

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

LA REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE

LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Animale

N° d'ordre : 342/MAG/2009

N° de série : 028/SN/2009



MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de magistère en Biologie Cellulaire et Moléculaire

Option : Toxicologie Cellulaire

Thème

ÉTUDE DE L'EFFET ANTIDIABÉTIQUE ET ANTIOXYDANT DE
L'EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISÉ D'*Artemisia herba alba* ASSO
CHEZ DES RATS SAINS ET DES RATS RENDUS DIABÉTIQUES PAR
STREPTOZOTOCINE

Présenté par : Mr BOULDJADJ Redouane

Soutenu le : 18 octobre 2009

Devant le jury :

Président : F. KHELIFI-TOUHAMI

MC. Université Mentouri Constantine

Rapporteur : N. ABIDLI

MC. Université Mentouri Constantine

Examineurs : L. ARRAR

Pr. Université Ferhat Abbas Sétif

: N. BOULEBDA

MC. Université Mentouri Constantine

Année universitaire 2008/2009

Remerciements

Mes vifs remerciements s'adressent :

A vous lumière de ma vie, le plus beau don de dieu, avec vous je partage le plus sacré lien spirituel et affectif : mes parents ; que dieu vous gardent

A tous les membres de ma famille (frères et sœurs) pour leur soutien permanent.

Aux honorables membres du CPM (comité pédagogique du magistère) :(Mme Nacira ABIDLI, Fatima KHLIFI-THOUHAMI) d'avoir ouvrir ce magistère.

A mon encadreur Mme Nacira ABIDLI, Maitre de conférences à la faculté des sciences de la nature et de la vie Université Mentouri de Constantine, pour son attention, sa simplicité, sa sympathie et sa générosité scientifique.

Qu'elle veille bien trouver ici l'expression de toute ma gratitude pour son soutien permanent.

A madame Fatima KHLIFI-THOUHAMI, Maitre de conférences à la faculté des sciences de la nature et de la vie Université Mentouri de Constantine, pour son dévouement, suivi et encouragements durant toute notre formation et d'avoir accepté de juger ce travail et m'honoré par sa présidence de jury.

Qu'elle trouve ici ma sincère gratitude et mes sincères remerciements

A monsieur Nadji BOULEBDA Maitre de conférences à la faculté de pharmacie Université Mentouri de Constantine, d'avoir accepté de jurer ce modeste travail.

Qu'il soit assuré de ma respectueuse et très sincère gratitude

A monsieur Lekhmici ARRAR professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas de Sétif, d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de ma haute considération

Au professeur Chrifa BENLATRECHE, médecin chef de laboratoire de biochimie au CHUC, d'avoir ouvert les porte de son laboratoire pour me permettre de finaliser cette thèse.

Qu'elle trouve ici l'expression de ma haute considération

A madame RACHED professeur et chef de laboratoire de Biologie et d'environnement en m'acceptant dans son laboratoire au sein de son équipe.

Quelle soit remerciée de sa bienveillante attention.

Au tous les membres du laboratoire de biochimie ; Mr Ammar LARDJANI, Mr Abdesselem JELOUAH, Mr Faride BENNOUAR, Mme Hanniche, Mme Amina TRIKI, Mme Amel SOLTANI, Mme Amina TRIKI.

Qu'ils trouvent ici ma sincère gratitude et mes sincères remerciements

A toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail. Je ne saurais remercier ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour la réalisation de certaines étapes de ce travail sans cité les noms, en particulier Mr laid BAHRI.

Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance

A mon binôme dans la réalisation de la partie pratique Mr chouaib KANDOULI

Qu'il trouve ici l'expression de ma haute considération

A mes collègues et mes amis pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble en particulier Mr Billel MOUSAOUI, Mr Naceredine HAMMADI, Mr Ismain BOUWDEN et Mr Chouaib KANDOULI .

ABREVIATIONS

4-HNE : 4-hydroxynonenal.

AGE : Produits de glycation avancés.

CAT : Catalase.

DAG : Diacylglycérol.

DID : Diabète insulino-dépendant.

DNID : Diabète non insulino-dépendant.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

ERA : Espèces réactives d'azote.

GAPDHase : Glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase.

GFAT : Enzyme glutamine: fructose-6-phosphate amidotransferase.

GLUT-4 : Glucose transporteur 4.

GR : Glutathion réductase.

GSH : Glutathion réduit.

GSH-Px : Glutathion peroxydase.

GSSG : Glutathion oxydé.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HDL : High density lipoprotein.

HO[•] : Radical hydroxyle.

HMG-COA réductase : 3-hydroxy-3-méthyle-glutaryl coenzyme A réductase.

LCAT : Lecithin-Cholesterol Acyl Transferase.

LDL : Low density lipoprotein.

MDA : Malonyldialdéhyde.

NAD⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide oxydé.

NADPH,H⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit.

NF-κB: Nuclear factor κB.

NO: Oxyde nitrique.

NOS : NO synthase.

O₂^{•-} : Anion superoxyde.

¹O₂ : Oxygène singulet.

ONOOH : Nitroperoxyde.

R[•] : Radical d'acide gras.

RAGE: Receptor for advanced glycation endproducts.

RH : Acide gras polyinsaturé.

ROO[•] : Radical peroxyde.

RO[•] : Radical alkoxyde.

ROOH : Hydroperoxyde lipidique.

SOD : Superoxyde dismutase.

STZ : Streptozotocin.

TBARS: Thiobarbituric acid-reactive substances.

TG: Triglycerides.

TGF-β : Transforming growth factor beta

PARP: Poly(ADP-ribose) polymerase.

PGE₂ : Prostaglandine E₂.

PKC : Protéines kinases C.

PLA₂ : Phospholipase A₂.

UDP-GlcNac : Uridine diphosphate-N-acétylglucosamine.

VEGF: Vascular endothelial growth factor.

VLDL: Very low density lipoprotein.

SOMMAIRE

	<i>Page</i>
ABREVIATIONS	
INTRODUCTION.....	1
SECTION I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT ET STRESS OXYDANT	
I- LES ESPECES REACTIVES DERIVEES DE L'OXYGENE.....	3
1-Définition d'un Radical.....	3
2-Nature et sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène.....	3
2.1- L'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$	3
2.2- Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	4
2.3- Le radical hydroxyle HO^{\bullet}	4
2.4- L'oxygène singulet : 1O_2	5
3-Intérêts des radicaux libres dans la physiologie cellulaire.....	6
3.1- Rôle dans la phagocytose.....	6
3.2- Rôle dans la communication cellulaire.....	6
II- SYSTEMES DE DEFENSES ANTIOXYDANTS.....	7
1-Le système antioxydant enzymatique.....	7
1.1-Les superoxydes dismutases (SOD).....	7
1.2-La catalase.....	7
1.3-Les glutathions peroxydases.....	8
2-Systèmes antioxydant endogène non enzymatiques.....	9
3-Molécules antioxydantes exogènes.....	10
3.1- La vitamine C.....	10
3.2- La vitamine E.....	10
3.3- β -carotène.....	11
3.4- Le sélénium.....	11
3.5- Le zinc.....	11
3.6- Polyphénols.....	11

II-LE STRESS OXYDANT	12
1- Conséquences biochimiques du stress oxydant	12
1.1- L'oxydation des lipides.....	12
1.2- L'oxydation de l'ADN.....	14
1.3- L'oxydation des protéines.....	14
STRESS OXYDANT DANS LA PATHOLOGIE DU DIABETE	
I- LE DIABETE SUCRE	15
1- Les différents types de diabète	15
1.1-Le diabète insulino-dépendant ou le diabète sucré de type 1 DID.....	16
1.2-Le diabète non insulino-dépendant ou le diabète sucré de type 2 DNID.....	16
2- Les complications liées au diabète	17
II-LE MECANISME DE L'AUGMENTATION DU STRESS OXYDANT DANS LE DIABETE	18
1- Les sources des radicaux libres aux cours des états d'hyperglycémie	18
1.1-L'augmentation du flux de la voie des polyols.....	18
1.2- L'activation de la voie des Protéines Kinases C (PKC).....	21
1.3- L'augmentation du flux de la voie des hexosamines.....	22
1.4- La glycation des protéines et génération des radicaux libres.....	23
1.5- L'augmentation de la production des radicaux libres par la mitochondrie.....	25
2- Altération des défenses antioxydantes au cours du diabète	27
3- Augmentation des marqueurs du stress oxydant au cours du diabète	28
III- APPORT DES THERAPEUTIQUES ANTIOXYDANTES DANS LE TRAITEMENT DU DIABETE	28
1- Les molécules antioxydantes.....	28
2- Antidiabétiques oraux possédant des propriétés antioxydantes.....	29
<i>Artemisia herba alba</i> Asso	
I- PLANTE MEDICINALES ET DIABETE	30
II-<i>Artemisia herba-alba</i> Asso	31
1- Description botanique.....	31
2- Phytochimie.....	32
3- Place de l' <i>Artemisia herba alba</i> en phytothérapie.....	32
SECTION II : MATERIELS & METHODES	
MATERIELS	34

1- Matériel végétal « <i>Artemisia herba alba</i> Asso »	34
1.1- Récolte de l' <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	34
1.2- Préparation de l'extrait aqueux infusé et lyophilisé.....	34
2- Matériel animal	36
2.1- Entretien des animaux.....	36
2.2- Induction du diabète.....	36
2.3- Traitement des animaux.....	36
2.4- Prélèvement sanguin et mesure du poids.....	37
2.5- Préparation de la fraction cytosolique de tissu 10%.....	37
3- Réactifs	38
4- Appareils	38
METHODES	38
I- METHODES DE DOSAGE DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES DU SANG	38
1- Dosage du glucose	38
Principe.....	38
2- Dosage du cholestérol total	39
Principe.....	39
3- Dosage des triglycérides	40
Principe.....	40
4- Dosage du cholestérol HDL	40
II-EVALUATION DU MDA ET DU GSH HEPATIQUE ET RENAL	41
1- Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans une fraction cytosolique 10% de foie et des reins	41
Principe.....	41
Méthode de dosage.....	41
2- Dosage du glutathion réduit hépatique et rénal	41
Principe.....	42
Méthode de dosage.....	42
III-EVALUATION DE L'ACTIVITE DES ENZYMES ANTIOXYDANTES	42
1- Dosage de l'activité de la SOD cytosolique	42
Principe.....	42
Méthode de dosage.....	43
Calcul.....	43
2- Dosage de l'activité de la catalase cytosolique	43

Principe.....	43
Méthode de dosage.....	43
Calcul.....	43
3- Dosage des protéines totales.....	44
Principe.....	44
IV- EVALUATION STATISTIQUE.....	44

SECTION III : RESULTATS

I-L'INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION D'ARTEMISIA HERBA ALBA <i>Asso</i> SUR LE CHANGEMENT DU POIDS CORPOREL.....	45
II-L'INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION D'ARTEMISIA HERBA ALBA <i>Asso</i> SUR LE TAUX DE CONSOMMATION DE NOURRITURE.....	46
III-EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISE D'ARTEMISIA HERBA ALBA <i>Asso</i> SUR LES PARAMETRES BIOCHIMIQUES DU SANG.....	47
1- Glycémie.....	47
2- Profil lipidique.....	48
IV-EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISE D'ARTEMISIA HERBA ALBA <i>Asso</i> SUR LE TAUX HEPATIQUE ET RENAL EN MDA ET EN GSH.....	50
1- Variation des concentrations en malonyldialdéhyde (MDA).....	50
2- Variation des taux hépatique et rénal en glutathion réduit GSH.....	51
V-EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISE D'ARTEMISIA HERBA ALBA <i>Asso</i> SUR L'ACTIVITE DES ENZYMES ANTIOXYDANTE.....	52
1- Activité de la superoxyde dismutase (SOD) hépatique et rénale.....	52
2- Activité de la catalase (CAT) hépatique et rénale.....	53
SECTION IV : DISCUSSION.....	54
CONCLUSION.....	70
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	72

Liste des figures

	<i>Page</i>
Figure 1: Métabolisme des espèces réactives de l'oxygène.....	5
Figure 2: Déséquilibre du statut pro/antioxydant favorisant l'état de stress oxydant.....	12
Figure 3 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.....	13
Figure 4: Contribution de la voie du polyol à la pathogenèse des complications.....	18
Figure 5: les multiples voies métaboliques du métabolisme du glucose sont favorisées dans le contexte de l'hyperglycémie par l'entrée accrue du glucose dans les cellules ainsi que par l'inhibition de la glycolyse.....	20
Figure 6: les voies de formation des produits de glycation avancés (AGEs).....	24
Figure 7: la production de l'anion superoxyde par la mitochondrie.....	26
Figure 8: La mitochondrie : le lien unificateur entre les différents mécanismes pathogéniques proposés dans les complications associées au diabète.....	26
Figure 9: <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	31
Figure N 10 : Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	35
Figure N 11 : Formule chimique du Glutathion réduit.....	41
Figure N 12 : Réaction d'Ellman.....	42
Figure 13 : L'influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé de l' <i>Artemisia herba alba</i> Asso sur le poids corporel.....	45
Figure 14: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso sur la glycémie des différents groupes de rats	47
Figure 15: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso sur la concentration sérique du cholestérol total.....	49
Figure 16: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso sur la concentration sérique des triglycérides	49

Figure 17: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso sur la concentration sérique des c-HDL.....	49
Figure 18: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso sur la concentration hépatique et rénale du MDA.....	50
Figure 19: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso sur la concentration hépatique et rénale du GSH.....	51
Figure 20: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso sur l'activité de la superoxyde dimutase (SOD)	52
Figure 21: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé de la partie aérienne d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso sur l'activité de la catalase (CAT)	53

Introduction

INTRODUCTION

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques. Actuellement, il est bien admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution comme dans le cas du diabète.

Le diabète sucré représente un groupe hétérogène de maladies métaboliques qui touche aujourd'hui 150 millions de personnes, sur tous les continents, soit environ 3% de la population mondiale. Il se caractérise par une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées. Il est responsable de 9% de la mortalité totale, tuant chaque année 4 millions de malades ce qui prend les proportions d'une véritable épidémie (Ravi et al., 2005).

Le diabète sucré chronique est associé à des complications sévères, tels que l'infarctus du myocarde, l'athérosclérose, la néphropathie et la neuropathie. Ces complications sont longtemps supposées liées à l'élévation chronique du glucose et au stress oxydant (Sabu & Kuttan, 2002).

La multiplicité des sources de formation de radicaux libres fait du diabète une maladie particulièrement sujette au stress oxydant. Des concentrations élevées de glucose extra- ou intra-cellulaires induisent un stress oxydant par plusieurs mécanismes comme il a pu être montré dans le diabète expérimental chez l'animal et dans les diabètes de type 1 et de type 2 chez les patients: autoxydation du glucose, glycation des protéines et formation des produits de glycation avancés, et voie des polyols. L'équilibre glycémique joue donc un rôle très important dans la balance prooxydant/antioxydant.

Au cours du diabète le stress oxydant peut être partiellement réduit par les antioxydants. Une supplémentation par des antioxydants, tel que la vitamine C et E, a été proposée comme un traitement complémentaire (Bonfont-Rousselot et al., 2000). Ainsi, plusieurs métabolites secondaires isolés de plantes ont montré une activité antioxydante et une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant au cours du diabète.

Devant l'augmentation considérable du nombre de diabétiques et les effets secondaires des médicaments antidiabétiques, de nombreux chercheurs ont évalué l'action pharmacologique des plantes traditionnelles et donc leur intérêt en médecine traditionnelle.

Actuellement, plus de 400 plantes traditionnelles utilisées pour le traitement du diabète sucré ont été enregistrées, mais seulement un petit nombre d'entre elles ont subi un enregistrement scientifique et une évaluation médicale afin de confirmer leurs efficacités.

L'Algérie, riche par sa biodiversité et son climat, est une plate-forme géographique très importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche de molécules hypoglycémiantes et/ ou antioxydantes originaires de plantes qui ont pour longtemps servi à une grande tranche de population comme moyen incontournable de médication.

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier l'*Artemisia herba alba Asso*, plante poussant dans les zones arides et semi-arides de l'Afrique du nord et du Moyen-Orient, et qui est très utilisée en médecine traditionnelle en Algérie pour traiter le diabète.

Ce travail vise à étudier l'activité antidiabétique et antioxydante de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocin.

Notre travail sera réparti en quatre sections : La première section est une étude bibliographique. Le premier chapitre est consacré à une revue non exhaustive du stress oxydant, en particulier la notion des radicaux libres biologiques, le système de défense antioxydant et les cibles du stress oxydant. Nous avons ensuite abordé au second chapitre les différents types du diabète, les sources des ERO au cours de l'état de l'hyperglycémie, son impact sur le système de défense antioxydant et l'apport des thérapeutiques antioxydantes dans le traitement du diabète. Nous avons enfin, dans un dernier chapitre, fait un survol bibliographique sur l'*Artemisia herba alba Asso* et sa place en médecine traditionnelle. La seconde section décrit le matériel et les méthodes utilisés lors du travail expérimental. La troisième et la quatrième section de ce mémoire exposent l'ensemble des résultats obtenus et la discussion. Elle comprend deux parties :

- Etude de l'effet de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* à la dose quotidienne de 390 mg / kg pendant 21 jours sur la concentration sérique de glucose et des lipides (cholestérol total, cholestérol-HDL et triglycérides) chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par la streptozotocine.
- Etude du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* par mesure du taux du malonyldialdéhyde (MDA) du Glutathion réduit (GSH) de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (CAT) hépatique et rénal chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

Rappels bibliographiques

SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT ET STRESS OXYDANT

I- LES ESPECES REACTIVES DERIVEES DE L'OXYGENE

1- Définition d'un Radical

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante (Halliwell & Gutteridge, 1989). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote ERA). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité (Delattre et al., 2005).

Actuellement, on emploie le terme d'espèces réactives de l'oxygène ERO pour désigner un ensemble plus large de molécules :

- Des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié (l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, les radicaux hydroxyles HO^{\cdot} , peroxyde ROO^{\cdot} , alkoxyde RO^{\cdot}) (Favier, 2003).
- Des dérivés de l'oxygène non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , l'oxygène singulet 1O_2 et le nitroperoxyde (ONOOH) mais qui sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux libres (Favier, 2003).

2- Nature et sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène

2.1- L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$

Espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d' O_2 . Cette réaction semble surtout catalysée par des NADPH oxydases membranaires (Wolin, 1996). L' $O_2^{\cdot-}$ 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 (Wolin, 1996), et les mitochondries où 2% à 5% d'oxygène consommé est transformé en radicaux superoxydes (Favier, 2003).

L' $O_2^{\cdot-}$ est relativement stable, peu toxique pour l'organisme. Cette faible réactivité permet d'ailleurs son utilisation par l'organisme comme médiateur régulant des fonctions biologiques (Favier, 2003). Mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives. Il est régulé par des enzymes, les superoxydes dismutases qui catalysent sa dismutation (Halliwell, 1989).

2.2- Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂

Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ est une molécule stable, mais diffusable et avec une durée de vie compatible avec une action à distance de son lieu de production (Mc Cord, 1993). Il est généré dans le peroxysome, les microsomes et les mitochondries (Nohl et al., 2004) par une réaction de dismutation (Ramirez et al., 2008).

Réaction de dismutation



La dismutation de O₂^{•-} spontanée ou catalysée par les superoxydes dismutases est la source majeure de l' H₂O₂. L' H₂O₂ n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs. En présence de métaux de transition (fer et cuivre), l' H₂O₂ donne naissance via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO[•] hautement réactif (Wardman & Candeias, 1996).

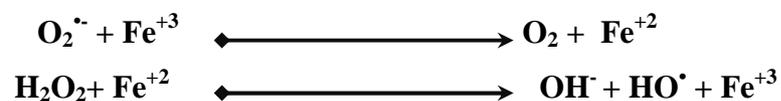
Contrairement à l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène est capable de traverser les membranes des cellules et des organites cellulaires pour engendrer des dommages loin de son site de production (Halliwell & Gutteridge., 1996).

2.3- Le radical hydroxyle HO[•]

Le radical hydroxyle peut être induit par la réduction de l' H₂O₂ selon la réaction d'Haber-Weiss engendrant alors un ion OH⁻ inoffensif et un radical hydroxyle HO[•] (Comhair & Erzurum, 2002).



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. Mais en revanche, en présence de métaux de transition (fer, cuivre), l' H₂O₂ donne naissance in vivo via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO[•] hautement réactif (Goldstein et al., 1994).



Le radical hydroxyle a une demi-vie extrêmement courte et une capacité à diffuser restreinte, il est capable de réagir très rapidement avec la plupart des molécules biologiques comme l'ADN, les protéines, les sucres et les lipides membranaires. Le radical hydroxyle intervient soit par l'arrachement d'un hydrogène soit par une réaction d'addition (Delattre et al., 2005). Parmi les ERO le radical hydroxyle est de loin le plus réactif. Le

radical $O_2^{\cdot-}$ a une demi vie plus longue et bien qu'il soit moins réactif il est aussi délétère que le radical HO^{\cdot} (Delattre et al., 2005).

2.4- L'oxygène singulet : 1O_2

Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité (Delattre et al., 2005).

Le radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et le radical hydroxyle HO^{\cdot} sont encore appelés espèce réactive de l'oxygène (ERO) car ces espèces sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance. Toutefois, il existe d'autres ERO tels que les radicaux peroxydes ROO^{\cdot} , hydroperoxydes RO_2H ainsi que les radicaux alkoxydes RO^{\cdot} , et des espèces réactives d'azote (ERN) tels que le $^{\cdot}NO$, produit par le NO synthétase, qui est un vasodilatateur physiologique et le peroxyntrite $ONOO^-$ issu de la réaction entre $O_2^{\cdot-}$ et le $^{\cdot}NO$, et qui est très néfaste pour les protéines et les gènes (Delattre et al., 2005).

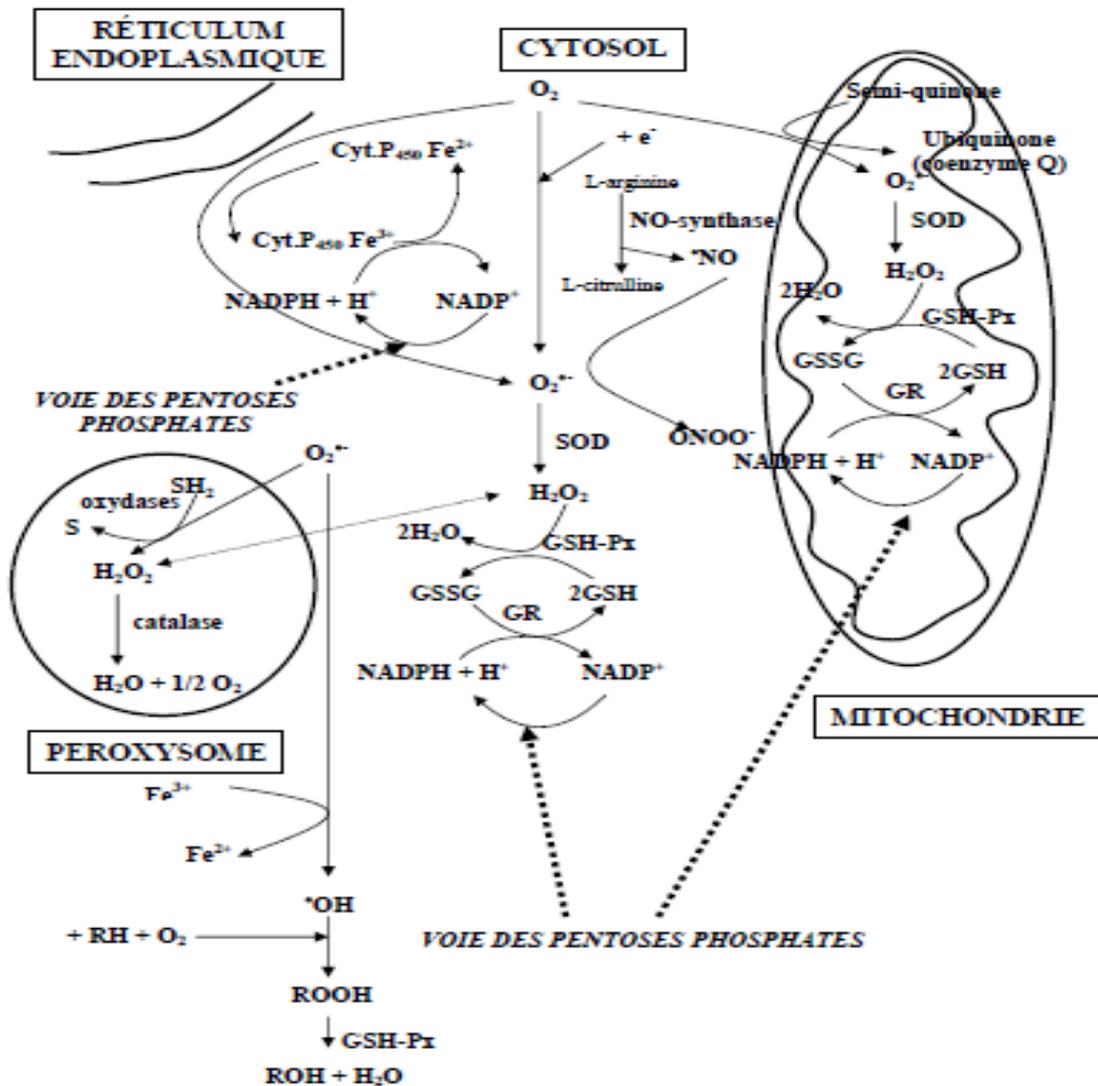


Figure 1 : Métabolisme des espèces réactives de l'oxygène.

3- Intérêts des radicaux libres dans la physiologie cellulaire

3.1- Rôle dans la phagocytose

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 si brutale et intense qu'elle est connue, sous le nom de « Flambée respiratoire », c'est-à-dire explosion respiratoire. Au sein du phagosome, l'activation de la NADPH oxydase et l'action des superoxydes dismutases (SOD) et NO synthase (NOS) aboutissent à un mélange très corrosif de $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , HO^{\bullet} , $ONOOH$, avec en plus dans le polynucléaire $HOCl$ et 1O_2 . Ce mélange réactionnel, que l'Homme a imité en utilisant comme désinfectant l'eau de javel ou l'eau oxygénée, détruit par oxydation l'ensemble des composants bactériens (Favier, 2003 ; Delattre et al., 2005).

3.2- Rôle dans la communication cellulaire

Les ROS peuvent agir en tant que molécule de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire. Ils participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation. Cela leur confère un rôle important dans les phénomènes de croissance et de mort cellulaire.

Les mécanismes de communication cellulaire faisant intervenir les radicaux libres ne sont pas encore élucidés. En résumé :

- les radicaux libres joueraient un rôle dans la régulation de l'expression des gènes. La présence de radicaux libres dans le milieu extracellulaire est à l'origine de l'activation de certains facteurs de transcription par des mécanismes encore mal compris. Il en résulte ensuite l'expression des gènes correspondants (Delattre et al., 2005).
- les radicaux libres extracellulaires peuvent interagir avec certains récepteurs membranaires et les activer. Ils sont ensuite à l'origine d'un signal cellulaire (Delattre et al., 2005).
- les radicaux libres peuvent intervenir en tant que second messager intracellulaire. La fixation d'un ligand extracellulaire sur son récepteur membranaire est à l'origine d'une succession de réactions conduisant à la genèse de ERO (Delattre et al., 2005).
- Les antioxydants pourraient intervenir dans ces mécanismes et moduler la transmission du signal et l'expression des gènes. Par exemple, en piégeant les radicaux libres, ils coupent court à toute la chaîne de réactions qui conduisait à l'activation de gènes. Or, les messages cellulaires faisant intervenir les ERO sont

impliqués, en particulier, dans les phénomènes de croissance cellulaire, d'apoptose et, éventuellement, dans les phénomènes de cancérogenèse (Delattre et al., 2005).

II- SYSTEMES DE DEFENSES ANTIOXYDANTS

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell & Gutteridge, 1990). Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques. Mais aussi à des petites molécules hydro- ou liposolubles. Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre et al., 2005).

1- Le système antioxydant enzymatique

1.1- Les superoxydes dismutases (SOD)

Les superoxydes dismutases (SOD) (EC :1.15.1.1) sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation des ions peroxydes en oxygènes moléculaires et peroxydes d'hydrogènes composés stables et moins toxiques (Comhair & Erzurum, 2001) selon la réaction suivante :



Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant mais peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathion peroxydases.

Chez les mammifères, on distingue dans cette famille trois isoenzymes qui catalysent la même réaction mais diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Zelko et al., 2002). Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer la SOD à cuivre-zinc présent dans le cytoplasme (cCu-ZnSOD), la SOD à manganèse (MnSOD) présent dans les mitochondries, et une SOD extracellulaire c'est une SOD à cuivre-zinc (Crapo, 1997).

1.2- La catalase

La catalase (EC : 1.11.1.6) est une enzyme héminique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire. Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et

le cytoplasme (pour les cellules qui ne possèdent cette organelle ex ; érythrocytes) (Lindau-Sehpard & Shaffer, 1993).

La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène :



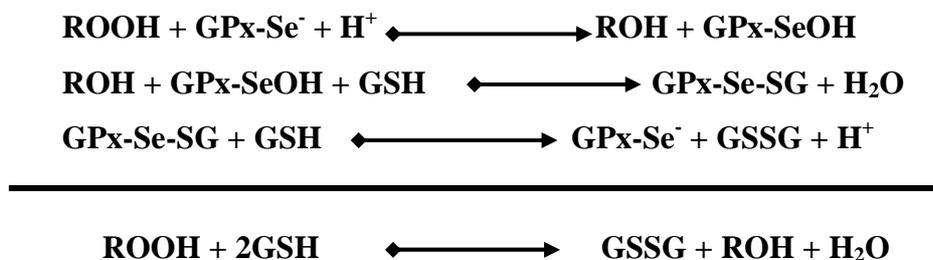
La catalase est une enzyme tétramérique, chaque sous unité comporte un groupement ferriprotophyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe^3 et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH par la catalase lui confère une protection contre l'attaque de l' H_2O_2 (Delattre et al., 2005).

