologiques et pathologiques. chap. 4 : 87-111.

- (57) **Brigelius-Flohe R., and M.G., Traber. (1999).** Vitamin E: function and metabolism. *FASEB JI.* 3: 1145-1155.
- (58) **Kryukov G.V., Castellano S., Novoselov S.V., et coll. (2003).** Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science.* 300: 1439-1443.
- (59) **Galvani S., Coatrieux C., Elbaz M., Grazide M.H., Thiers J.C., Parini V., Uchida N., Kamar L., Rostaing M., Baltas R., Salvayre A., Nègre-Salvayre. (2008).** Free Radic. *Biol. Med.* 45: 1457-1467.
- (60) **Yamawaki H., Haendeler J., and Berk B.C. (2003).** Thioredoxin: a key regulator of cardiovascular homeostasis. *Circ.Res.* 93: 1029-1033.
- (61) **Tenhunen R., Marver H.S., Schmid R. (1968).** The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. *Proc.Natl.Acad Sci U.S.A.* 61: 748-755.
- (62) **Choi A.M., Alam J. (1996).** Heme oxygenase-1: function, regulation, an implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury. *Am.J Respir. Cell Mol.Biol.* 15: 9-19.
- (63) **Pincemail J.O., Defraigne M., Meurisse R., Limet. (1998).** Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires 2Eme partie: la vitamine E, *MEDI SPHERE*, MS 90.
- (64) **Whitman M., Ketsawatsakul U., Halliwell B. (2002b).** A reassessment of the peroxynitrite scavenging activity of uric acid. *Ann. NY Acad. Sci.* 962:242-259.
- (65) **Stocker R., Keaney J.F. (2004).** Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev.* 84: 1381-1478.
- (66) **Neuzil J., Stocker R. (1994).** Free and albumin-bound bilirubin are efficient co-antioxidants for alpha-tocopherol, inhibiting plasma and low density lipoprotein lipid peroxidation. *J Biol Chem.* 17: 16712-16719.
- (67) **Crane F.L., and Bottger M. (2001).** Plasma membrane redox systems. *Protoplasma* 217: 1-2.
- (68) **Cani P.D., Neyrinck A.M., Fava F. (2007).** Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia.* 10: 2374-2383.
- (69) **Khaled R., Alzaben Sami A., Abu-Halaweh., Mohamed K., Al-Essa., Jaafar Abuabeeleh., Moaath M., Alsmady. (2009).** Induction of Diabetes Mellitus in Rats Using Intraperitoneal Streptozotocin: A Comparison between 2 Strains of Rats, *European Journal of Scientific Research ISSN.* 32: 398-402.
- (70) **Ventura-Sobrevilla J., Boone-Villa V.D., Aguilar C.N., Román-Ramos R., Vega-Ávila E. (2011).** Campos-Sepúlveda, E. and Alarcón-Aguilar, F. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 54: 5-9

- (71) **Brentjens R., Saltz L. (2001)**. Islet cell tumors of the pancreas: the medical oncologist's perspective. *Surg. Clin. North. Am.* 81: 527-542.
- (72) **Szkudelsk T. (2001)**. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *PHYSIOLOGICAL RESEARCH.* 50: 536-546.
- (73) **Tom Anderson., Philip S., Schein., Mary G., Mc Menamin., David A., Cooney. (1974)**. Streptozotocin Diabetes correlation with extent of depression of pancreatic islet nicotinamide adenine dinucleotide, *J Clin Invest.* 54(3): 672-677.
- (74) **Lenzen S., Drinkgern J., Tiedge M. (1996)**. Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. *Free Radic.Biol.Med* 20: 463-466.
- (75) **Andrejv F., David S., Ralf H. (2005)**. Site-specific synthesis of Amadori- modified peptides on solid phase . *Journal of Peptide Science.* 12: 389-395.
- (76) **Njoroge F.G., Fernandes A.A., Monnier V.M. (1988)**. Mechanism of formation of the putative advanced glycosylation end product and protein cross-link 2-(2-furoyl)-4(5)-(2-furanyl)-1H-imidazole. *The Journal of biological chemistry.* 263:10646-10652.
- (77) **Wolff S.P. (1993)**. Diabetes mellitus and free radicals: Free radicals, transition metals and oxidative stress in the aetiology of diabetes mellitus and complications. *British Medical Bulletin.* 49: 642-652.
- (78) **Monnier V.M., Taneda S. (1989)**. ELISA of pentosidine, an advanced glycation end product, in biological specimens. *Clinical chemistry.* 40: 1797-1861.
- (79) **Brownlee M. (2005)**. The Pathobiology of Diabetic Complications A Unifying Mechanism. *Diabetes.* 54: 1615-1625.
- (80) **Ju'rgen M., Bohlender S.F., Gu'nter S., Gunter W. (2005)**. Advanced glycation end products and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 289: 645-659.
- (81) **Dandona P., Thusu K., Cook S., et coll. (1996)**. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet.* 347:444-445.
- (82) **Brownlee M. (2005)**. The Pathobiology of Diabetic Complications A Unifying Mechanism. *Diabetes.* 54:1615-1625.
- (83) **Gabby K.H. (1975)**. Hyperglycemia, Polyol Metabolism, and Complications of Diabetes Mellitus. *Annual Review of Medicine.* 26: 521-536.
- (84) **Joseph L., Evans I.D., Goldfine B.A., Maddu G., Grodsky M. (2002)**. Oxidative Stress and Stress-Activated Signaling Pathways: A Unifying Hypothesis of Type 2 Diabetes. *Endocrine Reviews.* 23: 599-622.
- (85) **Lee A.Y., Chung S.S. (1999)**. Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *FASEB Journal.* 13: 23-30.

