

Liste des Abréviations

8-iso-PGF_{2α} : 8-Isoprostane F_{2α}
ALT : Alanine aminotransférase
Apos : Apolipoprotéines
AST : Aspartate aminotransférase
CA_{ox}T : Capacité antioxydante totale
CAT : Catalase
CL : Cholestérol libre
CPT : Composés phénoliques totaux
CT : Cholestérol total
DFG : Débit de filtration glomérulaire
DL₅₀ : Dose létale médiane
EC : Esters de cholestérol
GSH-Px : Glutathion peroxydase
GSSH-Red : Glutathion réductase
HbA_{1c} : Hémoglobine glycosylée
Hcyt : Homocystéine totale
HDL : Lipoprotéine de haute densité
HPO : Hydroperoxydes
IL-1β : Interleukine-1β
IL-6 : Interleukine-6
K⁺ : Potassium
LCAT : Lécithine:cholestérol acyl-transférase
LDH : Lactate déshydrogénase
LDL : Lipoprotéine de basse densité
LT : Lipides totaux
Na⁺ : Sodium
PAS : Pression artérielle systolique
PL : Phospholipides
PON1 : Paraoxonase 1
SOD : Superoxyde dismutase
STZ : Streptozotocine
TBARS : Substances réactives à l'acide thiobarbiturique
TG : Triglycérides
TNF-α : Facteur de nécrose tumorale-alpha
VLDL : Lipoprotéine de très faible densité
γ-GT : Gamma-glutamyl transférase

Liste des Tableaux

Tableau I. Principales espèces réactives de l'oxygène.....	14
Tableau II. Antioxydants non enzymatiques.....	17
Tableau III. Antioxydants enzymatiques.....	17
Tableau IV. Quelques études sur les effets thérapeutiques du genre <i>Syzygium</i>	37
Tableau V. Composition des régimes.....	46
Tableau VI. Composés phénoliques de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle..	62
Tableau VII. Teneurs en composés phénoliques totaux et concentration anti-radicalaire de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle.....	64
Tableau VIII. Comportement, signes de toxicité et taux de mortalité chez les rats traités avec des doses croissantes de l'extrait de clou de girofle.....	64
Tableau IX. Evolution du poids corporel et de quelques paramètres biochimiques chez les rats traités à des doses croissantes de l'extrait de clou de girofle.....	66
Tableau X. Poids relatif des différents organes.....	69
Tableau XI. Lipides ingérés et excrétés et digestibilité des lipides.....	71
Tableau XII. Glycémie, pourcentage de l'hémoglobine glyquée et insulïnémie.....	74
Tableau XIII. Concentrations sériques des électrolytes et évaluation de la fonction rénale.....	75
Tableau XIV. Tenures sériques d'homocystéine et activités LDH et γ -GT.....	76
Tableau XV. Teneurs des différents lipides du foie.....	80
Tableau XVI. Répartition du cholestérol total sérique entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	83
Tableau XVII. Répartition des triglycérides sériques entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	84
Tableau XVIII. Activité de la lécithine:cholestérol acyl-transférase et teneurs sériques en CL-HDL ₃ , PL-HDL ₃ , EC-HDL ₂ , apos-HDL ₃ et en apo-AI.....	92
Tableau XIX. Teneurs en TBARS des lipoprotéines sériques.....	99
Tableau XX. Teneurs sériques des hydroperoxydes et du 8-IsoP F _{2α}	101
Tableau XXI. Concentration des carbonyles tissulaires.....	103
Tableau XXII. Capacité antioxydante totale tissulaire.....	104
Tableau XXIII. Concentration sériques en TNF- α , IL-1 β et IL-6.....	108

Annexes

Tableau XXIV. Capacité antioxydante de l'extrait du clou de girofle.....	172
Tableau XXV. Croissance pondérale des rats diabétiques et hypercholestérolémiques	172
Tableau XXVI. Nourriture ingérée chez les rats hypercholestérolémiques et diabétiques.....	173
Tableau XXVII. Effets de quatre semaines de traitement sur la pression artérielle systolique.....	173
Tableau XXVIII. Evolution de la glycémie des rats diabétiques.....	174
Tableau XXIX. Test de tolérance au glucose chez les rats diabétiques.....	174
Tableau XXX. Teneurs sériques en albumine et en protéines.....	175
Tableau XXXI. Teneurs et composition des lipides sériques.....	175
Tableau XXXII. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL	176
Tableau XXXIII. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL ₁	176
Tableau XXXIV. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₂	177
Tableau XXXV. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₃	177
Tableau XXXVI. Teneurs en protéines tissulaires.....	178
Tableau XXXVII. Teneurs des TBARS tissulaires.....	178
Tableau XXXVIII. Concentrations tissulaires en hydroperoxydes.....	179
Tableau XXXIX. Activité de la paraoxonase 1 au niveau sérique.....	179
Tableau XL. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires.....	180

Liste des Figures

Figure 1. Histoire naturelle du diabète de type 1.....	8
Figure 2. Insulite, marque histologique du diabète de type 1.....	9
Figure 3. Phase effectrice de la réponse immune au cours du diabète de type 1.....	10
Figure 4. Implication des cytokines pro-inflammatoires dans la dérégulation de la voie de signalisation de l'insuline.....	11
Figure 5. Principales anomalies lipidiques au cours du diabète.....	13
Figure 6. Peroxydation lipidique en chaîne.....	15
Figure 7. Glomérulopathie diabétique.....	19
Figure 8. Progression de la néphropathie diabétique.....	19
Figure 9. Foie gras ou stéatose hépatique.....	23
Figure 10. Régulation des espèces radicalaires.....	25
Figure 11. Evénements cellulaires et biochimiques dans le développement de la plaque d'athérosclérose.....	26
Figure 12. Aspect typique de l'infiltration macrophagique au niveau de tissu adipeux.....	27
Figure 13. Classification botaniques de <i>Syzygium aromaticum</i> (clou de girofle).....	35
Figure 14. Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle.....	40
Figure 15. Principe de piégeage du DPPH.....	41
Figure 16. Principe du dosage de l'insuline.....	50
Figure 17. Principe de dosage de l'homocystéine totale.....	52
Figure 18. Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+}	58
Figure 19. Chromatogramme de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle.....	62
Figure 20. Pourcentage d'inhibition et activité antioxydante du Trolox et de clou de girofle.....	63
Figure 21. Croissance pondérale des animaux et nourriture ingérée.....	68
Figure 22. Effets de quatre semaines de traitement sur la pression artérielle systolique..	70
Figure 23. Evolution de la glycémie chez les groupes diabétiques.....	72
Figure 24. Test de tolérance au glucose chez les groupes diabétiques.....	73
Figure 25. Teneurs sériques en protéines totales et en albumine.....	78
Figure 26. Concentrations du Cholestérol sérique.....	79
Figure 27. Teneurs et composition en lipides du sérum.....	81
Figure 28. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL.....	86
Figure 29. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL ₁ ..	88

Liste des Figures

Figure 30. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₂	90
Figure 31. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₃	91
Figure 32. Teneurs des TBARS tissulaires.....	100
Figure 33. Concentrations tissulaires en hydroperoxydes.....	102
Figure 34. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires.....	106
Figure 35. Activité de la paraoxonase 1 au niveau sérique.....	107
Figure 36. Effets préventifs et sensibilisants de clou de girofle.....	133

Liste des Photos

Photo 1. Observation microscopique des coupes histologiques du tissu rénal.....	94
Photo 2. Observation microscopique des coupes histologiques du pancréas.....	95
Photo 3. Observation microscopique du tissu hépatique.....	97
Photo 4. Observation microscopique des coupes histologiques du tissu adipeux.....	98

Sommaire

Introduction	1
Revue Bibliographique	
1. Diabète, hypercholestérolémie et risque de maladies cardiovasculaires.....	6
1.1. Diabète sucré.....	6
1.1.1. Physiopathologie du diabète de type 1.....	7
1.1.1.1. Prédilection génétique.....	8
1.1.1.2. Facteurs déclenchants.....	9
1.1.1.3. Implication de l'inflammation dans le diabète.....	9
-Facteur de nécrose tumorale-alpha.....	10
-Interleukine-6.....	11
-Interleukine-1.....	12
1.1.2. Dyslipidémie athérogène au cours du diabète.....	12
1.1.3. Diabète de type 1 et le stress oxydatif.....	14
1.1.3.1. Hyperglycémie et stress oxydatif.....	14
1.1.3.2. Altération des défenses antioxydantes au cours du diabète.....	16
1.1.4. Complications rénales du diabète.....	18
1.1.5. Hypertension artérielle et diabète.....	19
1.1.6. Traitement pharmacologique du diabète.....	20
1.2. Hypercholestérolémie, un enjeu majeur de santé publique.....	20
1.2.1. Anomalie lipidique et risque athérogène.....	22
1.2.2. Hypercholestérolémie et stress oxydatif.....	23
1.2.3. Hypercholestérolémie et inflammation.....	25
1.2.4. Approche clinique dans la prise en charge de la dyslipidémie associée à l'hypercholestérolémie.....	27
2. Effets potentiels des plantes médicinales dans la prévention des risques cardiovasculaires.....	28
2.1. Effets antidiabétiques.....	29
2.2. Effets hypolipémiants.....	30
2.3. Effets antioxydants.....	32
2.4. Effets anti-inflammatoires.....	33
3. Le clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	35

3.1. Aspects Botaniques.....	35
3.2. Phytochimie et activités pharmacologiques du clou de girofle.....	36
4. Choix du modèle expérimental.....	39

Matériels & Méthodes

1. Etude phytochimique et cytotoxique de <i>Syzygium aromaticum</i>	40
1.1. Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de <i>Syzygium aromaticum</i>	40
1.2. Analyse de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle par HPLC/UV(DAD)....	41
1.3. Détermination <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante.....	41
1.3.1. Mesure du pouvoir antiradicalaire par le test DPPH.....	41
1.3.2. Détermination de la teneur en composés phénoliques totaux.....	42
1.4. Test de toxicité de clou de girofle chez le rat Wistar.....	43
1.4.1. Détermination de la dose létale médiane (DL ₅₀).....	43
1.4.2. Détermination de quelques paramètres biochimiques.....	44
1.4.2.1. Détermination de l'activité des transaminases.....	44
1.4.2.2. Dosage du cholestérol total.....	44
1.4.2.3. Dosage des triglycérides.....	45
1.4.2.4. Dosage de la créatinine.....	45
1.4.2.5. Dosage du glucose.....	45
2. Protocoles expérimentaux chez les animaux.....	45
2.1. Induction du diabète.....	45
2.2. Induction de l'hypercholestérolémie.....	46
2.3. Traitement avec l'extrait aqueux lyophilisé de <i>Syzygium aromaticum</i>	47
2.4. Mesure de la pression artérielle.....	47
2.5. Estimation des lipides ingérés, fécaux et digestibilité des lipides chez les rats hypercholestérolémiques.....	48
2.6. Test de tolérance au glucose chez les rats diabétiques.....	48
2.7. Prélèvement des échantillons sanguins et des organes.....	48
3. Etude histologique.....	49

4. Analyses biochimiques.....	49
4.1. Mesure de la glycémie.....	49
4.2. Evaluation du pourcentage d'hémoglobine glyquée.....	49
4.3. Détermination de l'insulinémie.....	50
4.4. Evaluation des teneurs en urée, créatinine et estimation des activités enzymatiques de la LDH, γ -GT sériques.....	50
4.4.1. Mesure de l'urée.....	51
4.4.2. Mesure de la créatinine et le calcul du débit de filtration glomérulaire.....	51
4.4.3. Mesure de l'activité enzymatique de la lactate-déshydrogénase.....	51
4.4.4. Mesure de l'activité enzymatique de la gamma-glutamyl transférase.....	51
4.5. Dosages sériques des électrolytes.....	52
4.6. Dosage de l'homocysteine totale.....	52
4.7. Détermination des teneurs sériques en albumine et en protéines totales.....	53
4.7.1. Albumine.....	53
4.7.2. Protéines totales.....	53
4.8. Évaluation du profil lipidique.....	53
4.8.1. Extraction des lipides du foie.....	53
4.8.2. Dosage des différents composés lipidiques du sérum et du foie.....	54
4.8.2.1. Cholestérol total et Triglycérides.....	54
4.8.2.2. Cholestérol libre et esters de cholestérol.....	54
4.8.2.3. Phospholipides.....	54
4.8.3. Séparation et analyse des différentes fractions de lipoprotéines.....	54
4.8.3.1. Séparation des lipoprotéines de faible et haute densité.....	54
4.8.3.2. Analyse des différents constituants des lipoprotéines.....	55
4.8.4. Mesure de l'activité de la Lécithine:cholestérol acyl-transférase.....	55
5. Evaluation du statut redox.....	56
5.1. Mesure de la peroxydation lipidique.....	56
5.1.1. Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique.....	56
5.1.1.1. TBARS des lipoprotéines.....	56

5.1.1.2. TBARS tissulaires.....	56
5.1.2. Dosage des hydroperoxydes.....	57
5.1.3. Dosage du 8-Isoprostane F _{2α}	57
5.2. Mesure de l'oxydation protéique.....	57
5.3. Mesure de la défense antioxydante.....	58
5.3.1. Préparation des homogénats tissulaires.....	58
5.3.2. Mesure de la capacité antioxydante totale.....	58
5.3.3. Mesure de l'activité de la SOD.....	59
5.3.4. Mesure de l'activité de la GSH-Px.....	59
5.3.5. Mesure de l'activité de la GSSH-Red.....	59
5.3.6. Mesure de l'activité de la CAT.....	59
5.3.7. Mesure de l'activité de la paraoxonase 1.....	60
6. Évaluation du statut inflammatoire.....	60
6.1. Dosage du facteur de nécrose tumorale-alpha, de l'interleukine-6 et de l'interleukine-1β.....	60
7. Analyses statistiques.....	61
7.1. Etude phytochimique.....	61
7.2. Test de toxicité.....	61
7.3. Etude chez l'animal.....	61
Résultats	
1. Analyse qualitative de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle.....	62
2. Potentiel antioxydant de clou de girofle.....	63
3. Evaluation de la toxicité du clou de girofle chez le rat Wistar.....	64
4. Evolution du poids corporel et de la nourriture ingérée.....	67
5. Poids relatif des organes.....	67
6. Valeurs de la pression artérielle en fonction du temps.....	69
7. Digestibilité des lipides chez les groupes hypercholestérolémiques.....	70
8. Evolution de la glycémie et test de tolérance au glucose.....	71
8.1. Variation de la glycémie au cours du traitement.....	71
8.2. Test de tolérance au glucose.....	72

9. Glycémie, pourcentage de l'hémoglobine glyquée et insulinémie.....	73
10. Concentration sérique en électrolytes, urée, créatinine et DFG.....	74
11. Teneurs sériques en homocystéine et activités LDH et γ -GT.....	76
12. Albuminémie et protéinémie.....	77
13. Profil lipidique et lipoprotéique.....	79
13.1. Cholestérolémie.....	79
13.2. Teneurs des lipides hépatiques.....	80
13.3. Teneurs des différents lipides sériques.....	81
13.4. Répartition du cholestérol total sérique entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	82
13.5. Répartition des triglycérides sériques entre les différentes fractions de lipoprotéines.....	83
13.6. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL.....	85
13.7. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL ₁	87
13.8. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₂	87
13.9. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₃	89
14. Activité de la LCAT et teneurs sériques en apolipoprotéine A-I.....	92
15. Etude descriptive histologique des différents organes.....	93
15.1. Architecture structurale du rein.....	93
15.2. Architecture structurale du pancréas.....	93
15.3. Architecture structurale du tissu hépatique.....	96
15.4. Architecture structurale du tissu adipeux.....	96
16. Evolution du statut redox.....	99
16.1. Concentration en TBARS des lipoprotéines sériques.....	99
16.2. Concentrations des TBARS tissulaires.....	100
16.3. Teneurs sériques en hydroperoxydes et 8-isoprostane F _{2α}	101
16.4. Concentrations tissulaires en hydroperoxydes.....	102
16.5. Teneurs des carbonyles tissulaires.....	103
16.6. Capacité antioxydante totale des tissus.....	104

16.7. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires.....	105
16.8. Activité de la paraoxonase 1.....	107
17. Concentration sériques en TNF- α , IL-1 β et IL-6.....	107
<i>Discussion</i>	109
<i>Conclusion & perspectives</i>	132
<i>Références bibliographiques</i>	137
<i>Annexes</i>	172

Les maladies cardiovasculaires (MCV) telles que l'athérosclérose et ses complications constituent la première cause de décès attribuables aux maladies chroniques selon l'organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 2016**). En 2012, plus de 17 millions de décès ont été enregistrés. En Algérie, les décès par MCV occupaient le premier rang avec 26,1% de décès annuels (**Berrouiguet et al., 2009**).