La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (Cantin, 1999).

1.3- Les glutathions peroxydases

Les GPX constituent une famille d'enzymes capables de réduire des composés hydroperoxydes en leurs composés hydroxyles correspondants en utilisant du glutathion ou des agents réducteurs équivalents comme co-substrats (Gladyshef et al 1999 ; Arthur 2000). Il existe des GPx avec ou sans résidu sélénio-cystéine dans leur site actif mais les plus courantes sont celles possédant une sélénio-cystéine. Jusqu'à présent 5 GPx sélénio-cystéine ont été identifiées GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 et GPx5 (Comhair & Erzurum, 2001).

L'ensemble des GPx sélénio-cystéine catalysent la réduction des hydroperoxydes minéraux ou organique en eau et en alcool lipidique respectivement, tandis que le glutathion réduit (GSH) est transformé en glutathion oxydé (GSSG). Toutes ces enzymes contiennent dans leurs sous-unités un à quatre atomes de sélénium selon l'isoenzyme (Delattre et al., 2005). Elles fonctionnent toutes selon le même mécanisme catalytique suivant :



La première étape est une oxydation du groupement sélénol de l'enzyme par un hydroperoxyde pour former un acide sélénique (réaction1). La seconde étape conduit à la

formation d'une liaison covalente entre le soufre du GSH et le sélénium de l'enzyme (réaction 2). La dernière étape est la régénération de l'enzyme sous sa forme réduite grâce à l'action d'une deuxième molécule de GSH qui rompt le pont sélénosulfure (réaction 3) (Favier, 2003). L'activité antioxydante de ces peroxydases est cependant très dépendante de l'apport nutritionnel en sélénium (Favier, 2003 ; Delattre et al., 2005). Le glutathion oxydé sera régénéré grâce à l'intervention de la glutathion réductase qui agit par oxydation du NADPH, H⁺, formé principalement par la voie des pentoses phosphates (Figure 1) (Meister & Anderson, 1983 ; Deneke & Fanburg; 1989).

On distingue 5 isoenzymes de la GPx contenant du sélénium chez les eucaryotes: la GPx1 ou cGPx cytoplasmique et mitochondriale, la GPx2 ou giGPx gastrointestinale, la GPx3 ou pGPx plasmatique, la GPx4 ou HP-GPx localisée à l'interface de la membrane interne et du cytoplasme et la GPx5 ou snGPx épидидymaire (Comhair & Erzurum, 2001). La plus abondante est la GPx1. Elle est exprimée dans la plupart des cellules.

A la différence des autres GPX qui n'est capable de réduire les peroxydes membranaires qu'après l'action de la phospholipase A₂ et qui n'agit que sur les acides gras hydroperoxydés, la GPx4 peut directement réduire, sans action préalable de la phospholipase A₂, les hydroperoxydes des phospholipides et du cholestérol au niveau des membranes cellulaires en alcools correspondants et en utilisant le GSH comme deuxième substrat réducteur. Ainsi, la GPx4 joue un rôle fondamental dans la protection des membranes cellulaires contre les effets délétères de la peroxydation lipidique (Delattre et al., 2005).

Il est important de noter que les GPx séléno-cystéine sont spécifiques du glutathion bien que la GPx plasmatique (GPx3) puisse utiliser un autre thiol réducteur : la thiorédoxine (Delattre et al., 2005).

A l'activité seleno-dépendante, il faut ajouter les GSH-S-transférases, protéine sans sélénium. Ces enzymes constituent une classe formée d'un très grand nombre d'isoenzymes. Les glutathions transférases possèdent aussi une activité peroxydasique vis-à-vis des peroxydes organiques mais pas vis-à-vis du peroxyde d'hydrogène (Fisher et al., 1999).

2- Systèmes antioxydant endogène non enzymatiques

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, les hormones sexuelles, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque et le coenzyme Q. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire) qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le [•]NO (Favier, 2003). Le glutathion est un

constituant intracellulaire ubiquiste présent à des concentrations millimolaires dans la plupart des cellules et micromolaires dans le plasma (Gerard-Monnier et Chodière, 1996). Dans des conditions physiologiques, le glutathion sous forme réduite (GSH) représente la très grande majorité du glutathion total (90 à 98%) ; lors d'un stress oxydant le GSH est oxydé avec la formation de pont disulfure, GSSG, et/ou de pont disulfure mixte, GSSR (R étant fixé à un autre thiol radicalaire) (Stamler & Slivka, 1996). Le glutathion agit également comme cosubstrat d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, glutathion réductase et transférase (Ravi et al., 2004).

La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger des radicaux peroxydes ROO^\bullet et l'oxygène singulet, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Neuzil & Stocker, 1993). Les hormones sexuelles femelles, grâce à la présence d'un hydroxyle phénolique au niveau de leur structure chimique, peuvent inhiber la peroxydation lipidique des LDL in vitro, à des concentrations micromolaires (Keaney et Coll., 1994). Des composés comme les thiorédoxines, les glutarédoxines et les métallothionéines, joueraient sans doute un rôle protecteur, même si l'importance de leur action n'a pas été encore clairement établie (Favier, 2003).

3- Molécules antioxydantes exogènes

3.1- La vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de l'hypochlorite, des radicaux hydroxyles et peroxydes, et de l'oxygène singulet. Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, le produit formé étant le radical ascorbyle. En piégeant les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines (Delattre et al., 2005).

3.2- La vitamine E

Le terme générique de vitamine E désigne en fait une famille constituée des tocophérols et tocotriénols, la forme la plus active étant l' α -tocophérol. Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme. Situé dans les lipoprotéines et dans les membranes, l' α -tocophérol est capable, d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) en s'oxydant en quinone, d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle ($^\bullet\text{OH}$). Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes (ROO^\bullet) pour former un radical tocophéryle. L' α -tocophérol est régénéré essentiellement selon deux voies ; d'une part, la vitamine C, ou l'acide

ascorbique, est capable de réduire le radical tocophéryle, d'autre part, une enzyme spécifique, glutathion dépendante, la tocophéryl réductase, est capable de réduire le radical tocophéryle en α -tocophérol. Parallèlement, le glutathion à l'état réduit (GSH) est oxydé en glutathion oxydé (GSSG). Ce métabolisme implique la participation de la vitamine B₂, cofacteur de la glutathion réductase, nécessaire à la régénération du GSH après son oxydation par le radical tocophéryle (Delattre et al., 2005).

3.3- β -carotène

Le β -carotène est apporté par l'alimentation. Il est doué de plusieurs capacités : il est précurseur de la vitamine A, il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante (Goudable & Favier, 1997).

3.4- Le sélénium

Le sélénium joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases séléno dépendantes, et à l'activité biologique antiradicalaire des séléno protéines (Burk, 2002).

3.5- Le zinc

Le zinc (Zn) joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de la Cu-Zn SOD. Cependant, au-delà de cette fonction, le zinc possède d'autres propriétés antioxydantes pour lesquelles le mécanisme précis reste encore incomplètement connu (Powell, 2000) :

- Le zinc inhibe la production des espèces radicalaires de l'oxygène ERO par les métaux de transitions, en entrant en compétition avec le fer et le cuivre dans la réaction de Fenton.
- Le zinc protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires.
- L'activité antioxydante du zinc pourrait également passer par l'induction de metallothionéines pouvant piéger les ERO (Delattre et al, 2005).

3.6- Polyphénols

Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes. Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et

peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Delattre et al, 2005).

III- LE STRESS OXYDANT

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production des ERO, en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, tels que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (Favier, 1997). Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des radicaux libres entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique.



Figure 2 : Déséquilibre du statut pro/ antioxydant favorisant l'état de stress oxydant

1- Conséquences biochimiques du stress oxydant

1.1- L'oxydation des lipides

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ERO radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique.

Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives : l'initiation, la propagation et la terminaison (Halliwell & Gutteridge, 1989). La phase d'initiation consiste en la création d'un radical d'acide gras (R^\bullet) à partir d'un acide gras (RH) par soustraction d'un atome d'hydrogène provenant d'un groupement méthylène $-CH_2-$ bis allylique. Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le $^{\bullet}OH$ et le HOO^{\bullet} . Le radical lipidique R^\bullet subit ensuite un réarrangement moléculaire pour

donner un radical avec une structure de diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d'O₂ et former un radical peroxyde (ROO•) (Esterbauer et al 1997). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. Il est généralement admis que chaque radical R• peut être à l'origine d'une centaine de molécules d'hydroperoxyde avant que survienne la phase de terminaison. L'hydroperoxyde lipidique (ROOH) formé peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de Fe²⁺ ou Cu²⁺ et entraîner la formation d'alcalanes et d'aldéhydes toxiques dont le malonyldialdéhyde (MDA) ou le 4-hydroxynonenal (4-HNE). La réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Delattre et al., 2005).

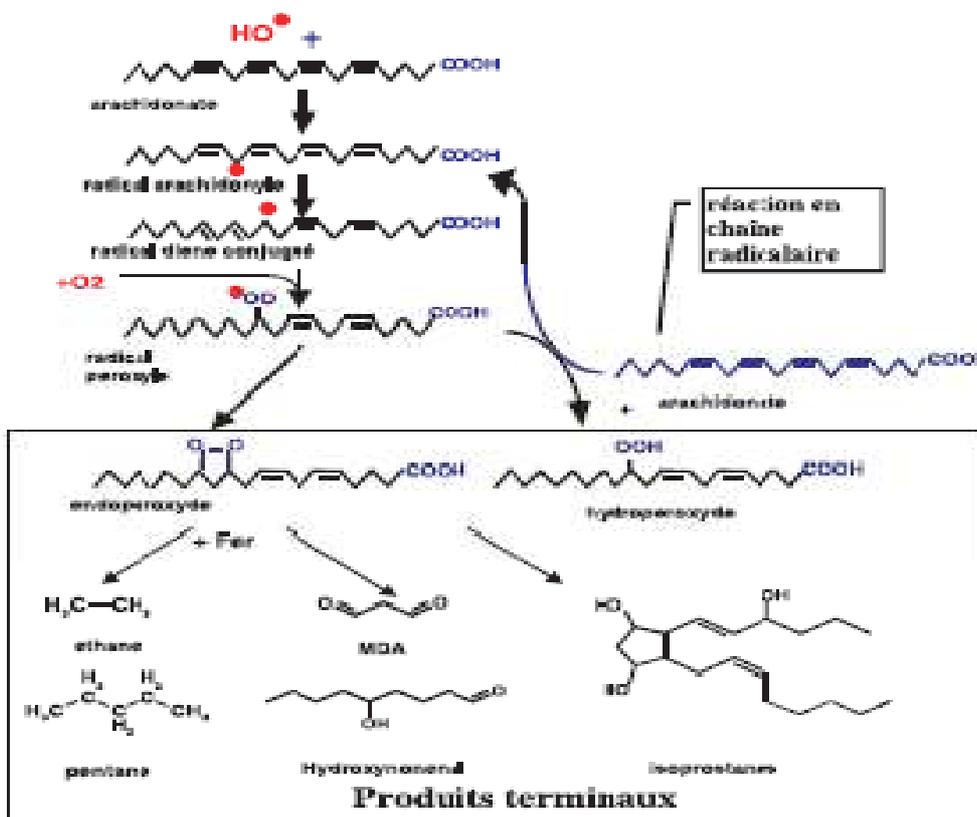


Figure 3 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.

La peroxydation de lipides fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique (Marnett, 1999).

1.2- L'oxydation de l'ADN

Les ADN nucléaires et mitochondriaux constituent une cible cellulaire importante. Cinq classes principales de dommages oxydatifs de l'ADN médiés par OH^\bullet peuvent être générées. Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaires, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines (Cadet et al., 2002). Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées. Mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin. Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine ou éthénodérivés.

1.3- L'oxydation des protéines

Les modifications oxydatives des protéines par les ERO provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine (Levine, 2002). Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Fe^{2+} ou le Cu^{2+} . Les réactions d'oxydation de protéines peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (Levine, 2002) et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées. L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du GSH ou de certaines protéines. Le rôle des protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzymes, protéines structurales) (Delattre et al., 2005).

STRESS OXYDANT DANS LA PATHOLOGIE DU DIABETE

I- LE DIABETE SUCRE

1- Les différents types de diabète

La glycémie représente la concentration de glucose circulant dans le sang. Le glucose présent dans le sang a deux origines : une origine exogène (l'alimentation apporte des sucres tels que le sucre, les féculents, les fruits, qui sont dégradés par des enzymes, en glucose principalement) et une origine endogène puisque le foie est un organe producteur de glucose selon deux voies métaboliques la glycogénolyse et la néoglucogenèse.

Le matin, à jeun, la glycémie est de l'ordre de 5,5 mM soit 1 g/l chez l'homme. Un repas glucidique l'accroît temporairement jusqu'à 1,2 à 1,3 g/l. après un jeûne de 24 h, elle reste aux environs de 0,6 à 0,7 g/l.

Le diabète sucré est caractérisé par une hyperglycémie et des troubles du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines associés à des déficits absolus ou relatifs de l'action et/ou de la sécrétion d'insuline (Organisation Mondiale de santé, ou OMS, 1980). Le diabète est actuellement défini par deux glycémies à jeun supérieures à 1.26 g/l soit 7 mM (Grimaldi et al., 2001). Ce chiffre a été retenu par le corpus médical parce que c'est à partir de cette valeur seuil qu'apparaît le risque de survenue de complications microvasculaires, et en particulier la rétinopathie (André Grimaldi et al, 2001).

L'insuline est en effet la seule hormone hypoglycémisante de l'organisme, elle est produite par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (Capeau et al., 1996). Elle stimule l'absorption du glucose sanguin par les tissus dits insulino-dépendants (foie, muscles squelettiques et tissu adipeux) et son stockage sous forme de glycogène. De plus, elle inhibe les voies de production hépatique de glucose (néoglucogenèse et glycogénolyse). Elle intervient enfin dans la régulation du métabolisme lipidique en inhibant la lipolyse des triglycérides adipocytaires et en facilitant leur synthèse, ainsi que celle de protéines dans le foie et le tissu adipeux (Capeau et al., 1996). Dans les tissus non insulino-dépendant comme le cerveau ou la rétine, l'absorption et le métabolisme glucidique sont au contraire proportionnels à la concentration sanguine en glucose et sont donc plus élevés au cours du diabète.

Il existe deux principales formes cliniques de diabète correspondant à deux mécanismes pathogéniques différents : le diabète insulino-dépendant ou diabète de type 1 et le diabète non insulino-dépendant ou diabète de type 2.

1.1- Le diabète insulino-dépendant ou le diabète sucré de type 1 DID

Le diabète de type 1 ou DID, représente environ 10% des cas de diabète mondiaux (Peter-Riesch et al., 2002). Il apparaît le plus souvent chez l'enfant et le jeune adulte, c'est pourquoi il est aussi appelé « diabète juvéniles ». Les symptômes classiques les plus manifestes sont une sécrétion excessive d'urine (polyurie), une sensation de soif (polydipsie) ainsi qu'une perte de poids (Grimaldi et al, 2001).

C'est une maladie auto-immune conduisant à une destruction sélective et progressive des cellules β pancréatique, productrice de l'insuline (Boitard, 2002 ; Thivolet, 2002). Le processus auto-immun des cellules β débute plusieurs années (5 à 10 ans voir plus) avant le début du diabète. L'évaluation de la glycémie suppose une destruction de 80 à 90 des cellules β (Grimaldi et al, 2001).

Cette destruction résulte de la production d'auto-anticorps dirigés contre les antigènes des cellules β (Boitard, 2002). Elle semble apparaître chez des sujets génétiquement prédisposés, c'est-à-dire possédant des gènes de susceptibilité liées au système HLA mais le processus auto-immune serait déclenché par un facteur environnemental encore mal connu (Boitard, 2002). Il pourrait correspondre à une infection virale (Horwitz, 2002). Ce processus de destruction entraîne une carence en insuline absolue et définitive responsable de l'apparition d'une hyperglycémie chronique permanente.

Le pancréas étant incapable de produire l'insuline, la survie de ces malades dépend entièrement d'injection quotidienne de cette hormone, d'où sont nom de diabète insulino-dépendant. Ce traitement est associé à un régime alimentaire en glucose finement contrôlé (Grimaldi et al., 2001).

1.2- Le diabète non insulino-dépendant ou le diabète sucré de type 2 DNID

Le diabète de Type 2 ou DNID est de loin la forme de la maladie la plus fréquente puisqu'elle présente 90% des cas mondiaux (King et al., 1998). Le diabète de type 2 est aussi appelé « diabète mature » car il survient le plus souvent chez l'adulte, autour de la cinquantaine, sa prévalence augmente avec l'âge (Peter-Riesch et al., 2002). Les sujets atteints sont généralement en surcharge pondérale (Girardin & Schwitzgebel, 2007). L'installation de la maladie est en effet insidieuse et les symptômes sont souvent moins marqués que dans le diabète de type 1 pouvant même être inexistant au début.

L'hyperglycémie des diabétique de type 2 est la conséquence de deux grand mécanismes physiopathologiques. Le premier correspond à une diminution de la sensibilité tissulaire à l'action de l'insuline (insulino-résistance) touchant les tissus périphériques que sont le muscle, le tissu adipeux et le foie (Dagogo & Santiago, 1997 ; Féry & Paquot, 2005).

Cette résistance découle d'une altération de la signalisation de l'insuline qui toucherait notamment le nombre de récepteurs à insuline et/ou leur affinité pour l'hormone et le nombre de transporteurs membranaires dépendants de l'insuline qui permettent l'entrée du glucose dans les cellules (Dagogo & Santiago, 1997 ; Féry & Paquot, 2005). Le deuxième phénomène consiste en une anomalie de l'insulino-sécrétion. La production de l'insuline est tout d'abord augmentée pour palier son efficacité et l'hyperinsulinémie permet dans un premier temps de maintenir une glycémie normale (Féry & Paquot, 2005). Plus la maladie progresse et plus la sensibilité à l'insuline baisse (Ferrannini et al., 2005). L'hypersecrétion d'insuline ne suffit alors plus à compenser l'insulino-résistance ce qui se manifeste à la fois par une hyperinsulinémie et une hyperglycémie. Peu à peu, les cellules β deviennent moins sensibles au stimulus du glucose. De plus, leur nombre et leur masse diminuent à cause de la toxicité du glucose. La sécrétion d'insuline finit alors par diminuer et les diabétiques de type 2 deviennent à terme, comme les diabétiques de type 1, insulino-péniques (Guillausseau & Laloi-Michelin, 2003). Avec cette baisse de l'insulino-sécrétion, l'hyperglycémie se fait plus sévère. Ces désordres du métabolisme glucidique sont associés à des troubles importants du métabolisme lipidique résultant à une dyslipidémie avec augmentation des triglycérides, acides gras libres, LDL et baisse du HDL cholestérol (Vergès, 2007). Les causes initiales de ce diabète sont mal connues et certainement multiples, facteurs génétiques et environnementaux agissant de concert (Almind et al., 2002 ; Féry & Paquot, 2005). L'obésité favorise l'insulino-résistance et ainsi l'apparition du diabète qui est d'ailleurs la complication la plus répandue de l'obésité (Féry & Paquot, 2005 ; Samaan et al., 2008). Dans la plupart des pays, l'augmentation du nombre de personnes diabétiques résulte de changements sociaux, tels la sédentarisation, la baisse d'activité physique, et une alimentation déséquilibrée particulièrement riche en graisses et en sucres raffinés...etc (Peter-Riesch et al., 2002).

Le traitement de ces malades passe tout d'abord par une réduction de charge pondérale grâce à un régime alimentaire approprié et un exercice physique accru. Il peut être associé à la prise d'antidiabétiques oraux (Peter-Riesch et al., 2002).

2- Les complications liées au diabète

Malgré le développement des molécules normalisant la glycémie et l'amélioration de schémas thérapeutiques, le diabète reste soumis à une surmorbidity et à une surmortalité liée essentiellement à des atteintes dégénératives tissulaires notamment au niveau des nerfs, des reins, de la rétine et du cœur. Le diabète sucré induit fréquemment l'apparition des complications aiguës ou chroniques (Jakuš & Rietbrock, 2004). Les principales complications diabétiques aiguës est un coma causé soit par une hyperglycémie (acido-cétose) soit par une

hypoglycémie due par exemple à une prise trop importante d'un médicament hypoglycémiant. Les complications chroniques du diabète consistent surtout en des maladies vasculaires dégénératives dont les caractéristiques principales sont l'obstruction progressive de la lumière des vaisseaux et, au niveau de la microcirculation, le passage anormal de protéines de la circulation sanguine vers les tissus. Ces complications concernent à la fois les gros vaisseaux (macroangiopathie) et les microvaisseaux (microangiopathie). La persistance de l'hyperglycémie est étroitement liée à l'augmentation de l'indice et de la gravité des complications vasculaires diabétiques.

II- LE MECANISME DE L'AUGMENTATION DU STRESS OXYDANT DANS LE DIABETE

1- Les sources des radicaux libres aux cours des états d'hyperglycémie

1.1- L'augmentation du flux de la voie des polyols.

Dans des conditions physiologiques normales (normoglycémique), le glucose est métabolisé en glucose-6-phosphate par l'héxokinase puis dirigé soit dans la voie de la glycolyse, soit dans la voie des pentose-phosphates. Le métabolisme du glucose par la voie des polyols représente un faible pourcentage (3%) de l'utilisation totale du glucose en conditions normoglycémique (Stevens et al., 2000). Dans le diabète, lorsque le taux du glucose augmente, l'héxokinase est alors saturée et le glucose en excès est en partie métabolisé par la voie des polyols dans les tissus insulino-indépendants (à peu près 30% du glucose), comme les reins, le tissu neuronal ou les microvaisseaux rétinien (Gonzalez et al., 1984) (l'absorption du glucose est proportionnelle à sa concentration sanguine). Cette voie fait intervenir deux enzymes ; L'aldose réductase et la sorbitol déshydrogénase.

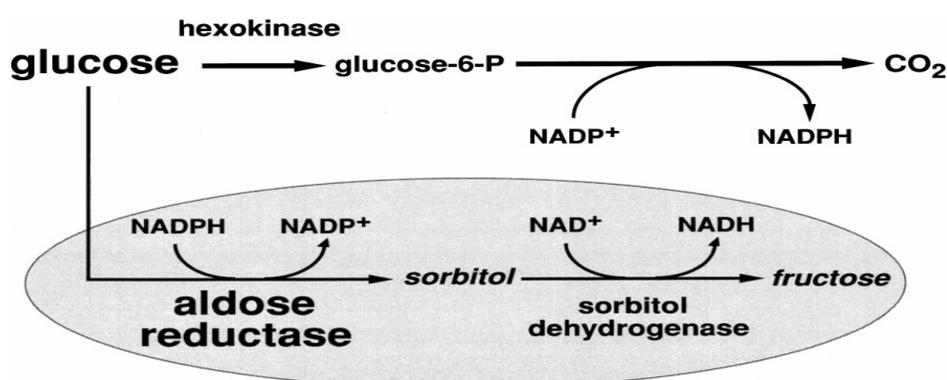


Figure 4 : Contribution de la voie du polyol à la pathogenèse des complications.

L'aldose réductase, qui n'est active qu'à de fortes concentrations du glucose du fait de sa faible affinité pour celui-ci, réduit le glucose en sorbitol en utilisant comme cofacteur le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH, H⁺) provenant de la voie des

pentose-phosphates, et qui sera oxydée en NADP^+ . L'expression de cette enzyme semble augmentée dans le diabète (Yabe-Nishimura, 1998). Puis la sorbitol déshydrogénase oxyde une partie du sorbitol formé en fructose en utilisant comme cofacteur le nicotinamide adénine dinucléotide oxydé (NAD^+).

L'activation de la voie des polyols due à une hyperglycémie a de nombreuses conséquences physiologiques qui peuvent expliquer l'élévation d'espèces radicalaires. Elle conduit à l'accumulation de sorbitol donc un stress osmotique intracellulaire (Stevens et al., 2000), de fructose et une altération du potentiel redox des cellules (diminution des rapports $\text{NADPH, H}^+/\text{NADP}^+$ et $\text{NAD}^+/\text{NADH, H}^+$) (Mohora et al., 2007).

Le sorbitol formé traverse difficilement la membrane, son accumulation induit un stress osmotique. L'hyperosmolarité provoque la baisse de l'entrée dans les cellules d'osmolytes physiologiques dont la myo-inositol et la taurine (Mohora et al., 2007). La déplétion cellulaire en myo-inositol entrave le métabolisme des phosphoinositides, la production du diacylglycérol (DAG), formé à partir de ces phosphoinositides, et d'inositol triphosphate (Li et al., 2004). La baisse du DAG induit alors un défaut d'activation de la PKC et une diminution de l'activité Na^+/K^+ ATPase (Moeckel et al., 2002).

La production accrue de fructose pourrait pour sa part, avoir une conséquence néfaste sur la glycation non-enzymatique des protéines intracellulaires. Le fructose présente en effet un pouvoir glyquant nettement supérieur à celui du glucose (7 fois plus actif que le glucose), du fait d'une proportion de la forme linéaire ouverte plus grande (Brownlee, 2001).

L'activation de la voie des polyols induit également une altération du potentiel redox des cellules. La formation du sorbitol s'accompagne d'une baisse des ressources en NADPH au détriment d'autres réactions qui nécessitent également ce cofacteur. Par exemple, la glutathion réductase requiert des niveaux élevés de NADPH pour réduire le glutathion oxydé (GSSG) et restaurer ainsi les niveaux endogènes du glutathion réduit (GSH). La diminution en NADPH entrave le cycle redox de régénération de GSH et aboutit ainsi à la génération du stress oxydant dans de nombreux tissus et contribue ainsi à la pathogenèse des complications diabétiques (Bravi et al., 1997). Le système thiorédoxine NADPH-dépendant qui joue un rôle important dans la détoxification de l'organisme des radicaux libres nécessite lui aussi des niveaux élevés de NADPH pour leur fonctionnement. D'autre part la baisse en NADPH peut également limiter d'autres réactions enzymatiques, comme la formation de $\cdot\text{NO}$ par la NO synthétase, conduisant ainsi à une déficience de la production du $\cdot\text{NO}$, observée chez les patients diabétiques (Satish et al., 2005).

L'oxydation du sorbitol en fructose induit une augmentation du rapport NADH/NAD^+ . Or le NADH,H^+ est cofacteur de différentes enzymes catalysant des réactions génératrices des radicaux libres. C'est le cas par exemple de la prostaglandine hydroperoxydase ou encore de la NADPH oxydase. L'épuisement en NAD^+ , peut également réduire l'activité d'enzymes dépendants de NAD^+ . Par exemple, l'altération de glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDHase) induirait une accumulation du glycéraldéhyde-3-phosphate et une orientation de son métabolisme vers la synthèse de novo du diacylglycérol (DAG) (Zia et al., 2007).

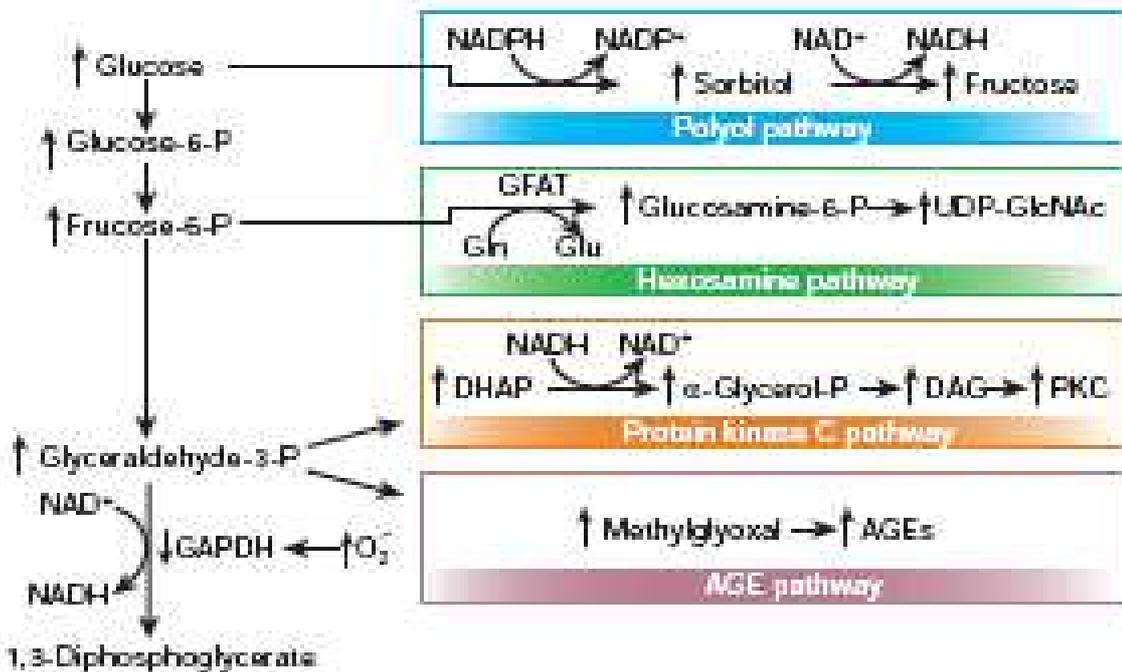


Figure 5: les multiples voies métaboliques du métabolisme du glucose sont favorisées dans le contexte de l'hyperglycémie par l'entrée accrue du glucose dans les cellules ainsi que par l'inhibition de la glycolyse.