- (86) **Akkus I., Kalak S., Vural H., Caglayan O., Meneke E., Can G., Durmus B. (1996).** Leukocyte lipid peroxidation, su-peroxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta.* 244: 221–227.
- (87) **Moshe Z., Abraham Z., Reznick R., Obeid Z., Rafael M.N. (2007).** Relationship of Flow Rate, Uric Acid, Peroxidase, and Superoxide Dismutase Activity Levels with Complications in Diabetic Patients: Can Saliva Be Used to Diagnose Diabetes? *Antioxidants and Redox Signaling.* 9: 765-773.
- (88) **Ketan P.M., Santosh L.V., Ramesh K. G., Parloop A. B. (2007).** Effects of Coenzyme Q10 On Lipid Levels And Antioxidant Defenses In Rats With Fructose Induced Hyperlipidemia And Hyperinsulinaemia. *The Internet Journal of Pharmacology.* 5: 1531-2976.
- (89) **Janet Y., Uriu Adamsa T., Robert B., Ruckera J.F., Commissoa C.L.K. (2005).** Diabetes and dietary copper alter ⁶⁷Cu metabolism and oxidant defense in the rat. *Journal of Nutritional Biochemistry.*16: 312-320.
- (90) **Linghong H., John L., Haylor., Zoe Hau., Richard J., et coll. (2009).** Experimental diabetic nephropathie can be ameliorated using transglutaminase inhibition, *Kidney Int.* 76(4): 383-394.
- (91) **Mauer M., Fioreto P., Woredekaly Y., et coll. (2001).** Diabetic nephropathy. In RW Schrier. Disease of the kidney and urinary tract, *Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins.* 20: 832-127.
- (92) **Schultz D., Harrison D.G. (2000).** Quest for fire: seeking the source of pathogenic oxygen radicals in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 20:1412-1413.
- (93) **Balentine D.A., Wiseman S.A., Bouwens L.C. (1997).** The chemistry of tea flavonoids. *Crit Rev Food SciNutr.* 37: 693-704.
- (94) **Coimbra S., Castro E., Rocha-Pereira P., Rebelo I., Rocha S., Santos-Silva A. (2006).**The effect of green tea in oxidative stress. *ClinNutr.* 25: 790-6.
- (95) **Wolfram S., Wang Y., Thielecke F. (2006).** Anti-obesity effects of green tea: from bedside to bench. *Mol Nutr Food Res* 50: 176-187.
- (96) **Wachira F.N., Tanaka J., Takeda Y. (2001).** Genetic variation and differentiation in tea germ plasm revealed by RAPD and AFLP variation. *J Hort Sci Bio technol* 76.
- (97) (Kuntze Otto Ernst Carl 1843 – 1907)
- (98) **Alschuler L., (1998).** Green Tea: Healing tonic. *Am J Nat Med.* 5: 28-31.