Le diabète est une maladie métabolique chronique caractérisée par une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion et/ou de l'action de l'insuline (**Tenenbaum et al., 2018**). Cette pathologie augmente le risque de nombreuses co-morbidités et mortalités y compris les MCV (**Kandouli et al., 2017**) et cette relation est encore plus forte, associant une hyperlipidémie, facteur de risque de l'athérosclérose et dont l'hypercholestérolémie en est le facteur majeur (**Venkadeswaran et al., 2016**).

En effet, un nombre important de patients hypercholestérolémiques est noté, du fait du changement du mode d'alimentation. On estime que l'hypercholestérolémie provoque 2,6 millions de décès (**OMS, 2010**). En Algérie, une enquête menée en 2008 a mis en évidence une prévalence d'une dyslipidémie égale à 15,9%, essentiellement due à l'hypercholestérolémie (**Berrouiguet et al., 2009**). De plus, la fédération internationale du diabète (FID) estime à plus de 425 millions de diabétiques dans le monde et que leur nombre pourrait bien doubler d'ici 2045 (**Ogurtsova et al., 2017**). L'Algérie n'échappe pas à cette pandémie du diabète qui répond pratiquement aux mêmes changements de conditions de vie constatées dans le monde. En effet, le **FID** a enregistré 1 632 000 diabétiques en Algérie (**Whiting et al., 2011**).

Il est bien établi que l'hyperglycémie chronique, induit précocement des modifications hémodynamiques et un dysfonctionnement endothélial entraînant notamment, une vasodilatation rénale (**Wang et al., 2015**), favorisant l'augmentation du débit de filtration glomérulaire (DFG) (**Ziyadeh, 2004**). L'élévation de la pression cellulaire capillaire locale qui en découle associée à l'effet de l'hyperglycémie sur le système vasculaire induit des modifications morphologiques au niveau des glomérules (**Mason & Wahab, 2003**). Cependant, ces altérations peuvent jouer un rôle essentiel dans la néphropathie diabétique conduisant à l'hypertension artérielle (**Skyler, 1996**).

Le diabète et l'hypercholestérolémie sont souvent associés à des anomalies du métabolisme des lipides caractérisés par une hypertriglycéridémie résultant d'une stimulation de la synthèse et de la sécrétion des VLDL (very low density lipoprotein ou lipoprotéine de très faible densité) riches en triglycérides (TG) et qui s'accompagne d'une baisse du niveau du cholestérol des HDL (high density lipoprotein ou lipoprotéine de haute densité) (**Erdmann et al., 2008 ; Kulkarni et al., 2012**).

Cette dyslipidémie est aussi caractérisée par une réduction de la teneur en apolipoprotéine (apo-AI) (le principal composant protéique des HDL), ainsi qu'à une augmentation des particules LDL plasmatiques (low density lipoprotein ou lipoprotéine de faible densité) (**Nobecourt et al., 2007 ; Vergès, 2009**). Ces anomalies du profil lipidique représentent un facteur de risque important dans l'apparition et le développement d'une athérosclérose précoce, responsable des MCV (**Ota, 2013**).

Il est communément admis que le stress oxydant est impliqué dans la plupart des maladies métaboliques dégénératives comme le diabète et l'hypercholestérolémie (**Abreu et al., 2014 ; Asmat et al., 2016**). Le stress oxydant durant le diabète et l'hypercholestérolémie inclut un déséquilibre de la balance redox provenant de l'altération du métabolisme des carbohydrates et des lipides, de l'augmentation de la production des espèces réactives à l'oxygène (ROS) par glycation, de la peroxydation lipidique et de la diminution du système de défense antioxydant (**Roy et al., 2008 ; Ellulu et al., 2016**). Ce stress oxydatif est souvent associé à une augmentation des marqueurs de l'inflammation qui jouent un rôle crucial dans le développement des complications vasculaires (**Wang et al., 2017**).

En outre, certains chercheurs ont suggéré que les mécanismes à l'origine de l'induction de l'inflammation dans les tissus vasculaires peuvent inclure la peroxydation des LDL, qui agit comme un facteur pro-athérogène (**Younis et al., 2009**). Ainsi, plusieurs études effectuées chez les rongeurs diabétiques ou hypercholestérolémiques ont montré que l'élévation du taux des cytokines pro-inflammatoires est associée à l'augmentation du stress oxydant qui s'accompagne d'une perturbation des paramètres biochimiques, notamment celles du métabolisme glucido-lipidique (**Saad et al., 2017 ; Ajiboye et al., 2018**).

Cependant, il a été rapporté que plusieurs médicaments antidiabétiques (metformine) et hypolipémiants (statine) semblent avoir des propriétés antioxydantes *in vivo* et *in vitro* et par conséquent, pourrait jouer un rôle important dans la prévention de l'athérosclérose (**Girona et al., 1999 ; Bellin et al., 2006**). Néanmoins, certains médicaments utilisés actuellement et qui sont administrés par voie orale pour le traitement du diabète et l'hypercholestérolémie possèdent des effets secondaires. Ainsi, de nouveaux agents thérapeutiques relativement non toxiques, seraient nécessaires pour traiter l'hyperglycémie et corriger la dyslipidémie et par conséquent, réduire le risque de complications cardiovasculaires dû au diabète et à l'hypercholestérolémie.

De façon récurrente à travers les époques et dans diverses cultures, la phytothérapie a été perçue comme condition indispensable à une bonne santé de l'organisme. Ainsi, les plantes médicinales restent au cœur des débats et fait l'objet de nombreuses campagnes publicitaires, d'efficacité variable, soulignant leurs potentiels thérapeutiques. Selon des études ethnopharmacologiques, plus de 1200 plantes sont utilisées à travers le monde, notamment en médecine traditionnelle, pour leurs activités hypoglycémiantes et hypolipémiants. L'effet hypoglycémiant ou hypolipémiant de certaines de ces plantes et/ou de leurs produits a été étudié et confirmé dans de nombreuses études, chez des animaux rendus diabétiques (**Khatune et al., 2016 ; Jovanović et al., 2017**) ainsi que chez des animaux consommant un régime supplémenté en cholestérol (**Fidèle et al., 2017 ; Ontawongab et al., 2019**).

En effet, plusieurs études expérimentales menées dans notre laboratoire (LNCM) ont révélé que certaines plantes médicinales telles que : l'extrait aqueux des feuilles d'*Ajuga iva* (**Bouderbala et al., 2008 ; Taleb-Senouci et al., 2012**), de *Globularia alypum* (**Zennaki et al., 2009 ; Taleb-Dida et al., 2011 ; Djellouli et al., 2014**), de *Portulaca oleracea* (**Zidan et al., 2016 ; Guenzet et al., 2017**), de *Zygophyllum gaetulum* (**Berzou et al., 2016 ; Guenzet et al., 2016**), de *Zygophyllum album* (**Bahlil et al., 2018**) et de l'écorce d'agrume (*Citrus latifolia*) (**Mir et al., 2015 ; Khelladi et al., 2018**) peuvent prévenir ou retarder l'apparition des altérations métaboliques au cours des maladies chroniques et de maintenir une fonction physiologique optimale de l'organisme.

Dans ce travail, nous nous sommes proposés d'étudier les activités biologiques de *Syzygium aromaticum* (L.) ou clou de girofle (*Myrtaceae*). Cette plante est très aromatique, connue sous le nom arabe «El Krenfel» était l'une des premières épices à faire l'objet d'un commerce florissant dès l'antiquité (Mbaveng & Kuete, 2017). Aujourd'hui, leur présence dans les plats indiens ou maghrébins, mélangés à d'autres épices ras-el-hanout (en arabe : رأس الحانوت) permet de les déguster sans y penser. Il est largement utilisé en médecine dentaire comme anesthésique local et en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète (Bentzon *et al.*, 2014), de l'hypertension artérielle (Tu *et al.*, 2014), comme un agent hypolipémiant (Al-okbi *et al.*, 2014), anti-inflammatoire (Sung *et al.*, 2012), antioxydant (Bi *et al.*, 2015), antibactérien (Chandrasekaran & Venkatesalu, 2004) et anticancéreux (Kumar *et al.*, 2014). Des substances naturelles ayant un effet vasodilatateur ont été identifiées dans le genre *Syzygium* telles que les tanins, les flavonoïdes et les triterpènes (Cortés-Rojas *et al.*, 2014).

Ce travail de thèse s'inscrit entièrement dans cette dynamique de compréhension des événements physiopathologiques du diabète et de l'hypercholestérolémie. Nos travaux de recherche qui ont consisté dans la présente monographie à mettre en évidence les effets de l'administration régulière d'un extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) sur les perturbations métaboliques et oxydatives dans deux modèles expérimentaux (diabète et hypercholestérolémie) induits chez le rat Wistar, afin de confirmer la capacité de l'extrait aqueux de clou de girofle à exercer des effets bénéfiques sur les métabolisme glucidiques et lipidiques et accroître les défenses cellulaires de la même manière que le traitement par la metformine et l'atorvastatine.

De ce fait, ce travail de thèse s'est articulé autour de plusieurs axes :

La première partie de notre travail permet d'évaluer si l'extrait aqueux de clou de girofle est riche en composés phénoliques et possède une activité antiradicalaire, par l'analyse qualitative par HPLC/DAD-UV et par mesure de la capacité de piégeage des radicaux libres (test de DPPH). Par ailleurs, nous avons déterminé la cytotoxicité de l'extrait aqueux de clou de girofle chez le rat Wistar, par la détermination de la dose létale médiane (DL₅₀).

La deuxième partie de l'étude permet de mettre en évidence l'effet de l'administration régulière d'un extrait aqueux de clou de girofle sur l'homéostasie du glucose (hyperglycémie et hypoinsulinémie) et sur les variations de la pression artérielle, chez le rat rendu diabétique par la streptozotocine et dans un modèle expérimental de l'hypercholestérolémie induit par un régime enrichi en cholestérol. Ainsi, dans cette partie nous avons étudié l'activité hypoglycémiant de l'extrait aqueux de clou de girofle chez le rat diabétique, par le test de tolérance au glucose et nous avons rapproché l'implication de cet extrait dans la prévention des altérations rénales induites par l'hyperglycémie chronique.

Dans la troisième partie, nous nous sommes intéressés à l'exploration de l'impact de l'extrait aqueux de clou de girofle sur la dyslipidémie athérogène induite par une hyperglycémie chronique ou par un régime riche en cholestérol, par l'analyse du profil lipidique au niveau sérique, hépatique et au niveau des différentes fractions de lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃) ainsi que l'activité des enzymes qui y sont impliquées (LCAT et PON1). Pour mieux appréhender l'intérêt de l'extrait aqueux de clou de girofle dans la modulation de ces altérations métaboliques, les lésions structurales au niveau des organes (foie, rein, pancréas et tissu adipeux) ont été analysées par l'observation de leurs coupes histologiques au microscope optique.

La quatrième partie apporte un intérêt particulier à l'évaluation du statut redox, puisque la relation entre le stress oxydant et la genèse du diabète ou l'hypercholestérolémie et de leurs complications est certaine. L'effet protecteur ou non de l'extrait vis-à-vis de l'attaque radicalaire sera donc examiné. De plus, les propriétés anti-inflammatoires de cet extrait et sa capacité à moduler le fonctionnement du système immunitaire est étudié.

Avant de présenter nos résultats, une synthèse bibliographique concernant les deux facteurs de risque vasculaire majeur ; le diabète et l'hypercholestérolémie, leurs conséquences sur le métabolisme des lipides et le statut antioxydant d'une part et sur la réponse inflammatoire, d'autre part, est réalisée. L'effet des plantes médicinales dans la prévention des MCV et le traitement du diabète et l'hypercholestérolémie et de leurs complications est également abordé.

1. Diabète, hypercholestérolémie et risque de maladies cardiovasculaires

Les maladies cardiovasculaires (MCV) sont aujourd'hui en forte progression dans certains pays en voie de développement, où elles deviennent la principale cause de mortalité (Ferrannini & DeFronzo, 2015). En Algérie, les MCV étaient responsables d'un décès sur quatre, selon une étude réalisée par l'Institut National de Santé Publique (INSP-Tahina, 2008). Selon Yang *et al.*, (2015), elles sont pour l'essentiel secondaire à l'athérosclérose, une maladie chronique multifactorielle initiée par la rétention des lipoprotéines oxydées dans la paroi artérielle. De plus, elles sont accompagnées d'anomalies lipidiques (Baudet *et al.*, 2012), d'une initiation à une réaction inflammatoire qui va s'accroître (Liberale *et al.*, 2017), d'un stress oxydant et d'un dysfonctionnement de l'endothélium vasculaire (Hermida & Belligand, 2014). La présence d'un ou plusieurs facteurs de risque majeurs comme l'âge (Tarry-Adkins & Ozanne, 2016), l'HTA (Hermida & Belligand, 2014) et en particulier, le diabète (Rajasekaran *et al.*, 2006) et l'hypercholestérolémie (Dimitrova-Sumkovska *et al.*, 2006) augmentent le risque de MCV.

1.1. Le diabète sucré

Le diabète est actuellement un problème de santé publique aussi bien dans le monde qu'en Algérie où son taux de prévalence augmente de manière constante. La fédération internationale du diabète (FID) (Ogurtsova *et al.*, 2017) estimait à plus de 425 millions de diabétiques dans le monde et que leur nombre pourrait bien doubler d'ici 2045. L'essentiel de cette augmentation se produira dans les pays en développement et sera dû à l'accroissement démographique, au vieillissement de la population, à des régimes alimentaires déséquilibrés, à l'obésité et à un mode de vie sédentaire.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit le terme «diabète» comme étant un trouble métabolique à étiologie multiple, caractérisé par une hyperglycémie à jeun $\geq 1,26 \text{ g.L}^{-1}$ (7 mmol.L^{-1}) ou une glycémie postprandiale $\geq 2 \text{ g.L}^{-1}$ ($11,1 \text{ mmol.L}^{-1}$), accompagnée de perturbations du métabolisme des hydrates de carbone, des lipides et des protéines dues à des désordres dans la sécrétion et/ou l'action de l'insuline (Ghalandari *et al.*, 2015). Il se reconnaît par une élévation chronique de la glycémie qui s'accompagne par une polydipsie, polyurie, asthénie, polyphagie, amaigrissement ou obésité et des troubles de la conscience aboutissant à un coma mortel (Calop *et al.*, 2008).

Actuellement, la classification du diabète est celle publiée en 1997 par un groupe d'experts sous la responsabilité de l'Association Américaine du Diabète (**ADA, 2005**). Les formes les plus communes de diabètes sont le diabète de type 1 (DT1), qui est une maladie auto-immune et le diabète de type 2 (DT2), souvent associé à l'obésité (**Ghalandari et al., 2015**). Globalement, le DT1 résulte de la destruction des cellules β des îlots Langerhans. Ce type de diabète est dit juvénile, car la maladie apparaît bien souvent avant 30 ans chez des sujets et représente environ 10 % des cas de diabète observés dans le monde (**Patterson et al., 2012**). Ainsi, la forme la plus courante de diabète est de type 2 qui représente 90% de diabète dans le monde (**Prasad & Groop, 2015**). Ce type de diabète, qui se caractérise par une résistance à l'insuline et une faible sécrétion d'insuline, se développe généralement à l'âge adulte et s'accompagne usuellement d'obésité (**ADA, 2005**).