L'activation de la voie des polyols en réponse à une hyperglycémie pourrait en fait induire deux effets opposés sur l'activation de la PKC. La diminution en myo-inositol entraîne en effet une baisse de la phosphoinosidide et par conséquent une baisse des DAG, alors que la biosynthèse de novo des DAG peut être stimulée en conséquence de l'altération du rapport NADH/NAD^+ (Delattre et al., 2005).

En résumé, le stress oxydant résultant de l'activation de la voie des polyols joue un rôle prépondérant dans l'apparition des complications liées au diabète. Des inhibiteurs de l'aldose réductase comme la sorbinyls permettent de restaurer une concentration normale en sorbitol

ainsi que le ratio GSH/GSSG dans les érythrocytes des patients DNID (Delattre et al., 2005). Cette normalisation découle de la diminution du rapport $\text{NADP}^+ / \text{NADPH}, \text{H}^+$ et $\text{NADH}^+ / \text{NAD}^+$. L'inhibition de la voie des polyols semble réduire le stress oxydant induit par l'hyperglycémie et peut prévenir des complications liées au diabète (Mohora et al., 2007). L'inhibition de la voie des polyols évite l'accumulation de fructose, qui participe activement au mécanisme de glycation, responsable de la production des ERO (Mohora et al., 2007).

1.2- L'activation de la voie des Protéines Kinases C (PKC).

Le mécanisme responsable de l'activation de la protéines kinases C (PKC) semble être principalement lié à une production accrue du DAG à partir des intermédiaires de la glycolyse par l'activation de la Phospholipase C et l'inhibition de la DAG Kinase (Xia et al., 1994 ; Keogh et al., 1997). Les conséquences de l'activation de la PKC par l'hyperglycémie sont multiples. Il a été rapporté qu'une activation de la phospholipase A_2 (PLA₂) cytosolique, entraîne une libération d'AA, la formation de prostaglandine E_2 (PGE₂) et l'inhibition des pompes Na^+/K^+ ATPase (Brownlee, 2005). De plus, l'activation de la PKC est capable, entre autres, d'augmenter la prolifération cellulaire (Koya & King, 1998), la production des cytokines et de protéine de matrice cellulaire (Studer et al., 1993), ainsi que la contractibilité et la perméabilité des vaisseaux (Hempel et al., 1997).

La famille des PKC comprend au moins 11 isoformes, dont 9 sont activées par le DAG (Brownlee, 2001). Une augmentation de la synthèse de novo de DAG, active les PKC dans les cellules vasculaires en culture (Xia et al., 1994 ; Brownlee, 2001), mais aussi de la rétine et les glomérules animaux diabétiques (Koya & King, 1998). La synthèse de novo accrue de DAG s'initiant à partir d'un intermédiaire de la glycolyse, la dihydroxyacétone phosphate, sa réduction en glycérol-3-phosphate et acylation subséquente (Koya & King, 1998). L'hyperglycémie peut aussi générer une activation des PKC de façon indirecte, à la fois par liaison des produits de glycation avancés AGE à leurs récepteurs et par augmentation du flux de la voie des polyols (Mohora et al., 2007), sans doute par le biais d'une production accrue des ERO (Mohora et al., 2007).

L'activation de la PKC induite par l'hyperglycémie entraîne des changements fonctionnels au niveau des cellules vasculaires par l'activation de la phospholipase A_2 , la surexpression des facteurs de croissances (TGF- β , VEGF) (Koya et al., 1997) et des modifications de l'expression de certaines protéines de la membrane basale (la fibronectine, par exemple) (Studer et al., 1993). Il est possible que la PKC, qui est activée par plusieurs mécanismes au cours du diabète active la NAD(P)H oxydase ce qui provoque une hyperproduction de ERO (Inoguchi et al., 2003).

1.3- L'augmentation du flux de la voie des hexosamines

Le détournement métabolique de l'excès de glucose intracellulaire par la voie des hexosamines est également à l'origine de nombreuses manifestations des complications diabétiques. L'augmentation du glucose intracellulaire conduit à la formation accrue de Fructose-6-Phosphate, qui est métabolisé en Glucosamine-6-Phosphate en présence de glutamine, par l'enzyme glutamine: fructose-6-phosphate amidotransferase (GFAT), puis finalement transformé en UDP-N-acétylglucosamine (UDP-GlcNac) (Kolm-Litty et al., 1998). L'accumulation de l'intermédiaire métabolique, fructose-6-phosphate, résulterait d'une altération de l'activité GAPDHase, par une production mitochondrial de ERO (Du et al., 2000) et ou une baisse du rapport $\text{NAD}^+ / \text{NADH}, \text{H}^+$ par la voie des polyols. Dans ces conditions, le fructose-6-phosphate est détourné de la glycolyse et utilisé comme substrat de réactions diverses requérant l'intermédiaire UDP-N-acétylglucosamine, comme la synthèse de protéoglycanes ou la formation de liaisons O-glycosidiques entre protéines (Brownlee, 2005).

Le glucosamine-6-phosphate produit par la voie des hexosamines inhibe l'activité de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), enzyme clé de la voie des pentoses phosphate (Brownlee, 2001). L'activité de la G6PD est couplée par la réduction de NADP^+ en NADPH^+ , donc l'activation de la voie des hexosamines provoque la baisse du rapport $\text{NADPH}^+ / \text{NADP}^+$ (Brownlee, 2005). La baisse du rapport $\text{NADPH}^+ / \text{NADP}^+$ induit par l'inhibition de la G6PD ou par la stimulation du NADPH oxydase augmente le stress oxydant par deux mécanismes ; le premier par la diminution de la régénération de la GSH à partir de GSSG et le deuxième par la diminution de la disponibilité de NADPH^+ ce qui diminue l'activité de la catalase enzyme responsable de la conversion de H_2O_2 en H_2O (Delattre et al., 2005 ; Mohora et al., 2007). Des données récentes ont mis que l'activation de la voie des hexosamines au cours l'hyperglycémie est induite par augmentation de la formation de ERO.

Les cibles potentielles intracellulaires de l'UDP-GlcNac sont nombreuses, diverses protéines cytoplasmiques et nucléaires peuvent effectivement être O-glycosylées. L'activation de la voie des hexosamines pourrait ainsi induire plusieurs modifications biochimiques, comme l'expression des gènes et la fonction de protéines, impliquée dans la pathogenèse des complications diabétique.

La voie des hexosamines serait également responsable des dysfonctionnements cellulaires qui mènent à l'insulino-résistance liée à l'hyperglycémie ou l'hyperlipidémie (Hawkins et al., 1997 ; Buse, 2005). L'augmentation du flux de glucose dans cette voie métabolique altérerait en effet l'activité et la translocation du transporteur de glucose GLUT-4 à la membrane, dans différents types cellulaires, altération qui dans les adipocytes est

probablement médiée par l'activation de PKC en réponse à l'hyperglycémie (Marshall et al., 1991 ; Chen et al., 1997).

1.4- La Glycation des protéines et génération des radicaux libres

Une des conséquences essentielles de l'hyperglycémie est la glycosylation non enzymatique ou glycation des protéines. La glycation des protéines résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhydique du glucose et les groupements amines libres des protéines (fonction amine N-terminale et/ou fonction ϵ -aminée des résidus lysine) (Ramamamy et al., 2006). Cette liaison (réaction de Maillard), après réarrangements, donne naissance à des produits dits d'Amadori qui présente la particularité de posséder un groupement cétole (Yim et al., 1995). Cette fonction cétole peut, en présence de métaux de transition, céder un électron à l'oxygène moléculaire, conduisant à la formation d'anions superoxydes $O_2^{\cdot-}$ (Delattre et al., 2005). La propriété des protéines glyquées de produire des anions superoxydes a été mise en évidence par la première fois par Gillery et al. (1988), et a été confirmée par d'autres auteurs tels Sakurai et Tsuchiya (1988). Depuis cette observation originale, les recherches réalisées dans ce domaine ont montré interrelations existant entre le stress oxydant et la glycation des protéines et qu'elles sont extrêmement complexes. Ces produits d'Amadori peuvent être dégradés en composés α -dicarbonylés et en désoxyglucosones. Ces composés sont plus réactifs que le glucose lui-même et forment des produits avancés de la glycation (AGE). La formation des AGE est dépendante des ERO, et est augmentée par le MDA ou par la déplétion en GSH (Jain & Palmer, 1997).

Il est important de noter que les α -cétoaldéhydes ainsi que les produits d'Amadori peuvent également s'oxyder en présence de métaux de transition, et générer des ERO. Ce mécanisme amplifiant l'attaque radicalaire aboutit à la formation de complexes multimoléculaires, à la modification de la conformation des protéines ou à la fragmentation des protéines en peptides (Jakuš & Rietbrock, 2004).

Le glucose peut subir une auto-oxydation: il s'agit d'une réaction catalysée par les métaux de transitions et au cours de la quelle sont produits des anions superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) des dicarbonyles et des AGE. Le glucose dans sa forme ouverte est en effet capable de s'énoliser et de réduire des métaux de transition. Le radical énediol formé peut être ensuite oxydé en dicarbonyle et induire la formation d'anions superoxydes, précurseurs du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et du radical hydroxyle (OH^{\cdot}) très réactif (réaction de Fenton et Haber-Weiss) (Hunt et al., 1988 ; Wolff, 1993). La réaction du dicarbonyle avec les protéines mène à la formation des AGE. Les radicaux libres formés sont capables d'altérer la fonction protéique, en particulier enzymatique, avant même la fixation du glucose sur les protéines

(Santini et al 1996). Cependant, à l'heure actuelle, cette voie n'a été décrite qu'in vitro et les conditions expérimentales utilisées ne sont pas représentatives de celles observées in vivo (Delattre et al., 2005).

Il convient de noter qu'outre le glucose, d'autres oses ou dérivés sont susceptibles de participer à la glycation des protéines comme le galactose, le fructose ou le ribose. Le pouvoir du fructose dans la formation de produit d'Amadori est d'ailleurs supérieur à celui du glucose, et cela peut représenter un des facteurs pathogènes de la mise en jeu de la voie des polyols (Delattre et al., 2005).

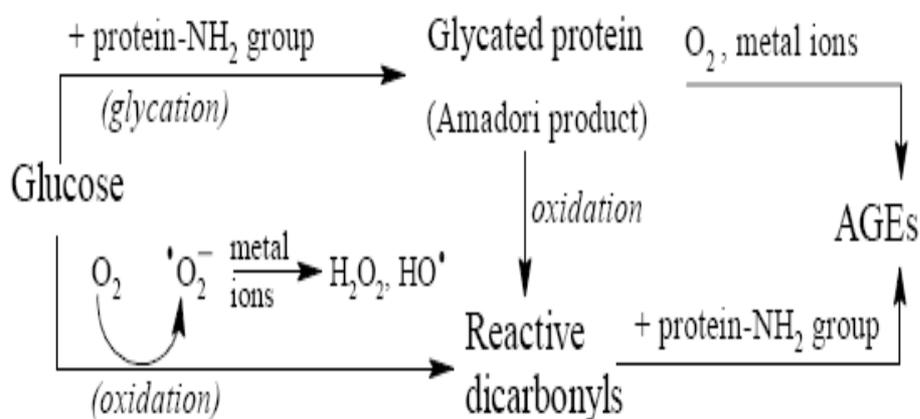


Figure 6 : les voies de formation des produits de glycation avancés (AGEs)

Les conséquences de la formation des AGE, directement ou via leur liaison avec des récepteurs membranaires (RAGE) sont multiples : altérations de la viabilité cellulaire, anomalies de la perméabilité cellulaire et de la vasomotricité (diminution de la vasodilatation par réduction de la production de NO et/ou augmentation de l'endothéline), stress oxydant, altérations de la matrice extra-cellulaire (hyperproduction du mésangium, anomalies de l'élasticité pariétale, réactions de pontage inter-protéines, modifications des charges électro-négatives des membranes (Wautier & Guillausseau, 2001).

Parmi les enzymes antioxydant intracellulaires qui fait l'objet d'une glycation on trouve surtout la Cu-Zn-SOD où un taux très élevé de Cu-Zn-SOD glyquée est retrouvé dans les érythrocytes de patients diabétiques (Arai et al., 1987). D'autres enzymes antioxydantes sont affectées par la glycation, comme la glutathion Peroxydase in vivo ou la glutathion réductase et la catalase in vitro (Delattre et al., 2005).

Du fait de sa concentration plasmatique élevée, l'albumine fait partie des cibles protéiques extracellulaires privilégiées de la glycation. Cette modification entraîne une

altération conformationnelle de cette protéine qui diminue sa capacité d'épuration des radicaux libres et de chélation des métaux de transition (Dobrian & Simionescu, 1995).

Les lipoprotéines font partie des molécules les plus sensibles à la glycation du fait de leur nature à la fois protéique et lipidique. La glycation des lipoprotéines de basse densité (LDL) augmente leur durée de vie plasmatique et donc leur risque de subir une attaque oxydative. Cette susceptibilité à l'oxydation des LDL mais aussi des VLDL vient d'être confirmée chez les patients diabétiques seulement si ceux-ci présentent une hyperglycémie sévère et/ou des complications vasculaires (Jain et al., 1998). In vitro, l'incubation de LDL en présence du glucose et du cuivre induit une forte concentration de TBARS (thiobarbituric acid-reactive substances), marqueur de la peroxydation lipidique. In vivo il y a une corrélation positive entre la concentration de LDL glyquées et le taux de TBARS, mais la relation entre glycation et oxydation des lipoprotéines n'a pas été formellement prouvée (Lyons & Jenkins, 1997).

Les AGE extracellulaires sont également capables de se fixer sur des récepteurs membranaires spécifiques dénommés RAGE (receptor for advanced glycation endproducts), présents sur de nombreux types cellulaires comme les monocytes, les macrophages, les lymphocytes ou les cellules endothéliales. Le taux de ces récepteurs semble régulé de façon négative par l'insuline (Vlassara & Bucala, 1996). La fixation des AGE à leur récepteur induit un stress oxydant qui s'accompagne d'une augmentation de l'activité du facteur de transcription NF- κ B (Yan et al., 1994).

1.5- L'augmentation de la production des radicaux libres par la mitochondrie

La production mitochondriale de l'anion superoxyde dans les états hyperglycémie semble être la source principale des ERO chez le diabétique. Cette hypothèse « unificatrice » mitochondriale repose sur l'activation de différents mécanismes par la surproduction d'anion superoxyde généré par l'hyperglycémie au niveau de la mitochondrie. Au cours d'une hyperglycémie l'accumulation de substrat pyruvate au sein de la cellule, augmenterait sa conversion intra-mitochondriale via le cycle des acides tricarboxyliques, en associant la libération accrue de donneurs d'électrons comme le NADH et le FADH₂. Ceci engendre une élévation du potentiel membranaire mitochondrial en augmentant le flux de protons à travers la chaîne de transporteurs de la membrane interne, saturant le transport d'électrons et augmentant la demi vie des systèmes générateurs d'anions superoxydes tels que le coenzyme Q, qui est capable de réduire l'O₂ en anion superoxyde. Ceci induit une forte production d'anions superoxydes dans les cellules (Du et al., 2001; Brownlee, 2005; Mohora et al., 2007).

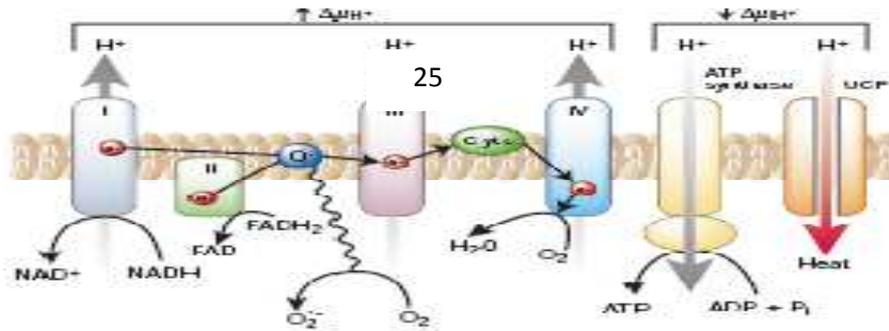


Figure 7: la production de l’anion superoxyde par la mitochondrie.

L’accumulation de l’anion superoxyde inhibe partiellement une enzyme de la glycolyse, la GAPDH, détournant de fait les métabolites de la glycolyse en aval vers les différentes voies de conversion du glucose en excès (Du et al., 2000). Ceci résulte en un influx accru de dihydroxyacétone phosphate (DHAP) vers la production de DAG, activateur de PKC, et des trioses phosphate vers la formation de méthylglyoxal, l’un des précurseurs intracellulaires majeurs d’AGE. L’augmentation de la conversion du fructose-6-phosphate en UDP-GlcNac et l’afflux de glucose vers la voie des polyols accapare partiellement la consommation de NADPH, facteur requis pour le recyclage des molécules antioxydantes oxydées vers leurs formes réduites, et contribue ainsi à la déplétion en GSH, une des principales défenses antioxydantes non enzymatiques de la cellule, favorisant l’amplification du processus (Brownlee, 2005).

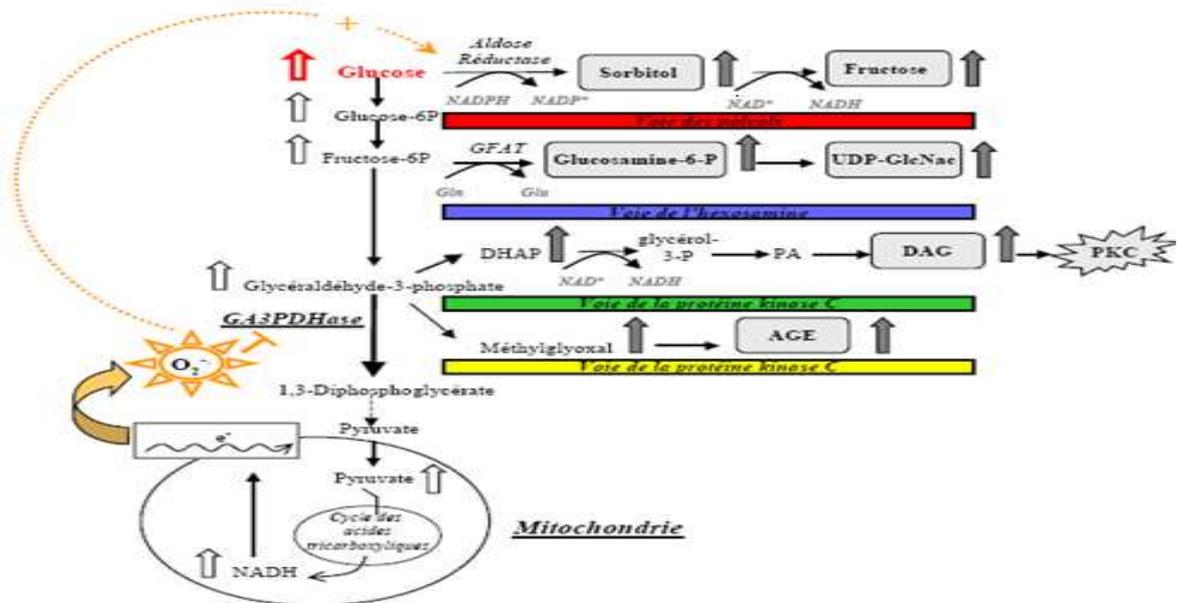


Figure 8: la mitochondrie : le lien unificateur entre les différents mécanismes pathogéniques proposés dans les complications associées au diabète (Januel, 2003).

Ainsi, plusieurs études ont démontré l'intérêt de restaurer les défenses antioxydantes pour pallier aux complications microvasculaires du diabète. La normalisation du taux de l'anion superoxyde obtenue par la surexpression de Mn-SOD prévient de cette façon l'augmentation simultanée de la voie des polyols, de formation d'AGE, de l'activation de PKC et de la voie des hexosamines engendrée par l'hyperglycémie (Brownlee, 2001 ; Craven et al., 2001 ; Brownlee, 2005 ; Mohora et al., 2007).

2- Altération des défenses antioxydantes au cours du diabète

L'effet de la production accrue des ERO est potentialisé par la réduction des défenses antioxydantes. Une diminution des défenses antioxydantes enzymatiques (GPx, catalase, SOD) ou non enzymatiques comme le glutathion réduit (GSH) ou la vitamine E peut conduire à l'apparition d'un stress oxydant dans les tissus. Une telle altération a été rapportée au cours du diabète et dans plusieurs études, *in vitro*, en présence de glucose.

Une diminution de la capacité antioxydante plasmatique (antioxydants enzymatiques ou non enzymatiques) a par exemple été décrite par Benrebai et al., (2008) chez les diabétiques de type 2. Muruganandam et al., (1992) ont montré une diminution du taux de GSH et de l'activité GPx1 dans les plaquettes des diabétiques de type 1. Le taux de la vitamine E est diminué dans les plaquettes des diabétiques de type 2 par rapport aux plaquettes de sujets contrôles bien que les taux de vitamine E mesurés dans les plasmas soient identiques. Dans les érythrocytes des diabétiques de type 1, les réserves de GSH et de vitamine E sont altérées (Wolff, 1993).

La diminution des antioxydants pourrait s'expliquer, entre autres, par la glycation des enzymes qui entrainerait leur inactivation comme cela a été décrit pour la GPx1 et la SOD érythrocytaires ainsi que pour la SOD plasmatique. D'autres études ont montré que la glycation de la catalase et de la glutathion réductase était possible *in vitro*.

La diminution de la réserve antioxydante au cours du diabète peut aussi s'expliquer par une carence de la disponibilité en NADPH, H⁺, un cofacteur requis pour le recyclage de GSH à partir de la GSSG et aboutit ainsi à la génération du stress oxydant dans de nombreux tissus et contribuer ainsi à la pathogenèse des complications diabétiques (Atalay & Laaksonen, 2002). Cette diminution en NADPH est induite soit par l'activation de la voie des polyols soit par réduction de la voie des pentose-phosphate et de la glycolyse soit par l'inhibition de la G6PD par le glucosamine-6-phosphate. La diminution de la disponibilité de NADPH⁺ diminue également l'activité de la catalase enzyme responsable de la conversion de l'H₂O₂ en H₂O (Mohora et al., 2007).

Ces résultats suggèrent un mécanisme compensatoire des cellules face à une production accrue des radicaux libres ou d'autres espèces oxydantes. Le tissu considéré ainsi que la durée du diabète, associé ou non à d'éventuelles complications, semblent être des critères déterminant pour l'apparition d'un stress oxydant.

3- Augmentation des marqueurs du stress oxydant au cours du diabète

L'augmentation du stress oxydant au cours du diabète a donc été principalement démontrée par une augmentation des dommages causés par les radicaux libres sur les protéines et les lipides. Le principal marqueur de l'augmentation des radicaux libres est l'augmentation de la peroxydation lipidique. Plusieurs études cliniques et expérimentales ont mis en évidence l'augmentation du taux des produits de la peroxydation lipidiques (diène conjugués, hydroperoxydes d'acides gras et MDA) dans le plasma et les tissus (foie, reins et cerveau) des sujets diabétiques (Ceriello et al., 2001 ; Stephens et al., 2006).

III. APPORT DES THERAPEUTIQUES ANTIOXYDANTES DANS LE TRAITEMENT DU DIABETE.

1- Les molécules antioxydantes

Etant donné l'implication du stress oxydant dans la pathologie diabétique, il est intéressant de considérer l'apport potentiellement bénéfique des antioxydants.

Du fait que les antioxydants agissent en synergie et de façon à éviter un éventuel déséquilibre de la balance antioxydants/pro-oxydants, il est souvent souhaitable de les administrer en association. Une supplémentation par la vitamine E permet d'améliorer les effets de l'insuline et l'équilibre glycémique, ce qui se traduit par l'abaissement de la glycémie, de l'hémoglobine glyquée, et de la fructosamine (Paolisso et al., 1993 ; Sharma et al., 1999) ; elle conduit aussi à une diminution de la peroxydation lipidique plasmatique et l'oxydabilité des LDL (Anderson et al., 1999 ; Jain et al., 2000) , ce qui serait favorable à la réduction du risque cardiovasculaire. Toutefois, les résultats des études cliniques utilisant une supplémentation par la vitamine E restent divergents, rapportant parfois une absence d'effet (Reaven et al., 1995).

Un autre antioxydant, l'acide α -lipoïque, a montré un effet bénéfique sur la peroxydation lipidique et la glycation des protéines dans les hématies soumises à de fortes concentration de glucose (Jain et Lim, 2000) ainsi que dans le traitement de la neuropathie diabétique chez l'animal (Keegan et al., 1999 ; Kocak et al., 2000).

Par ailleurs, une étude clinique menée chez des sujets diabétiques de type 2 a montré que la N-acétylcystéine pourrait ralentir la progression des dommages vasculaires en diminuant les concentrations de VCAM-1 soluble au niveau plasmatique (De Mattia et al., 1998).

D'une façon générale, il est particulièrement difficile de tirer des conclusions claires à partir des études cliniques utilisant des suppléments en antioxydants du fait de plusieurs facteurs : la diversité des populations de patients, la variabilité du contrôle glycémique, les variations concernant la dose et la forme des suppléments utilisés, la difficulté à évaluer l'apport alimentaire d'antioxydants et l'utilisation de différents marqueurs biochimiques pour rendre compte de l'efficacité de la supplémentation.

2- Antidiabétiques oraux possédant des propriétés antioxydantes

L'utilisation d'antioxydant est une voie prometteuse pour une thérapeutique complémentaire dans le diabète. A part les antioxydants classiques utilisés pour diminuer le stress oxydant, les antidiabétiques oraux eux-mêmes (metformine, troglitazone, gliclazide) peuvent présenter une activité antioxydante indépendante de leur action sur le contrôle glycémique, ce qui leur confère un fort potentiel thérapeutique.

La troglitazone s'est avérée capable d'inhiber la peroxydation lipidique et la caractogénèse induite par le galactose dans des cellules de rat. De façon similaire, la troglitazone peut inhiber l'oxydation des LDL induite par les ions Cu^{2+} et la capture et la dégradation de ces LDL par les macrophages, en agissant comme antioxydant en phase aqueuse en plus de son effet sur l'homéostasie du glucose (Crawford et al., 1999). Le gliclazide diminue l'oxydation des LDL et l'adhésion monocytaire aux cellules endothéliales, suggérant un effet bénéfique de ce médicament dans la prévention de l'athérosclérose associée au diabète de type 2 (Renier et al., 2000). L'administration de gliclazide à des patients diabétiques de type 2 conduit à une diminution de la concentration d'isoprostanes (marqueur de la peroxydation lipidique) et à une augmentation du pouvoir antioxydant total du plasma, de l'activité superoxyde dismutase et de concentration des thiols (O'Brien et al., 2000). Enfin, une molécule particulièrement intéressante est la metformine, antidiabétique oral utilisé depuis une quarantaine d'années chez les diabétiques de type 2 (Wiernsperger, 2000) et qui présente en outre une activité antioxydante et anti-AGE. Ainsi, le traitement par la metformine peut prévenir les complications du diabète en abaissant la glycémie, mais aussi en inhibant la formation des AGE. Chez des patients obèses diabétiques récemment diagnostiqués, un traitement de quatre semaines par la metformine a conduit à une diminution des taux érythrocytaires et plasmatique du MDA et à un accroissement des activités érythrocytaires de la Cu,Zn-SOD, de la catalase et de la concentration de GSH (Pavlovic et al., 2000).

ARTEMISIA HERBA ALBA Asso

I- PLANTE MEDICINALES ET DIABETE

Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeurs thérapeutiques. Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages, n'oublions pas que de temps en temps, à l'exception de ces cents dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse des maladies bénignes, rhum ou toux ou plus sérieuses tel que la tuberculose ou la malaria.

Le traitement actuel du diabète est efficace dans la baisse de la glycémie, cependant le contrôle adéquat quotidien de la glycémie est très difficile à atteindre dans la plupart des cas, ce qui conduit à long terme à l'émergence de complications très sérieuses. L'essor récent de la phytothérapie offre une opportunité pour trouver des molécules naturelles susceptibles d'exercer des effets bénéfiques sur la régulation du métabolisme glucidique en évitant les effets secondaires des substances synthétiques (Eddouks et al., 2007).

Depuis les temps la phytothérapie a été utilisée dans la médecine pour traiter le diabète mellitus. Plus de 400 plantes traditionnelles sont utilisées pour le traitement du diabète sucré ont été enregistrées, mais seulement un petit nombre d'entre eux ont subis un enregistrement scientifique et une évaluation médicale afin de confirmer leurs efficacités (Bailey & Day, 1989). Certaines plantes sont à l'origine de la mise au point de médicaments ex : le biguanide metformine grâce au *Gallega officinalis*. Devant l'augmentation considérable du nombre de diabétiques, de nombreux chercheurs ont évalué l'action pharmacologique de ces plantes traditionnelles et donc leur intérêt en médecine quotidienne.

Deux types de substances végétales semblent intéressantes ; celles qui agissent à la manière de l'insuline ou des autres médicaments hypoglycémiantes en empêchant l'absorption du glucose au niveau intestinal, en augmentant la synthèse et la libération de l'insuline pancréatique, en diminuant celle du glucagon, en accélérant la consommation du glucose sanguin (absorption dans les cellules, synthèse du glycogène, des graisses ou des protéines). D'autres substances, principalement des tanins ; agissent sur le diabète lui-même au niveau cellulaire, en favorisant l'action de l'insuline (en diminuant la résistance à l'insuline), et sur les complications du diabète par leur pouvoir antioxydant et anti-enzymatique, neutralisant l'effet des radicaux libres et limitant la réaction inflammatoire dans les différents tissus.