- (99) **Nookabkaew S., Rangkadilok N., Satayavivad J. (2006).** Determination of trace elements in herbal tea products and their infusions consumed in Thailand. *J Agric Food Chem.* 54:6939-6944.
- (100) **Ahmed N., Hasan M. (1999).** Green tea polyphenols and cancer: biological mechanisms and practical implications. *Nutrition Review.* p: 78-83.
- (101) **Anton R. (1997).** Pharmacognosie, phytochimie, *plantes médicinales*, P1072-1086.
- (102) **Ekborg-Ott A.T., Armstrong D.W. (1997).** Varietal Differences in the Total and Enantiomeric Composition of Theanine in Tea. [archive] *J. Agric. Food Chem.* 45: 353-363.
- (103) **Kaneko S., Kumazawa K., Masuda H., Henze A., Hofmann T., (2006).** Molecular and Sensory Studies on the Umami Taste of Japanese Green Tea. *J. Agric. Food Chem.* 54 (7): 2688 -2694.
- (104) **Kimura K., Ozeki M., Juneja L., Ohira H. (2007).** L-Theanine reduces psychological and physiological stress responses, *BiolPsychol.* 74. (1): 39-45.
- (105) **Lu K., Gray M., Oliver C., Liley D., Harrison B., Bartholomeusz C., Phan K., Nathan P., (2004).** The acute effects of L-theanine in comparison with alprazolam on anticipatory anxiety in humans », *Hum Psychopharmacol.* 19. (7): 457-465.
- (106) **Yong-su Z. (2002).** Tea Bioactivity and Therapeutic Potential, London and New York, vol. 17.
- (107) **Malavy D., Galan P., Hercberg S. (2000).** Thé et cancer : approche mécanistique des effets inhibiteurs de la cancérogenèse, *Cah. Nutr. Diét.* 35 : 56-59.
- (108) **Nkhili E. (2009).** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant, Thèse du Doctorat Université Cadi Ayyad.
- (109) **Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p. 4-5.
- (110) **Xiuzhen H., Tao S., Hongxiang L. (2007).** Dietary Polyphenols and Their Biological Significance, *Int. J. Mol. Sci.* 8: 950-988.
- (111) **Tomas-Barberan F.A., Ferreres F., Gil M.I. (2000).** Antioxidant phenolic metabolites from fruits and vegetables and changes during postharvest storage and processing. In Rahman, A. (Ed). *Studies in Natural Products Chemistry.* Elsevier Science, PP.739-759. Part D.
- (112) **Clifford M.N., Scalbert A. (2000).** Ellagitannins–nature, occurrence and dietary burden, *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 80 (7): 1118-1125.

- (113) **D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita.* 43(4):348-361.
- (114) **Crozier A., Jaganath I.B., Clifford M.N. (2009).** Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Prod. Rep* 26: 1001-1043.
- (115) **Adlercreutz H. (1997).** Evolution, nutrition, intestinal microflora and prevention of cancer: A hypothesis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 217: 241-246.
- (116) **Bouakaz I. (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.
- (117) **Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat, Strasbourg.
- (118) **Dacosta E. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, 317p.
- (119) **Cassidy J.D., Linda J., Carroll PH.D et coll, (2000).** Effect of eliminating compensation for pain and suffering on the outcome of insurance claims for whiplash injury, *N engl J med.* 342: 1179-1186.
- (120) **Coward L., Smith M., Kirk M., Barnes S. (1998).** Chemical Modification of Isoflavones in Soy Foods During Cooking and Processing. *Am J Clin Nutr.* 68:1486S-1491S.
- (121) **Mazza G., und E., Miniati. (1993).** Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains. *Food / Nahrung.* 38. (3): 199-343.
- (122) **Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 79(5): 727-747.
- (123) **Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G et coll. (2007).** Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, *Journal of Nutrition.* 137.(3): 718-737.
- (124) **Actualités. (2008).** Les catéchines, un nouvel ingrédient santé? *Cah. Nutr. Diét.* 43.
- (125) **Scalbert A., Williamson G. (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr.* 130 (8): 2073-2085.
- (126) **Yusuf N., Irby C., Santosh K et coll. (2007).** Blackwell Munksgaard Photoprotective effects of green tea polyphenols, University of Alabama at Birmingham, Birmingham AL. 23: 48-56.
- (127) **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C., Pinkas M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.* 46: 1086-1089.