L'Algérie n'échappe pas à l'épidémie du diabète, celle-ci répond pratiquement aux mêmes changements de conditions de vie constatées dans le monde. En effet, la FID a enregistré un million 632 milles diabétiques en Algérie. Ce chiffre peut atteindre jusqu'à 2 millions 850 milles en 2030, avec une augmentation de 61 milles nouveaux cas recensés chaque année. La prévalence mondiale, déclarée par la FID, était de 8,5% et la prévalence nationale était de 7,4%. Elle peut augmenter à plus de 9,3% en 2030 (**Whiting et al., 2011**).

1.1.1. Physiopathologie du diabète de type 1

Le diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète de type 1 est l'aboutissement d'un processus auto-immun chronique qui attaque et détruit les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. Il en résulte une carence complète en insuline et les lésions observées sont sélectives des cellules β et ne touchent pas les autres cellules endocrines du pancréas. L'émergence du diabète clinique résulte d'une destruction de plus de 80% du capital des cellules β , seuil au-delà duquel la sécrétion d'insuline est insuffisante pour maintenir une normoglycémie. Cette destruction met en jeu des mécanismes auto-immuns à la faveur d'une prédisposition à la génétique et aux facteurs environnementaux, essentiellement viraux ou toxiques (**Bouhours-Nouet & Coutant, 2005**). Classiquement, le DID évolue en trois phases, la première est caractérisée par l'existence d'une susceptibilité génétique à la maladie auto-immune anti-cellulaire d'îlots (**Fig. 1**).

Sur ce terrain, un événement déclenchant, possible environnemental, conduirait à l'activation du système immunitaire contre des déterminants antigéniques des cellules d'îlots. C'est la phase pré-clinique ou pré-diabète, au cours de laquelle des marqueurs d'auto-immunité sont détectables. Le diabète clinique est caractérisé par l'apparition d'une hyperglycémie (Dubois-Laforgue & Timsit, 2000). Dans les jours qui suivent le diagnostic, après la mise en place du traitement insulinaire, une rémission transitoire peut survenir (Fig. 1).

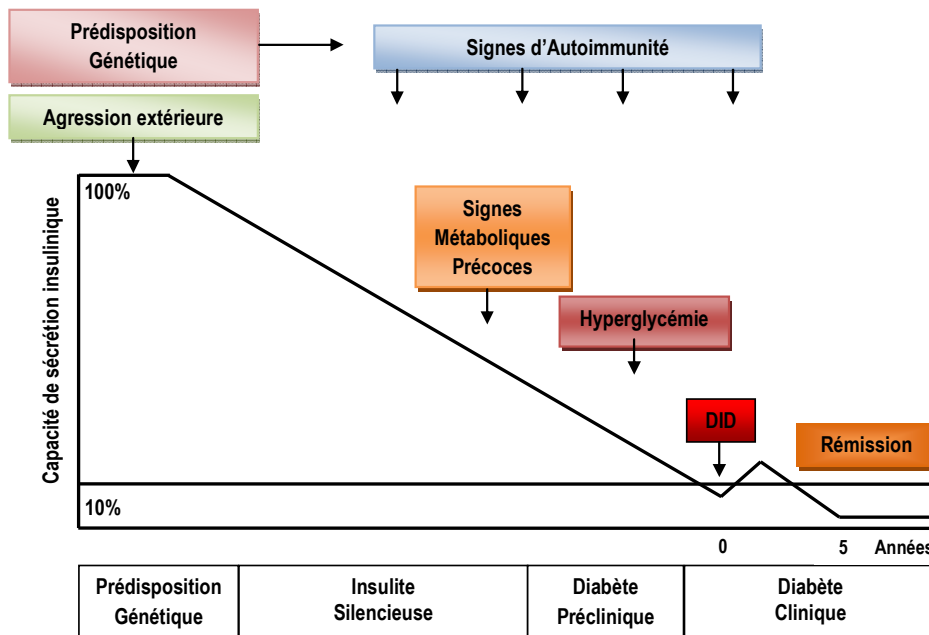


Fig. 1. Histoire naturelle du diabète de type 1 (Selam, 2003).

1.1.1.1. Prédiposition génétique

La part prépondérante de la génétique dans la prédiposition aux maladies auto-immunes et au diabète en particulier, a été clairement démontrée par des études de population. L'hérédité du diabète de type 1 est indéniable, la concordance entre jumeaux monozygotes est de 30 à 50% (5 à 10% pour les jumeaux dizygotes). Le risque de DID dans la fratrie d'un enfant diabétique est 15-fois supérieur au risque de survenue de la maladie dans la population générale et, le risque pour frère ou la sœur d'un sujet insulinodépendant est de 15% (Raverot, 2003). Les premières marques génétiques du diabète mises en évidence dans les années 1970, ont été les gènes du système HLA (*Human Leukocyte Antigen*), localisés chez l'homme sur le bras court du chromosome 6 (Chevenne & Porquet, 2003). La recherche a permis de mettre en évidence d'autres régions chromosomiques participant au risque de diabète, c'est le cas de la région du gène de l'insuline sur le chromosome 11 qui contribue pour environ 10% du risque de développer le diabète (Rodier, 2001).

1.1.1.2. Facteurs déclenchants

De nombreux arguments suggèrent l'influence de facteurs environnementaux dans le déclenchement de la maladie. Le rôle potentiel d'une infection virale dans la pathogénie du diabète de type 1 a été suspecté initialement à partir d'études épidémiologique et par l'existence de modèles de diabète vitro-induits chez l'animal (**Raverot, 2003**). Il a été constaté que le début clinique du diabète type 1 chez l'homme présentait un maximum saisonnier (en automne et en hiver) et qu'il suivait les infections aux virus, tels que la rubéole congénitale et les oreillons (**Darnaud & Darnaud, 1999**). Certaines substances chimiques toxiques sont capables de détruire les cellules β , l'alloxane et la streptozotocine présentent une toxicité directe sur les cellules β et de ce fait ont été suspectés de jouer un rôle dans le déclenchement du mécanisme auto-immun (**Lenzen, 2008 ; Szkudelski, 2012**). Le stress, est également mis en cause dans l'apparition de la maladie. Toute agression, qu'elle soit physique (accident, chirurgie) ou psychique peut déclencher un DID chez un sujet prédisposé (**Selam, 2003**). Enfin, la qualité de la composition du régime alimentaire, notamment la présence d'un index glycémique élevé et une alimentation riche en acide gras et pauvre en fibres, double le risque de survenue du diabète.

1.1.1.3. Implication de l'inflammation dans le diabète

Le diabète auto-immun est une conséquence directe d'une rupture de tolérance immunitaire vis-à-vis d'antigènes du soi, caractérisée par une présentation d'auto-antigènes (auto-Ag) pancréatiques macrophagiques à des lymphocytes T CD4 (Ly CD4) autour et dans les îlots (**Fig. 2**). Dès lors, se développe une inflammation locale (insulite) qui se caractérise par une infiltration, d'intensité variable, des îlots par des cellules mononuclées, essentiellement des Ly CD4 de phénotype Th1 qui favorisent le développement d'une réponse à médiation cellulaire, par le biais des cytokines pro-inflammatoires (**Chatzigeorgiou et al., 2010**).

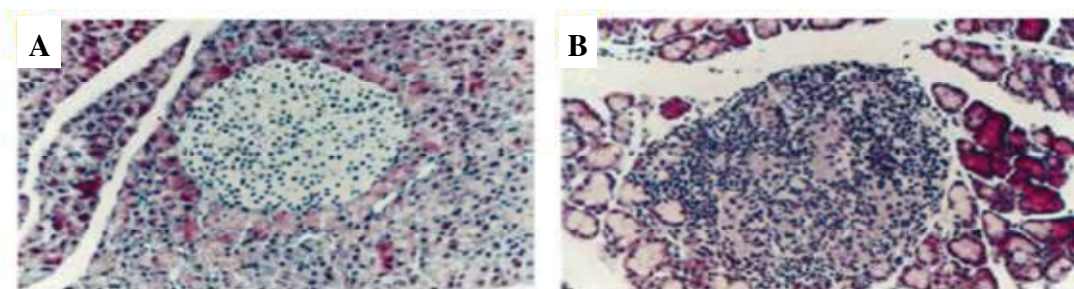


Fig. 2. L'insulite, marque histologique du diabète de type 1 (**Dubois-Laforgue, 2010**).
A : îlots normal, B : insulite : infiltrat inflammatoire constitué de macrophages, Ly T et B, avec destruction des cellules β

Ces cytokines interviennent essentiellement dans l'expression des molécules d'adhésion, le recrutement et l'activation des cellules inflammatoires (**Fig. 3**). En effet, les Ly CD8 (cytotoxiques) et les macrophages infiltrés sont activés par certaines cytokines notamment l'interleukine-2 (IL-2), le facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF- α) et l'interféron-gamma (IFN- γ) produites par les Ly Th1 activés (**Aribi, 2011**). De plus, il a été démontré que le TNF- α et les interleukines IL-1 β et IL-6 sont les principales cytokines pro-inflammatoires impliquées dans le processus destructeur des cellules β pancréatiques.

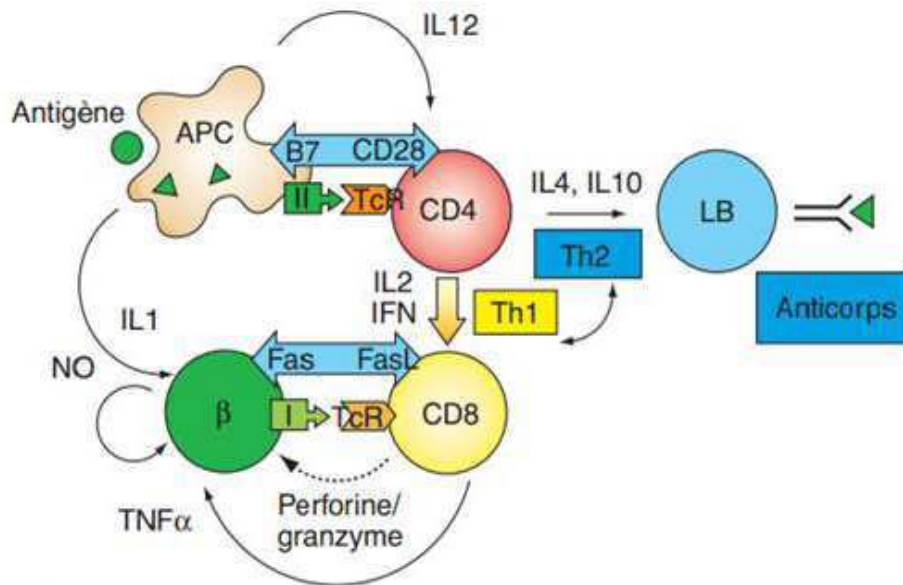


Fig. 3. Phase effectrice de la réponse immunitaire au cours du diabète de type 1 (**Dubois-Laforgue, 2007**).

-Facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF- α)

Est une cytokine pro-inflammatoire principalement sécrétée par les monocytes et les macrophages, accélère l'athérosclérose expérimentale en particulier, en induisant l'expression de molécules d'adhésion au niveau des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses vasculaires, ou encore en favorisant l'apoptose des cellules endothéliales (**Choy *et al.*, 2001**). L'activation du récepteur du TNF- α entraîne la stimulation de plusieurs voies de signalisation comme celle d'IKK β , ou des MAP kinases JNK et ERK (**Fig. 4**). L'activation de ces kinases en réponse au TNF- α active la phosphorylation anormale des résidus sérine d'IRS (insuline receptor substrate), ce qui atténue sa capacité à transmettre les événements cellulaires médiés par l'insuline.

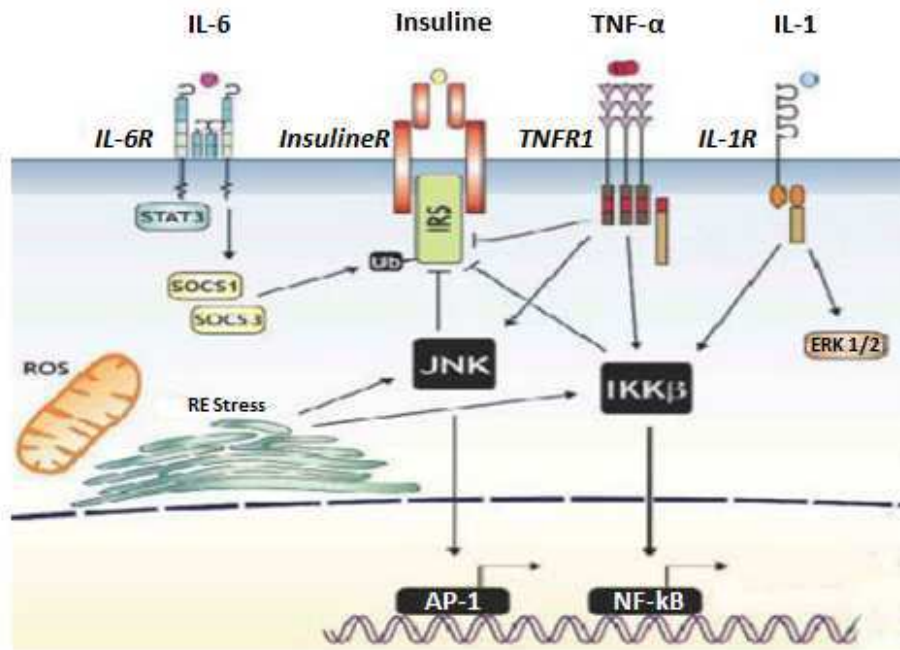


Fig. 4. Implication des cytokines pro-inflammatoires dans la dérégulation de la voie de signalisation de l'insuline (Tilg & Moschen, 2008).

IRS: insuline receptor substrate, **NF-κβ:** Nuclear factor-kappaβ, **IKKβ:** Ikappaβ kinase, **AP-1:** Activating protein-1, **JNK:** c-Jun NH₂-terminal kinase, **ERK1/2:** Extracellular signal-regulated kinase, **STATs:** Signal transducers and activators of transcription, **SOCS:** Suppressor of cytokine signaling.

-Interleukine-6 (IL-6)

L'interleukine-6 est une cytokine produite par de nombreuses cellules (fibroblastes, cellules endothéliales, monocytes) et également par la fraction stroma-vasculaire du tissu adipeux composé notamment par les macrophages. Il est maintenant bien établi que la quantité d'IL-6 produite par le tissu adipeux est augmentée en cas de diabète (Bastard *et al.*, 2002). Des études récentes suggèrent que l'IL-6 pourrait être impliquée dans l'insulinorésistance et ses complications. En effet, des études ont mis en évidence qu'un taux élevé d'IL-6 inhibe la signalisation de l'insuline dans les hépatocytes en diminuant la phosphorylation des tyrosines d'IRS (Fève *et al.*, 2006). La voie de signalisation de l'IL-6 fait intervenir l'activation des Janus Kinases (JAK), entraînant la phosphorylation des facteurs de transcription STATs pour modifier l'expression de gènes (Fig. 4). Cet effet négatif de l'IL-6 sur la voie de signalisation du récepteur à l'insuline serait médié par l'activation de SOCS (Senn *et al.*, 2003).