Certains extraits de plantes contiennent parfois ces deux types de substances (Eddouks et al., 2007).

II- *ARTIMISIA HERBA-ALBA* Asso

Le genre *Artemisia* est un membre d'une grande variété de plantes appartenant à la famille des Asteraceae (Compositae). Plus de 300 différentes espèces de ce genre se trouvent principalement dans les zones arides et semi arides d'Europe, d'Amérique, l'Afrique du Nord ainsi qu'en Asie. Les espèces d'*Artemisia* sont largement utilisées comme plantes médicinales en médecine traditionnelle. Certaines espèces, telles que l'*Artemisia absinthium*, l'*Artemisia annua* ou l'*Artemisia vulgaris* sont incorporés dans les Pharmacopées de plusieurs pays européens et asiatiques (Proksch, 1992).

En commun avec plusieurs d'autres espèces de ce genre, l'*Artemisia herba alba* Asso, plante caractéristique du moyen-orient et d'Afrique du Nord (Feinbrun-Dothan, 1978), est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies.



Figure 9 : *Artemisia herba alba* Asso

Classification

- **Règne :** Plantae
- **Embranchement:** Spermatophyta (Angiospermae)
- **Classe :** Dicotyledones
- **Ordre :** Asteroles
- **Famille :** Asteraceae
- **Genre :** *Artemisia*
- **Espèce :** *Artemisia herba alba* (Asso)

1- Description botanique

L'*Artemisia herba alba* Asso (Nom vernaculaire : Armoise blanche en français, Chih en arabe) est une plante vivace de 30-50 cm de long, qui se caractérise par une odeur de thymol, très verdoyante et avec de jeunes branches tomenteuses. Les feuilles sont coudées, généralement pubescentes, argentées, de natipartites. Les fleurs sont hermaphrodites,

emballés dans des petites capitules (comprenant chacun de 3 à 8 fleures) sessiles et en bottes. Les fruits sont des akènes.

La croissance végétative de l'*Artemisia herba alba* Asso à lieu à l'automne, la floraison commence en Juin et se développe essentiellement en fin d'été. L'armoise blanche se développe dans les zones bioclimatiques qui vont de la partie supérieure semi-arides à la partie inférieure Subsaharienne (Gharabi et al., 2008).

2- Phytochimie

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés de l'*Artemisia herba alba*, peut-être les plus importants sont les sesquiterpènes lactones. D'autres études ont été portées sur les flavonoïdes et l'huile essentielle.

Plusieurs types de sesquiterpènes lactones ont été trouvés dans les parties aériennes de l'*Artemisia herba alba* Asso. Les Eudesmanolides suivie par germacranolides semblent les types les plus abondants dans cette espèce (Ahmed et al., 1990 ; Boriky et al., 1996) Les flavonoïdes détectés dans l'*Artemisia herba alba* montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et favonols) jusqu'à les flavonoïdes méthylés qui sont très inhabituel (Saleh et al., 1985 ; Saleh et al., 1987). Les flavonoïdes glycosides comprennent des O-glycosides tels que quercitrine-3-glucoside, mais aussi des flavones C-glycosides qui sont rares dans le genre *Artemisia*, ainsi que dans l'ensemble des *Astraceae*.

En plus des sesquiterpènes lactones et des flavonoïdes l'analyse phytochimiques a porté sur la composition des huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba* Asso. Parmi les composants les plus importants des huiles essentielle de l'*Artemisia herba alba* Asso on trouve les monoterpènes tels que le 1,8-cineole et le terpène 4 ol (Feuerstein et al., 1986), des santonines, des coumarines, des triterpènes pentacycliques et les tanins (Gharabi et al., 2008).

3- Place de l'*Artemisia herba alba* en phytothérapie

L'*Artemisia herba alba* Asso est très utilisé au Moyen-Orient et en l'Afrique du nord contre plusieurs maladies y compris l'entérite et les troubles intestinales (Yashphe et al., 1987). Dans une étude visant à révéler les raisons de l'utilisation de cette plantes, l'extrait de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso a été testé contre différentes bactéries qui causeraient des troubles intestinaux, ainsi que sur des lapins afin de déterminer l'activité antispasmodique de cet extrait. L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso a montré une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries telle que l'*Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et la *Salmonelle typhose*. Cette activité a été assimilée à linalool, pinocarveneol et surtout terpène 4-ol. L'effet antispasmodique de l'huiles essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso a été

expérimentalement 100 - 1000 fois plus élevé que l'effet antibactérien observé (Yashphe et al., 1987).

De loin le plus fréquemment cité est l'utilisation de l'*Artemisia herba alba* dans le traitement du diabète sucré (Twaij & Al-Badr, 1988 ; Al-Shamaony et al., 1994, Marrif et al., 1995 ; Taştekin et al 2006). Plusieurs auteurs ont rapportés sur l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* (0.39 g/kg de poids corporel) sur des lapins, des rats et des souris rendus diabétiques par l'alloxan monohydrate. Les composés responsables de cet effet hypoglycémiant restent cependant à élucider.

En plus du diabète, l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* est utilisé traditionnellement en Jordanie comme un antidote contre les venins de plusieurs types de serpents et de scorpions (Twaij & Al-Badr, 1988), et en Afrique du nord pour soigner la bronchite, l'abcès, les diarrhées, et comme vermifuge (Gharabi et al., 2008).

Matériels et méthodes

MATERIEL ET METHODES

MATERIELS

1- MATERIEL VEGETAL « *Artemisia herba alba Asso* »

1.1-Récolte de l'*Artemisia herba alba Asso*

L'*Artemisia herba alba Asso* est récoltée dans la chaîne montagneuse d'Arris wilaya de Batna dont l'altitude est d'environ 1600 m. la récolte est réalisée à la fin du mois de Mai 2008. L'échantillon est ensuite lavé puis séché à l'air libre et à l'ombre pendant 21 jours. Devenue sèche, la partie aérienne de la plante est récupérée, stockée dans des bocaux fermés hermétiquement et placée dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur avant son utilisation.

1.2-Préparation de l'extrait aqueux infusé et lyophilisé

L'extraction des substances bioactives contenues dans la partie aérienne de l'*Artemisia herba alba Asso* est réalisée par infusion dans l'eau distillée bouillon. 10g de poudre de la partie aérienne de la plante est additionné à 100 ml d'eau distillée bouillon.

Après broyage de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba Asso* par un moulin à café et chauffage de l'eau distillée à 100°C par un bec benzène ; 10 g de poudre de la plante sont additionnés à 100 ml d'eau distillée bouillon puis laissé 30 minutes pour infusion avec agitation de temps en temps. L'extrait aqueux obtenu est ensuite centrifugé à 1000 tours/min pendant 10 minutes pour se débarrasser des débris de plantes puis filtré sur papier filtre.

Le filtrat (68ml ± 6) est ensuite mis dans des boîtes de pétries, congelé à -20°C puis lyophilisé à l'aide d'un lyophilisateur.

La congélation de l'extrait lyophilisé à -20°C est une condition nécessaire afin de garder intacte les molécules extraites de la partie aérienne de l'*Artemisia herba alba Asso* (figure N 10)

La lyophilisation est faite au niveau du laboratoire de biochimie de l'Institut de Nutrition, Alimentation et Technologies Agro-Alimentaires (I.N.A.T.A.A) de l'université Mentouri Constantine.

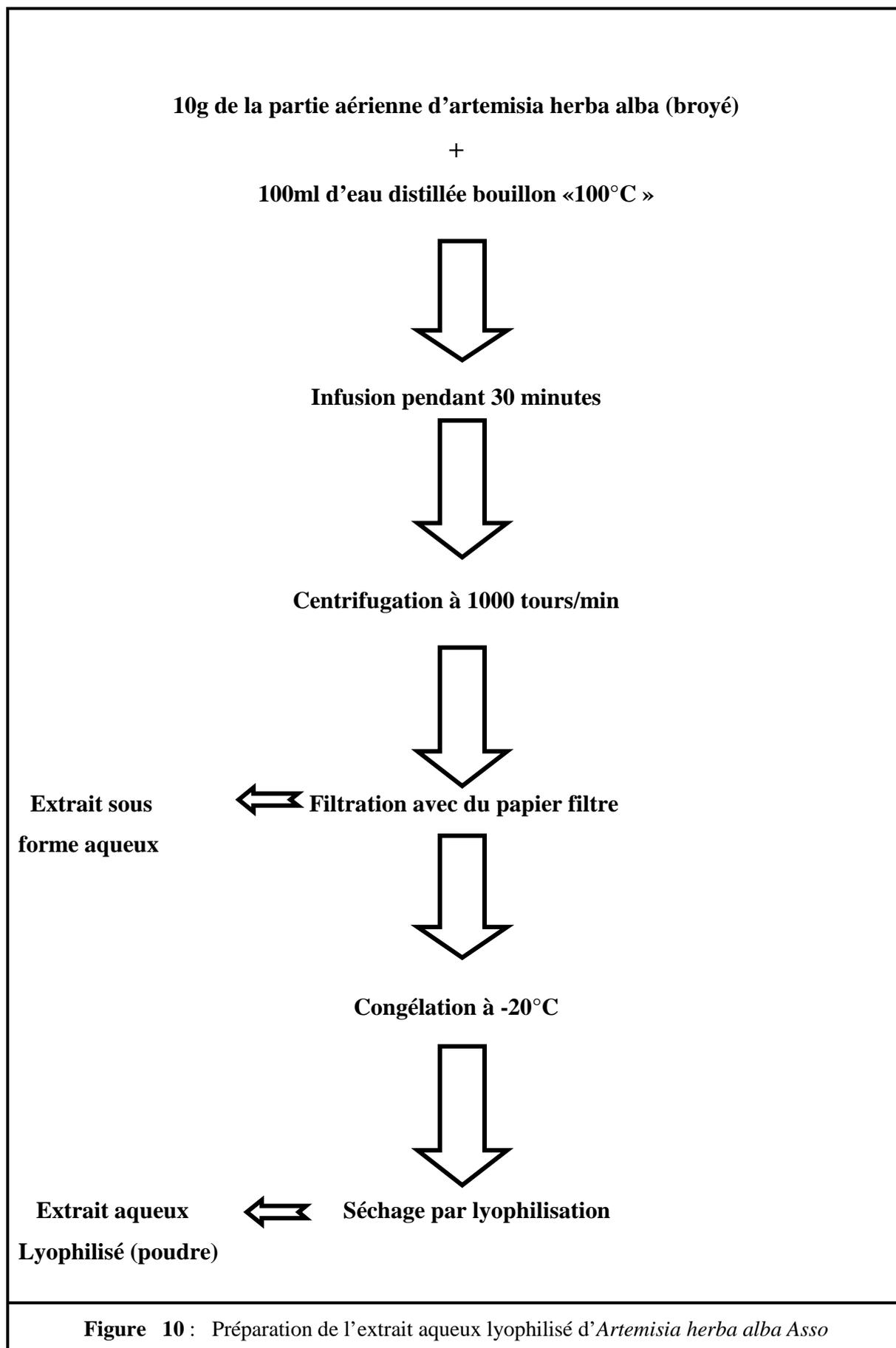


Figure 10 : Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso

2- Matériel animal

2.1- Entretien des animaux

Les 24 rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats males adultes de souche Wistar Albinos, pesant entre 220 et 270 g (au début de l'expérimentation), issus par élevage au niveau de l'animalerie de l'Université Mentouri de Constantine. Les rats sont logés dans des cages métalliques où chaque cage regroupe 3 rats. Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture « type d'aliment standard, acheté de l'O.N.A.B de Ain Mlila ».

Les rats sont maintenus à une température ambiante $> 30^{\circ}\text{C}$ et photopériode de 8h/16h. Ils ont été traités conformément au principe et directive énoncés dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation.

2.2- Induction du diabète

Après une mise à jeun pendant une nuit (privation de la nourriture pendant 16 heures mais pas de l'eau), le diabète a été induit chez les rats par injection intrapéritonéale d'une solution fraîchement préparée de STZ (Sigma ST Louis, Mo) à une dose de 55 mg/kg de poids corporel soit un volume de 2 ml/kg (qui détruit les cellule β). La streptozotocine est dissoute dans un tampon citrate de sodium 0,1M pH 4,5.

Les groupes de rats non diabétiques ont reçus par voie intrapéritonéale le même volume de tampon citrate de sodium 0,1M pH 4,5.

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

Après 48 heures de l'injection (temps de développement du diabète), le diabète a été confirmé chez les rats à STZ par mesure de la glycémie à jeun à l'aide d'un glucomètre de type *Acut Chek*. Seuls les rats ayant le taux de glucose sanguin supérieur à 1.7 g/l ont été considérés comme diabétiques et retenus pour cette expérimentation.

2.3- Traitement des animaux

Après l'induction du diabète, l'ensemble des rats, diabétiques et non diabétiques ont été divisés en quatre groupes de six rats chacun et gardés dans des mêmes conditions. Le début du traitement par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* ou par l'eau distillée pour les témoins commence 24 heures après la confirmation du diabète et dure 21 jours (durée du traitement).

Les groupes des animaux

- **Groupe I (6 rats) Contrôle sain ou témoin sain** : qui reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 5 ml/kg d'eau distillée pendant 21 jours.
- **Groupe II (6 rats) Contrôle diabétique ou diabétique témoin** : ces rats reçoivent chaque jour par gavage gastrique 5 ml/kg d'eau distillée pendant 21 jours.
- **Groupe III (6 rats) Sain + Art** : reçoivent chaque jour par gavage gastrique 390 mg/kg de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso pendant 21 jours.
- **Groupe IV (6 rats) Diabétique + Art** : des rats qui reçoivent quotidiennement par voie orale 390 mg/kg de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso pendant 21 jours.

2.4- Prélèvement sanguin et mesure du poids

Le sang est prélevé au niveau de l'œil par ponction dans le sinus retro-orbital et mis dans des tubes contenant de l'héparine pour prévenir la coagulation. Ces prélèvements sont effectués, sur des rats à jeun (16 heures), une journée avant le début de l'expérimentation (48 heures après l'injection de la streptozotocin) puis après chaque semaine de traitement (J0, J8, J15 et J22).

Après chaque prélèvement sanguin, le sang est mis dans des tubes héparinés, centrifugé à 6000 tours/minute pendant 15 minutes puis le sérum est récupéré et utilisé pour les dosages biochimiques de la glycémie, le cholestérol total, les TG et le HDL cholestérol. La mesure du poids est effectuée sur des rats à jeun, de façon régulière, chaque semaine juste avant les prélèvements sanguins.

L'évaluation du taux de consommation de nourriture est effectuée le dernier jour du traitement (21^{eme} jour) en isolant les rats dans des cages métaboliques.

2.5- Préparation de la fraction cytosolique de tissus 10%

Au moment du sacrifice les organes (foies, et reins) sont récupérés, rincés par l'eau physiologique salin 0.9 % puis; 1 g d'organe est additionné à 9 ml (1V/10V) de solution tampon phosphate 0.1 M pH; 7.4 contenant du KCl 1,15M, le mélange est homogénéisé à 1200 tours/minute par un homogénéiseur de dounce. L'homogénat est ensuite centrifugé à 4000 tours/minute pendant 10 minutes à 4°C puis à 10000 tour /minute pendant 45 minutes à 4°C, La fraction cytosolique est récupérée et utilisée pour les dosages du taux de molonyldialdéhyde (MDA), la concentration de glutathion réduit (GSH), l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (CAT).

3- Réactifs

La Streptozotocin (STZ), l'Acide Thiobarbiturique (TBA), le 1,1,3,3-Tetraoxypropane (TEP), l'Acide Thionitrobenzoïque (TNB), le Glutathion réduit (GSH), la Pyrogallol et la Catalase (Cat) sont achetés du *SIGMA ALDERICH CO., ST Lowis, Mo.*

Le Tris, le KH_2PO_4 et le K_2HPO_4 sont achetés de *BIOCHEM., CHEMOPHARMA, Gorgia; USA.*

Le Trichloroacide Acétique (TCA) est acheté de *FLUKA CHEMIKa ; Switzerland.*
Le peroxyde d'hydrogène, l'acide citrique, le citrate de sodium et le KCL sont achetés de *PANREAC QUIMICA, SA ;España*

Le *n*-butanol et acheté de *PROLAB, MERK EUROLAB.*

Le Kit de réactif de glucose, le Kit de réactif du cholestérol, le Kit de réactif des glycérides et le Kit de réactif des c-HDL sont achetés d' *Abbott. Clinical Biochemistry.*

Le Kit de réactif des protéines totales est acheté du *SPINREACT*

4- Appareils

- Centrifugeuse *Sigma.*
- pH-mètre *Hanna.*
- Spectrophotomètre *SHIMADZU, China.*
- Autoanalyseur *ARCHITECT c Systems.*
- Lyophilisateur.

METHOSES

I- METHODES DE DOSAGE DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES DU SANG

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

1- Dosage du glucose

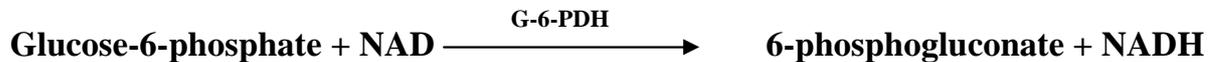
La glycémie peut être dosée par de très nombreuses méthodes, dont les plus anciennes sont colorimétriques alors que celles pratiquées actuellement sont enzymatiques.

Dans notre étude, la glycémie à été déterminée suivant une méthode enzymatique (Hexokinase /G-6-PDH) en utilisant le Kit de réactif de glucose **REF 3L82-20** par un autoanalyseur de type (ARCHITECT c Systems).

-Principe

Le glucose est phosphorylé par l'hexokinase (HK) en présence d'adénosine triphosphate (ATP) et d'ion de magnésium, produisant ainsi du glucose-6-phosphate (G-6-P) et d'adénosine diphosphate (ADP). La glucose-6-phosphate dishydrogénase (G-6-PDH) oxyde en particulier le G-6-P en 6-phosphogluconate avec réduction simultanée du

nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) en nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH).



Une micromole de NADH est produite pour chaque micromole de glucose consommée. Le NADH produit absorbe la lumière à 340 nm et cette augmentation de l'absorbance peut être détectée par spectrophotométrie.

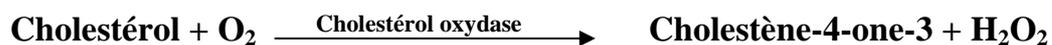
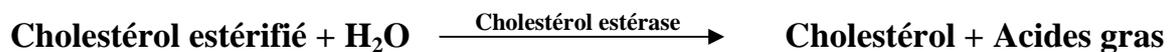
2- Dosage du cholestérol total

Le cholestérol peut être dosé par de très nombreuses méthodes, dont les plus anciennes sont colorimétriques alors que celles pratiquées actuellement sont enzymatiques.

Dans notre étude, le cholestérol a été déterminé suivant une méthode enzymatique (réaction de Trinder) par un autoanalyseur de type (ARCHITECT *c* Systems) en utilisant le Kit de réactif du cholestérol **REF 7D62**. (Roeschlau et al., 1974)

-Principe

Les esters de cholestérol sont hydrolysés enzymatiquement par la cholestérol estérase qui les décomposent en cholestérol et en acides gras libres. Le cholestérol libre, y compris celui initialement présent, est ensuite oxydé par le cholestérol oxydase pour former du cholestène-4-one-3 et du peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène se combine avec de l'acide hydroxybenzoïque (HBA) et de la 4-aminoantipyrine pour former un chromophore (quinoneimine) quantifié à 500 nm.



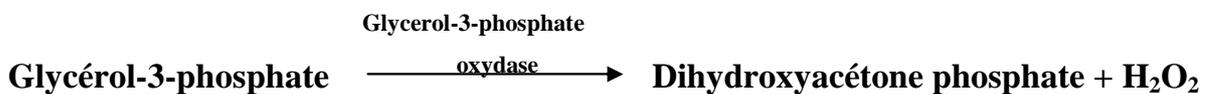
L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présent dans l'échantillon du sérum.

3- Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides a été effectué par le même autoanalyseur (ARCHITECT c Systems) suivant une méthode colorimétrique enzymatique des triglycérides (Glycérol phosphate oxydase) en utilisant le Kit de réactif des glycérides **REF 7D74**. (Fossati & Prencipe, 1982; Mc Growan et al., 1983)

-Principe

Repose sur le dosage enzymatique du glycérol libre après action de la lipase. Les triglycérides sont hydrolysés enzymatiquement par la lipase afin de libérer les acides gras et le glycérol. Le glycérol est phosphorylé par l'adénosine triphosphate (ATP) et le glycérol Kinase (GK) pour produire du Glycérol-3-phosphate et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le Glycérol-3-phosphate est oxydé en Dihydroxyacétone phosphate (DAP) par le glycérol phosphate oxydase (GPO) en produisant du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Lors d'une réaction colorée catalysée par la peroxydase, le H₂O₂ réagit avec le 4-aminoantipyrine (4-AAP) et le 4-chlorophénol ((4-CP) pour produire un colorant rouge.



L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité des triglycérides dans l'échantillon du sérum.

4- Dosage du cholestérol HDL

Le dosage du HDL cholestérol s'effectue après précipitation grâce au réactif phosphotungstique associé au chlorure de magnésium (ref.T01-2801-56, 6×5 ml) qui consiste à précipiter les LDL, VLDL. Le HDL cholestérol est alors dosé dans le surnageant résultant de la centrifugation du précipité par la même technique enzymatique que le cholestérol total.

-Principe

Pour le dosage du glutathion, la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB) est la méthode la plus employée (Ellman,1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel à pH (8-9) alcalin présente une absorbance à 412 mn selon la réaction suivante :

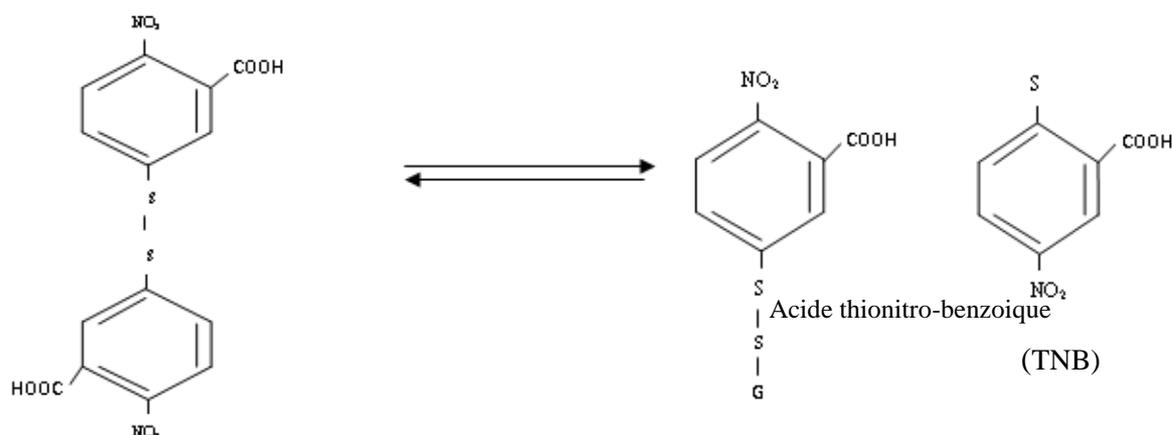


Figure 12: Reaction d'Ellman

-Méthode de dosage

A 0.5ml de la fraction cytosolique 10% (KCl 1,15M) du foie ou des reins nous avons additionné 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 10% puis centrifugé à 2000 tours/min pendant 5 minutes. Ensuite, à 1.7 ml du tampon phosphate 0.1 M, pH : 8 nous avons additionné 0.2 ml de surnageant et 0.1 ml du réactif d'Ellman 0.1M.

La lecture de la densité optique est effectuée après 5 minutes à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 10%. Les concentrations du GSH dans l'échantillon sont exprimées en µm/gramme de tissu (foie ou reins). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du GSH dans les mêmes conditions.

III- EVALUATION DE L'ACTIVITE DES ENZYMES ANTIOXYDANTES

1- Dosage de l'activité de la SOD cytosolique

L'activité de la SOD cytosolique est déterminée selon la méthode de Marklund, 1985.

-Principe

Le principe repose sur la capacité de l'inhibition de l'autoxydation du pyrogallol par la SOD.

-Méthode de dosage

Le dosage est réalisé dans un volume final de 3 ml. A 2.85 ml de tampon Tris HCL (0.1M, pH : 7.8) nous avons additionné 0.1 ml de la fraction cytosolique de l'échantillon (foie ou reins), 25 µl de la catalase (30µmole/l préparé dans un tampon phosphate 0.1M, pH : 9) et 25 µl pyrogallol (24 mM préparé dans mM de HCl),

Le changement de l'absorbance est mesuré à 420 nm après chaque minute dans un intervalle de temps de trois minutes.

-Calcul

L'activité de l'enzyme est exprimée en Unité/mg de protéine tissulaire (foie ou reins). Une unité de l'activité de la SOD est définie comme l'enzyme qui causerait l'inhibition de 50 % de l'autoxydation de pyrogallol.

L'activité de l'enzyme est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition totale} = \frac{\text{Densité optique de blanc} - \text{Densité optique de l'échantillon}}{\text{Densité optique de blanc}} \times 100$$

$$\text{U de SOD / mg Pro} = \frac{\text{L'inhibition totale}}{\text{n} \times 50}$$

n: mg de protéines en mg présentent dans le volume de l'échantillon utilisé.

2- Dosage de l'activité de la catalase cytosolique

L'activité de la catalase cytosolique est déterminée selon la méthode de Clairborne, 1985.

-Principe

Le principe repose sur la disparition de l'H₂O₂ à 25°C par la présence de la source enzymatique dans la fraction cytosolique.

-Méthode de dosage

Le dosage est réalisé dans un volume final de 3 ml. A 2.95 ml d'une solution d'H₂O₂ 19mM (préparée dans un tampon phosphate 0.1M, pH : 7.4) nous avons additionné 50 µl de la fraction cytosolique de l'échantillon.

La réaction est contrôlée par une lecture continue du changement d'absorbance à 240 nm après chaque minute dans un intervalle de temps de deux minutes.

-Calcul

L'activité de l'enzyme est exprimée en Unité/mg de protéine tissulaire (foie ou reins).

$$K = \frac{2.303}{T} \times \log \frac{A1}{A2}$$

- K : Constant de vitesse de la réaction
- T : Intervalle de temps
- A₁ : Absorbance dans le temps zéro
- A₂ : Absorbance après une minute

L'activité de l'enzyme est calculée selon l'équation suivante :

$$U/mg = \frac{K}{n}$$

n: mg de protéines en mg présentent dans le volume de l'échantillon utilisé.

UI/mg de Pro : μmole d'H₂O₂ consommé/min/mg de protéine

3- Dosage des protéines totales

Les protéines totales ont été déterminées selon la méthode de Biuret en utilisant le Kit de réactif des protéines totales **REF : 1001291**.

-Principe

Les protéines donnent une couleur bleu-violette avec le sulfate de cuivre dans un milieu alcalin.

L'intensité de la coloration formée, mesurée à 540 nm, est directement proportionnelle à la concentration des protéines totales présentes dans l'échantillon utilisé.

La quantité des protéines dans l'échantillon est exprimée en mg/dl de l'échantillon. Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du sérum albumine dans les mêmes conditions.

IV- EVALUATION STATISTIQUE

L'évaluation statistique est effectuée par le logiciel *Instat Data (ISD) File*. Les valeurs des groupes traités par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* et celles des groupes témoins sont analysés par one-way analysis of variance (ANOVA) suivi par Tukey. Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types pour six rats dans chaque groupe. Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type, n = 6. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétiques par la streptozotocin. NS. : Différence non significative P > 0.05 ; *P < 0.05 ; **P < 0.01; ***P < 0.001.

Résultats

RESULTATS

I- L'INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION D'*Artemisia herba alba* Asso SUR LE CHANGEMENT DU POIDS CORPOREL

La figure 13 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 21 jours soit par un extrait aqueux lyophilisé de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* Asso a une dose de 390 mg/kg (5ml/kg) soit par 5 ml/kg d'eau distillée.

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. Cette diminution est à l'ordre de 4,08 %, de 7.76 % et de 11.02 % par rapport au poids corporel initial après chaque semaine de traitement par l'eau distillée. Par ailleurs, le groupe sain témoin a subi durant les mêmes périodes une augmentation régulière de 5.06 %, 8,64 % et 15.87 %. L'analyse statistique des résultats du changement de la moyenne du poids corporel entre les deux groupes témoins est significatif ($P < 0.001$).

Chez le groupe diabétique traité, l'administration par gavage de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso à la dose quotidienne de 390 mg/kg pendant trois semaines a permis d'améliorer le changement du poids corporel par rapport au groupe diabétique témoin ($P < 0.001$). Chez ce groupe on a constaté une augmentation de 4.25 %, 7.33 % et de 10.04 % après chaque semaine de traitement par rapport au poids initial des rats.