- (128) **Ali Babar M., Hahn E.J., Paek K.Y. (2007).** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in Panax ginseng Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*. 12: 607-621.
- (129) **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. 331: 372-379.
- (130) **Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1220-1234.
- (131) **Martin S., Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51: 304-315.
- (132) **Skrzydłowska E., Ostrowska J., Farbiszewski R., Michalak K. (2002).** Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. *Phytomedicine*. 9: 232-238.
- (133) **Amić D., Davidović-Amić D., Bešlo D., Trinajstić N. (2003).** Structure–Radical scavenging activity relationships of flavonoids. *CROATICA CHEMICA*. 76 (1): 55-61.
- (134) **Carmela Santangelo, Rosaria Vari, Beatrice Scazzocchio, Roberta Di Benedetto. (2007),** Polyphenols, intracellular signaling and inflammation. 43. (4): 394-405.
- (135) **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec &Doc (Ed). Paris, 575p.
- (136) **Xu Y.C., Leung S.W.S., Yeung D.K.Y., Hu L.H., Chen G.H., Che C.M., Man, R.Y.K. (2007).** Structure- activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. *Phytochemistry*. 68: 1179-1188.
- (137) **Cowan M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev* 12: 564-582
- (138) **Ulanowska K., Majchrzyk A., Moskot M., Jak bkwicz-Banecka J., W_Âgrzyn G. (2007).** Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*. 62: 132-135.
- (139) **Wächter G. A., Hoffmann J. J., Furbacher T., Blake M. E. and Timmermann B. N. (1999).** Antibacterial and antifungal flavanones from Eysenhardtia texana. *Phytochem*. 52: 1469-1471.
- (140) **Valsaraj R., Pushpangadan P., Smitt U. W., Adsersen A., Christensen S. r. B. g., Sittie A., Nyman U., Nielsen C., Olsen C. E. (1997).** New Anti-HIV-1, Antimalarial, and Antifungal Compounds from Terminalia bellerica. *J. Nat. Prod*. 60: 739-742.

(141) **Marfek A. (2003)**. Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat de l'université de Limoges

(142) **Bahadoran Z., Mirmiran P., Fereidoun. (2013)**. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes, *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, doi:10.1186/2251-6581-12-43.

(143) **Waltner-Law M.E., Wang X.L., Law B.K., Hall R.K., Nawano M., Granner D.K. (2002)**. Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *J Biol Chem*. 277: 34933-34440.

(144) **Anderson RA1., Polansky MM. (2002)**. Tea enhances insulin activity, *J Agric Food Chem*. 50. (24):7182-7186.

(145) **Shimizu M. (1999)**. Modulation of intestinal functions by food substances. *Nahrung*. 43: 154-158.

(146) (Babu *et al.*, 2003). Parti

(147) **Hamadi Nacereddine, (2010)**. Effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez

(148) (Astill *et al.*, 2009).

(149) **Ozansoy G., Akin B., AKtan F., Karasu C. (2001)**. Short-term gemfibrozil treatment reverses lipid profile and peroxidation but does not alter blood glucose and tissue antioxidant enzymes in chronically diabetic rats. *Mol Cell Biochem*. 216:59-66.

(150) **Kilic N., Malhatun E., Elmali E., Altan N. (1998)**. An investigation into the effect of sulfonylurea glyburide on glutathione Peroxidase activity in streptozotocin-induced diabetic rat muscle tissue. *Ge Pharmacol*. 30:399-401.

(151) **Nakura H., TanaKa M., Tateishi T., Watanabe M., Kumia T., kobayashi S. (1997)**. The effects of streptozotocin-induced hypoinsulinemia on serum lipid levels in spontaneously hyperlipidemic rats. *Horm Metab*. 29: 454-475 .

(152) **Junod A., Lambert A.E., Orci L., Pictet R., Gonet A.E., Renold A.E. (1967)**. Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc Soc Exp Biol Med*. 126: 201-205.

(153) **Hanaa F Waer, Seham A Helmy, (2012)**. Cytological and Histochemical Studies in Rat Liver and Pancreas during Progression of Streptozotocin Induced Diabetes and Possible Protection of Certain Natural Antioxidants. *J Nutr Food Sci* :2 (9),6

(154) **Ramesh B., Pugalendi K.V. (2006)**. Antioxidant role of Umbelliferone in STZdiabetic rats. *Life Sciences*.79:306-310.

(155) **Vertuani S., Angusti A., Manfredini S. (2004)**. The antioxidants and pro-oxidants network: an overview. *Curr Pharm Des*.10: 1677-1694.

(156) (raja *et al.*, 2007).