-Interleukine-1 (IL-1 β)

L'interleukine-1 est l'une des cytokines pro-inflammatoires majeures produites par les monocytes et les macrophages. De récentes études suggèrent que l'IL-1 β pourrait être impliquée dans la résistance à l'insuline (Fève & Bastard, 2007). En effet, dans une étude cas/contrôle, les individus caractérisés par des taux circulants d'IL-1 β détectables et d'IL-6 élevés, présentaient un risque accru de développer un diabète par comparaison aux individus avec un taux d'IL-1 β non détectable (Spranger *et al.*, 2003). IL-1 β exerce sa fonction biologique en se fixant au récepteur IL-1 β de type 1, provoquant alors l'activation de la voie de signalisation IKK/NF-K β et des MAP kinases ERK (Fig. 4). Ainsi, l'IL-1 β inhibe l'expression d'IRS *via* la réduction de la quantité d'ARNm d'IRS. Cette inhibition est dépendante de la voie d'activation des ERK (Lacquemant *et al.*, 2003).

1.1.2. Dyslipidémie athérogène au cours du diabète

La dyslipidémie associée au diabète constitue un facteur de risque des maladies cardiovasculaires et contribue significativement à la morbidité et à la mortalité cardiovasculaires (Noriega-Cisneros *et al.*, 2012). C'est une anomalie métabolique qui a son origine dans l'incapacité du corps de gérer correctement le métabolisme des triglycérides (TG), établit une situation où le métabolisme de cholestérol (CT) est aussi fortement influencé (James, 2002). La dyslipidémie du diabète type 1, très particulière, se caractérise par une augmentation des triglycérides plasmatiques associée à une diminution du cholestérol HDL (C-HDL), mais surtout par la présence de particules cholestérol-LDL (C-LDL) modifiées (Vergès, 2013). Cependant, la principale anomalie lipidique chez le patient diabétique se traduit par un métabolisme altéré des VLDL. Il résulte essentiellement d'une surproduction de VLDL par le foie et secondairement d'un catabolisme diminué de ces lipoprotéines, dû à une activité réduite de la lipoprotéine lipase (LPL) (Fève & Bastard, 2007). Cette enzyme, dont la synthèse est normalement stimulée par l'insuline, est responsable de l'hydrolyse des TG transportés par les VLDL, et du transfert des acides gras ainsi libérés vers le tissu adipeux et les muscles (Durlach, 1999). Un autre aspect de l'hypertriglycéridémie diabétique (qualitatif) est l'augmentation de la taille de la particule VLDL, qui est particulièrement active dans les modifications pathologiques des particules LDL et HDL (James & Pometta, 1991). Le mécanisme implique un transfert de triglycérides des VLDL vers les LDL et HDL, en échange de cholestérol par l'intermédiaire de la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP) (Taskinen & Smith, 1998).

La particule LDL enrichie en TG devient alors un substrat pour la lipase hépatique (LH) qui hydrolyse les TG, tout en transformant les LDL en particules plus petites et plus denses (**Fig. 5**). Ce type de LDL appelé "small dense LDL ou sdLDL" caractérise également la dyslipidémie diabétique et représente une forme de lipoprotéine particulièrement athérogène (**Lamarche et al., 1999**). En effet, les sdLDL ont une faible affinité pour le récepteur des LDL et seraient ainsi dégradées moins rapidement (**Nigon et al., 1991**). Cela aurait pour effet d'augmenter leur demi-vie dans le plasma, et par conséquent leur potentiel athérogène, puisqu'elles se retrouvent alors exposées plus longtemps aux espèces réactives de l'oxygène (ROS). De plus, les sdLDL peuvent s'accumuler au niveau des parois des vaisseaux sanguins pour l'initiation et le développement de la plaque d'athérome (**Ohmura et al., 2002**).

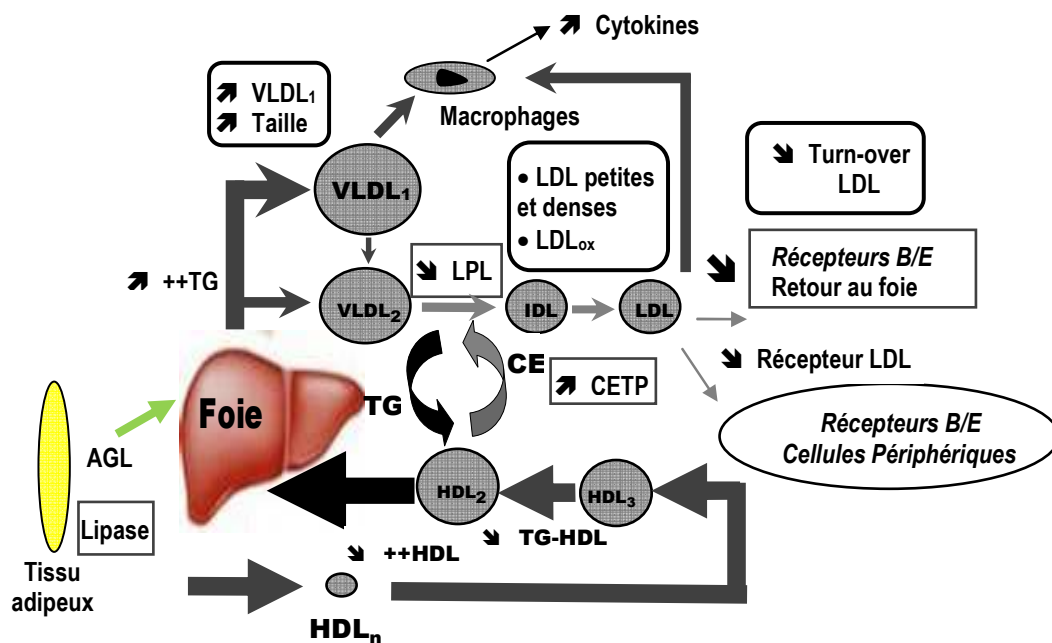


Fig. 5. Principales anomalies lipidiques au cours du diabète (**Vergès, 2013**).

D'autre part, le transfert du cholestérol des HDL vers les VLDL en échange de TG, entraîne une diminution apparente du taux des HDL et stimule l'activité de la lipase hépatique qui transforme ainsi les HDL en particules plus petites (**Fig. 5**). Les causes de cette déficience semblent essentiellement liées à une glycosylation de l'apo-AI qui diminue la capacité des HDL à promouvoir l'efflux de cholestérol. Ceci implique non seulement une réduction ou une défaillance des mécanismes antioxydants (**Boemi et al., 2001**), mais également une inactivation de la Lecithin:cholesterol acyl-transferase (LCAT) (**Packard, 1996**). Celle-ci, est stimulée par l'apo-AI estérifie le cholestérol, qui s'accumule dans le centre des HDL devenant sphériques (HDL₃).

1.1.3. Diabète de type 1 et le stress oxydatif

Un état de stress oxydant a été décrit dans le diabète expérimental ou chez les patients diabétiques. Il survient lorsqu'il se crée un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), en particulier des radicaux libres (**Tableau I**), et les défenses antioxydantes chez une personne souffrant du diabète (**Bonnefont-Rousselot, 2002**). Ce stress oxydant se trouve impliqué dans l'aggravation de la maladie ainsi que dans l'apparition des complications chroniques liées au diabète (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004**).

Tableau I. Les principales espèces réactives de l'oxygène (**Migdal & Serres, 2011**)

Espèces réactives	Réaction de formation	Propriétés
Anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)	Formé par la réduction mono électrique de l' O_2	Radical le moins réactif mais le précurseur des autres ROS
Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	Produit à partir de $O_2^{\bullet-}$, sous l'action de SOD	Majeure partie de sa toxicité provient de sa capacité à générer le radical $\bullet OH$
Radical hydroxyle ($\bullet OH$)	Formé à partir d' H_2O_2 en présence de métaux de transition	Le radical le plus dangereux pour l'organisme
Monoxyde d'azote (NO)	Est formé à partir de l'un des deux atomes d'azotes terminal du groupement guanidine de la L-arginine, d'une part, et de l' O_2 d'autre part, en présence de NADH, H^+ et sous l'action de NO synthase (NOs)	Radical libre, réputé pour ses propriétés physiologiques

1.1.3.1. Hyperglycémie et stress oxydant

L'hyperglycémie induit une production prolongée des ROS intracellulaires et ceux-ci prolongent le gradient électrochimique des protons générés dans la chaîne mitochondriale menant à une surproduction d'anions superoxydes (**Matough et al., 2012**). Cette production excessive de l'anion $O_2^{\bullet-}$ est le médiateur central et principal des lésions tissulaires du diabète, entraînant l'activation des voies impliquées dans la pathogénèse des complications du diabète (**Jin et al., 2008**). Il a été montré que l'auto-oxydation du glucose en présence de métaux de transition (cuivre, fer) donne un radical anionique ène-diol. Le radical ène-diol en réduisant l'oxygène moléculaire libère des anions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$). En effet, une fois produit, l'anion $O_2^{\bullet-}$ initie la formation de plusieurs autres molécules oxydantes, dont le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .

Bien que le H_2O_2 soit un agent oxydant relativement faible, il peut cependant être réduit *via* diverses réactions pour être converti en un radical hydroxyl hautement réactif ($\cdot OH$) et très toxique (Maessen *et al.*, 2015). Une des conséquences de la formation de ce radical hydroxyle est la peroxydation lipidique, qui implique l'attaque de $\cdot OH$, entraînant l'arrachement d'un hydrogène de l'acide gras polyinsaturé (AGPI) (Hennebelle *et al.*, 2004). Ceci aboutit à la formation d'un radical pentadiényl qu'après addition avec l' O_2 donne le radical peroxyde (LOO \cdot), ensuite ce radical déstabilise une deuxième molécule d'AGPI et conduit à un hydroperoxyde (LOOH) (Fig. 6). Une partie des hydroperoxydes formés vont être réduits et neutralisés par le glutathion peroxydase. Les hydroperoxydes non réduits vont se décomposer facilement en différents produits, les plus étudiés sont les malondialdéhydes (MDA) et les isoprostanes (Therond, 2006). Ainsi, la formation des peroxydes lipidiques au cours du diabète altère l'intégrité anatomique des membranes entraînant ainsi une inhibition des activités enzymatiques, soit par oxydation directe par les radicaux libres, soit par modification chimique médiée par les produits finaux de la peroxydation lipidique tels que le MDA (Pekiner *et al.*, 2002).

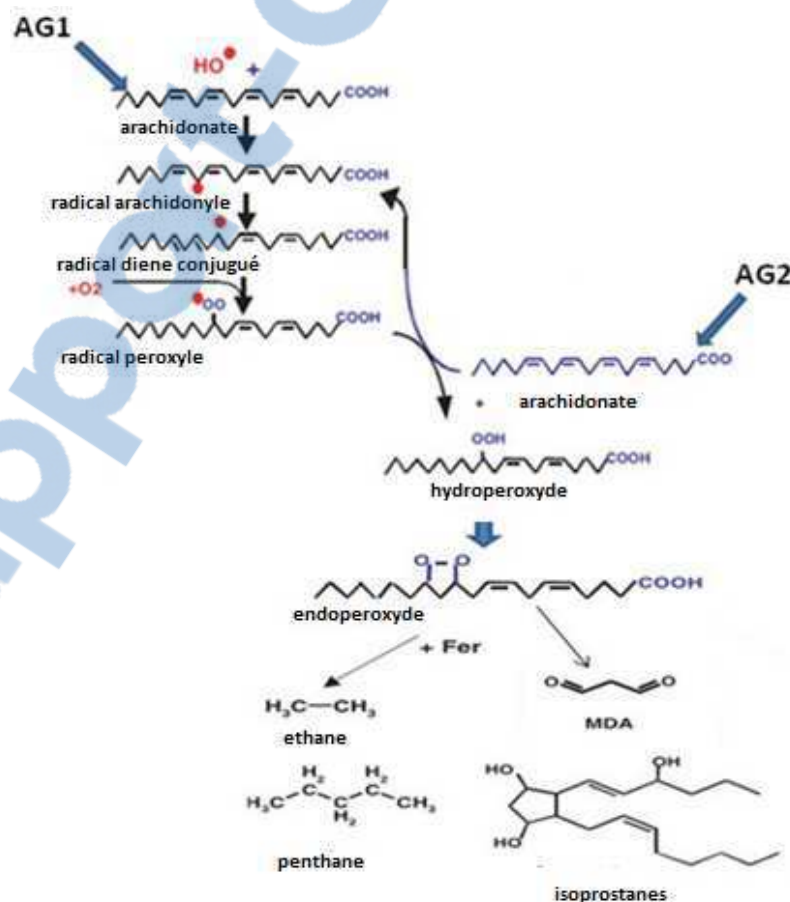


Fig. 6. Peroxydation lipidique en chaîne (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Un autre mécanisme par lequel l'hyperglycémie chronique peut générer un stress oxydant est la production de produits d'Amadori et de glycation avancée (AGE) à partir d'une base de Schiff (**Hartog et al., 2007**). Une fois formés, les AGE peuvent se fixer sur des récepteurs de produits avancés de glycation (RAGE). La fixation des AGE sur leur récepteur va initier des voies de signalisation conduisant à l'expression de gènes codant pour des facteurs pro-inflammatoires tel que NFκB (**Ott et al., 2014**).

L'activation du facteur NFκB va entraîner la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF-α ou l'IL6. De plus, la fixation des AGE sur leur récepteurs RAGE va déclencher une série de réactions qui va aboutir à la formation de ROS, et donc contribuer à l'augmentation du stress oxydant dans la cellule (**Wautier et al., 1996**). En outre, 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 *in vitro* et *in vivo* (**Rosenson et al., 2016**).

Il a été également proposé que le stress carbonylé, qui implique les sucres et les lipides, soit la source du stress oxydant dans le diabète (**Baynes & Thorpe, 1999**). Le stress carbonylé est le résultat d'une augmentation des composés carbonylés réactifs. Les protéines, au même titre que les lipides, sont également sensibles aux attaques radicalaires. Les plus à risque portent un groupement thiol et sont largement répandues dans les familles enzymatiques. L'oxydation induit l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine (**Gillery, 2006**). Cette conséquence de la glucotoxicité altère la structure, mais également la fonction biologique et la demi-vie des protéines concernées. L'intégrité des membranes cellulaires est également menacée par l'oxydation des protéines, du fait de la modification du caractère antigénique et des propriétés fonctionnelles des protéines membranaires (récepteurs ou enzymes) (**Jacob et al., 2006**).

1.1.3.2. Altération des défenses antioxydantes au cours du diabète

L'effet de la production accrue des ROS est potentialisé par la réduction des défenses antioxydantes. Dans les conditions physiologiques normales, des systèmes de défenses antioxydantes non enzymatiques, tels que le glutathion (GSH), les vitamines C et E

(**Tableau II**) et enzymatiques comme la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT), protègent l'organisme contre les effets délétères des radicaux libres (**Tableau III**).