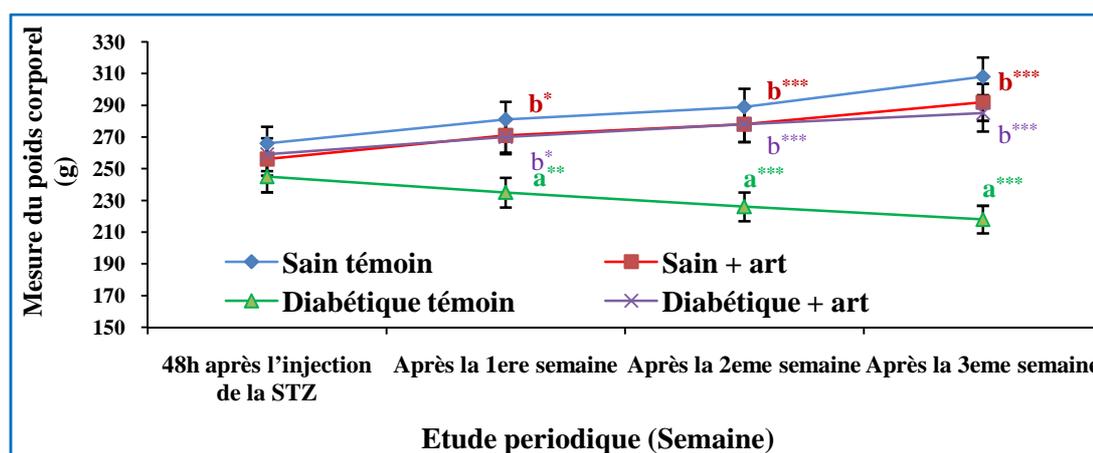


Figure 13 : L'influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé de l'*Artemisia herba alba* Asso sur le poids corporel. (390 mg / kg pendant 21 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 6$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par la streptozotocin.

ns. : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Chez le groupe sain, l'administration de la même dose de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso pendant trois semaines n'a pas altérée de façon significative la variation de poids corporel par rapport au témoin avec respectivement une augmentation de 5.85 %, 8,59 % et 14.06 % chaque semaine.

II- L'INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION D'*Artemisia herba alba* ASSO SUR LE TAUX DE CONSOMMATION DE NOURRITURE

Le tableau 1 représente l'influence d'un traitement de trois semaines par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso sur le taux de consommation journalière de nourriture chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par STZ.

Les résultats obtenus dans notre travail ont montré que l'injection de la STZ induisait un diabète accompagné d'une augmentation significative ($P < 0.001$) du taux de consommation journalière de nourriture (polyphagie) chez le groupe des diabétiques témoins par rapport au groupe des sains témoins (41.33 ± 3.33 contre 19.91 ± 2.76).

Chez le groupe de rats diabétique, un traitement de trois semaines par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso a provoqué une réduction du taux de consommation journalière de nourriture de 25.82% ($P < 0.001$) par rapport celui enregistré chez les rats diabétiques témoins (30.66 ± 2.42 contre 41.33 ± 3.33). En effet, ce taux reste comme même supérieur à celui du groupe sain témoins (30.66 ± 2.42 contre 20.75 ± 4.31) ($P < 0.001$).

Chez le groupe sain traité par la plante, on a constaté que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso n'a aucune influence sur le taux de consommation journalière de nourriture.

Tableau N 1 : Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso (390 mg/kg pendant trois semaines) sur le taux de consommation journalière de nourriture.

Taux de consommation journalière de nourriture (g / jour)	
SAIN TEMOIN	19.91 ± 2.76
SAIN + ART	20.75^{b***} ± 4.31
DIABETIQUE TEMOIN	41.33^{a***} ± 3.33
DIABETIQUE + ART	30.66^{a***b***} ± 2.42

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type, n = 6. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par la streptozotocin.

NS : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

III- EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISÉ D'ARTEMISIA HERBA ALBA ASSO SUR LES PARAMETRES BIOCHIMIQUES DU SANG

1- Glycémie

Les résultats obtenus dans notre étude « figure 14 » ont montré que la STZ provoquait après 48 heures son injection une augmentation significative de la glycémie chez les deux groupes de rats diabétiques (témoin et traité) par rapport au groupe de rats sains témoins ($P < 0.001$) (4.00 ± 0.39 g/l et 3.79 ± 0.50 g/l contre 0.92 ± 0.06 g/l).

Chez le groupe diabétique témoin, la concentration sérique de glucose a continué de s'élever et elle est arrivée à son maximum après la troisième semaine de traitement par l'eau distillée (4.31 ± 0.73 g/l). Par contre chez l'autre groupe de rats diabétiques, l'administration par voie orale de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* ASSO pendant trois semaines a provoqué une baisse significative la glycémie de 38.94 % après la 1^{ère} semaine ($P < 0.001$), de 59.01 % après la 2^{ème} semaine ($P < 0.001$) et de 76.33 % et après 3^{ème} semaine du traitement ($P < 0.001$) par rapport au groupe diabétique témoin. Cependant la moyenne de la glycémie après la 3^{ème} semaine reste légèrement supérieure à celle des témoins sains (1.02 ± 0.15 g/l contre 0.95 ± 0.07 g/l) mais l'analyse statistique de ce résultat n'a révélé aucune différence significative.

Chez le groupe sain traité par la plante, on n'a constaté que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* ASSO a diminué de 5,5% de la concentration sérique du glucose par rapport au groupe sain témoin (après trois semaines), mais l'étude statistique de ce résultat n'a montré aucune différence significative.

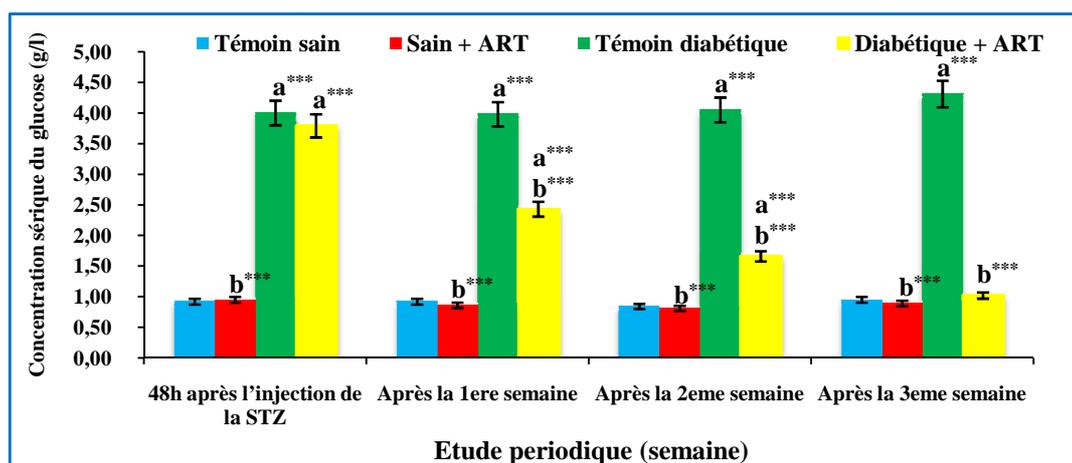


Figure 14: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* ASSO sur la glycémie des différents groupes de rats (390 mg/kg pendant 21 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 6$. (a) : comparaison avec les rats normaux. (b) : comparaison avec les rats rendus diabétique par la streptozotocin.

ns : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

2- Profil lipidique

Les résultats de l'influence de l'extrait aqueux lyophilisé de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba Asso* sur le profil lipidique chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par STZ sont rassemblés dans les figures 15, 16 et 17.

Chez les deux groupes de rats diabétiques (témoin et traité), nous avons constaté que l'injection de la STZ a provoqué, après 48 heures, une augmentation significative de la concentration sérique du cholestérol total (respectivement $0,95 \pm 0,05$ g/l et $0,95 \pm 0,06$ g/l contre $0,80 \pm 0,04$ g/l) ($P < 0,001$) et des triglycérides (respectivement $2,11 \pm 0,63$ g/l et $2,12 \pm 0,35$ g/l contre $0,93 \pm 0,07$ g/l) ($P < 0,001$) par rapport au groupe sain control. Ces concentrations sont arrivées leurs maximums chez le groupe de rats diabétiques témoins après 21 jours, durée de l'expérimentation. Les concentrations finales sont à l'ordre de $0,99 \pm 0,09$ g/l, pour le cholestérol total et de $2,44 \pm 0,37$ g/l pour les triglycérides. Par contre chez les rats diabétiques traités, nous avons constaté que l'administration journalière de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* à une dose de 390 mg /kg a baissé la concentration sérique du cholestérol total et des triglycérides respectivement de 7.22 % (NS) et 34.22 % ($P < 0,001$) après la 1^{ère} semaine et de 14.14 % ($P < 0,001$) et 51.03 % ($P < 0,001$) après la 2^{ème} semaine du traitement par rapport à celles enregistré chez groupe diabétique témoin. Une diminution maximale est vue après la 3^{ème} semaine du traitement où l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* a rendu la concentration sérique du cholestérol total chez ces rats diabétiques similaire a celle des rats sains témoins ($0,81 \pm 0,03$ g/l contre $0,82 \pm 0,02$ g/l) avec une baisse de 18.18% ($P < 0,001$), alors que la concentration sérique des triglycérides a restée légèrement supérieure a celle des témoins ($1,08 \pm 0,09$ g/l contre $0,93 \pm 0,07$ g/l) mais selon l'étude statistique ce résultat n'a montré aucune différence significative.

Chez le groupe des rats sains traité, on a également constaté que l'administration journalière de la même dose de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* provoquait une baisse significative de la concentration sérique du cholestérol et des triglycérides. Elle est maximale après la 3^{ème} semaine où la diminution du taux de cholestérol total atteint 13.41 % ($P < 0,05$) tandis que celui des triglycérides atteint 47.31 % ($P < 0,01$) par rapport au groupe sain témoin.

Les résultats montrent que les concentrations sérique des HDL cholestérol ont été très voisines chez les quatre groupes expérimentales toute au long de la durée d'expérimentation. L'étude statistique de ces résultats n'a révélée aucune différence significative

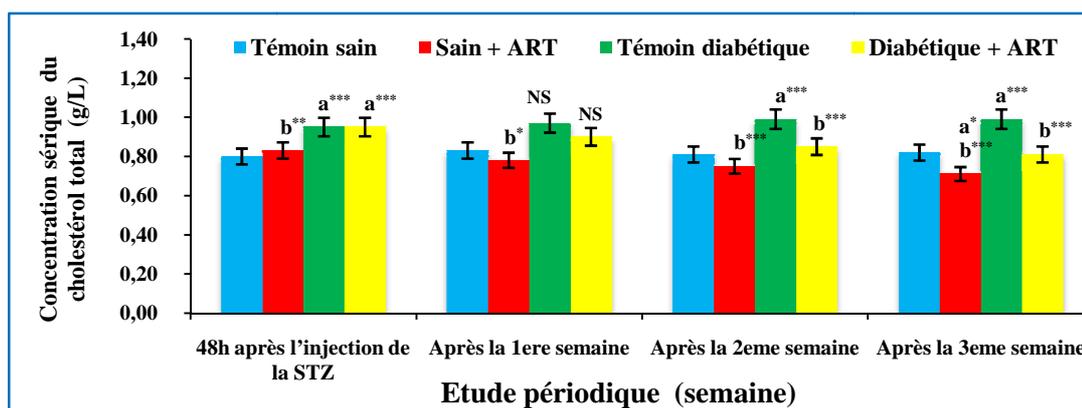


Figure 15: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* sur la concentration sérique du cholestérol total (390 mg/kg pendant 21 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6. (a) : comparaison avec les rats normaux. (b) : comparaison avec les rats rendus diabétique par la streptozotocin.

NS : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

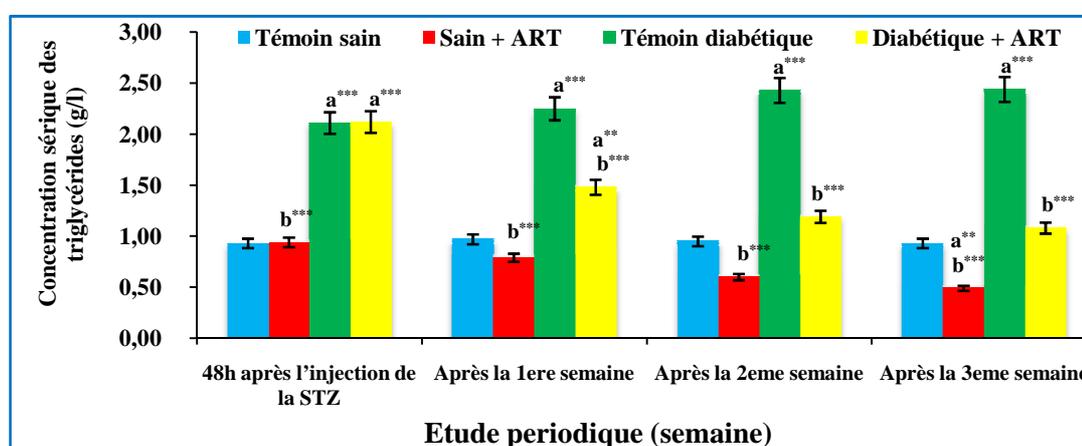


Figure 16: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* sur la concentration sérique des triglycérides (390 mg/kg pendant 21 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6. (a) : comparaison avec les rats normaux. (b) :

comparaison avec les rats rendus diabétique par la streptozotocin.

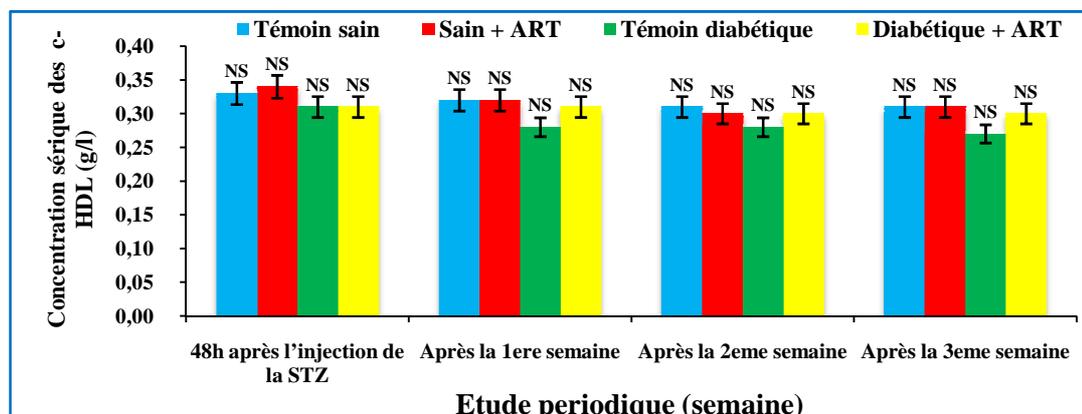


Figure 17: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* sur la concentration sérique des c-HDL (390 mg/kg pendant 21 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 6. (a) : comparaison avec les rats normaux. (b) : comparaison avec les rats rendus diabétique par la streptozotocin.

NS : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

IV- EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISÉ D'ARTEMISIA HERBA ALBA ASSO SUR LE TAUX HEPATIQUE ET RENAL EN MDA ET EN GSH

1- Variation des concentrations en molonydialdéhyde (MDA)

Les concentrations en MDA ont été déterminées sur des fractions cytosoliques du foie et des reins.

La figure 18 représente la variation du taux hépatique et rénal en MDA chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par STZ traités par un extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* ASSO par rapport aux témoins.

Nous avons constaté une augmentation significative ($P < 0.001$) du taux du MDA hépatique et rénal chez les rats diabétiques témoins par rapport aux rats sains témoins. Cette augmentation est à l'ordre de 73.60 % dans le foie (114.28 ± 14.94 contre 65.83 ± 08.13) et de 54.98 % dans les reins (208.12 ± 12.14 contre 134.29 ± 14). Par contre un traitement de trois semaines par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* ASSO a baissé le taux du MDA hépatique de 36.81 % et rénal de 32.51 % chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins ($P < 0.001$). En effet, ces taux restent légèrement supérieurs à ceux des rats sains témoins (72.71 ± 12.05 et 140.47 ± 7.36 et contre respectivement 65.83 ± 08.13 et 134.29 ± 14.00), mais l'étude statistique des résultats n'a révélé aucune différence significative.

Chez les rats sains, un traitement de trois semaines par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* ASSO provoquait une diminution significative de 11.74 % ($P < 0.05$) la concentration rénale en MDA. Tandis qu'au niveau hépatique l'étude statistique n'a révélé aucun changement significatif.

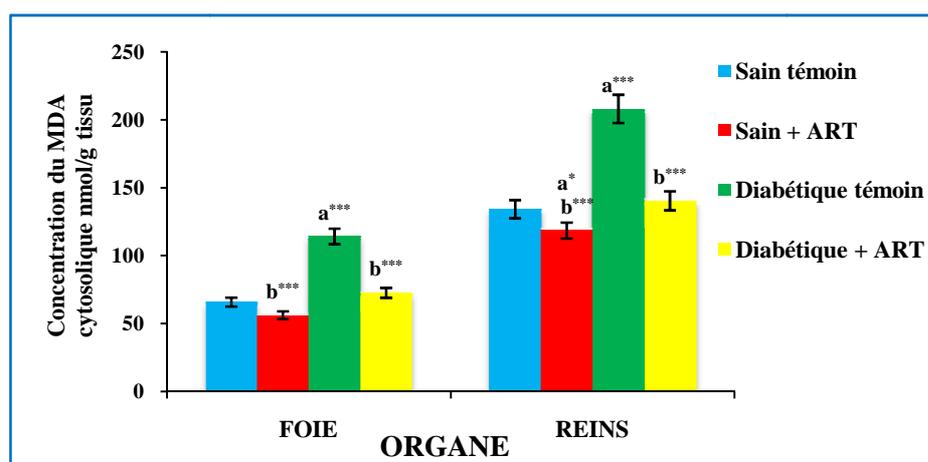


Figure 18: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* ASSO sur la concentration hépatique et rénale en MDA.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 6$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par la streptozotocin.

ns. : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

2- Variation des taux hépatique et rénal en glutathion réduit GSH

Les résultats de l'étude de l'influence d'un traitement de trois semaines par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* sur le taux tissulaire du GSH sont rassemblés dans la figure 19.

Chez les rats diabétiques témoins, nous avons constaté une diminution significative du taux du GSH hépatique (0.55 ± 0.09 contre 1.22 ± 0.09) et rénal (0.35 ± 0.04 contre 0.65 ± 0.05) par rapport à celui enregistré chez les témoins sains ($P < 0.001$). Par contre chez les rats diabétiques traités par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* pendant trois semaines à la dose quotidienne de 390 mg/kg nous avons constaté une augmentation significative du taux du GSH hépatique et rénal ($P < 0.001$). Cette augmentation est à l'ordre de 74.55 % dans le foie et de 74.29 % dans les reins. En effet, le taux hépatique en GSH reste inférieur à celui des rats sains témoins (0.96 ± 0.06 contre 1.22 ± 0.09).

D'autre part, chez les rats sains nous avons constaté également qu'un traitement de trois semaines par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* provoquait une augmentation significative de la concentration hépatique et rénale en GSH de 18.03 % ($P < 0.05$) et de 18.46 % ($P < 0.05$) par rapport au groupe sain témoin.

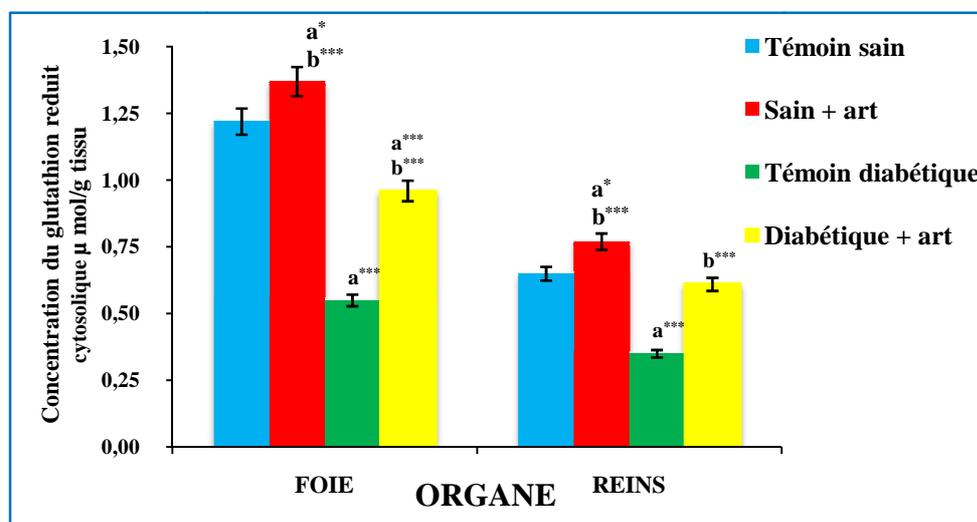


Figure19: Influence de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* sur la concentration hépatique et rénale en GSH.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 6$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par la streptozotocin.

ns. : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

V- EFFET DE L'EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISÉ D'*Artemisia herba alba* ASSO SUR L'ACTIVITÉ DES ENZYMES ANTIOXYDANTE

1- Activité de la superoxyde dismutase (SOD) hépatique et rénale

L'activité de la SOD a été déterminée sur une fraction cytosolique du foie et des reins. La figure 20 présente les résultats l'influence d'un traitement de trois semaines par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* ASSO sur l'activité de la SOD dans le foie et les reins des rats sains et des rats rendus diabétiques par STZ.

Dans notre étude nous avons constaté une réduction significative de l'activité de la SOD au niveau du foie et des reins chez les rats diabétiques témoins par rapport à celles des rats sains témoins ($P < 0.001$). Cette réduction est à l'ordre de 41.51 % dans le foie (06.55 ± 0.5 contre 11.20 ± 0.93) et de 48.38 % dans les reins (8.94 ± 0.93 contre 17.32 ± 0.04). Par contre un traitement de trois semaines par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* ASSO a provoqué une augmentation significative de l'activité de la SOD au niveau hépatique et rénale chez les rats diabétiques par rapport à celle enregistré chez les diabétiques témoins ($P < 0.001$) (10.76 ± 1.31 contre 6.55 ± 0.5 et 14.22 ± 0.79 contre 8.94 ± 0.93 respectivement). Cependant, l'activité de la SOD au niveau des reins restent inférieure à celles observé chez les rats sains témoins (14.22 ± 0.79 contre 17.32 ± 0.04) ($P < 0.05$).

Nous avons également constaté que chez les rats sains traités par l'extrait aqueux lyophilisé de l'*Artemisia herba alba* ASSO l'activité de la SOD dans le foie et les reins n'a pas changé de façon significative par rapport à celles enregistré chez les rats sains témoins.

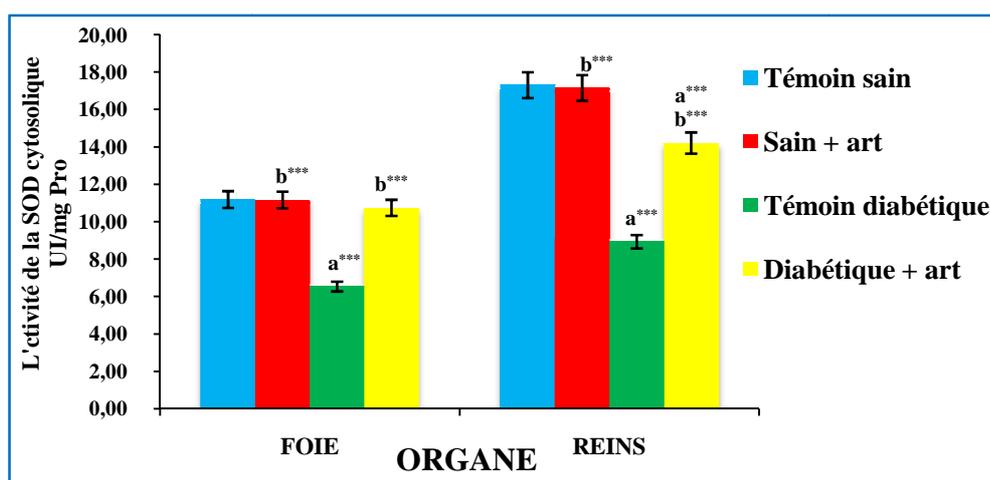


Figure 20: Effet de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* ASSO sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 6$. (a) : comparaison avec les rats normaux. (b) : comparaison avec les rats rendus diabétique par la streptozotocin.

NS : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

2- Activité de la catalase (CAT) hépatique et rénale

La figure 21 représente les résultats de l'influence d'un traitement de trois semaines par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* sur l'activité de la CAT dans le foie et les reins des rats sains et des rats rendus diabétiques par STZ.

Nous avons constaté une réduction significative ($P < 0.001$) de l'activité de la CAT au niveau du foie et des reins chez les rats diabétiques témoins par rapport à celles des rats sains témoins. Cette réduction est à l'ordre de 45.93 % dans le foie (0.352 ± 0.04 contre 0.651 ± 0.056) et de 45.8 % dans les reins (0.316 ± 0.025 contre 0.583 ± 0.042). Par contre un traitement de trois semaines par l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* a provoqué une augmentation de 71.59 % ($P < 0.001$) et de 58.22 % ($P < 0.001$) de l'activité de la CAT au niveau hépatique et rénale chez les rats diabétiques (0.604 ± 0.09 contre 0.352 ± 0.04 et 0.50 ± 0.03 contre 0.316 ± 0.025).

Nous avons également constaté que chez les rats sains traités par l'extrait aqueux lyophilisé de l'*Artemisia herba alba Asso* l'activité de la CAT dans le foie et les reins n'a pas changé de façon significative par rapport à celles enregistrées chez les rats sains témoins.

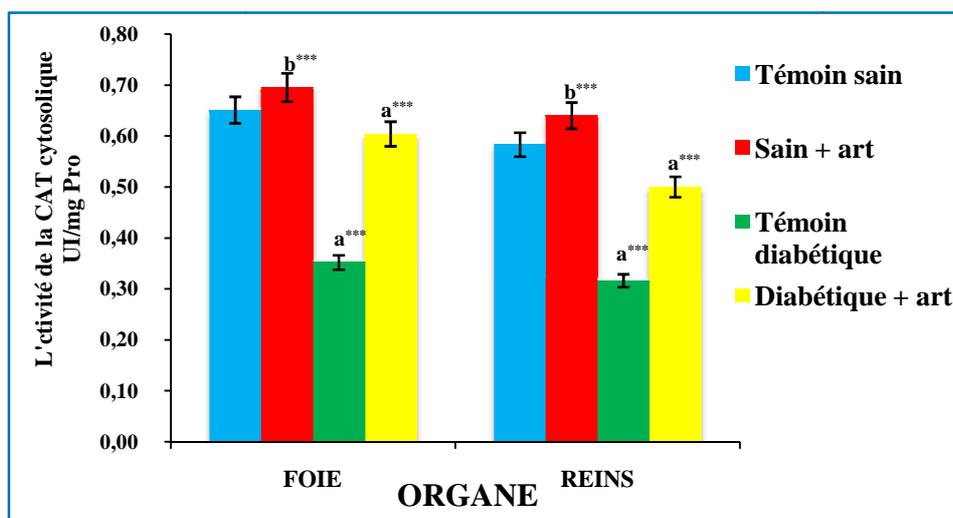


Figure 21: Effet de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* sur l'activité de la catalase (CAT)

UI/mg de Pro : $\mu\text{mole d'H}_2\text{O}_2$ consommé/min/mg de protéine.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 6$. (a) comparaison avec les rats normaux. (b) comparaison avec les rats rendus diabétique par la streptozotocin.

ns. : Différence non significative $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Discussion

DISCUSSION

Le diabète sucré est un groupe hétérogène de maladies métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (Sharma et al., 2008). Il touche 4 à 5% de la population mondiale (Pickup & William, 1997) et représente la majeure source de morbidité dans les pays développés (Ravi et al., 2005).

Devant l'augmentation considérable du nombre de diabétiques et les échecs secondaires des médicaments antidiabétiques, de nombreux chercheurs ont évalué l'action pharmacologique des plantes traditionnelles et donc leur intérêt en médecine traditionnelle.

Plus de 400 plantes traditionnelles utilisées pour le traitement du diabète sucré ont été enregistrées, mais seulement un petit nombre d'entre eux ont subi un enregistrement scientifique et une évaluation médicale afin de confirmer leurs efficacités (Bailey & Day, 1989).

Artemisia herba alba Asso (Asteraceae) communément appelé «Chih» est largement utilisé en médecine traditionnelle en Algérie pour traiter le diabète sucré. En effet, Al-Waili, (1986), Al-Waili, (1988), Marrif & Hassan, (1995), Al-Shamaony et al., (1994) ont prouvé par des études expérimentales l'effet hypoglycémique de 390 mg/gk sur des modèles d'animaux rendus diabétiques par l'alloxan monohydrate.

Bien que le stress oxydant soit un phénomène non spécifique d'altération cellulaire, il est évoqué dans le cadre des complications liées au diabète. En effet, diverses études ont mis en évidence une élévation des marqueurs du stress oxydant en mesurant notamment les marqueurs de la peroxydation lipidiques et une diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique chez les diabétiques de type 1, de type 2 et dans le diabète expérimental.

Au cours du diabète le stress oxydant peut être partiellement réduit par les antioxydants. Une supplémentation par des antioxydants, tel que la vitamine C et E, a été proposée comme un traitement complémentaire (Bonnefont-Rousselot et al., 2000). Ainsi, plusieurs métabolites secondaires isolés de plantes ont montré une activité antioxydante et une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant au cours du diabète.

Les études littéraires sur l'*Artemisia herba alba* Asso ont révélé la présence de plusieurs molécules connues par leurs capacités antioxydantes tels que les tanins, les

triterpènes, les coumarines et les flavonoïdes dont principalement : l'apigénine, la quercétine, l'acacétine, l'hispiduline ainsi que plusieurs autres composés phénoliques (Saleh et al., 1987).