- (157) **Altan N., Ongun C.O., Elmali E., Kilic N., Yavuz O., Cayci B. (1994 b).** Effect of the sulfonylurea glyburide on glutathione and glutathione peroxidase activity in alloxan-induced diabetic rat hepatocytes. *Gen Pharmacol.* 25: 875–878.
- (158) **Wolff S.P., Jiang Z.Y., Hunt J. V. (1991).** Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Biol Med.* 10: 339–352 .
- (159) **Tian L., Shi M.M., Forman H.J. (1997).** Increased transcription of the regulatory subunit of gamma – glutamylcysteine synthetase in rat lung epithelial L2 cells exposed to oxidative stress or glutathione depletion. *Arch Biochem Biophys.* 342: 126–133 .
- (160) **Srinivasan P.S., Hakim Z.S., Santani D.D., Goyal R.K., (1997).** Effects of chronic treatment with amlodipine in streptozotocin – diabetic and spontaneously hypertensive rats. *Pharmacol Res.* 35: 423-428.
- (161) **Garber A.J., Attenuating C.V., (2002).** Risk factors in patients with diabetes: clinical evidence to clinical practice. *Diabetes Obes Metab.* 1:5-12.
- (162) **Dunn F.L., Raskin P., Bilheimer D.W., Grundy S.M. (1984).** The effect of diabetic control on very low-density lipoprotein triglyceride metabolism in patients with type II diabetes mellitus and marked hypertriglyceridemia. *Metabolism.* 33:117-123.
- (163) **Quaschnig T., Schomig M., Keller M., Thiery J., Nauck M., Schollmeyer P., Wanner C., Kramer-guth A. (1999).** Non-insulin-dependent diabetes mellitus in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 10: 332-341.
- (164) **Hiramatsu, K. Bierman, E.L. Chait, A. (1985).** Metabolism of low-density lipoprotein from patients with diabetic hypertriglyceridemia by cultured human skin fibroblasts. *Diabetes* 34 : 8-14 .

Abstract:

This study was to investigate the protective and antioxidant effects of green tea and *Chrysanthemum sp* extracts in experimental model of streptozotocin-induced diabetes mellitus in mal Wistar rats, streptozotocin was administered intravenously in a single dose of 55 mg/Kg body mass, rats were treated with 100 mg/KG body mass green tea extract and 200 mg/KG body mass *Chrysanthemum sp* extract (through tube feeding), one week before the streptozotocin induction and 20 days after

Our results indicate that green tea and *Chrysanthemum sp* extracts have an antiradical, hypoglycemic and hypolipemic effects, those effects are improved by the increase in the level of GSH in rat's lever, kidney ant pancreas, and a decrease of blood glucose, MDA, Cholesterol, triglycerides and transaminases. Green tea and *Chrysanthemum sp* extracts offer a protection against oxidative stress, cardiovascular diseases and debate's complications

Keywords: green tee, polyphenols, diabete, oxidative stress, antioxidant, streptozotocine, cardiovascular diseases, Wistar rat

الملخص

تمت دراسة التأثير الوقائي و المضاد للاكسدة للمستخلص الايثيلي للشاي الاخضر و المستخلص البوتانولي لنبته *Chrysanthemum sp* و جردان من سلالة *Wistar Albinos* تم تعريضها لداء السكري التجريبي عن طريق الحقن الوريدي لجرعة واحدة لمركب *Stréptozotocine* بتركيز 55 mg/kg. معالجة الجردان بواسطة المستخلص الايثيلي للشاي الاخضر بتركيز 100 mg/kg و المستخلص البوتانولي لنبته *Chrysanthemum sp* بتركيز 100 mg/kg لمدة اسبوع

قبل تحريض داء السكري ولمدة 20 يوم بعد ذلك.

النتائج المحصل عليها في هذه الدراسة تشير الى ان لهدين المستخلصين فعل مضاد للاكسدة و فعل خافض لمعدل السكر في الدم و خافض لمستوى الليبيدات يتضح ذلك في ارتفاع مستوى GSH في كل من الكبد و الكلى و البنكرياس و انخفاض مستوى MDA الكولسترول و الجليسيريدات الثلاثية نستنتج من ذلك ان لمستخلص *Chrysanthemum sp* و مستخلص الشاي الاخضر الغني بالفلافونولات دورا وقائيا ضد التوتر التاكسدي و مضاعفات مرض السكري كلامراض القلب و عائية

الكلمات المفتاحية: *Chrysanthemum sp* الشاي الاخضر. عديدالفينولات. السكري. التوتر التاكسدي. مضاد التاكسد. *Stréptozotocine*