Tableau II. Antioxydants non enzymatiques (Suryanarayana et al., 2007)

Endogènes	<i>Protéines de stress thermique</i>	Interviennent dans la réparation des dommages oxydatifs induits au niveau des protéines par un stress oxydant.
	<i>Protéines thiols</i>	Réagissent avec les espèces réactives de l'oxygène (cas de l'albumine)
	<i>Acide urique</i>	Peut interagir avec espèces réactives de l'oxygène, en particulier avec le radical $\cdot\text{OH}$
	<i>Vitamine C (ascorbate)</i>	Piégeur des ROS. Peut inhiber l'oxydation des LDL
	<i>Vitamine E (tocophérols)</i>	Inhibe la propagation de la peroxydation lipidique au niveau des membranes et des lipoprotéines en piégeant les radicaux $\text{RO}_2\cdot$ Capte les radicaux $\text{HO}_2\cdot$, $\cdot\text{OH}$ et $^1\text{O}_2$
Exogènes	<i>Caroténoïdes</i>	Capteurs de radicaux $\cdot\text{OH}$ et $\text{RO}_2\cdot$ et donc inhibiteurs de la peroxydation lipidique. Piégeurs de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$)
	<i>Polyphénols</i>	Inhibent la peroxydation lipidique en piégeant les radicaux $\text{RO}_2\cdot$ et $\cdot\text{OH}$. Chélateurs de métaux susceptibles de générer des radicaux libres (Fe, Cu)
Endogènes/ exogènes	<i>Glutathion</i>	Capteur des radicaux $\cdot\text{OH}$ et du H_2O_2 . Substrat de la GSH-Px
	<i>Coenzyme Q10</i>	Capteur des radicaux libres et inhibiteur de la peroxydation lipidique

Tableau III. Antioxydants enzymatiques (Suryanarayana et al., 2007)

Superoxydes dismutases (Cu-ZnSOD) et (MnSOD)	Assure l'élimination de l'anion superoxyde
Catalase (CAT)	Décompose le H_2O_2 produit par la SOD
Glutathion peroxydase (GSH-Px)	Réduit le H_2O_2 et les peroxydes lipidiques
Glutathion réductase (GSSH-Red)	Régénère le glutathion réduit à partir du glutathion oxydé formé par la GSH-Px
Glutathion S-transférase	Intervient avec le glutathion dans le métabolisme des xénobiotiques
Thiorédoxines (TRx)	Réduit le H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques
Thiorédoxine réductase (TRxRed)	Réduit la TRx oxydée. Dégrade les peroxydes lipidiques et le H_2O_2

Une diminution des défenses antioxydantes enzymatiques (GSH-Px, CAT, 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 (Preet *et al.*, 2005). Muruganandam *et al.*, (1992) ont montré une diminution du taux de GSH et de l'activité GPx dans les plaquettes des diabétiques. De même, dans les érythrocytes des diabétiques, 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 GPx et la SOD érythrocytaires ainsi que pour la SOD plasmatique (Morgan *et al.*, 2002).

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 du GSH à partir de la GSSH-Red et aboutissant à la génération du stress oxydant dans de nombreux tissus et contribue 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 de la glycolyse. 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).

1.1.4. Complications rénales du diabète

L'hyperglycémie est un facteur de risque des maladies cardiovasculaires majeur. Les complications cardiovasculaires sont les plus communes et les plus dévastatrices conséquences du diabète, et sont la cause principale d'admission à l'hôpital et par la suite, de décès chez les patients diabétiques (Riddle, 2011). La gravité de cette affection est liée à la survenue de complications tant métaboliques, infectieuses que dégénératives parmi lesquelles les manifestations rénales (Hamat *et al.*, 2016). La néphropathie diabétique est une glomérulopathie attribuable à l'hyperglycémie chronique, caractérisée initialement par une hyperfiltration glomérulaire, un épaissement de la membrane basale des capillaires et par l'apparition de dépôts fibrinoïde dans le mésangium (Fig. 7).

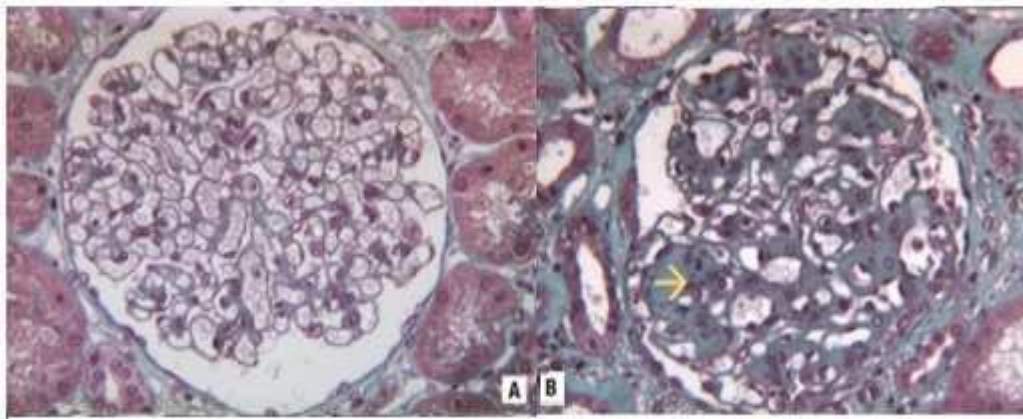


Fig. 7. Glomérulopathie diabétique (Moulin & Peraldi, 2016).

A : glomérule normal, B : sclérose nodulaire

Une augmentation d'excrétion urinaire d'albumine et une glomérulosclérose se constituent progressivement, entraînant une hypertension artérielle et une insuffisance rénale terminale (Fig. 8). Environ 30% des diabétiques de type 1 développeront une néphropathie et un pic d'incidence est observé entre la 10^{ème} et la 25^{ème} année de diabète (Roussel *et al.*, 2009).

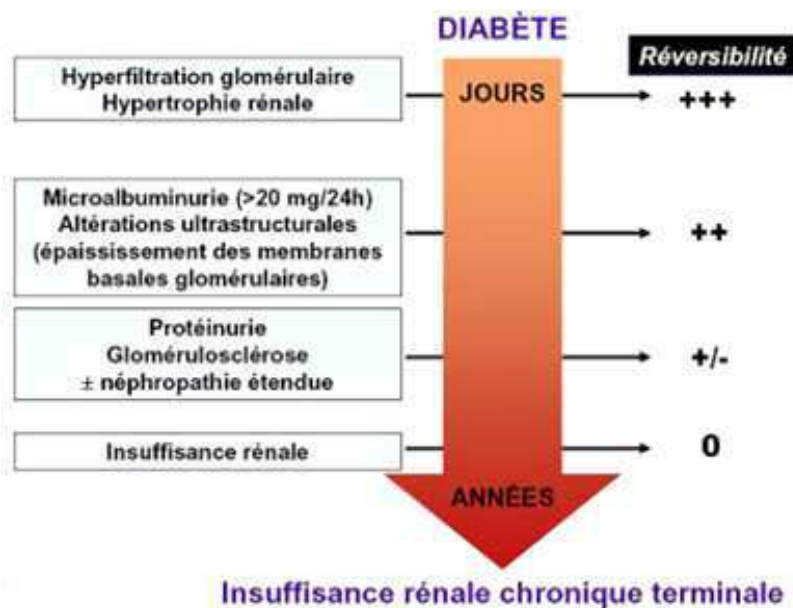


Fig. 8. Progression de la néphropathie diabétique (Colombat *et al.*, 2008).

1.1.5. Hypertension artérielle et diabète

Le patient diabétique de type 1 est généralement confronté à l'hyperglycémie dès le jeune âge, en l'absence de toute autre pathologie, la pression artérielle (PA) est normale au diagnostic et le restera longtemps, sauf si le patient a hérité, en outre, d'une prédisposition génétique à une hypertension (HTA) (Scheen *et al.*, 2012). La PA ne s'élèvera que

tardivement avec l'âge, comme dans la population générale non diabétique, en raison du vieillissement des artères et augmentation de la rigidité artérielle (**Benetos, 2003**).

Comme cette rigidité est favorisée par une hyperglycémie chronique, une HTA surtout systolique peut apparaître plus précocement chez les personnes diabétiques que dans la population générale. Une valeur tensionnelle >130/80 mm Hg est généralement considérée comme cible chez le patient diabétique (**ADA, 2011**). Il existe une condition particulière où la PA peut s'élever encore plus précocement chez le patient diabétique avec une néphropathie (**Weekers & Krzesinski, 2005**). Cette HTA est associée à une activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) et joue un rôle majeur dans l'accélération de la perte de la fonction rénale (**Ruggenti et al., 2010**).

1.1.6. Traitement pharmacologique du diabète

Un bon contrôle glycémique du diabète sucré est recommandé pour retarder, voir prévenir la survenue et ralentir la progression des complications. Pour atteindre ces objectifs, plusieurs thérapies sont à notre disposition. Un régime alimentaire bien équilibré en glucides, en protéines et en lipides ainsi que l'exercice physique sont des composantes essentielles du traitement du diabète sucré (**Gaede, 2008**). La modification du style de vie après un diagnostic de diabète est généralement suivie d'une monothérapie à la metformine comme première ligne de traitement pharmacologique (**Thulé, 2012**). Les biguanides sont représentés par une unique molécule actuellement commercialisée, la metformine (Glucophage®). Elle agit principalement en augmentant l'action de l'insuline au niveau du foie et en diminuant ainsi la production hépatique de glucose. Elle exerce aussi un effet anti-lipolytique qui diminue la concentration d'acides gras libres et réduit ainsi la disponibilité de substrat pour la néoglucogenèse. La metformine accroît aussi la captation et l'utilisation périphérique de glucose en augmentant, d'une part, la translocation ou la synthèse des transporteurs du glucose (Glut) et, d'autre part, en favorisant la synthèse du glycogène (**Rena et al., 2017**). L'activation de la protéine kinase AMPK semble être le mécanisme moléculaire par lequel la metformine abaisse le glucose et les concentrations lipidiques (**Ducobu, 2003**).

1.2. Hypercholestérolémie, un enjeu majeur de santé publique

Plus la cholestérolémie est élevée, plus les risques de complications cardiovasculaires augmentent (**Penumathsa et al., 2007**). Chez l'Homme, l'hypercholestérolémie est

caractérisée par des teneurs sériques en cholestérol total $>5,17 \text{ mmol.L}^{-1}$, C-LDL $>4,17 \text{ mmol.L}^{-1}$, C-HDL $<0,9 \text{ mmol.L}^{-1}$ et un rapport C-LDL/C-HDL $>3,5$ (**Erdmann et al., 2008**).

L'accumulation de cholestérol dans la paroi endothéliale est un élément central dans le développement de l'athérosclérose (**Ducobu et al., 2009**). Comme la majorité du cholestérol en circulation est transportée par les LDL, les concentrations de C-LDL sont traditionnellement utilisées pour prédire le risque de MCV. La validité de cette fraction lipidique à prédire les événements cardiovasculaires a été confirmée à maintes reprises par des études contrôlées randomisées sur l'effet de médicaments hypocholestérolémiants (**Cannon et al., 2015**). Cependant, le C-HDL, la fraction non athérogène du cholestérol, est associé à une diminution du risque vasculaire lorsqu'il est élevé et à une augmentation de ce risque quand il est trop faible (**De Peretti et al., 2014**). L'hypercholestérolémie est donc, une des principales causes de morbidité dans les pays développés et en voie de développement, s'agissant d'un facteur de risque de cardiopathie et d'accident vasculaire cérébral (**Daskalopoulou & Mikhailidis, 2006**).

Dans l'ensemble, on estime que l'hypercholestérolémie provoque 2,6 millions de décès (**OMS, 2010**). En 2008, la prévalence mondiale de l'hypercholestérolémie chez l'adulte était de 39% (**Farzadfar et al., 2011**). En Algérie, une enquête menée en 2008 sur plus de 1000 personnes d'une moyenne d'âge de 43 ans, a mis en évidence une prévalence de dyslipidémie égale à 15,9%, dont celle de l'hypercholestérolémie de 14,3%, valeur plus faible que celle des pays industrialisés qui enregistrent des taux supérieurs à 30% (**Berrouiguet et al., 2009**).

L'hypercholestérolémie peut être causée par une mutation dans le gène du récepteur hépatique aux LDL, ou par un défaut génétique de l'apolipoprotéine B, le constituant de la particule de LDL, permettant sa liaison au récepteur (**Myant, 1993**). À ce sujet, il est important de noter que la cause la plus commune d'une augmentation de LDL cholestérol n'est pas seulement un défaut génétique mais aussi une surproduction hépatique de lipoprotéines de très basse densité (VLDL), qui sont transformées rapidement en LDL de sorte que le niveau de triglycérides reste stable mais que le niveau de cholestérol augmente (**Durrington, 2003**). Les facteurs étiologiques associés à cette anomalie métabolique sont un excès d'apport en graisse alimentaire, particulièrement le gras saturés et le cholestérol.

1.2.1. Anomalie lipidique et risque athérogène

L'hypercholestérolémie est caractérisée par des anomalies quantitatives et qualitatives des lipides et une prévalence accrue de la dyslipidémie athérogène (Shehata & Yousef, 2010). Les LDL petites et denses, en raison de leur susceptibilité à l'oxydation et de leur capacité à pénétrer la paroi artérielle, exercent également un rôle athérogène important (Xu *et al.*, 2016). À l'état normal, les LDL sont éliminées par l'intermédiaire de récepteur auxquels elles se lient en interagissant avec l'apo B-100 (Simpson & Smith, 2011). Leur captation par ces récepteurs diminue la synthèse intracellulaire du cholestérol, limite l'expression de ces récepteurs à la surface des cellules par un mécanisme de rétrocontrôle et permet l'élimination du cholestérol au niveau du foie par la voie biliaire (Karlsson *et al.*, 2006). Ainsi, un taux élevé de C-LDL prolonge la demie vie de ces particules menant de ce fait au risque d'être hydrolysées par la lipase hépatique (LH) ou la lipoprotéine lipase (LPL) aboutissant à la formation d'une particule plus dense de LDL, considérée comme athérogène (Stein & Stein, 2003).

L'hypercholestérolémie est aussi associée à une diminution du taux de C-HDL principalement la sous fraction HDL₂, qui apparait être comme un facteur de risque cardiovasculaire indépendant (Tran-Dinh *et al.*, 2013). Ces particules possèdent un puissant potentiel antiathérogène et des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Breton *et al.*, 2013). L'effet athéroprotecteur des HDL est principalement attribué à leur rôle dans le transport inverse du cholestérol sous l'action de la LCAT, en estérifiant le cholestérol par transfert de chaîne d'acides gras appartenant aux phospholipides des HDL (Luc, 2007). Un déficit de cette enzyme, en raison de l'oxydation de son cofacteur activateur l'apolipoprotéine (apo-AI), induit chez l'Homme (Kuivenhoven *et al.*, 1997) et chez la souris (Ng, 2004) des niveaux nettement réduits de C-HDL. La composition du régime alimentaire, particulièrement riche en lipides pourrait directement influencer le contenu du foie en lipides (Aoun *et al.*, 2012). Une autre étude a confirmé que l'induction de l'hypercholestérolémie chez le rat par un régime enrichi en cholestérol entraîne une augmentation du cholestérol sérique et hépatique (Wang *et al.*, 2010), ce qui induit à des lésions tissulaires notamment dans le foie. En effet, les lésions hépatiques observées au cours de l'hypercholestérolémie s'accompagnent aussi d'une activation de cellules immunitaires incriminées dans la synthèse des cytokines pro-inflammatoires impliquées dans le développement de la stéatose hépatique (Cassard-Doulcier & Perlemuter, 2011).

D'autres facteurs semblent être impliqués dans le développement de la stéatose hépatique ; une augmentation de la vulnérabilité des hépatocytes par une captation excessive des acides gras libres produit par la lipolyse au niveau des tissus adipeux, une accumulation de triglycérides, un stress oxydant et une résistance à l'insuline (**Fig. 9**). Par ailleurs, les perturbations du métabolisme des lipides peuvent entraîner une résistance à l'insuline et une intolérance au glucose. Toutefois, les anomalies du métabolisme glucidique ne sont pas encore bien mises en évidence dans l'hypercholestérolémie (**Bai *et al.*, 2015**). Certaines études ont suggéré que les changements des niveaux de cholestérol plasmatique peuvent perturber la sécrétion et la sensibilité à l'insuline (**Subramanian *et al.*, 2011**).