A partir de ces données, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Confirmer l'effet hypoglycémique et hypolipidémique de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par la streptozotocine par mesure de la glycémie et du profil lipidique sanguin (cholestérol total, cholestérol-HDL et triglycérides).
- Evaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso et de sa capacité de protéger les tissus hépatiques et rénaux 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 malondialdéhyde (MDA) du Glutathion réduit (GSH) de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (CAT) hépatique et rénal chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

La streptozotocine est un dérivé nitrosurique isolé de *Streptomyces griseus* (Szkudelski, 2001) et qui représente l'une des plusieurs substances utilisées pour induire un diabète insulino-dépendant ou non insulino-dépendant chez les rats (Szkudelski, 2001). Ces rats peuvent servir comme un modèle de choix du diabète sucré humain (Sarkhail et al., 2007). Dans notre étude on a constaté que l'injection de la STZ à une dose de 55 mg/kg peut induire chez des rats le développement d'un diabète de type 1 (Lenzen, 2008). La STZ engendre une nécrose des cellules β pancréatiques et une carence sévère en insuline avec une hyperglycémie diabétique établie dans les deux jours suivants (Szkudelski, 2001). Les effets toxiques de la substance semble être associés à une formation accrue des radicaux libres (Takasu et al. 1991b ; Bedoya et al. 1996 ; Nukatsuka et al. 1990b), à une altération de la membrane plasmique des cellules β ainsi d'une fragmentation d'ADN conduisant à l'activation de poly (ADP-ribose) synthétase et une déplétion de taux de NAD^+ cellulaire (Uchigata et al., 1982 ; Sandler & Swenne, 1982 ; Yamamoto et al., 1985 ; Wilson, 1988).

La STZ induit un diabète caractérisé par une polyphagie et une perte sévère de poids corporel qui peut mener à plusieurs complications liées au diabète (Sarkhail et al., 2007; Yang et al., 2008). Ces caractéristiques sont associées au diabète sucré (Yang et al., 2008). La perte de poids corporel et l'augmentation du taux de consommation journalière de nourriture chez les rats rendus diabétiques par la STZ sont également observées dans notre étude où le groupe

des rats diabétiques témoins a subis une perte de 27 g (11.02 %) par rapport à leur poids initial après trois semaines de la confirmation du diabète (durée de l'expérimentation), alors que les rats sains témoins ont gagnés 42 g (15.87 %) durant la même période. On a également constaté que chez les rats diabétiques témoins le taux de consommation journalière de nourriture est augmenté de 107.58 % par rapport au groupe sain témoin ($P < 0.001$).

Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par Pari & Latha, (2005) qui ont constaté que, chez des rats mâles de souche Wistar albinos, l'injection de la STZ provoquait en trois semaines une diminution significative de poids corporel (137 ± 7 contre 181 ± 7) accompagnée d'une polyphagie (59 g contre 13 g chez des rats sains) et ils ont indiqué ces conditions sont dues à la perte excessive de protéines tissulaires. De même, Sathishsekar & Subramanian, (2005) et Taleb-Senouci et al., (2009) ont eux aussi enregistré des résultats similaires et suggèrent que la perte de poids corporel chez le groupe diabétique témoin peut être expliquée par le résultat du catabolisme des lipides et des protéines structuraux dus au manque des carbones hydratés qui sont utilisés comme source d'énergie.

Dans notre étude, nous avons constaté que l'administration orale et journalière de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba Asso* à une dose journalière de 390 mg/kg pendant trois semaines a permis de protéger les rats diabétiques de la perte massive de poids corporel, encore mieux, elle a même permis d'augmenter d'une manière significative ($P < 0.001$) le poids corporel des rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins. Le traitement par la plante a également diminué la moyenne de consommation journalière de nourriture d'une manière significative ($P < 0.001$), mais cette moyenne reste toujours supérieure à celle observée chez le groupe sain témoin.

Les résultats de poids corporel sont en accord avec ceux publiés par Tastekin et al., (2006) qui ont constaté qu'un traitement de 15 jours par un extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* avec une dose journalière de 390 mg/kg provoque chez des rats rendus diabétiques par l'alloxan une augmentation significative du poids corporel similaire à celle observée chez des rats diabétiques traités par l'insuline (228 ± 3 contre un poids initial de 193 ± 4). D'autre part, Al-Shamaony et al., (1994) ont obtenu des résultats plus bas que les nôtres et ils ont constaté qu'un traitement de quatre semaines par un extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* (dose journalière 390 mg/kg) ne peut que protéger les rats diabétiques de la perte massive du poids corporel. Cependant, nos résultats ne concordent pas avec ceux enregistrés par El-Farouj et Al-Lami, (1988) auxquels ils ont conclu qu'un traitement de 21 jours par l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba Asso* avec une dose journalière de 250 mg/kg baisse

la glycémie mais ne protège pas la perte de poids corporel chez des rats rendus diabétiques par l'alloxan (Al-Shamaony et al., 1994).

La capacité de l'extrait de protéger les rats diabétiques de la perte massive du poids corporel semble être due premièrement, à sa capacité de réduire le taux des lipides, deuxièmement, à son effet hypoglycémique (Chen et al., 1980 ; Al-Shamaony et al., 1994 ; Tastekin et al., 2006) et donc à sa capacité de renverser la néoglucogénèse et de contrôler cette perte protéique (Swanston-Flat ., 1990 ; Rajagopal & Sasikala, 2008).

Chez le groupe des rats sains, nous avons constaté que l'administration journalière de la même dose de l'extrait pendant trois semaines n'a altéré ni le poids corporel ni la moyenne de consommation journalière de la nourriture. Les résultats de la consommation de la nourriture concordent parfaitement avec ceux de Ben Abid et al., (2008), mais Ben Abid et al., (2008) ont constaté une diminution significative du poids corporel. Cela peut être dû à la durée du traitement qu'ils ont choisi (neuf semaines).

Comme il a été décrit auparavant, la STZ inhibe la sécrétion de l'insuline par le pancréas, après destruction sélective et irréversible des cellules β pancréatique (Zhang et al., 2000). Deux mécanisme fondamentaux qui causerait une hyperglycémie lors d'un diabète, d'une part par un mécanisme de surproduction (excès de la néoglucogénèse et la glycogénolyse), d'autre part par la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques (Shirwaikar et al., 2004). Il est hautement soutenu que la réduction de l'hyperglycémie diminue le risque du développement des complications liées au diabète (Zhang et al., 2000).

Dans la présente étude, nous avons constaté que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso a pu jouer un rôle crucial dans la baisse de la concentration sérique de glucose, soit par la stimulation de la sécrétion de l'insuline, soit par une action extra-pancréatique et donc par l'influence de l'absorption de glucose et son utilisation par les différents tissus. Brièvement les résultats obtenus dans notre étude ont montré que la STZ provoquait une augmentation significative ($P < 0.001$) de la concentration sérique de glucose chez le groupe diabétique témoin, alors que l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso aux rats diabétiques a baissée d'une manière significative ($P < 0,001$) la concentration sérique de glucose de 76.33 % après la troisième semaine du traitement.

Ces résultats viennent donc confirmer les premières conclusions d'El-Farouj et Al-Lami, (1988), et d'Al-Shamaony et al., (1994) qui ont constaté que l'administration de

l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso respectivement à une dose de 250 mg/kg et 390 mg/kg provoque une diminution hautement significative de la glycémie juste après trois semaines de traitement pour la première et quatre semaines pour la seconde (1.84 g/l \pm 0.16 contre 4.26 g/l \pm 0.06).

La première idée qui peut venir à l'esprit est que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso a pu agir de la même façon que certains antidiabétiques oraux tel que la glibenclamide par la fermeture des canaux K^+ /ATP, la dépolarisation membranaire et la stimulation de l'afflux Ca^{2+} , première étape clé pour la sécrétion d'insuline (Pari & Latha, 2005). Récemment Zhang & Ling, (2004) ont démontré que les polysaccharides de *Genderma lucidum* (un champignon) ne stimulent pas la synthèse de l'insuline, mais peut-être stimulent directement sa libération à partir des cellules β pancréatique restantes en facilitant l'afflux du Ca^{2+} dans les cellules β pancréatique.

L'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso peut être assimilé à la fois aux constituants organiques qu'aux constituants inorganiques. Entre autre, il est important de noter que les constituants inorganiques que les plantes médicinales contiennent jouent parfois un rôle primordial dans l'amélioration de leurs propriétés médicinales y compris l'activité hypoglycémiante. En effet, Bhaskar et al., (2008), qui ont étudié l'effet hypoglycémique de l'extrait aqueux de *Mucuna pruriens* « 200 mg/kg » chez des rats rendus diabétique par STZ, indiquent qu'un certains nombres de minéraux essentiels tels que Na, K, Ca, Zn, Mg, Fe, Cu et Mn peuvent être associés à un mécanisme de libération de l'insuline et de son activité.

Il a été rapporté que plusieurs molécules bioactives isolés de plantes tels que les terpènes et les flavonoïdes influencent les cellules β pancréatique et stimulent la sécrétion de l'insuline par leurs activités antioxydantes (Jang et al., 2004 ; Sarkhail et al., 2007). Etant donné qu'au cours du diabète le stress oxydant et les radicaux libres affectent et détruisent les cellules β , donc l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso peut aussi augmenter la sécrétion de l'insuline via son activité antioxydante (Waltner-law et al., 2002 ; El-Alfy et al., 2005) .

Etant donné que la STZ provoque la destruction des cellules β pancréatiques, l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso peut avoir une action extra pancréatique en influençant ainsi l'absorption de glucose et son utilisation par les différents tissus. (Al-Shamaony et al., 1994 ; Valsa et al., 1997 ; Saravanan et al., 2005). Un autre mécanisme possible pour l'action de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso qui peut l'être par le biais du foie, en influant la gluconéogenèse, la glycogénogenèse ou la glycogénolyse.

Certaines flavonoïdes, qui ont été isolés des plantes, inhibent les transporteurs du glucose dans les intestins, diminuent l'expression des gènes qui contrôlent la néoglucogenèse, augmentent le stockage du glucose dans le foie et réduisent la dégradation du glycogène (Waltner-Law et al., 2002 ; Shimizu et al., 2000 ; Li et al., 2004 ; Sarkhail et al., 2007).

Un grand nombre de travaux de recherche ont montré l'effet hypoglycémique de plusieurs plantes contenant des polysaccharides, des terpènes, des flavonoïdes ainsi que plusieurs d'autres composés (Sarkhail et al., 2007) selon plusieurs mécanismes. Par exemple catéchine qui est un flavonoïde inhibe l'absorption intestinale du glucose ainsi que l'epicatéchin gallate augmentent la synthèse hépatique du glycogène et la quercétine augmente la synthèse de l'insuline (Perez et al., 1998; Pinent et al., 2004). Les études littéraires ont montré que l'*Artemisia herba alba* Asso est riche de ces composés donc il est possible que l'action hypoglycémisante de la plante soit liée à la présence de ces composés.

Chez le groupe des rats sains, l'administration journalière de la même dose de l'extrait pendant trois semaines n'a pas altéré la glycémie. Ces résultats ne concordent pas avec ceux de Ben Abid et al., (2008) qui ont constaté une diminution significative de 29% de la glycémie après neuf semaines de traitement par une décoction de la plante.

Le diabète sucré est aussi associé avec une hyperlipidémie et provoque de profondes anomalies dans la concentration et la composition des lipides (Cooperstin et al., 1981). Ces anomalies représentent un important facteur de risque de maladies cardiovasculaires (Al-Shamaony et al., 1994). Il a été indiqué que l'élévation des lipides sériques chez les rats rendus diabétiques par STZ joue un rôle important dans la pathologie du diabète (Sharma et al., 2008). Dans notre étude, on a enregistré une augmentation significative de la concentration sérique du cholestérol total et des triglycérides chez les rats rendus diabétiques par STZ ($P < 0,001$). Le niveau élevé du cholestérol total dans le sang représente un facteur de risque majeur dans le développement des maladies coronaires (Brown et al., 1993).

Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par Eddouks et al., (2005), Ravi et al., (2005), et Sharma et al., (2008) où ils suggèrent que la forte concentration anormale des lipides sériques observée chez les sujets diabétiques est essentiellement due à l'augmentation de la mobilisation des acides gras à partir des tissus adipeux (Ravi et al., 2005). En effet, Betteridge et al., (2002) indique que la carence en insuline ou l'insulinorésistance peut être responsable d'une hyperlipidémie, car l'insuline, a une action inhibitrice sur 3-hydroxy-3-méthyle-glutaryl coenzyme A réductase (HMG-COA reductase), une enzyme clé pour la biosynthèse du cholestérol. D'autre part, le glucagon, la catécholamine ainsi que d'autres

hormones augmentent la lipolyse. Au cours du diabète, l'hyperlipidémie peut être considérée comme un résultat de la non-inhibition de l'action des hormones lipolytiques sur les tissus adipeux (Goodman et al., 1985).

Plusieurs auteurs rapportent que la baisse de la concentration sérique des lipides par un régime ou des médicaments thérapeutique diminue fortement les risques de maladies coronaires (Eddouks et al., 2007). La recherche de nouvelles drogues capable de réduire et/ou de réguler la concentration sérique du cholestérol total et des triglycérides a gagné d'élan ces dernières années. Les extraits de plantes constituent un potentiel candidat, elles contiennent souvent une mixture très complexe de différentes molécules, de polarité distincte, capable de réduire la concentration sérique des lipides par différents mécanismes (Eddouks et al., 2004). Dans notre étude, nous avons constaté que chez les rats diabétiques, un traitement de trois semaines par un extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso (dose 390 mg/gk) a permis de normaliser la concentration sérique du cholestérol total avec une baisse significative de 18.18 %. D'autre part, chez les rats sains on a également constaté que l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé de la plante durant la même période a provoqué une diminution significative de 13.41 % la concentration sérique du cholestérol total par rapport aux rats sains témoins.

Ces résultats obtenus sont en accord avec ceux publiés par Al-Shamaony et al., (1994) et Ben Abid et al., (2008). Al-Shamaony et al., (1994) ont constaté que chez des rats rendus diabétiques par l'alloxan, un traitement de quatre semaines par un extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso (390 mg/kg) provoque une diminution hautement significative de 54.29 % la concentration sérique du cholestérol total par rapport à celle enregistrée chez les diabétiques témoins. Toutefois, Ben Abid et al., (2008) ont constaté que chez des rats sains, un traitement de neuf semaines par une décoction d'*Artemisia herba alba* Asso provoque une diminution significative de 17 % la concentration plasmatique du cholestérol total par rapport à celle observée chez les témoins sains.

Le mécanisme sous-jacent par lequel l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso a exercé son effet hypocholestérolémiant semble être par une diminution de l'absorption intestinale du cholestérol, par liaison avec des acides biliaires dans l'intestin et par augmentation d'excrétion biliaire (Kritchovsky, 1978 ; Kelly & Tsai, 1978).

L'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso a pu également agir en diminuant la biosynthèse du cholestérol spécifiquement par diminution de l'activité de la HMG-CoA réductase (Kedar & Chakrabarti, 1982 ; Sharma et al., 2003). On outre, l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso peut diminuer le cholestérol sérique en modifiant le

métabolisme des lipoprotéines: le renforcement de l'absorption des LDL par l'augmentation des récepteurs LDL (Slater et al., 1980) et / ou en augmentant de l'activité de la Lecithin-Cholesterol Acyl Transferase (LCAT) (Khanna et al., 2002).

D'autre part, on a également constaté que l'administration journalière de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso pendant trois semaines provoquait une baisse significative de la concentration sérique des triglycérides chez les deux groupes de rats sains (47.31 %) et rendus diabétiques par STZ (55.73 %).

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Al-Shamaony et al., (1994), Ben Abid et al., (2008). Al-Shamaony et al., (1994) ont constaté que chez des rats diabétiques, un traitement de quatre semaines par un extrait aqueux d'*Artémisia herba alba* Asso (390 mg/kg) provoque une diminution hautement significative de 15.3 % la concentration sérique des triglycérides par rapport à celle trouvée chez diabétiques témoins. De même, Ben Abid et al., (2008) ont constaté que chez des rats sains, un traitement de neuf semaines par une décoction d'*Artemisia herba alba* Asso provoque une baisse significative de 40 % la concentration plasmatique des triglycérides par rapport celle observé chez les témoins sains.

L'*Artemisia herba alba* Asso a pu réduire le taux sérique des triglycérides par diminution de la synthèse des acides gras (Bopanna et al., 1997), augmentation du catabolisme des LDL, activation de la LCAT et des lipases tissulaire (Khanna et al., 2002) et/ou inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase (Mc Carty, 2001) et par la production des précurseurs de triglycérides tels que acétyl-CoA et de glycérol phosphate.

Il est bien connu que l'hyperlipidémie qui caractérise les rats rendus diabétiques par STZ est la conséquence de la non-inhibition de l'action des hormones lipolytiques sur les tissus adipeux. Étant donné que dans les tissus adipeux l'insuline a une action antilipolytique en inhibant la lipase hormonosensible, donc l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso peut soit imiter l'action de l'insuline, soit stimuler la synthèse de l'insuline.

Il est également connu que le contrôle de la glycémie est le principal déterminant de la concentration sérique des VLDL et des triglycérides (Eddouks et al., 2004). Auparavant, nous avons signalé que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso a produit une puissante activité hypoglycémiant chez les rats rendus diabétique par STZ, de sorte que ce puissant effet hypolipidémique de l'*Artemisia herba alba* Asso peut également être la conséquence de l'amélioration de la glycémie.

Un grand nombre de travaux de recherche ont montré l'effet hyperlipidémique de plusieurs flavonoïdes, terpènes et d'autres composés phénoliques (Sarkhail et al., 2007). Donc

l'effet hypolipidémique de l'*Artemisia herba alba* Asso peut être lié à la présence de certaines de ces molécules.

La STZ est toxique pour les cellules β pancréatique, elle est largement utilisée pour induire un diabète expérimental, et comme résultat la genèse d'un stress oxydant causé par une production excessive des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Mazunde et al., 2005). La production accrue des ERO induit des dommages oxydatives tissulaires qui peuvent jouer un rôle important dans de nombreux troubles cliniques y compris le diabète (Feillet et al., 1999). Le stress oxydant induit une forte production des ERO qui sont très toxiques pour les cellules, particulièrement pour les membranes cellulaires. Ces ERO vont interagir avec la bicouche lipidique et provoquent la production des lipoperoxydes (Sivajothi et al., 2008). Toutefois, des antioxydants endogènes enzymatiques tels que la SOD, CAT, GPx et non enzymatique comme le GSH sont responsables de la détoxification de l'organisme de ces radicaux libres délétères (Cho et al., 2002).

L'hyperglycémie est la manifestation clinique clé du diabète sucré. L'augmentation du niveau de glucose peut induire un stress oxydatif par l'intermédiaire de la formation des ERO (Prakasam et al., 2005). Il existe de nombreuses voies par lesquelles l'hyperglycémie peut augmenter la production des ERO, tels que l'autoxydation de glucose, la voie des polyols, la glycation des protéines et la formation des produits de glycation avancés (Armstrong et al., 1996). De plus, l'élévation de la concentration de glucose peut déprimer le mécanisme de défense antioxydant endogène tel que le GSH (Yoshida & Kondo, 1998). Le déséquilibre entre la production des ERO et le système de défense antioxydant peut augmenter le stress oxydant et conduire à des dommages des macromolécules telles que l'ADN, les protéines et les lipides (Prakasam et al., 2005).

Plusieurs rapports décrivent l'élévation des marqueurs du stress oxydant et la diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique dans le diabète de type 1, de type 2 et dans le diabète expérimental induit par STZ, (Mazunder et al., 2005). Un tel environnement po-oxydant a été également enregistré dans notre étude chez les rats rendus diabétiques par STZ où on a constaté une augmentation significative des produits de la peroxydation lipidique (MDA), une diminution du GSH et une inhibition de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD et CAT). Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Matkovics et al., (1982), Wohaiieb et al., (1987) et par Asayama et al., (1989) qui ont rapporté que lors du diabète la surproduction des ERO peut conduire à une diminution dans la cellule /organisme du système de défense antioxydant.

Au cours du diabète, l'augmentation du stress oxydant joue un rôle central dans le développement des complications vasculaires et la physiopathologie de la néphropathie diabétique (Ugochukwu & Cobourne, 2003). Une supplémentation par des antioxydants a été donc proposée comme traitement complémentaire. Des antioxydants tels que la vitamine E et C sont prescrits à réduire les complications chroniques qui surviennent lors du diabète expérimental (Madhu & Devi, 2000).

De nombreuses études expérimentales ont montré les effets bénéfiques de l'administration des extraits aqueux de plusieurs plantes, utilisés en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète, sur la balance oxydant/antioxydant ainsi que leurs capacités de prévenir le développement des complications liées au diabète. Donc on a consacré cette partie de l'étude pour l'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso et de sa capacité de protéger les tissus hépatiques et rénaux 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.

La peroxydation lipidique représente un marqueur clé du stress oxydant et elle est déterminée par la mesure de la TBARS (MDA). Dans le diabète, la mesure des produits de la peroxydation lipidique peut refléter le degré du stress oxydant (Limaye et al., 2003).

La peroxydation lipidique est un processus médié par radicaux libres, conduisant à la dégradation oxydative des lipides polyinsaturés (Mazunder et al., 2005). Elle représente l'une des caractéristiques du diabète chronique et les dommages tissulaires médié par les peroxydes ont été observés dans le développement du diabète de type 1 et 2 (Venkateswaran & Pari, 2003).

Plusieurs études réalisées sur l'homme et sur des modèles animaux utilisant le dosage de la TBARS ont constaté une augmentation du malonyldialdéhyde (MDA) dans le sang et les tissus (le foie, les reins et le cerveau) des sujets diabétiques (Baynes, 1991; Kakkar et al., 1998). Cette condition est adéquate avec nos résultats où on a constaté une augmentation significative de la concentration du MDA dans le foie (73.60 %) et les reins (54.98 %) chez le groupe des rats rendus diabétiques par STZ par rapport au groupe des rats sains témoins. L'augmentation de la concentration du MDA suggère une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (Kakkar et al., 1998).

L'augmentation du taux de MDA est le résultat de l'augmentation des ERO qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoque la peroxydation lipidique (Battacharya et al., 1997). L'augmentation des ERO pourrait être due, soit à

l'augmentation de leur production, soit à la réduction de leur élimination suite à l'épuisement des systèmes antioxydants piègeurs tel que rapportent Cho et al., (2002). La STZ peut aussi augmenter le niveau des ERO chez les rats diabétiques en raison de l'augmentation de la glycémie (Mazunder et al., 2005). Lors d'un diabète, l'hypoinsulinémie augmente l'activité de l'enzyme Faty acyl coenzyme A oxydase, qui initiée la β oxydation lipidique des acides ce qui provoque une augmentation de la peroxydation lipidique (Sivajothi et al., 2008).

L'augmentation de la peroxydation lipidique affaiblit le fonctionnement des membranes par la baisse de la fluidité membranaire et par la diminution de l'activité des enzymes et des récepteurs liés aux membranes. (Pallavi et al., 2003). Ces produits de la peroxydation lipidique sont nocifs pour les cellules de l'organisme et sont associé à l'athérosclérose, les dommages des reins ainsi que plusieurs autres dommages tissulaires (Kakkar et al., 1998).

Les résultats obtenus dans notre étude ont révélé que l'administration quotidienne d'un extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso (390 mg/kg) pendant trois semaines a permis de réduire d'une manière significative le taux du MDA dans le foie (36.81 %) et les reins (32.51 %) chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins ($P < 0.001$). De même, on a également constaté que ce traitement provoque une diminution significative de la concentration rénale en MDA chez les rats sains. Nos résultats concordent avec plusieurs d'autres études comme celle publiée par Pari & Latha, (2005) qui ont constaté que, chez des rats rendus diabétiques par STZ, un traitement de 21 jours par un extrait aqueux de *Scoparia dulcis* provoque une diminution hautement significative du taux hépatique et rénale en MDA.

Ces résultats suggèrent que extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso a pu protéger les tissus hépatiques et rénaux contre le stress oxydant et l'action cytotoxique induite par la STZ, donc il a pu améliorer l'état pathologique du diabète par inhibition de la peroxydation lipidique. En outre, la réduction de la peroxydation lipidique chez les rats diabétiques traités par la plante peut être due à l'augmentation du statut antioxydant, car l'extrait aqueux de la plante a présenté une haute activité antioxydante (une augmentation de l'activité de la SOD et de la CAT et de la concentration du GSH par rapport aux groupes témoins) (Figure 19, 20 et 21). D'autre part, la réduction de la peroxydation chez les rats diabétiques traités par l'*Artemisia herba alba* Asso peut être également due à l'amélioration du contrôle de la glycémie, car l'extrait a aussi montré une haute activité hypoglycémiant chez des rats rendus diabétiques par STZ (Figure 14). Ces résultats suggèrent donc que l'extrait aqueux lyophilisé de l'*Artemisia herba alba* Asso a pu exercer une activité antioxydante et protéger les tissus hépatiques et rénaux des attaques radicalaires.

Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle multifactoriel dans le mécanisme de défense antioxydant (Sathishsekar MSc & Subramanian, 2005). C'est un piègeur direct des radicaux libres, un cosubstrat nécessaire pour l'activité GPx et la GST (Ravi et al., 2004) et participe dans la régénération de la vitamine E oxydée (Dominguez et al., 1998). Par conséquent, les changements dans l'état redox du GSH peuvent être considérés comme un indicateur particulièrement sensible du stress oxydant (Taleb-Senouciet al., 2009).

Plusieurs études soutiennent l'hypothèse que lors d'un diabète, l'hyperglycémie chronique augmente la voie des polyols, la formation des AGE et donc le niveau de production des radicaux libres, ce qui entraîne une augmentation de l'oxydation GSH ainsi qu'une diminution de sa régénération (Baynes & Thorpe 1999 ; Ou et al., 1996). Dans la présente étude nous avons constaté une baisse significative du taux hépatique et rénal en GSH de 54.91 % et 46.15 % respectivement chez les rats rendus diabétiques par la STZ par rapport aux rats sains témoins. Loven et al., (1986) ont trouvé des résultats similaires et suggèrent que la diminution de la concentration du GSH dans le foie et les reins des rats rendus diabétiques par STZ est probablement due d'une part à un accroissement de son utilisation par les cellules hépatiques et rénales, et d'autre part à une diminution de la synthèse du GSH ou une augmentation de sa dégradation au cours du stress oxydant causé par le diabète. Dans une autre étude Dominguez et al., (1998) indiquent que la déplétion relative du NADPH due à l'activation de l'aldose réductase et à la réduction de sa production à travers le cycle des pentoses altère la régénération du GSH ce qui conduit à l'épuisement de ce piègeur des radicaux libres.

On outre, notre étude révèle qu'un traitement de trois semaines par un extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso a permis d'augmenter d'une manière significative la concentration du GSH dans le foie (74.55 %) et les reins (74.29 %) chez les rats diabétiques par rapport aux rats diabétiques témoins. Ce même traitement a provoqué également une augmentation significative de la concentration hépatique et rénale en GSH chez les rats sains de 18.03 % et de 18.46 % respectivement par rapport au témoin. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par Pari & Latha, (2005) qui ont constaté que chez des rats rendus diabétiques par STZ un traitement de 21 jours par un extrait aqueux de *Scoparia dulcis* provoque une augmentation hautement significative du taux hépatique et rénale en GSH.

Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso a pu soit augmenter la biosynthèse du glutathion soit réduire le stress oxydatif conduisant à une baisse de sa dégradation ou bien en influençant les deux mécanismes en même temps (Sathishsekar MSc & Subramanian, 2005). D'autre part, les composés polyphénoliques sont

connus par leurs capacités de recycler la vitamine E et de piéger les radicaux libres cela peut donc participer directement dans la réduction de l'utilisation du GSH (Babu et al., 2006). L'augmentation de la concentration du GSH dans le foie et les reins chez les rats traités par la plante pourrait être un facteur responsable de la réduction de la concentration du MDA dans ces tissus (Pari & Latha, 2005).

La destruction de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par la SOD et la CAT améliore la toxicité induite par la STZ de la même façon que par des substances capables de piéger le radical hydroxyle ($\bullet OH$) (Sivajothi et al., 2008). La modification de l'équilibre des enzymes antioxydantes causée par baisse de l'activité de la SOD et de la CAT peut être responsable de l'insuffisance des défenses antioxydantes dans la lutte contre les ERO ce qui provoquent des dommages tissulaires (Sivajothi et al., 2008).

La SOD est l'une des plus importantes enzymes antioxydantes du système de défense de l'organisme. La fonction majeure de la SOD est de catalyser la dismutation de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et donc réduire les effets toxiques dus à ce radical libre ou des autres radicaux qui dérivent des réactions secondaires (Yue et al., 2005). Cependant, ce processus peut entraîner la peroxydation lipidique si l' H_2O_2 n'est pas décomposé immédiatement (Taleb-Senouci et al., 2009). La catalase (CAT) est une hémoprotéine qui catalyse la réduction des peroxydes d'hydrogène en H_2O et en oxygène et protège les tissus des radicaux hydroxyles qui sont très réactifs (Sathishsekar & Subramanian, 2005).

Dans le diabète, la diminution de l'activité des enzymes antioxydantes ont été signalées dans différents tissus (Kakkar et al., 1998 ; Szaleczky et al., 1999; Taleb-Senouci et al., 2009), mais, il existe des résultats contradictoires dans la littérature concernant l'effet de l'hyperglycémie induit par le diabète sur l'activité des enzymes antioxydantes.

De nombreuses études ont rapporté que l'activité de la SOD et de la CAT diminue au cours du diabète sucré. Cette condition est adéquate avec nos résultats où on a constaté une baisse significative de l'activité de la SOD dans le foie 41.51 % et les reins 48.38 % chez les rats rendus diabétiques par STZ par rapport au groupe des rats sains témoins. On a constaté également que l'activité de la CAT a baissé d'une manière significative de 45.93 % dans le foie et de 45.80 % dans les reins chez les rats diabétiques témoins par rapport aux sains témoins.