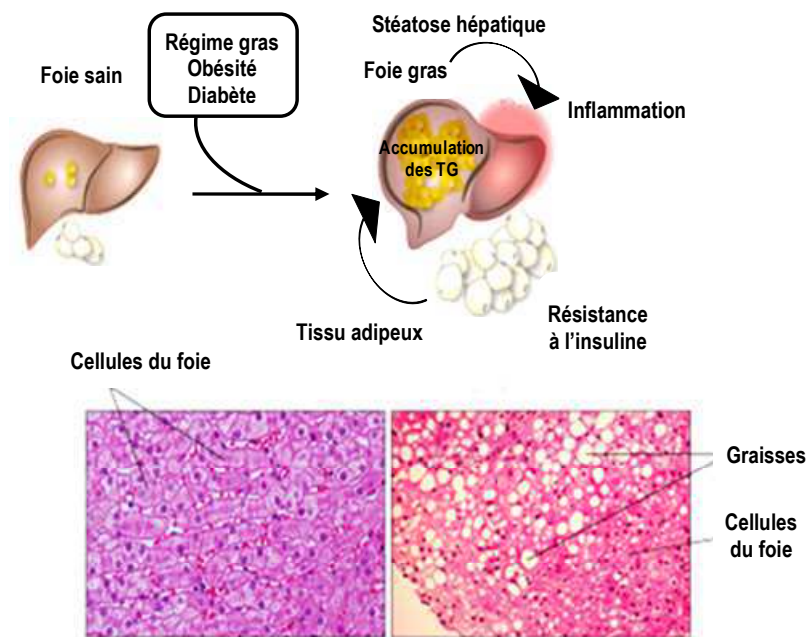


Fig. 9. Foie gras ou stéatose hépatique (**Anderson & Borlak, 2008**).

1.2.2. Hypercholestérolémie et stress oxydant

Il est bien connu que l'hypercholestérolémie conduit à une augmentation de la production des radicaux libres (**Kabamba *et al.*, 2014**), ces modifications oxydatives jouent un rôle important dans le processus de l'athérosclérose (**Amom *et al.*, 2008**). **Nasar *et al.*, (2009)** indiquent qu'un excès de cholestérol alimentaire est lié à une élévation précoce de la production des ROS, au niveau des érythrocytes et du foie d'une part, et à l'augmentation des marqueurs du stress oxydatif d'autre part, chez des sujets hypercholestérolémiques. De plus, une alimentation riche en cholestérol, chez le lapin, entraîne une forte production des ROS (**Müller *et al.*, 2004**). Par ailleurs, les ROS s'attaqueront aux lipoprotéines circulantes aboutissant à la formation de LDL oxydées qui sont captées par les macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des MCV (**Nakajima *et al.*, 2006**).

Plusieurs études, ont mis en évidence le potentiel athérogène et pro-inflammatoire des particules LDL oxydées (Skalicky *et al.*, 2008 ; Wierzbicki & Grant, 2016). En effet, l'oxydation des LDL est un processus progressif qui conduit à la génération des radicaux oxydants en présence de métaux de transition (Salvayre *et al.*, 2002). Lorsque les acides gras polyinsaturés (AGPI), qui sont présents sous forme de phospholipides en surface de la LDL, sont oxydés par les ROS, des composés très réactifs, tels que les hydroperoxydes seront formés (Parthasarathy *et al.*, 2008). Ainsi, l'oxydation « extensive » des AGPI des LDL, conduit à la production d'aldéhydes très bio-réactifs dont le malondialdéhyde (MDA). Ce dérivé peut réagir avec les groupements aminés Lysine de l'apo B-100 conduisant à des modifications progressives d'apo B-100 (Witztum & Steinberg, 1991). Ces LDL fortement modifiées ne sont plus reconnues par leurs récepteurs, mais par d'autres récepteurs « scavengers » non régulés, ce qui conduit à la formation des cellules spumeuses (Hurt-Camejo *et al.*, 1990), aboutissant à la formation des facteurs pro-inflammatoires qui favorisent la progression de la plaque d'athérome (Paul & Baudin, 2009). En revanche, les HDL ont la capacité d'inhiber l'oxydation des lipides et des protéines contenus dans les membranes cellulaires et les lipoprotéines en particulier les LDLs (Breton *et al.*, 2013). Elles assurent le clivage et la séquestration des lipides hydroperoxydes (Navab *et al.*, 2000). Néanmoins, les HDL peuvent subir des modifications oxydatives susceptibles d'altérer leurs propriétés protectrices (Yu *et al.*, 2008). L'oxydation des HDL diminue la capacité à promouvoir l'efflux du cholestérol induisant une diminution de l'activité de la LCAT, en raison de l'oxydation de son cofacteur activateur apo-AI (Bonfont-Rousselot *et al.*, 1998).

Les antioxydants jouent un rôle physiologique important dans l'organisme en inhibant les processus d'oxydation, même à des concentrations relativement faibles. Ce sont des piègeurs potentiels des radicaux libres qu'ils convertissent en espèces moins réactives (Fig. 10). Une augmentation de la production de ROS peut en outre s'accompagner d'une diminution de la défense antioxydante enzymatique telles que (SOD, GPx, CAT et la PON1) chez l'Homme (Nasar *et al.*, 2009) et le rat hypercholestérolémique (González-Peña *et al.*, 2014). En effet, des études cliniques ont trouvé une faible activité de la paraoxonase 1 (PON1) chez des patients ayant un risque cardiovasculaire élevé (Ferretti *et al.*, 2005). Cette enzyme associée aux HDL et riche en acides aminés réducteurs (Cystéine) et, est impliquée dans la capacité antioxydante des HDL (Podrez, 2010). Elle catalyse la rupture des phospholipides oxydés des LDLs. Ceci a pour effet de prévenir la production de cytokines et l'adhésion des monocytes à l'endothélium vasculaire induites par les LDL oxydées (Mertens *et al.*, 2003).

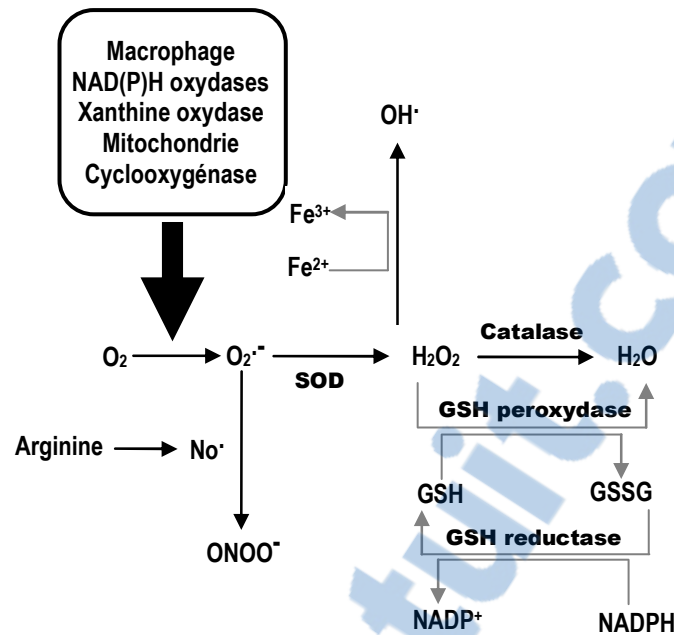


Fig. 10. Régulation des espèces radicalaires (Hiragi *et al.*, 2011).

1.2.3. Hypercholestérolémie et inflammation

La participation d'un processus inflammatoire apparaît de plus en plus être un facteur déterminant au cours du développement des MCV (Wang *et al.*, 2017).

L'hypercholestérolémie est associée à l'augmentation des taux circulants de médiateurs de l'inflammation, comme les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6), qui sont produites et libérées en grande quantité par les macrophages et les lymphocytes, conduisant à l'altération des tissus et à la croissance de la plaque d'athérosclérose (Donath, 2013 ; Muga & Chao, 2014). En effet, les études expérimentales les plus récentes réalisées chez l'Homme associées aux observations anatomo-pathologiques faites sur des plaques athéromateuses, permettant d'affirmer aujourd'hui que l'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique des grosses artères à localisation intimale, l'agent d'agression entraînant la réaction inflammatoire étant le C-LDL sous une forme oxydée (Hermida & Balligand, 2014).

D'un point de vue dynamique, l'hypercholestérolémie est à l'origine de la formation de LDL oxydées ayant des propriétés chimiotactiques sur les monocytes (Nalbone *et al.*, 2006). Les LDL oxydées activent les cellules endothéliales qui expriment des molécules d'adhésion et sécrètent des facteurs chimiotactiques responsable du recrutement des monocytes dans la paroi artérielle (Paul & Baudin, 2009). Les monocytes se différencient en macrophages sous l'action de M-CSF (Macrophage-Colony stimulating factor) sécrété par les cellules

musculaires lisses. En présence de LDL modifiées, les macrophages subissent une modulation phénotypique qui se traduit par une forte expression à leur surface de récepteurs «scavengers». Ceci a pour conséquence la capture et l'accumulation incontrôlée du cholestérol par les macrophages qui deviennent des cellules spumeuses. Ces cellules sont à l'origine de la formation de la strie lipidique (Canault *et al.*, 2008). Les stries lipidiques vont progressivement évoluer vers des lésions intermédiaires. A ce stade, la plaque contient des macrophages chargés en lipides, des cellules musculaires lisses dans l'intima et surtout des lymphocytes T qui vont jouer un rôle central dans la croissance de la plaque d'athérosclérose, puisqu'ils vont pouvoir sécréter des cytokines pro-inflammatoires après activations (Fig. 11).

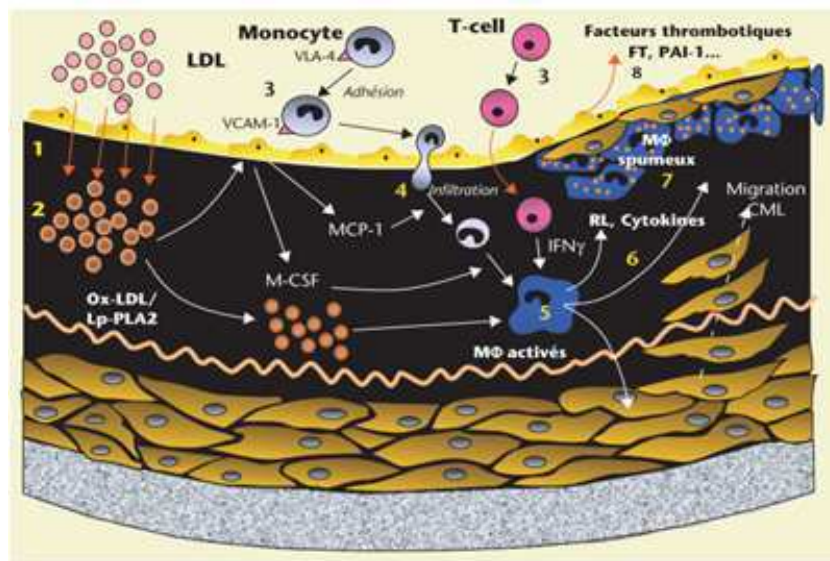


Fig. 11. Événements cellulaires et biochimiques dans le développement de la plaque d'athérosclérose (Paul & Baudin, 2009).

Certaines cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α ou l'IL-1 activent dans les macrophages et les cellules vasculaires leurs propre production et celle d'autres cytokines pro-inflammatoires que l'on trouve dans la plaque, et modifient également la production de facteurs qui contribuent à altérer l'hémostase et la réactivité vasculaire (NO et l'endothéline) (Nalbone *et al.*, 2006). De plus, il a été rapporté que certaines cellules immunitaires comme les macrophages pouvaient s'infiltrer dans le tissu adipeux (Fig. 12), et que leur nombre augmente avec l'hypercholestérolémie. Ces macrophages infiltrés seraient responsables de la majeure partie de la production de cytokines inflammatoires dans le tissu adipeux (Saad, 2017). En fait, ils seraient responsables de presque toute l'expression du TNF- α et d'environ 50% de l'IL-6 (Jager *et al.*, 2007). La surexpression du TNF- α dans le tissu adipeux augmente la lipolyse chez l'Homme (Sharma & Puri, 2016) et chez le rat (Feres *et al.*, 2013).

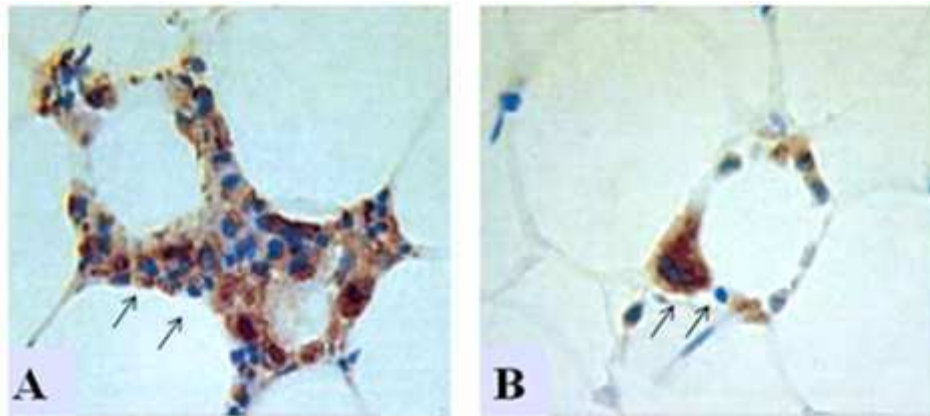


Fig. 12. Aspect typique de l'infiltration macrophagique au niveau de tissu adipeux (Cancello *et al.*, 2006).

A : Infiltration plus importante dans le tissu adipeux avec une hypercholestérolémie que chez un sujet sain (B)

1.2.4. Approche clinique dans la prise en charge de la dyslipidémie associée à l'hypercholestérolémie

Les dyslipidémies athérogènes sont responsables de la plupart des accidents cardiovasculaires ischémiques, qui restent dans les pays industrialisés une des causes majeures de morbidité et de mortalité. Une conduite nutritionnelle adaptée permet parfois de corriger l'excès de lipides circulants, mais lorsqu'elle s'avère insuffisante, la thérapeutique médicamenteuse s'impose. Les inhibiteurs de l'hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) réductase, ou statines, apportent une protection supérieure, en termes de décès d'origine cardiovasculaire ou autre, à celle des autres traitements hypolipémiants (Nalbone *et al.*, 2002). Les études cliniques de prévention secondaire des maladies cardiovasculaires rapportent des diminutions de la cholestérolémie totale de 25 à 55% après traitement par les statines (Chapman *et al.*, 2003). Une baisse du cholestérol amène une stabilisation et une régression des plaques d'athérosclérose. Dans les cellules endothéliales en culture, l'inhibition de la NO synthase par les LDL oxydées est levée par l'atorvastatine, qui restaure des niveaux normaux d'ARNm de la protéine en les stabilisant (Hernández-Perera *et al.*, 1998) et, module favorablement l'expression des récepteurs hépatiques des LDL, ce qui conduit à un accroissement de l'épuration plasmatique des LDL circulantes (Aguilar-Salinas *et al.*, 1998). Cependant, l'adhérence des monocytes à la cellule endothéliale stimulée par le TNF- α , mesurée *in vitro* en conditions de flux, est significativement diminuée par l'atorvastatine (Bernot *et al.*, 2003). Cet effet protecteur est concordant avec le fait que les statines réduisent les niveaux de cytokines pro-inflammatoires circulantes (Libby & Aikawa., 2003).

2. Effets potentiels des plantes médicinales dans la prévention des risques cardiovasculaires

L'utilisation des plantes médicinales a connu un essor important ces dernières années. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cet engouement, tels que la diminution du pouvoir d'achat, le coût élevé des médicaments conventionnels, la méfiance vis-à-vis des produits de synthèse et l'envie de consommer Bio « naturel » (**Mokgolodi et al., 2011**). Ces différents facteurs justifient l'utilisation de la médecine traditionnelle et/ou alternative pour les populations dans de nombreux pays à travers le monde, notamment dans les pays du Maghreb. Par ailleurs, l'automédication à partir d'extraits de plante en infusion est pratiquée dans tous les continents (**Abayomi, 2010**). Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent, administrées par inhalations, cataplasmes, massages ou encore par voie orale (**Marc, 2001**).

Diverses études épidémiologiques soutiennent que la consommation des fruits et des plantes alimentaires est inversement corrélée au risque de maladies cardio-métaboliques (**Bradley et al., 2016 ; Lecerf, 2016**). Ce bénéfice passe notamment par les effets antioxydants des polyphénols présents dans les aliments. Les composés phénoliques font partie des métabolites secondaires ubiquitaires dans tous les végétaux (**Anhê et al., 2013**). Ils possèdent des structures chimiques qui leur permettent d'inactiver ou de piéger les radicaux libres provenant de ROS et d'agir ainsi comme antioxydants. Cette activité pharmacologique tient de leur fonction physiologique chez la plante qui est elle-même susceptible au stress oxydatif (**Royer et al., 2011**). L'utilisation de modèles animaux a permis de préciser en partie l'effet des polyphénols au cours des atteintes cardiovasculaires. Ainsi, la supplémentation de l'eau de boisson avec des catéchines, de la quercétine (**Hayek et al., 1997**) ou du jus de grenade (**Kaplan et al., 2001**) induit une réduction de la taille des lésions athéromateuses dans un modèle d'athérosclérose, la souris déficiente en apolipoprotéines-E. Ces effets sont associés à une réduction de l'internalisation des LDL par les macrophages ainsi qu'à une diminution de l'oxydation des LDL, ce qui diminue leur susceptibilité à l'agrégation (**Rozan et al., 2007**). Des efforts considérables ont été réalisés ces dernières années afin d'identifier des produits antidiabétiques, hypolipémiant naturels, capables de contrôler l'hypercholestérolémie et le diabète et leurs complications. Ainsi, la sélection d'agents hypocholestérolémiant et hypoglycémiant efficaces et moins toxiques, à partir des plantes médicinales, représente actuellement un sujet de recherche d'un grand intérêt.

2.1. Effets antidiabétiques

La recherche de principes actifs naturels à partir des plantes médicinales qui peuvent traiter les désordres métaboliques du diabète est d'un grand intérêt pour la santé. De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme antidiabétiques (**Ghiravani et al., 2016**), certaines sont à l'origine de la mise au point de médicaments tels que la metformine grâce au *Galega officinalis* (**Romero et al., 2017**). Selon une étude d'**Eddouks et al., (2007)**, les *Astéracées* et les *Lamiacées* sont les familles les mieux représentées dans la pharmacopée traditionnelle marocaine pour le traitement du diabète. Ces mêmes auteurs citent les plantes les plus utilisées : *Trigonella foenum-graecum*, *Nerium oleander*, *Citrillus colocynthis*, *Globularia vulgaris*, *Ajuga iva*, *Marrubium vulgare*, *Allium sativum*, *Olea europea*, *Punica granatum* et *Zygophyllum album*.

Des enquêtes ethnobotaniques effectuées dans le but de répertorier les plantes médicinales antidiabétiques dans l'Est et l'Ouest Algérien (**Allali et al., 2008 ; Hamza et al., 2010**), soulignent l'importance qu'occupe ce patrimoine végétal dans la pharmacopée traditionnelle et surtout dans le traitement du diabète. De nombreuses plantes utilisées en Algérie sont réputées posséder une action antidiabétique avec un usage fréquent dans une grande partie de la population. Parmi ces plantes, certaines ont un effet déjà mis en évidence dans notre laboratoire (LNCM) telles que : *Ajuga iva* (**Taleb-Senouci et al., 2009**), *Globularia alypum* (**Zennaki et al., 2009 ; Taleb-Dida et al., 2011**) *Portulaca oleracea* (**Guenzet et al., 2017 ; Djellouli et al., 2018**), *Citrus latifolia* (**Khelladi et al., 2018**), *Zygophyllum gaetulum* (**Guenzet et al., 2016**) et *Zygophyllum album* (**Bahlil et al., 2018**).

D'autres études ont montré l'effet de certaines plantes par des études *in vivo* incluant l'effet antihyperglycémique de *Grewia asiatica* (**Khatune et al., 2016**), et celui de navet (**Hassanzadeh-Taheri et al., 2018**). L'effet hypoglycémique de *Cnidioscolus aconitifolius* avait également été démontré chez des souris normales et rendus diabétiques (**Achia et al., 2017**). D'autres auteurs (**Jayaraman et al., 2018**) ont montré *in vivo* l'effet d'hespérétine du citron sur la réduction du taux de glucose dans le sang ainsi qu'une autre étude pharmacologique (**Netharakere et al., 2015**) dans laquelle a également été démontré l'effet hypoglycémiant de l'huile de clou de girofle chez des rats diabétiques. L'effet thérapeutique de plusieurs autres plantes médicinales a fait l'objet d'études expérimentales chez les rats diabétiques, *Castanea sativa* et *Lactarius deterrimus* (**Jovanović et al., 2017**), *Anethum Graveolens* (**Oshaghi et al., 2016**), *Tetrapleura tetraptera* (**Kuate et al., 2015**) et d'*Euryale*

ferox salisb (Ahmed *et al.*, 2015). Par ailleurs, les données de Ulla *et al.*, (2017) ont montré chez des rats soumis au régime enrichi en graisse, que l'homéostasie du glucose est normalisée par la supplémentation en extrait de *Syzygium cumini*, de *Cassia auriculata* (Vijayaraj *et al.*, 2013) et avec un extrait de zeste d'agrumes (Ashraf *et al.*, 2017).

L'action hypoglycémiant des plantes peut s'effectuer selon plusieurs mécanismes. Parmi ceux-ci, les chercheurs ont entre autres identifié la stimulation de l'insulino-sécrétion, l'inhibition du glucagon et l'amplification de l'action de l'insuline au niveau de certaines réactions clés de la glycolyse et de la glycogénogenèse (Eno *et al.*, 2008 ; Yin *et al.*, 2008). Plusieurs études ont démontré que bon nombre de plantes activent la voie de signalisation de l'AMPK (Haddad *et al.*, 2012). Dans plusieurs cas, sinon dans tous les cas, le site d'action de ces plantes réside au niveau de la membrane mitochondriale interne. Ceci a pour effet de perturber la phosphorylation oxydante et de diminuer la capacité de synthèse de l'ATP. Ainsi, lorsque la production d'énergie mitochondriale devient insuffisante pour répondre aux besoins énergétiques des cellules, l'homéostasie de l'énergie est perturbée et l'AMPK est activée (Martineau *et al.*, 2010).

De tels effets pourraient s'expliquer par l'effet hypoglycémiant des polyphénols contenus dans certaines plantes (Jarald *et al.*, 2008). Plusieurs études *in vivo* ont montré que les polyphénols augmentent l'absorption de glucose par les tissus périphériques. C'est le cas de la quercétine et son glycoside rutine (Kittl *et al.*, 2016). La consommation d'anthocyanes diacylés induit une hypoglycémie lors de la consommation de maltose chez le rat; cet effet n'est pas retrouvé lors de la consommation de saccharose ou de glucose, suggérant ainsi un effet inhibiteur de l' α -glucosidase par ces anthocyanes (Kim *et al.*, 2011). L'inhibition des glycosidases intestinales a été étudiée pour de nombreux composés qui induisent une diminution du transport intestinal du glucose par la SGLT1 comme la catéchine, les isoflavones du soja et l'acide chlorogénique (Dembinska-Kiec *et al.*, 2008).

2.2. Effets hypolipémiants

La dyslipidémie joue un rôle important dans l'apparition de facteurs de risque de maladies cardiovasculaires, dont le diabète et l'hypercholestérolémie, responsables du développement d'une athérosclérose précoce (Ota, 2013). Ainsi, le traitement idéal du diabète et/ou de l'hypercholestérolémie devrait avoir, en plus du contrôle glycémique un effet favorable sur le profil lipidique.

Dans ce contexte, il a été montré que plusieurs plantes possèdent des propriétés à la fois hypoglycémiantes et hypolipémiantes (**Taleb-Senouci et al., 2012 ; Djellouli et al., 2014 ; Zidan et al., 2014 ; Mir et al., 2015 ; Berzou et al., 2016**). L'étude de **Khatune et al., (2016)** a mis en évidence une diminution significative du cholestérol total, TG et du C-LDL chez des rats diabétiques traités avec *Grewia asiatica*. De même, les résultats de **Bautista et al., (2017)** ont montré qu'un extrait brut de *Clausena anisum-olens* possède des effets hypolipémiants comparables à ceux de l'atorvastatine. Par ailleurs, **Ashraf et al., (2017)** ont montré qu'un traitement avec le zeste d'agrumes chez des rats diabétiques ou hypercholestérolémiques diminue les teneurs en CT, C-LDL, triglycérides et les indices d'athérogénicité et augmente le C-HDL. Des résultats semblables ont été obtenus par **Zanchet et al., (2018)** qui ont constaté une diminution des teneurs plasmatiques et hépatiques en CT suite à la consommation d'un extrait aqueux de *Celtis iguanaea*, et ont suggéré que le mécanisme responsable serait peut être lié à la diminution de l'activité hépatique HMG-CoA avec une synthèse réduite de cholestérol. Ces données étaient cohérentes avec une diminution du poids corporel par l'extrait aqueux de pulpe de *Coffea arabica* (**Ontawongab et al., 2019**).

L'effet bénéfique des plantes sur la dyslipidémie est dû en partie à leur richesse en polyphénols. Diverses plantes, qui contiennent des substances telles que les saponines et les flavonoïdes, ont donné de bons résultats en termes de réduction des taux de lipides plasmatiques (**Koriam, 2014; Waltenberger et al., 2016**). Ces substances, telles que trouvées dans des études similaires, peuvent réduire les taux de TG, CT et C-LDL et augmenter encore les taux de C-HDL (**Li et al., 2016; El-Newary et al., 2016**). Ainsi un grand nombre d'études se sont penchées sur l'effet des polyphénols et leur rôle dans la protection vasculaire. L'extrait riche en flavonoïdes de la graine d'*Eugenia jambolana* a diminué la cholestérolémie et la triglycéridémie chez des rats diabétiques (**Sharma et al., 2008**). Des chercheurs ont démontré que l'eugénol était efficace pour diminuer les taux de cholestérol sanguin chez des rats rendus hypercholestérolémiques (**Elbahy et al., 2015**). De même, l'huile essentielle de la *Nigella sativa* a présenté des effets hypocholestérolémiants, anti-inflammatoires et antioxydants, accompagnés d'une augmentation du C-HDL (**Al-Seenii et al., 2016**).

Plusieurs mécanismes peuvent expliquer ces effets hypolipémiants par la réduction de l'activité de la HMG-CoA et de l'acyl-CoA acétyltransférase, qui entraînent une diminution des taux d'esters de cholestérol pouvant former des lipoprotéines de très faible densité, entraînant une diminution de la sécrétion de VLDL par le foie (**Mocelin et al., 2016**), ou par

une augmentation de l'activité de la cholestérol 7 α -hydroxydase (enzyme responsable de la conversion du cholestérol en acides biliaires) (Zanchet *et al.*, 2018). De plus, la sensibilisation des récepteurs de LDL serait aussi un mécanisme possible. Dans une étude *in vitro*, des cellules hépatiques humaines ont été mises en contact avec de l'huile essentielle de pin de Corée. Par RT-PCR, il a été remarqué que cette l'huile provoque une régulation positive du codage pour le récepteur aux LDL au niveau de l'ARN messenger. De plus, elle inhibe l'expression de l'HMG-CoA réductase, de l'acide gras synthase et de la glycérol-3-phosphate acyltransférase. Elle réduit également l'oxydation des C-LDL. Cette l'huile est composée principalement de camphène, limonène, pinène et bornéol (Kim *et al.*, 2012). Le camphène et le limonène ont également présenté des effets hypolipémiants dans d'autres études (Vallianou *et al.*, 2011).

2.3. Effets antioxydants

Il est communément admis que le stress oxydant est impliqué dans la plupart des maladies métaboliques dégénératives comme le diabète et l'hypercholestérolémie (Abreu *et al.*, 2014 ; Asmat *et al.*, 2016). Le stress oxydant durant le diabète et l'hypercholestérolémie induit un déséquilibre de la balance redox provenant de l'altération du métabolisme des carbohydrates et des lipides, de l'augmentation de la production des ROS par glycation, de la peroxydation lipidique et de la diminution de la défense antioxydante (Roy *et al.*, 2008 ; Ellulu *et al.*, 2016). Par ailleurs, de nombreuses plantes contiennent des composés antioxydants qui protègent les cellules contre les effets délétères des espèces réactives de l'oxygène (Anantachoke *et al.*, 2015). Les travaux de Zanchet *et al.*, (2018) ont montré, chez des rats rendus hypercholestérolémiques avec un régime hypercalorique, et traités avec l'extrait de *Celtis iguanaea* à la dose de 600 mg/kg PC, une réduction du contenu en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), marqueur de la peroxydation lipidique. D'autres études rapportent que l'extrait de *Zanthoxylum heitzii*, entraîne une diminution significative des TBARS hépatiques et une augmentation des activités de la CAT dans le foie, chez des rats hypercholestérolémiques comparés à des rats non traités (Fidèle *et al.*, 2015). L'évaluation de l'effet d'un extrait aqueux de *Tripodanthus acutifolius* sur le stress oxydatif induit par un régime enrichi en cholestérol a montré chez le rat traité comparé au non traité, une diminution de la cholestérolémie et de la concentration sérique des carbonyles (Coelho *et al.*, 2018).

Lu et al., (2017) ont montré que l'administration par voie orale d'une solution antioxydante, à des rats rendus diabétiques par la STZ, entraîne un effet hypoglycémiant ainsi qu'une diminution des TBARS au niveau rénale. Par ailleurs, chez le rat rendu diabétique, **Ajiboye et al., (2018)** ont rapporté une élévation de l'activité des enzymes antioxydante, concomitante avec une diminution de la peroxydation lipidique, après un traitement avec un extrait polyphénolique de *Syzygium cumini*. De même, une activité antioxydante très importante est notée avec l'acide gallique (**Panchal et al., 2013 ; Chao et al., 2014**). De plus, chez des rats rendus hypercholestérolémiques traités avec le triton WR-1339 et supplémenté ou non avec l'eugénol pendant 12 semaines, l'augmentation des TBARS sériques causée par le triton WR-1339 est corrigée et les activités de la SOD et de la catalase hépatiques et rénales sont augmentées comparés aux rats non traités (**Elbahy et al., 2015**). Il a été rapporté que les polyphénols alimentaires, tels que le resvératrol, stimulent l'activation de la transcription de la PON1 chez les souris (**Gouédard et al., 2004**). L'effet antioxydant et anti-inflammatoire de la paraoxonase 1 est largement examiné *in vitro*, en culture cellulaire et sur des modèles animaux (**Litvinov et al., 2012**). Une étude a montré que l'hésperétine, chez les hamsters hypercholestérolémiques pendant 12 semaines augmentent les taux de paraoxonase 1, et diminuent la concentration des lipides (**Kim et al., 2010**). De plus, les flavonoïdes peuvent diminuer le stress oxydatif dans les macrophages, en inhibant l'activité des oxygénases cellulaires telles que le NADP ou par l'activation des antioxydants cellulaires (**Chao et al., 2014**).

2.4. Effets anti-inflammatoires

La participation du processus inflammatoire apparaît de plus en plus être un facteur déterminant au cours du développement des MCV (**Wang et al., 2017**). Le diabète et l'hypercholestérolémie sont associés à l'augmentation des taux plasmatiques de nombreux médiateurs de l'inflammation, dont certaines cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6), qui sont produites et libérées en grande quantité par les macrophages et les lymphocytes, conduisant à l'altération des tissus (**Donath, 2013 ; Muga & Chao, 2014**).