Dans des expériences à long terme, Wohaieb et al., (1987) ont observés une diminution de l'activité de la SOD et de la CAT dans le foie et les reins des rats rendus

diabétiques par la streptozotocin. Ils ont proposés que la réduction de l'activité de la SOD et de la CAT dans le foie et les reins pourrait être due à l'effet néfaste directe des radicaux libres sur l'enzyme. Matkovics et al., (1982) et al ont trouvés une diminution l'activité de la SOD dans toutes les organes examiné (foie, rein, rate, cerveau, cœur, muscles, pancréas), à l'exception des poumons des rats rendus diabétiques par la streptozotocin ou alloxan. Loven et al., (1986) ont observés une diminution de l'activité Cu-Zn-SOD dans le foie, le rein, et les érythrocytes après 10 jours de l'induction du diabète par la streptozotocin. Asayama et al., (1989) ont constaté que l'activité de la CAT diminue dans le foie et les reins après 15 jours de l'induction du diabète chez les rats par la streptozotocin.

La baisse de l'activité de la SOD observée dans le foie et les reins chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocin pourrait être due à la glycation de l'enzyme. La Glycation de la SOD provoque son inactivation ce qui contribue à l'aggravation des dommages oxydatives causées par la surproduction de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et des radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}) (Yan & Harding, 1997). On a évoqué précédemment que l'hypoinsulinémie augmente l'activité de l'enzyme faty acyl-CoA oxydase celle-ci provoque une augmentation de la production de H_2O_2 (Kakkar et al., 1998). La baisse de l'activité de la SOD peut aussi être due à l'accumulation H_2O_2 dans les tissus des rats diabétiques, car plusieurs études ont montré que l' H_2O_2 inhibe l'activité de la SOD (Sathishsekar & Subramanian, 2005).

Il est amplement connu que l'anion superoxyde inactive la catalase, enzyme qui participe à la détoxification du peroxyde d'hydrogène. Ainsi, l'augmentation de l'activité de la SOD pourrait indirectement jouer un rôle important dans l'activité de la catalase (Sathishsekar & Subramanian, 2005). La diminution de l'activité de la CAT pourrait être résultat de l'inactivation de l'enzyme par l'anion superoxyde, par sa glycation ou par les deux mécanismes en même temps. Cela explique aussi l'incapacité de la SOD de protéger CAT (Kakkar et al., 1998).

Dans notre étude on a constaté qu'un traitement de trois semaines par un extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso a provoqué une augmentation significative de l'activité de la SOD et de la CAT dans le foie (64.27 % et 71.59 %) et les reins (59.06 % et 58.22 %) chez les rats rendus diabétiques par STZ par rapport aux rats diabétiques témoins. Nos constatations sont en accord avec plusieurs d'autres études comme celle publiée par Pari & Latha, (2005) qui ont constaté que, chez des rats rendus diabétiques par STZ, un traitement de 21 jours par un extrait aqueux de *Scoparia dulcis* provoque une augmentation hautement significative de l'activité de la SOD et la CAT hépatique et rénale. De même, dans une autre étude Stanely Mainzen Prince et al., (1998) ont eux aussi constaté qu'un traitement de six

semaines par un extrait aqueux de la *Syzygium cumini* a permis d'augmenter d'une manière hautement significative l'activité de la SOD et la CAT au niveau cardiaque, hépatique et rénale chez des rats rendus diabétiques par l'alloxan.

L'augmentation de l'activité de la SOD et la CAT chez les rats diabétiques traités par l'extrait laisse penser que cette défense oxydante pourrait être réactivée par des principes actifs présents dans l'extrait, qui ont pu provoquer une augmentation de la capacité de détoxification par l'amélioration de la capture des radicaux libres.

Tout composé, naturel ou synthétique, avec des propriétés antioxydantes, pourraient contribuer à l'atténuation partielle ou totale des dommages qui peuvent être provoqués par les ROS. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et les radicaux hydroxyles $\cdot OH$ induisent de diverses lésions dans les organes et peuvent jouer un rôle important dans certaines altérations cliniques. Par conséquent, la suppression $O_2^{\cdot-}$ et $\cdot OH$ est probablement l'un des moyens les plus efficaces de défense contre les maladies (Pari & Latha, 2005). Les résultats de activité SOD et CAT et de la concentration du GSH et du MDA montre clairement que l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* Asso possède une activité de capture des radicaux libres très efficace, cela pourrait exercer une action bénéfique contre les altérations pathologiques causées par la présence de $O_2^{\cdot-}$ et $\cdot OH$. Cette action, principalement due à l'extrait, pourrait impliquer des mécanismes liés à l'activité de capture de radicaux libres.

Ben Abid et al., (2008) ont montré que l'*Artemisia herba alba* Asso possède un effet antioxydant équivalent à celui du thé vert et supérieur a celui du thé noir. Ils ont constaté que chez des rats sains un traitement de neuf semaines par une décoction d'*Artémisia herba alba* Asso a permis d'augmenté le statut antioxydant total, d'augmenté le zinc et le cuivre et de réduire le fer dans le sang et le foie.

Dans une étude réalisée *in vitro*, Tawaha et al., (2007) ont signalé que l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* asso est riche en composés polyphénoliques (23.5 ± 0.8 GAE mg/g de poids sec) et que l'activité antioxydante de cet extrait est supérieure à celle de l'extrait méthanolique (169 ± 8.5 contre 151 ± 2.9 $\mu\text{mol te/g}$ de poids sec).

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

Chez les végétaux supérieurs, Les flavonoïdes représentent l'un des groupes le plus répandu des composés phénoliques. Certains d'entre eux, et en raison de leur structure phénolique, sont connus pour être impliqués dans le processus de capture des radicaux libres formés au cours du diabète. Plusieurs flavonoïdes connus par leurs activités antioxydantes ont été isolés de la partie aérienne de l'*Artemisia herba alba* Asso par Saleh et al., (1987) tels que l'apigénine, la quercétine, l'acacétine, et l'hispiduline (Yuting et al.,1990). En fait, l'apigénine a été également isolée à partir de feuilles de la *Myrcia multiflora* par Matsuda et al. (2002) où ils ont indiqué que cette molécule possède un effet inhibiteur sur l'enzyme aldose réductase, une enzyme qui joue un rôle clé dans la voie de polyol. Cette voie est largement impliquée dans l'apparition des complications chroniques liées au diabète tel que la cataracte.

Enfin, Topçu et al., (2008) ont montré dans des études *in vitro* la capacité des triterpènes du *Salvia macrochlamys* dans la capture des radicaux libres, de l'anion superoxyde et dans la chélation du Fe^{2+} . Donc l'effet antioxydant de l'*Artemisia herba alba* Asso peut être du à la présence de ces molécules.

La présente étude suggère que l'*Artemisia herba alba* Asso à un effet bénéfique dans le contrôle de diabète par diminution de la glycémie, du profil lipidique et du stress oxydant au niveau hépatique et rénale. Ces résultats soutiennent plus ou moins son utilisation, en Afrique du nord et au Moyen-Orient, en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires pour identifier les molécules biologiquement actives afin de donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de cet effet antioxydant.

Conclusion

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En Algérie, la médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement du diabète. Sachant que le diabète constitue un véritable fléau en Algérie, le nombre d'études en matière de recherche de nouvelles molécules capable de prévenir ou même de retarder l'apparition des complications liées au diabète, reste très limité.

L'ensemble de nos travaux a permis de souligner les effets bénéfiques de l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso soit dans la baisse de la glycémie et du profil lipidique soit dans la prévention et la limitation des effets toxiques des radicaux libres au cours du diabète et soutiennent plus ou moins son utilisation, en Afrique du nord et au Moyen-Orient, en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète.

Au cours des années récentes, d'innombrables démonstrations ont été rapportées sur l'augmentation de la production des espèces réactives de l'oxygène au cours du diabète. Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que la streptozotocine induit chez l'animal un diabète caractérisé par une hyperglycémie, une hyperlipidémie, une élévation significative des marqueurs du stress oxydant et une diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique.

Dans la première partie, nous avons confirmé l'effet hypoglycémique et hypolipidémique de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso. Nos résultats indiquent que l'extrait présente une haute activité hypoglycémiant chez des rats rendus diabétiques par streptozotocine en diminuant d'une manière significative la concentration sérique du glucose.

D'autre part, l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso montre également une haute activité hypolipidémiant chez des rats sains ainsi que chez des rats rendus diabétique par streptozotocin en diminuant la concentration sérique du cholestérol total et des triglycérides.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons évalué l'activité antioxydante de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso. Nos résultats montrent que l'extrait de la plante provoque une nette amélioration du statut antioxydant hépatique et rénal. En effet, la diminution de la concentration du MDA, accroissement du taux du glutathion réduit (GSH), de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et de l'activité de la catalase (CAT) dans foie et reins chez les rats diabétiques traités par l'extrait montrent clairement les propriétés antioxydantes de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso. Ces résultats laissent

un grand espoir pour l'avenir avec le rôle protecteur que peuvent conférer l'*Artemisia herba alba Asso* dans la prévention et la limitation des effets toxiques des radicaux libres au cours du diabète.

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

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ahmed AA, Abou-El-Ela M, Jakupovic J, Seif El-Din AA, Sabrit N (1990).** Eudesmanolides and other constituents from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, **29** : 3661 - 3663.
- Al-Shamaony L, Al Khazraji MS, Twaij HA (1994).** Hypoglycemic effects of *Artemisia herba-alba* . II. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabetic animals. *J Ethnopharmacol*, **43(3)** : 167 - 171.
- Allain CC, Poon LS, et all (1974).** Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem*, **20(4)**:1350 - 1356.
- Almind K, Doria A, Kahn CR (2001).** Putting the genes for type II diabetes on the map. *Nat Med*, **7 (3)** : 277 - 276.
- Armstrong AM, Young IS (1996).** The effect of dietary treatment on lipid peroxidation and antioxidant status in newly diagnosed noninsulin dependant diabetes. *Free Radic Biol Med*, **21** : 719 - 735.
- Anderson J W, Gowri MS, Turner J, Nichols L, Diwadkar VA, Chow CK, oeltgen PR (1999).** Antioxidant supplementation effects on low-density lipoprotein oxidation for individuals with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr*, **18** : 451 - 461.
- André Grimaldi et al, (2001).** Guide pratique du diabète, *édition Masson. Paris*, 1 - 415.
- Arai K, Maguchi S, Fujii S, Ishibashi H, Oikawa K, Taniguchi N (1987).** Glycation and inactivation of human Cu-ZN-Superoxide dismutase. In **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 353 – 376.
- Asayama K, Hayashibe H, Dobashi K, Niitsu T, Miyao A, Kato K (1989).** Antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in various tissues of diabetic and starved rats. *Diabetes Res*, **12** : 85 - 91.
- Azzi A, Boscoboinik D, Marilley D, Ozer NK, Stéiuble B, Tasinato A (1995).** Vitamin E: a sensor and an information transducer of the cell oxidation status. *Am J Clin Nutr*, **62** : 1337S-46S.

- Babu PVA, Sabitha KS, Shyamaladevi CS (2006).** Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, **162** : 114 - 120.
- Bailey CJ, Day C (1989).** Traditional plants medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care*, **12(8)** : 553-564.
- Baynes JW (1991).** Perspectives in diabetes, role of oxidative stress on development of complications in diabetes. *Diabetes*, **40** : 405 - 412.
- Baudin B (2005).** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *mt cardio*, **2 (1)** : 43 - 52.
- Battacharya SK, Satyan KS, Ghosal S (1997).** Antioxidant activity of glycowithanolides from *Withania somnifera*. *Indian Journal of Experimental Biology*, **35** : 236 - 239.
- Bedoya FJ, Solano F, Lucas M (1996).** N-monomethyl-arginine and nicotinamide prevent streptozotocin-induced double strand DNA break formation in pancreatic rat islets. *Experientia*, **52** : 344 - 347.
- Ben Abid Z, Feki M, Hédhili A, Hédi Hamdaoui M (2007).** *Artemisia herba-alba* Asso (*Asteraceae*) Has Equivalent Effects to Green and Black Tea Decoctions on Antioxidant Processes and Some Metabolic Parameters in Rats. *Ann Nutr Metab*, **51** : 216-222.
- Benlatreche M (2008).** Etude de la relation entre le polymorphisme de la MTHFR, et la survenue des complications dégénératives chez les diabétiques de type 2 dans la commune de constantine. Thèse : 1 - 108.
- Benrebai M, Abidli N, Nasr SM, Benlatreche C (2008).** Oxidative stress statut in type 2 diabetic patients in eastern Algeria. *WorldAppliedSciences journal*, **4(5)** : 714 - 719.
- Betteridge J (2002).** Lipid disorders in diabetes mellitus. In: Pickup J and Williams G. (eds.) *Textbook of Diabetes. Blackwell Science, London* : 551 - 553.
- Bhaskar A, Vidhya V G, Ramya M (2008).** Hypoglycemic effect of *Mucuna pruriens* seed extract on normal and streptozotocin-diabetic rats. *Fitoterapia*, **79**: 539 - 543.
- Boitard C (2002).** THE origin of type 1 diabetes: an autoimmune disease?. *Diabetes Metab (Paris)*, **28** : 263 - 265.
- Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J (2000).** Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes & Metabolism (Paris)*, **26** : 163-176.

- Bopanna, KN, Kannan J, Gadgil S, Balaraman ER, Rathore, SP (1997).** Antidiabetic and antihyperglycaemic effects of neem seed kernel powder on alloxan diabetic rabbits. *Indian Journal of Pharmacology*, **29** : 162 - 167.
- Boriky D, Berrada M, Talbi M, Keravis G, Rouessac F (1996).** Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, **43** : 309 - 311.
- Bravi MC, Pietrangeli P, Laurenti O, Basili S, Cassone Faldetta M, Ferri C, De Mattia, G (1997).** Polyol pathway activation and glutathione redox status in non-insulin-dependent diabetic patients. *Metabolism*, **46** ; 1194 - 1198.
- Brown GB, Xue-Qiao Z, Soccoand DE, Albert JJ (1993).** Lipid lowering and plaque regression. New insights into prevention of plaque disruption and clinical vents in coronary disease. *Circulation*, **8** : 1781 - 1791.
- Brownlee M (2001).** Biochemistry and molecular cellular biology of diabetic complications. *Nature*, **414**: 813 - 20.
- Brownlee M (2005).** The pathobiology of diabetic complications. A unifying mechanism, *Diabetes*, **54** : 1615 - 1625.
- Burk RF (2002).** Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutr Clin Care* , **5** : 47-49.
- Buse MG (2006).** Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **290** : 1-8.
- Buritis A, et al (1999).** Tietz Textbook of clinical Chemistry, 3rd ed AACC.
- Cadet J, Bellon S, Berger M, Bourdat A.G, Douki T, Duarte V, Frelon S, Gasparutto D, Muller E., Ravanat J.L., Sauvaigo S (2002).** Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases, *Biol. Chem*, **383(6)** : 93 - 100.
- Cantin PA (1999).** Oxidant and antioxidants in lung injury. In: *Lam and Other Diseases Characterized by Smooth Muscle Proliferation*, Moss J. New York: Dekker, 519 - 531.
- Chen YQ (1998).** Sp1 sites mediate activation of the plasminogen activator inhibitor-1 promoter by glucose in vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem*, **273** : 8225 - 8231.
- Cho SY, Park JY, Park EM, Choi MS, Lee MK, Jeon SM, Jang MK, Kim Mj, Park YB (2002).** Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in

streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clinica Chimica Acta*, **317** : 109 - 117.

Cooperstin SJ and Watkin D (1981). Action of Toxic Drugs on Islet Cells. In the Islets of Langerhans. *Academic Press, New York* : 387 – 425.

Comhair SAA, Erzurum SC (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **283**: 246 - 255.

Capeau J, Desbois-mouthon C, magré J, caron M, vigouroux C, Lascols O, Cherqui G (1996). Mécanisme moléculaires et cellulaires de l'action de l'insuline. Application à la physiologie et à la pathologie. *Nutr. Clin. Métabol*, **10**; 231 - 242.

Ceriello, A., Mercuri F, Quagliaro L, Assaloni R, Motz E, Tonutti L, Taboga C (2001). Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia*, **44** : 834 - 838.

Clairborne A (1985). Catalase activity. In: Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. *Greenwald, R.A. ed Boca Raton, Fla: CRC Press*, 283-284.

Crapo JD (1997). Mouse extracellular superoxide dismutase: primary structure, tissue-specific gene expression, chromosomal localization, and lung in situ hybridization. *Am J Respir Cell Mol Biol*, **17**: 393 - 403.

Crawford RS, Mudaliar RS, Henry RR, Chait A (1999). Inhibition of LDL oxidation *in vitro* but not *ex vivo* by troglitazone. *Diabetes*, **38** : 1207 - 1217.

Cutler P (1989). Desferoxamine therapy in high ferritin diabetics. *Diabetes*. **38** (10) : 1207 - 1210.

Dagogo-Jack S, Santiago JV (1997). Physiopathology of type 2 diabetes and modes of action of therapeutic interventions. *Arch intern med*, **157**:1802 - 1817.

Defraigne J O, Pincemail J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Rev Med Liège*, **63** : 10 - 19.

Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot (2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 1 - 405.

De Mattia G, Bravi MC, Laurenti O, Cassone-Faldetta M, Proietti A, De luca O, Armiento A, Ferri C (1998). Reduction of oxidative stress by oral N-acetylcysteine

treatment decreases plasma soluble vascular cell adhesion molecule-1 concentration in non-obese, non-dyslipidaemic, normotensive patients with non-insulin-dependent diabetes. *Diabetologia*, **41** : 1392 - 1396.

Deneke SM, Fanburg BL (1989). Regulation of cellular glutathione. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **257**: 163 - 173.

Dobrian A, Simionescu M (1995). Irreversibly glycosylated albumin alters the physico-chemical characteristics of low density lipoproteins of normal and diabetic subjects. In **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005)**. Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 353 – 376.

Dominguez Z, Ruiz E, Gussinye M, Carrascosa A (1998). Oxidative stress at onset and in early stages of type diabetes in children and adolescents. *Diabetes care*, **21** : 1736 - 1742.

Du X L (2000). Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **97** : 12222 - 12226.

Eddouks M, Lemhadri A, Michel, JB (2004). Caraway and caper: a potential anti-hyperglycaemic plants in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **94** : 143 - 148.

Eddouks M, Lemhadri A, Michel JB (2005). Hypolipidemic activity of aqueous extract of *Capparis spinosa* L. in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **98** :345 - 350.

Eddouks M, Ouahidi ML, Farid O, Moufid A, Khalidi A, Lemhadri A (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, **5** : 194 - 203.

El-Alfy AT, Ahmed AAE, Fatani AJ (2005). Protective effect of red grape seeds proanthocyanidins against induction of diabetes by alloxan in rats. *Pharmacol Res*, **52** : 264 - 270.

Eliza J, Daisy P, Ignacimuthu S, Duraipandiyan V (2008). Normo-glycemic and hypolipidemic effect of costunolide isolated from *Costus speciosus* (Koen ex. Retz.)Sm. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, **68**:211-223.

- Ellman G (1959).** Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**: 70 -7.
- El-Mustafa AH, El-Tunibat OY (2008).** Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **11 (3)** : 351 - 358.
- Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G (1992).** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL, *Free Rad. Biol. Med*, **13** : 341 - 349.
- Favier A (1997).** Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin*, **55 (1)** : 9 - 16.
- Favier A (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108 - 115.
- Feillet CC, Rock E, Coudray C, Grzelkowska K, Azais BV, Dardevet D (1999).** Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. *Clinica Chimica Acta*, **284** : 31 - 43.
- Féry F, Paquot N (2003).** Etiopathogénie et physiopathologie du diabète de type 2. *La revue de médecine interne*, **24** : 730 - 737.
- Ferrannini E, Gastaldelli A, Miyazaki Y (2005).** Betacell function in subjects spanning the range from normal glucose tolerance to overt diabetes: a new analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, **90** : 493 - 500.
- Fisher AB, Dodia C, Manevich Y, Chen JW, Feinstein SI (1999).** Phospholipid Hydroperoxides Are Substrates for Non-selenium Glutathione Peroxidase. *The journal of biological chemistry*, **274** : 21329 - 21334.
- Ford, ES, Cogswell, ME (1999).** Diabetes and serum ferritin concentrations among US adults. *Diabetes care*, **22 (12)** : 1978 - 1983.
- Friedrichs WE, Navarijo-Ashbaugh AL, Bowman BH, Yang F (1995).** Expression and inflammatory regulation of haptoglobin gene in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, **209 (1)** : 250 - 256.
- Fossati P, Prencipe L (1982).** Serum triglyceride determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxyde. *Clin Chem*, **28** : 2077-80.

- Ganther HE (1999).** Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis*, **20 (19)** : 1657 - 1666.
- Ganz M B, Seftel A (2000).** Glucose-induced changes in protein kinase C and nitric oxide are prevented by vitamin E. *Am. J. Physiol*, **278** : 146 - 152.
- Genet S, Raosaheb KK, Najma ZB (1999).** Effects of vanadate, insulin and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) on creatine kinase level in tissues of diabetic rat, *Ind. J. Exp. Biol*, **37** : 200 - 202.
- Gérard-Monnier D, Chaudière J (1996).** Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion. *Path Biol*, **44**: 77 - 85.
- Ghrabi Z Sand RL (2008).** *Artemisia herba alba* Asso. *A Guide to Medicinal Plants in North Africa* : 49 - 49.
- Gillery P, Monboise JC, Maquart FX, Borel JP (1988).** Glycation of proteins as a source of superoxide. In **Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 353 - 376.
- Girardin C, Schwitzgebel V (2007).** Diabète de type 2 en pédiatrie : diagnostic et prise en charge. *Rev Med Suisse*, **3** : 1001 - 1006.
- Goudable J, Favier A (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Mdtabol*, **11**:115 - 120.
- Goodman LS, Gilman A (1985).** The Pharmacological Basis of Therapeutics. Macmillan. *New York*, 1490 – 1510.
- Goldstein S, Meyerstein D, Czapski G (1993).** The Fenton reagents. *Free Rad Biol Med*, **15**: 435 - 445.
- González RG P, Barnett J, Aguayo HM, Cheng LT, Chylack J (1984).** Direct measurement of polyol pathway activity in the ocular lens, *Diabetes*, **33** : 196 - 199.
- Halliwell B (1989).** Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol*, **70** : 737 - 757.
- Halliwell B (1996).** Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie*, **44**: 6-13.

- Hempel A (1997).** High glucose concentrations increase endothelial cell permeability via activation of protein kinase C alpha. *Circ. Res*, **81** : 363 - 371.
- Hoang NK, Norberg A, Sillard R, Van Phan D, Thuan ND, Dzong DT, et al (2007).** The possible mechanisms by which phanoside stimulates insulin secretion from rat islets. *J Endocrinol*, **192** : 389 - 394.
- Hawkins M (1997).** Role of the glucosamine pathway in fat-induced insulin resistance. *J. Clin. Invest*, **99** : 2173 - 2182.
- Horwitz MS, Ilic A, Fine C, Rodriguez E, Sarvetnick N (2002).** Presented antigen from damaged pancreatic beta cells activates autoreactive T cells in virus-mediated autoimmune diabetes. *J Clin Invest*, **109** : 79 - 87.
- Hunt JV, Dean RT, Wolff SP (1988).** Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem. J*, **256** : 2052 - 212.
- Ii S, Ohta M, Kudo E, Yamaoka T, Tachikawa T, Moritani M, Itakura M, Yoshimoto K (2004).** Redox state-dependent and sorbitol accumulation-independent diabetic albuminuria in mice with transgene-derived human aldose reductase and sorbitol dehydrogenase deficiency. *Diabetologia*, **47** : 541 - 548.
- Inoguchi T, Sonta T, Tsubouchi H, Etoh T, Kakimoto M, Sonoda N, Sato N, Sekiguchi N, Kobayashi M, Sumimoto H, Utsumi H, Nawata H (2003).** Protein Kinase C-Dependent Increase in Reactive Oxygen Species (ROS) Production in Vascular Tissues of Diabetes: Role of Vascular NAD(P)H Oxidase. *J Am Soc Nephrol*, **14** : 227 - 232.
- Jain SK, Palmer M (1997).** The effect of oxygen radicals metabolites and vitamin E on glycosylation of proteins. In **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 353 - 376.
- Jain SK, Mc Vie R, Jaramillo JJ, Chen Y (1998).** Hyperketonemia (acetoacetate) increases the oxidizability of LDL + VLDL in type I diabetic patients. In **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 353 - 376.

- Jain SK, Mc Vie R, Smith T (2000).** Vitamin E supplementation restores glutathione and malondialdehyde to normal concentration in erythrocytes of type 1 diabetic children. *Diabetes Care*, **23** : 1389 - 1394.
- Jakuš V, Rietbrock N (2004).** Advanced Glycation End-Products and the Progress of Diabetic Vascular Complications. *Physiol. Res.* **53** : 131 - 142.
- JangYY, Song JH, Shin YK, Han ES, Lee CS (2000).** Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in STZ-induced diabetic rats. *Pharmacol Res*, **42** : 361 -371.
- Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J (1998).** Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *J Clin Sci*, **94** : 623 - 32.
- Keaney JF, Schwaery GT, Xu A, Nicolosi RJ, Loscalzo J, Foxall TL, Vita JA. (1994).** 17 β -oestradiol preserves endothelium vasodilator function and limits low density lipoprotein oxidation in hypercholesterolemic swine. *Circulation*, **89 (5)** : 2251 - 2259.
- Kedar P, Chakrabarti CH (1982).** Effects of bittergourd (*Momordica charantia*) seed and glibenclamide in streptozotocin induced diabetes mellitus. *Indian Journal of Experimental Biology*, **20** : 232 - 235.
- Keegan A, Cotter MA, Cameron NE (1999).** Effect of diabetes and treatment with the antioxidant α -lipoic acid on endothelial and neurogenic responses of corpus cavernosum in rats. *Diabetologia*, **42** :343 - 350.
- Kelly JJ, Tsai AC (1978).** Effect of pectin, gum Arabic and agar on cholesterol absorption, synthesis and turnover in rats. *Journal of Nutrition*, **108** : 630 - 639.
- Keogh RJ, Dunlop ME, Larkins RG (1997).** Effect of inhibition of aldose reductase on glucose flux, diacylglycerol formation, protein kinase C, and phospholipase A2 activation, *Metabolism*, **46** : 41 - 47.
- Khan ZA, Chakrabarti S (2007).** Cellular Signaling and Potential New Treatment Targets in Diabetic Retinopathy. *Experimental Diabetes Research*, **10** : 1 - 12.
- Khanna K, Rizvi F, Chander R (2002).** Lipid lowering activity of *Phyllanthus niruri* in hyperlipemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **82** : 19 - 22.

- Kim KS, Lee S, Lee YS, Jung SH, Park Y, Shin KH, Kim BK (2003).** Anti-oxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*. *Journal of Ethnopharmacology*, **85** : 69 - 72.
- Kocak G, Aktan F, Canbolat O, Ozogul C, Elbeg S, Yildizoglu-Ari N, Karasu C (2000).** The ADIC study group- antioxidants in diabetes- induced complication. Alpha lipoic acid ameliorates metabolic parameters, blood pressure, vascular reactivity and morphology of vessels already damaged by streptozotocin-diabetes. *Diabetes*, **13** : 308 - 318.
- Kolm-Litty V, Sauer U, Nerlich A, Lehmann R, Schleicher ED (1998).** High glucose-induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *J. Clin. Invest*, **101** : 160 - 169.
- Koya D, Jirousek MR, Lin YW, Ishii H, Kuboki K, King GL (1997).** Characterization of protein kinase C beta isoform activation on the gene expression of transforming growth factor-beta, extracellular matrix components, and prostanoids in the glomeruli of diabetic rats,*J. Clin. Invest.*, **100** : 115 - 126.
- Kritchevsky D (1978).** Fiber, lipids and atherosclerosis. *American Journal of Clinical Nutrition*, **31S** : 65 - 74.
- Lenzen S (2008).** The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* **51** : 216 - 226.
- Li WL, Zheng HC, Bukuru J, De Kimpeb N (2004).** Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol*, **92** : 1 - 21.
- Limaye PV, Raghuram N, Sivakami S (2003).** Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin induced diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry* **243**: 147 - 152.
- Lindau-Sehpar B, Shaffer J (1993).** Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Rad Biol Med*, **15** : 581 - 8.
- Liu D, Zhen W, Yang Z, Carter JD, Si H, Reynolds KA (2006).** Genistein acutely stimulates insulin secretion in pancreatic β -cells through a cAMP dependent protein kinase pathway. *Diabetes*, **55** : 1043 - 1050.

- Loven D, Schedl H, Wilson H, Diekus M (1986).** Effect of insulin and oral glutathione on glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin induced diabetes. *Diabetes*, **35** : 503 - 514.
- Lyons TJ, Jenkins AJ (1997).** Lipoprotein glycation and its metabolic consequences. In **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 353 - 376.
- Madhu CG, Devi DB (2000).** Protective antioxidant effect of vitamins C and E in streptozotocin induced diabetic rats. *Ind. J. Exp. Biol*, **38** : 101 - 104.
- Marklund SL (1985).** Pyrogallol autooxidation. In: Handbook of Methods for Oxygen Radical Greenwald, R.A. ed. Boca raton, Fla: *CRC Press*, 243-247.
- Marrif HI, Ali BH, Hassan KM (1995).** Some pharmacological studies on *Artemisia herba-alba* (Asso.) in rabbits and mice. *J Ethnopharmacol*, **49(1)** : 51 - 55.
- Marshall S, Bacote V, Traxinger RR (1991).** Discovery of a metabolic pathway mediating glucoseinduced desensitization of the glucose transport system. Role of hexosamine biosynthesis in the induction of insulin resistance. *J. Biol. Chem*, **266** : 4706 - 4712.
- Matkovics B, Varga SZI, Szabo L, Witas H (1982).** The effect of diabetes on the activities of the peroxide metabolism enzymes. *Horm Metab Res*, **14** : 77 - 86.
- Matsuda H, Morikawa T, YoshikawaM (2002).** Antidiabetogenic constituents from several natural medicines. *Pure Applied Chemistry*, **74** : 1301 - 1308.
- Mazunder UK, Gupta M, Rajeshwar Y 2005.** Antihyperglycemic effect and antioxidant potential of *phyllanthus niruri* (euphorbiaceae) in streptozotocin induced diabetic rats. *European Bulletin of Drug Research*, **13 (1)** : 13 - 23 .
- Mc Carty MF (2001).** Inhibition of acetyl-CoA carboxylase by cystamine may mediate the hypotriglyceridemic activity of pantetheine. *Medical Hypotheses*, **56** : 314 - 317.
- Mc Cord J (1993).** Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem*; 26-32.
- Mc Growan MW, Artiss JD, Strandbergh DR, et al (1983).** A peroxydase-coupled of the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem*, **29**:538-42.
- Meister A, Anderson ME (1983).** Glutathione. *Annu Rev Biochem* **52** : 711 - 760.

- Moeckel GW, Shadman R, Fogel JM, Sadrzadeh SMH (2002).** Organic osmolytes betaine, sorbitol and inositol are potent inhibitors of erythrocyte membrane ATPases. *Life Sciences*, **71** : 2413 - 2424.
- Mohora M, Greabu M, Muscurel C, Duță C, Totan A (2007).** The sources and the targets of oxidative stress in the etiology of diabetic complications. *Romanian J. Biophys*, **17 (2)** ; 63 - 84.
- Mohora, M, Vîrgolici B, Paveliu F, Lixandru D, Muscurel C, Greabu M (2006).** Free radical activity in obese patients with type 2 diabetes mellitus, *Rom. J. Intern. Med.*, **1** : 69 - 78.
- Montagnier L, Olivier R, Pasquier C (1998).** Oxidative stress in cancer. AIDS, and neurodegenerative diseases. *Marcel Dekker, New-York*, 154 - 166.
- Nakakimura H, Mizuno K, (1980).** Studies on lipid peroxidation in biological systems II. Hyper lipoperoxidemia in mice induced by alloxan. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **28** : 2207 - 2211.
- Nenseter MS, Drevon CA (1996).** Dietary polyunsaturates and peroxidation of low density lipoprotein. *Current Opinion in Lipidology*, **7** : 8 -13.
- Neuzil J, Stocker R (1993).** Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS Lett*, **331 (3)** : 281 - 284.
- Nohl H, Gille L, Staniek K (2004).** The mystery of reactive oxygen species derived from cell respiration. *Biochemical Society Transactions*, **51** : 223 - 229.
- Nourooz-Zadeh J, Rahimi A, Tajaddini-Sarmadi J, et al (1997).** Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia*, **40** : 647 - 653.
- Nukatsuka M, Sakurai H, Yoshimura Y, Nishida M, Kawada J (1988).** Enhancement by streptozotocin of O_2^- radical generation by the xanthine oxidase system of pancreatic beta-cells. *FEBS Lett*, **239** : 295 - 298.
- Nukatsuka M, Yoshimura Y, Nishida M, Kawada J (1990b).** Importance of the concentration of ATP in rat pancreatic beta cells in the mechanism of streptozotocin-induced cytotoxicity. *J Endocrinol*, **127** : 161 - 165.

- O'Brien RC, Luo M, Balazs N, Mercuri J (2000).** In vitro and In vivo antioxidant properties of gliclazide. *J Diabetes Complications*, **14** : 201 - 206.
- Okhawa H, Ohishi N, Yagi K, (1979).** Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, **95**: 351–358.
- Ou P, Nourooz-Zadeh J, Tritschler HJ, Wolff S (1996).** Activation of aldose reductase in rat lens and metal-ion chelation by aldose reductase inhibitors and lipoic acid. *Free Radic Res*, **25** : 337 - 346.
- Paolisso G, D'Amore A, Galzerano D, Varriccho M, D'Onofrio F (1993).** Daily vitamin E supplements improve metabolic control but not insulin secretion in elderly type 1-2 diabetic patients. *Diabetes Care*, **16** : 1433 - 1437.
- Pari L, Latha M (2005).** Antidiabetic effect of *Scoparia dulcis*: effect on lipid peroxidation in streptozotocin diabetes. *Gen Physiol Biophys*, **24** : 13 - 26.
- Pavlovic D, Kocic R, Kocic G, Jevtovic T, Radenkovic S, Kikic D, Stojanovic M, Djorevic PB (2000).** Effect of four-week metformin treatment on plasma and erythrocyte antioxidative defense enzymes in newly diagnosed obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes obes metab*, **2** : 251 - 256.
- Peter-Riesch B, Philippe J, Stalder H (2002).** Découverte d'un diabète sucré. *PrimaryCare*, **2** : 284 - 290.
- Powell SR (2000).** The antioxidant properties of zinc, *J. Nutr*, **130** : 1447S-54S.
- Prakasam A, Sethupathy S, Pugalendi KV (2005).** Antiperoxidative and Antioxidant Effects of *Casearia Esculenta* Root Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of biology and medicine*, **78** : 15 - 23.
- Rajagopal K, Sasikala K (2008).** Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of *Nymphaea stellata* in alloxan-induced diabetic rats. *Singapore Med J*, **49 (2)** : 137 - 142.
- Rajlakshmi D, Sharma DK (2004).** Hypolipidemic effect of different extracts of *Clerodendron colebrookranum* in normal and high-fat diet fed rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **90** : 63 - 68.
- Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM (2006).** Glycation and RAGE: Common Links in the Pathogenesis of Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Canadian Journal Of Diabetes*, **30 (4)** : 422 - 429.

- Ramirez DC, Gomez-Mejiba SE, Corbett JT, Deterding LJ, Tomer KB, Mason RP (2008).** Cu, Zn-Superoxide Dismutase-driven Free Radical Modifications: Copper- and Carbonate Radical Anion-initiated Protein Radical Chemistry. *Biochemical Society*, **10** : 1 - 25.
- Ravi K, Ramachandran B, Subramanian S (2004).** Effect of Eugenia Jambolana seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sciences*, **75** : 2717 – 2731.
- Ravi K, Rajasekaran S, Subramanian S (2005).** Antihyperlipidemic effect of Eugenia jambolana seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Food and Chemical Toxicology*, **43** : 1433 - 1439.
- Reaven PD, Herold DA, Barnett J, Edelman S (1995).** Effect of vitamin E on susceptibility of Low- density lipoprotein subfraction to oxidation and protein glycation in NIDDM. *Diabetes Care*, **18** : 807 - 816.
- Renier G, Desfaits AC, Serri O (2000).** Gliclazide decreases low-density lipoprotein oxidation and monocyte- adhesion to the endothelium. *J diabetes complication*, **14** : 215 - 223.
- Roeschlau P, Bernt E, Gruber WA (1974).** Enzymatic determination of total cholesterol in serum. *Z Klin Biochem*, **12** ; 226.
- Sakurai T, Tsuchiya S (1988).** Superoxide production from nonenzymatically glycosylated protein. In **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 353 - 376.
- Saleh NAM, El-Negoumy SI, Abou-Zaid MM (1987).** Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, **26** : 3059 - 3064.
- Saleh N A M, El- Negoumy S I, Abd-Alla, M F, Abou- Zaid M M, Dellamonica G, Chopin J (1985).** Flavonoid glycosides of *Artemisia monosperma* and *A. herba alba*. *Phytochemistry*, **24** : 201 - 203.
- Samaan C, Klip A (2008).** L'obésité, l'insulinorésistance et le diabète de type 2 : l'interaction entre les cellules adipeuses et les cellules musculaires. *Endocrinologie*, **8** : 7 - 13.

- Sandler S, Swenne I (1983).** Streptozotocin, but not alloxan, induces DNA repair synthesis in mouse pancreatic islets in vitro. *Diabetologia*, **25** : 444 - 447.
- Santini SA, Cotroneo P, Marra G, Giardina B, Mordente A, Greco AV, Martorana GE, Magnani P, Ghirlanda G (1996).** Na^+/K^+ ATPase impermeant and experimental glycation : the role of glucose autoxidation. In **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 353 – 376.
- Santos-Gomes PC, Seabra RM, Andrade PB, Fernandes-Ferreira M (2002).** Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis L.*). *Plant Science*, **162** : 981 - /987.
- Saravanan R, Pari L (2005).** Antihyperlipidemic and antiperoxidative effect of Diasulin, a polyherbal formulation in alloxan induced hyperglycemic rats. *BMC Complement Altern Med*, **5** :14 - 21.
- Sarkhail P, Rahmanipour S, Fadyevatan S, Mohammadirad A, Dehghan G, Amin G, Shafiee A, Abdollahi M (2007).** Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: Effects on hepatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Pharmacological Research*, **56** : 261 - 266.
- Satish K, Srivastava K, Ramana V, Aruni Bhatnagar (2005).** Role of Aldose Reductase and Oxidative Damage in Diabetes and the Consequent Potential for Therapeutic Options. *Endocrine Reviews*, **26 (3)** : 380 - 392.
- Sathishsekar D, Subramanian S (2005).** Antioxidant properties of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr* , **14 (2)** : 153 - 158.
- Sharma A, Kharb S, Chung SN, Kakkar R, Singh GP (2000).** Evaluation of oxidative stress before and after control of glycemia and after Vitamin E supplementation in diabetic patients. *Metabolism*, **49** : 160 - 162.
- Sharma SB, Nasir A, Prabhu KM, Murthy PS, Dev G (2003).** Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, **85** : 201 - 206.

- Sharma SB, Balomajumder C, Roy P (2008).** Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, **46** : 2376 - 2383.
- Shimizu M, Kobayashi Y, Suzuki M, Satsu H, Miyamoto Y (2000).** Regulation of intestinal glucose transport by tea catechins. *Biofactors*, **13** : 61 - 65.
- Shirwaikar A, Rajendran K, Dinesh Kumar C, Bodla R (2004).** Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **91** : 171 - 175.
- Sivajothi V, Dey A, Jayakar B, Raj Kapoor B (2008).** Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effect of *Phyllanthus rheedii* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **7 (1)** : 53 - 59.
- Slater HR, Packard CJ, Bicker S, Shepherd (1980).** Effects of cholestyramine on receptor mediated plasma clearance and tissue uptake of human low density lipoprotein in the rabbit. *Journal of Biological Chemistry*, **255** : 10210 - 10213.
- Stanely Mainzen Prince P, Menon VP, Pari L (1998).** Hypoglycaemic activity of *Syzigium cumini* seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **61** : 1 - 7.
- Stanely Mainzen Prince P, Kamalakkannan N, Menon VP (2004).** Antidiabetic and antihyperlipidaemic effect of alcoholic *Syzigium cumini* seeds in alloxan induced diabetic albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **91** : 209 - 213.
- Stamler JS, Slivka A (1996).** Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. *Nutr Rev*, **54** : 1 - 30.
- Stephens, JW, Gable DR, Hurel SJ, Miller GJ, Cooper JA, Humphries SE (2006).** Increased plasma markers of oxidative stress are associated with coronary heart disease in males with diabetes mellitus and with 10-year risk in a prospective sample of males, *Clinical Chemistry*, **52** : 446 - 452.
- Studer RK, Craven PA, Derubertis FR (1993).** Role for protein kinase C in the mediation of increased fibronectin accumulation by mesangial cells grown in high-glucose medium, *Diabetes*, **42** : 118 - 126.

- Szaleczky E, Prechl J, Fehér J, Somogyi A (1999).** Alterations in enzymatic antioxidant defence in diabetes mellitus - a rational approach. *Postgrad Med J*, **75** : 13 - 17.
- Szkudelski T (2001).** The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res.* **50** : 536 - 546.
- Takasu N, Komiya I, Asawa T, Nagasawa Y, Yamada T (1991b).** Streptozotocin- and alloxan-induced H₂O₂ generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H₂O₂ as mediator for DNA fragmentation. *Diabetes*, **40** : 1141-1145.
- Taleb-Senoucia D, Ghomaria H, Kroufa D, Bouderbalaa S, Prostb J, Lacaille-Dubois MA, Bouchenaka M (2009).** Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, **25** : 221-235.
- Taştekin D, Atasever M, Adigüzel G, Keleş M , Taştekin A (2006).** Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba-alba* in experimental hyperglycaemic rats. *Bull Vet Inst Pulawy*, **50** : 235-238.
- Thivolet C (2002).** Beta cells in type 1 diabetes: victims or activators of t cell response?. *Diabetes Metab (Paris)*, **28** : 267 - 269.
- Twaij HA, Al-Badr A (1988).** Hypoglycaemic activity of *Artemisia herba-alba*. *J Ethnopharmacol*, **24 (2-3)** : 123 - 126.
- Uchigata Y, Yamamoto H, Kawamura A, Okamoto H (1982).** Protection by superoxide dismutase, catalase, and poly(ADPribose) synthetase inhibitors against alloxan- and streptozotocin-induced islet DNA strand breaks and against the inhibition of proinsulin synthesis. *J Biol Chem*, **257** : 6084 - 6088.
- Ugochukwu NH, Cobourne MK (2003).** Modification of renal oxidative stress and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats treated with extracts from *Gongronema latifolium* leaves. *Clinica Chimica Acta*, **336** : 73–81.
- Valsa AK, Sudheesh S, Vijayalakshmi NR (1997).** Effect of catechin on carbohydrate metabolism. *Indian J Biochem Biophys*, **34** : 406 - 408.
- Venkateswaran S, Pari L (2003).** Effect of *Coccinia indica* leaves on antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **84** : 163 – 168.
- Vergès B (2007).** Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nutrition clinique et métabolisme*, **21** : 9-16.

- Vlassara H, Bucala R (1996).** Recent progress in advanced glycation and diabetic vascular disease: role of advanced glycation end product receptor. *Diabetes*, **45** : 65 - 72.
- Waltner-Law ME, Wang XL, Law BK, Hall RK, Nawano M, Granner DK (2002).** Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *J Biol Chem*, **277** : 34933 - 34940.
- Wardman P, Candeias LP (1996).** Fenton chemistry : an introduction. *Radiat Res*, **145 (5)** : 523 - 531.
- Wautier JL, Guillausseau PJ (2001).** Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy. *Diabetes Metab (Paris)*, **27** : 535 - 542.
- Wiernsperger NF (2000).** Metformin: intrinsic vasculoprotective properties. *Diabetes Technol Therap*, **2** : 259 - 272.
- Wilson GL, Hartig PC, Patton NJ, Ledoux SP (1988).** Mechanisms of nitrosourea-induced beta-cell damage. Activation of poly(ADP-ribose) synthetase and cellular distribution. *Diabetes*, **37** : 213 - 216.
- Woo M (2005).** Le diabète de type 2 : Le point sur l'action de l'insuline d'une perspective cellulaire. *Endocrinologie*, **5 (1)** : 1 - 12.
- Wohaieb SA, Godin DV (1987).** Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozotocin-induced diabetes in rat: effects of insulin treatment. *Diabetes*, **36** : 1014 - 1022.
- Wolff SP (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 (3)** : 642 - 632.
- Xia P, Inoguchi T, Kern TS, Engerman RL, Oates PJ, King GL (1994).** Characterization of the mechanism for the chronic activation of diacylglycerol-protein kinase C pathway in diabetes and hypergalactosemia. *Diabetes*, **43** : 1122 - 1129.
- Yabe-Nishimura C (1998).** Aldose reductase in glucose toxicity: a potential target for the prevention of diabetic complications. *Pharmacological Reviews*, **50 (1)** ; 21 - 33.
- Yamamoto H, Uchigata Y, Okamoto H (1981).** Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature* **294** : 284 - 286.

- Yan H, Harding JJ (1997).** Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase. *Biochem. J*, **328** : 599 - 605.
- Yan SD, Schmidt Am, Anderson GM, Zhang J, Zou Ys, Pinsky D, Stern D (1994).** Enhanced cellular oxidative stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *T Biol Chem*, **269** : 9889 - 9897.
- Yang N, Zhao M, Zhu B, Yang B, Chen C, Cui C, Jiang Y (2008).** Anti-diabetic effects of polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladode in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **9** : 570 - 574.
- Yim SH, Kang SA, Hah YC, P. Chock B, Yim MB (1995).** Free Radicals Generated during the Glycation Reaction of Amino Acids by Methylglyoxal. *The Journal Of Biological Chemistry*, **47** : 28228 - 28233.
- Yoshida K, Kondo I (1998).** Weakened cellular scavenging activity against oxidative stress in diabetes mellitus: regulation of glutathione synthesis and efflux. *Diabetologia*, **88** : 201 - 211.
- Yue KKM, Leung SN, Man PM, Yeung WF, Chung WS, Lee KW, Leung Awn, Cheng CHK (2005).** Alterations in antioxidant enzyme activities in the eyes, aorta and kidneys of diabetic rats relevant to the onset of oxidative stress. *Life Sciences*, **77** : 721 - 734.
- Yuting C, Rongliang Z, Zhongjian J, Yong J (1990).** Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free radical biology & medicine*, **9** : 19 - 21.
- Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ (2002).** Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression, *Free Rad. Biol. Med*, **33(3)** ; 337 - 345.
- Zhang, HN, Lin, ZB, (2004).** Hypoglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. *Acta Pharmacologica Sinica*, **25** : 191 - 195.
- Zhang XF, Tan BK (2000).** Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of *Andrographis paniculata* in normal and diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **27** : 358 - 363.

ÉTUDE DE L'EFFET ANTIDIABÉTIQUE ET ANTIOXYDANT DE L'EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISÉ D'*Artemisia herba alba* Asso CHEZ DES RATS SAINS ET DES RATS RENDUS DIABÉTIQUES PAR STREPTOZOTOCINE

Résumé

Au cours du diabète, le stress oxydant et les anomalies lipidiques sont fréquents, prononcés et représentent des facteurs importants en cause dans le développement des complications liées au diabète. Plusieurs métabolites secondaires isolés de plantes ont montré une activité antioxydante et une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant au cours du diabète. *Artemisia herba alba* Asso (Asteraceae) communément appelé «Chih» est largement utilisée en médecine traditionnelle en Afrique du nord pour traiter le diabète sucré. L'objectif de cette étude était d'évaluer le possible effet hypoglycémique, hypolipidémique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* Asso (390 mg/kg pendant 21 jours) chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine (55mg/kg). Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que la streptozotocine induit chez l'animal un diabète caractérisé par une hyperglycémie, une hyperlipidémie, une élévation des marqueurs du stress oxydant et une diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique. Cependant, l'administration orale de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso pendant 21 jours à une dose journalière de 390 mg/kg a provoqué une diminution significative de la concentration sérique de glucose (75.63 %), du cholestérol total (18.18 %) et des triglycérides (55.73 %) chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins. D'autre part, l'extrait aqueux a également entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans les tissus étudiés (foie et reins). En effet, la diminution de la concentration du malonyldialdéhyde (MDA) de 36.37 % et de 32.50 %, l'accroissement du taux du glutathion réduit (GSH) de 74.54 % et de 74.28 %, l'augmentation de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) de 64.27 % et de 59.06 % et de l'activité de la catalase (CAT) de 71.59 % et de 61.29 % respectivement dans le foie et les reins chez les rats diabétiques traités montrent que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso possède une haute activité antioxydante. En conclusion, la présente étude suggère que l'*Artemisia herba alba* Asso a un effet bénéfique sur le contrôle de diabète par diminution de la glycémie, du profil lipidique et du stress oxydant, en activant les enzymes antioxydantes et en diminuant la peroxydation lipidique au niveau hépatique et rénale, ce qui permet de réduire le développement des complications associées au diabète. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les molécules biologiquement actives pour donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de ces effets.

Mots clés: *Artemisia herba alba* Asso, Stress oxydant, Antioxydant, Hypoglycémique, Streptozotocine.

**STUDY OF THE ANTIDIABETIC AND ANTIOXIDANT EFFECT OF THE
LYOPHILISED AQUEOUS EXTRACT OF *Artemisia herba alba* Asso IN NORMAL
AND STREPTOZOTOCIN DIABETIC RATS**

Abstract

In diabetes, oxidative stress and lipid abnormalities are frequent, pronounced and represent important factors involved in the development of complications related to diabetes. Many secondary plant metabolites have been shown to possess antioxidant activities, improving the effects of oxidative stress on diabetes. *Artemisia herba alba* Asso (Asteraceae) commonly known as «Chih» is widely used in North of African folk medicine for the treatment of diabetes mellitus. The aim of this study was to investigate the possible hypoglycaemic, hypolipidemic and antioxidant effect of the lyophilised aqueous extract of the aerial part of *Artemisia herba alba* Asso in normal and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Diabetes was induced by single intraperitoneal injection of streptozotocin (55 mg/kg) to male albino Wistar rats and 390 mg/kg body weight of the lyophilised aqueous extract of *Artemisia herba alba* Asso were then administered orally to normal and experimental diabetic rats for 21 day. The results obtained in this study clearly show that STZ-induced animal diabetes characterized by hyperglycemia, hyperlipidemia, elevated markers of oxidative stress and decreased antioxidant defense system of enzymatic and non-enzymatic. Oral administration of the lyophilised aqueous extract of *Artemisia herba alba* Asso for 21 days at a daily dose of 390 mg / kg body weight resulted in a significant reduction in the level of serum glucose (75.63 %), total cholesterol (18.18 %) and triglycerides (55.73 %) in STZ-induced diabetic rats when compared with untreated diabetic rats. The aqueous extract also resulted in improved antioxidant status in the tissues studied (liver and kidneys). The decrease in the concentration of malondialdehyde (MDA) by 36.37 % and 32.50 %, increased the rate of reduced glutathione (GSH) by 74.54 % and 74.28 %, activity of superoxide dismutase (SOD) by 64.27 % and 59.06 % and the activity of catalase (CAT) by 71.59 % and 61.29 % respectively in liver and kidneys in rats with diabetes treated with the extract clearly show the antioxidant properties of lyophilized aqueous extract of *Artemisia herba alba* Asso. In conclusion, this study suggests that the *Artemisia herba alba* Asso has a beneficial effect in controlling diabetes by reducing blood glucose, lipid profile and oxidative stress by reducing lipid peroxidation and increasing antioxidant enzymes activities in liver and renal, which reduces the risk of developing complications of diabetes. However, further investigations to fully identify the biologically active ingredients and to define the precise molecular mechanism(s) of these effects are required.

Keywords: *Artemisia herba alba* Asso; Hypoglycemic, Stress oxidative, Antioxidant, Streptozotocin.

دراسة التأثير المضاد لداء السكري والأجهاد التأكسدي للمستخلص المجفد لنبات

Artemisia herba alba Asso عند فاران سليمة و اخرى حرض فيها داء

السكري بواسطة Streptozotocin

ملخص

يعتبر الإجهاد التأكسدي و الاختلال في الليبيدات في مرض السكري أمر معتاد واضح و تعتبر هذه الاضطرابات من العوامل الهامة التي تؤدي إلى ظهور المضاعفات المرتبطة بداء السكري . أثبتت كثير من المركبات الثانوية المستخلصة من النباتات أنها تملك تأثير مضاد للتأكسد و قدرة في تحسين آثار الإجهاد التأكسدي أثناء مرض السكري. *Artemisia herba alba* Asso (Asteraceae) ، تعرف باسم « الشيخ »، تستعمل هذه النبتة في نطاق واسع في شمال إفريقيا في الطب الشعبي لعلاج مرض السكري. الهدف من هذه الدراسة هو اختبار الأثر المخفض للسكر، المخفض للدهون و المضاد للأكسدة للمستخلص المائي المجفد لـ *Artemisia herba alba* Asso على جردان سليمة و أخرى حرض فيها داء السكري بواسطة streptozotocin (STZ ; 55 mg/kg). النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة أظهرت جليا أن streptozotocin يحرض عند الحيوان مرض السكري يتميز بارتفاع مستوى الجلوكوز في المصل اضطرابات في ميتابوليزم الأحماض الدهنية ارتفاع مؤشرات الإجهاد التأكسدي و انخفاض نشاط الأنزيمات المضادة للتأكسد. أدى الإغطاء الفموي المتكرر للمستخلص المائي المجفد لـ *Artemisia herba alba* Asso لمدة 21 يوم بجرعة يومية 390 مع/كغ إلى انخفاض معنوي في مستوى الجلوكوز (75.63%) ، الكولسترول (18.18%) و للجليسيريدات الثلاثية (55.73%) في المصل عند الجردان المصابة بداء السكري مقارنة بالشواهد. احدث أيضا المستخلص المائي انخفاض معنوي في تكوين الجذور الحرة على مستوى الأنسجة المدروسة. انخفاض تركيز الـ MDA المقدر بـ % 32.50 و 36.37% ، ارتفاع مستوى الـ GSH بـ 74.28% و 74.54% ، ارتفاع في نشاط SOD (64.27% و 59.06%) و Catalase (71.59% و 61.29%) في كل من النسيج الكبدي والكلوي عند الجردان المصابة بداء السكري أوضح الخصائص المضادة للأكسدة للمستخلص المائي لـ *Artemisia herba alba* Asso . و في الختام أظهرت هذه الدراسة أن *Artemisia herba alba* Asso لها اثر ايجابي في التحكم في مرض السكري و ذلك بخفضها المستوى للجلوكوز، لليبيدات في المصل و حالة الإجهاد التأكسدي في الأعضاء بانخفاض الأكسدة الليبيدية و زيادة النشاط الإنزيمي في كل من الكبد والكلى بحيث يؤدي هذا إلى التقليل من مخاطر تطور التعقيدات المصاحبة لداء السكري. لكن يجب أن تكون هناك دراسات أخرى من اجل معرفة المركبات الثانوية و إعطاء بدقة الميكانزم او الميكانزمات المسؤولة عن هذه الآثار.

الكلمات المفاتيح: *Artemisia herba alba* Asso، مخفض للجلوكوز ، الإجهاد التأكسدي، مضاد للأكسدة، Streptozotocin .

NOM : BOULDJADJ	DATE DE SOUTENANCE
PRENOM : Redouane	18 OCTOBRE 2009
TITRE : ÉTUDE DE L'EFFET ANTIDIABÉTIQUE ET ANTIOXYDANT DE L'EXTRAIT AQUEUX LYOPHILISÉ D' <i>Artemisia herba alba Asso</i> CHEZ DES RATS SAINS ET DES RATS RENDUS DIABÉTIQUES PAR STREPTOZOTOCINE	
NATURE DE MAGISTERE : Magistère en Biologie Cellulaire et Moléculaire	
OPTION : Toxicologie Cellulaire	
RESUME	
<p>Au cours du diabète, le stress oxydant et les anomalies lipidiques sont fréquents, prononcés et représentent des facteurs importants en cause dans le développement des complications liée au diabète. Plusieurs métabolites secondaires isolés de plantes ont montré une activité antioxydante et une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant au cours du diabète. <i>Artemisia herba alba Asso</i> (Asteraceae) communément appelé «Chih» est largement utilisée en médecine traditionnelle en Afrique du nord pour traiter le diabète sucré. L'objectif de cette étude était d'évaluer le possible effet hypoglycémique, hypolipidémique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé de la partie aérienne d'<i>Artemisia herba alba Asso</i> (390 mg/kg pendant 21 jours) chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine (55mg/kg). Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que la streptozotocine induit chez l'animal un diabète caractérisé par une hyperglycémie, une hyperlipidémie, une élévation des marqueurs du stress oxydant et une diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique. Cependant, l'administration orale de l'extrait aqueux lyophilisé d'<i>Artemisia herba alba Asso</i> pendant 21 jours à une dose journalière de 390 mg/kg a provoqué une diminution significative de la concentration sérique de glucose (75.63 %), du cholestérol total (18.18 %) et des triglycérides (55.73 %) chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins. D'autre part, l'extrait aqueux a également entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans les tissus étudiés (foie et reins). En effet, la diminution de la concentration du mlonyldialdéhyde (MDA) de 36.37 % et de 32.50 %, l'accroissement du taux du glutathion réduit (GSH) de 74.54 % et de 74.28 %, l'augmentation de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) de 64.27 % et de 59.06 % et de l'activité de la catalase (CAT) de 71.59 % et de 61.29 % respectivement dans le foie et les reins chez les rats diabétiques traités montrent que l'extrait aqueux lyophilisé d'<i>Artemisia herba alba Asso</i> possède une haute activité antioxydante. En conclusion, la présente étude suggère que l'<i>Artemisia herba alba Asso</i> a un effet bénéfique sur le contrôle de diabète par diminution de la glycémie, du profil lipidique et du stress oxydant, en activant les enzymes antioxydantes et en diminuant la peroxydation lipidique au niveau hépatique et rénale, ce qui permet de réduire le développement des complications associées au diabète. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les molécules biologiquement actives pour donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de ces effets.</p>	
Mots clés: <i>Artemisia herba alba Asso</i> , Stress oxydant, Antioxydant, Hypoglycémique, Streptozotocine.	
LABORATOIRE DE RECHERCHE: Laboratoire de Biologie et d'Environnement, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Mentouri, Constantine	
Président : F. KHELIFI-TOUHAMI	MC. Université Mentouri Constantine
Rapporteur : N. ABIDLI	MC. Université Mentouri Constantine
Examineurs : L.ARRAR	Pr. Université Ferhat Abbas Sétif
: N. BOULEBDA	MC. Université Mentouri Constantine