Les propriétés antioxydantes des plantes ont longtemps été considérées comme étant le principal phénomène expliquant leurs effets protecteurs. Cependant, de nombreuses études ont pu montrer que les polyphénols des plantes agissaient également comme des modulateurs des voies de signalisation durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (**González-Gallego et al., 2007**). Les études menées chez le rat diabétique ont montré que le suivi d'un régime supplémenté par un extrait hydro-éthanolique

de *Tetrapleura tetraptera* était inversement corrélé aux marqueurs de l'inflammation (TNF- α , IL-6) dans le plasma (Kuate *et al.*, 2015), et que la consommation d'un extrait aqueux de *Celtis iguanaea* était associée à la diminution du taux de cytokines circulantes, chez des animaux hypercholestérolémiques (Zanchet *et al.*, 2018). Ces résultats ont également été soutenus par l'étude de Xiao *et al.*, (2005), qui ont rapporté que *Portulaca oleracea* avait un effet protecteur spécifique sur les cellules adipeuses endommagées suite à une hyperlipidémie. Ils ont rapporté l'efficacité de *Portulaca oleracea* à augmenter la viabilité cellulaire et améliorer la dyslipidémie à différents degrés, grâce à un effet anti-inflammatoire, réduisant ainsi les taux de TNF- α et d'IL-6 sécrétés par les cellules adipeuses. Un effet similaire a été fourni par l'étude d'Oshaghi *et al.*, (2016), qui ont testé un extrait aqueux d'*Anethum graveolens* chez des rats diabétiques.

Les différentes études menées sur les effets protecteurs des polyphénols dans ces contextes pathologiques ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation (González-Gallego *et al.* 2010) et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation (Santangelo *et al.*, 2007). Des études *in vitro* et *in vivo* ont permis de montrer que les polyphénols pouvaient agir sur les enzymes du métabolisme de l'acide arachidonique (AA) : phospholipase A2, cyclooxygénase et lipoxygénase. Une inhibition de ces enzymes par les polyphénols réduit ainsi la production d'AA, de prostaglandines et de leucotriènes, médiateurs de l'inflammation (Guo *et al.*, 2009).

Des études menées *in vitro* ont également montré que des flavonoïdes comme la lutéoline ou l'apigénine inhibaient la production de cytokines telles que IL-4, IL-5 et IL-13, que la quercétine inhibait la production de TNF- α par des macrophages stimulés avec les lipopolysaccharides (LPS), que le kaempférol inhibait l'expression et la sécrétion du TNF- α , de l'IL-1 β et de l'IL-6 dans les mastocytes (González-Gallego *et al.*, 2010).

Il en ressort de ces études qu'une meilleure compréhension de l'action de ces plantes permet d'élaborer de nouveaux traitements antidiabétiques et hypolipémiants possédant moins d'effets secondaires

3. Le Clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

Le Clou de girofle (*Syzygium aromaticum* L.), connu sous le nom arabe «El Krenfel» fût l'une des premières épices à faire l'objet d'un commerce florissant dès l'antiquité. Aujourd'hui, leur présence dans les plats indiens ou maghrébins, mélangés à d'autres épices (ras el hanout du Maghreb), permet de les déguster sans y penser. Il est largement utilisé en médecine dentaire pour sa propriété d'anesthésique local. En raison de ses nombreuses activités pharmacologiques, *S. aromaticum* peut être considéré comme un candidat-médicament potentiel pour de nombreuses maladies (Mbaveng & Kuete, 2017).

3.1. Aspects Botaniques

Syzygium aromaticum, est un arbre de la famille des *Myrtacées*, de 12 à 15 mètres de hauteur, au feuillage persistant vert sombre, originaire d'Indonésie (îles volcaniques des Moluques). Les fleurs se présentent sous la forme d'un long pédoncule, petite fleur à l'extrémité des rameaux, à 4 pétales blanc rosé qui sont caractérisées par leurs sépales rouges persistants (Fig. 13). Ce sont les boutons floraux cueillis avant épanouissement que l'on appelle les clous de girofle. Ils ont un aspect caractéristique brun foncé, à saveur chaude, brûlante, légèrement amère et fortement aromatique (Ghedira *et al.*, 2010).

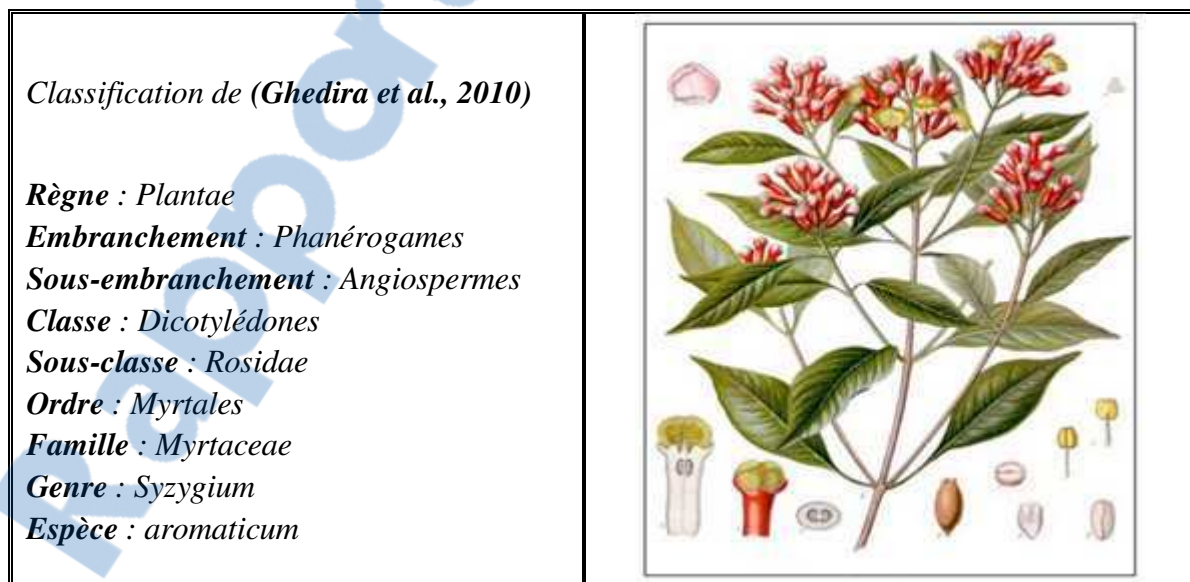


Fig. 13. Classification botaniques de *Syzygium aromaticum* (clou de girofle) (Ghedira *et al.*, 2010).

3.2. Phytochimie et activités pharmacologiques du clou de girofle

Syzygium aromaticum représente l'une des sources les plus riches en composés phénoliques, principalement de l'eugénol et l'acétate d'eugénol, composés volatils de l'huile essentielle de girofle connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (**Oboh et al., 2015**). En effet, l'eugénol est un fort inhibiteur de peroxyde d'hydrogène et bloque l'oxydation d'ADN (**Nam & Kim, 2013**). De plus, **Sung et al., (2012)** ont constaté que l'eugénol inhibait la sécrétion du TNF- α .

Plusieurs études ont montré que *S. aromaticum* exerce diverses actions pharmacologiques, notamment des activités antioxydantes, hypoglycémiques et anti-inflammatoires (**Tableau IV**). *Syzygium* est un genre très utilisé en médecine traditionnelle. Il est utilisé pour les troubles gastro-intestinaux (**Adeyemi et al., 2003**), les maladies infectieuses comme la malaria, la tuberculose et le choléra (**Chandrasekaran & Venkatesalu, 2004**). Les huiles essentielles du genre *Syzygium* sont utilisées comme antibactériens, antifongiques, et insecticides (**Beg & Ahmad, 2002 ; Burt & Reinders, 2003**). Par ailleurs, des études phytochimiques de l'extrait aqueux de *S. aromaticum* ont conduit à l'isolement et la caractérisation de nombreux alcaloïdes (**Tiwari et al., 2014**), des flavonoïdes (kaempférol et la rutine) (**Shi et al., 2014**), de triterpène (**Khathi et al., 2013**), de glucoside de quercétine, et d'acide gallique (**Adefegha et al., 2016**). Ainsi, les flavonoïdes pourraient diminuer l'efflux de glucose en inhibant les transporteurs Glut₁, Glut₂ et SGLT1 du glucose (**Martin et al., 2003**). L'administration intrapéritonéale de certains flavonoïdes tels que : la quercétine, pour des rats normaux et rendus diabétiques par la streptozotocine, induit une réduction des taux de cholestérol et les triglycérides plasmatiques, augmente l'activité des glucokinases hépatiques probablement par l'augmentation de la sécrétion d'insuline, à partir des îlots pancréatiques (**Pinent et al., 2004**).

D'autres chercheurs ont démontré que les alcaloïdes suivants : l'harmane, le norharmane, le pinoline et les beta-carbolines sont connus pour avoir une action insulinosécrétrice. Ces composés agissent par interaction avec le récepteur imidazoline-I-3 (site de fixation au niveau des cellules β pancréatiques), ce qui provoque une élévation du calcium cytosolique et une augmentation de la sécrétion d'insuline (**Squires et al., 2004**).

Tableau IV. Quelques études sur les effets thérapeutiques du genre *Syzygium*

Nom scientifique	Métabolites/ Parties utilisées	Modèles biologiques	Effets thérapeutiques	Références
<i>S. aromaticum</i>	Extrait aqueux/ Bourgeons	<i>In vitro</i>	⊃ α-glucosidase	Toda <i>et al.</i> , (2000)
<i>S. aromaticum</i>	Poudre/ bourgeons	Rats-RHPC	⊃ dyslipidémie ⤴ SOD, CAT	Shyamala <i>et al.</i> , (2003)
<i>S. aromaticum</i>	bourgeons	<i>In vitro</i> (hépatocyte)	⊃ l'expression du glucose 6- phosphatase	Prasad <i>et al.</i> , (2005)
<i>S. aromaticum</i>	Poudre/bourgeons	Patients-D	⊃ glycémie ⊃ TG ⊃ CT et C-LDL	Khan <i>et al.</i> , (2006)
<i>S. cordatum</i>	Acide oléanolique	Rats-D-STZ	⤴ l'excrétion de Na ⁺ ⤴ TFG	Mapanga <i>et al.</i> , (2009)
<i>S. aromaticum</i>	Extrait aqueux/ bourgeons	Rats-D-STZ	⊃ glycémie ⊃ peroxydation lipide ⤴ statut antioxydant	Shukri <i>et al.</i> , (2010)
<i>S. aromaticum</i>	Acide oléanolique/ bourgeons	Rats-D-STZ (Foie)	rétablit les enzymes glycogéniques	Ngubane <i>et al.</i> , (2011)
<i>S. aromaticum</i>	Extrait aqueux/ bourgeons	Poissons/ RHC	⊃ dyslipidémie ⊃ stress	Jin & Cho, (2011)
<i>S. aromaticum</i>	Acide oléanolique/ bourgeons	Rats-D-STZ	⤴ l'excrétion de Na ⁺ ⊃ créatinine ⊃ PA ⤴ TFG	Hlengiwe <i>et al.</i> , (2012)
<i>S. aromaticum</i>	Poudre/bourgeons	Patients- HPLP	⊃ CT, C-LDL, C- VLDL ⊃ TG ⤴ C-HDL	Balasarikha & Lakshmi (2012)

TFG: taux de filtration glomérulaire, **RHPC:** régime hypercalorique, **RHC:** régime riche en cholestérol, **HPLP:** hyperlipidémique, **PA:** pression artérielle

Suite Tableau IV. Quelques études sur les effets thérapeutiques du genre *Syzygium*

Nom scientifique	Métabolites/ Parties utilisées	Modèles biologiques	Effets thérapeutiques	Références
<i>S. aromaticum</i>	Extrait phénolique/ bourgeons	<i>In vitro</i> (pancréas)	↘ α-amylase et α-glucosidase	Adefegha et al., (2012 ; 2016)
<i>S. aromaticum</i>	Extrait éthanolique/ bourgeons	Souris-obèses- RHPC	↘ lipides-tissu adipeux/hépatique	Jung et al., (2012)
<i>S. aromaticum</i>	Triterpènes	Rats-D-STZ	↘ glycémie postprandiale	Khathi et al., (2013)
<i>S. aromaticum</i>	Extrait éthanolique/ bourgeons	Rats-D-STZ	↘ glycémie	Chaudhry et al., (2013)
<i>S. aromaticum</i>	Eugenol/ bourgeons	Souris-D- db/db	↘ glycogène phosphorylase	Sanae et al., (2014)
<i>S. aromaticum</i>	Poudre/ bourgeons	Rats-D-RHPC- STZ	↘ glycémie ↘ α-glucosidase ↘ dyslipidémie ↗ SOD, CAT, GSH	Adefegha et al., (2014)
<i>S. cumini</i>	Extrait hydroalcoolique	Rats- hypertendus	↘ PA	Ribeiro et al., (2014)
<i>S. aromaticum</i>	L'huile essentiel/ bourgeons	Rats-D- dexaméthasone	↘ glycémie ↘ dyslipidémie	Netharakere et al., (2015)
<i>S. polyanthum</i>	Extrait méthanolique	Rats-D-STZ	↘ glycémie	Widyawati et al., (2015)
<i>S. aromaticum</i>	Acide oléanolique	Rats- hypertendus	↘ PA ↗ l'excrétion de Na ⁺	Madlala et al., (2015)
<i>S. cumini</i>	Poudre/graines	Rats-Obèses- RHPC	↘ glycémie postprandiale ↗ Insuline	Ulla et al., (2017)
<i>S. cumini</i>	Extrait polyphénolique	Rats-D-Stress	↗ capacité antioxydante	Chagas et al., (2018)
<i>S. cumini</i>	Extrait polyphénolique /feuilles	Rats-D- Alloxan	↘ glycémie ↘ HbA1c ↘ TNF-α et l'IL-1α ↗ Insuline ↗ glycogène du foie	Ajiboye et al., (2018)
<i>S. aromaticum</i>	β-caryophyllène/ bourgeons	Rats-RHC	↘ CT et C-LDL ↗ C-HDL	Harb et al., (2018)

TFG: taux de filtration glomérulaire, **RHPC:** régime hypercalorique, **RHC:** régime riche en cholestérol, **HPLP:** hyperlipidémique, **PA:** pression artérielle

4. Choix du modèle expérimental

Le rat est un excellent modèle animal fréquemment utilisé pour étudier les pathologies métaboliques, en particulier le diabète et la dyslipidémie. Il se révèle particulièrement adéquat pour l'étude des effets des plantes et leurs extraits sur l'hyperglycémie provoquée par la streptozotocine (STZ) (**Jovanović et al., 2017**) et sur la l'hypercholestérolémie induite par régime alimentaire riche en cholestérol (**Khan et al., 2018**). En effet, au sein du notre laboratoire (LNCM), le rat Wistar est toujours utilisé comme modèle animal pour étudier le diabète (**Djellouli et al., 2014 ; Benaicheta et al., 2016**), l'hypercholestérolémie (**Hamza-Reguig et al., 2013 ; Athmani et al., 2015 ; Mir et al., 2015**), l'obésité (**Louala et al., 2013**) et l'hypertension associée au diabète (**Khelladi et al., 2018**). Cette étude a été menée suivant deux stratégies différentes :

La première partie de la thèse conduite sur le modèle de rat rendu diabétique par injection intrapéritonéale de streptozotocine, à la dose de 55 mg/kg de poids corporel. La STZ est un glucosamine nitrosé communément utilisé pour induire le diabète de type 1 chez l'animal, par destruction rapide et sélective des cellules β pancréatiques sécrétrices d'insuline (**Qinna & Badwan, 2015**). Il a été rapporté que l'injection intraveineuse de streptozotocine chez le rat Wistar provoque une dégénérescence des cellules β de Langerhans et induit un diabète sucré dans les 72 heures (**Pandurangan & Kim, 2016**). Les principaux mécanismes impliqués dans l'action diabétogène de la streptozotocine sont, une génération des espèces réactives de l'oxygène, qui induisent la destruction des cellules β , l'alkylation de l'ADN et des dommages tissulaires entraînant une diminution de la libération d'insuline endogène (**Stephen-Irudayaraj et al., 2012**).

En parallèle, dans le deuxième volet de cette thèse, nous avons travaillé pendant 4 semaines sur le modèle de rat rendu hypercholestérolémique, par un apport alimentaire supplémenté avec 1% de cholestérol alimentaire et 0,5% d'acide cholique (favorise l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire). En effet, l'hypercholestérolémie provoquée chez le rat Wistar par un apport alimentaire élevé en cholestérol (1%), entraîne une augmentation du CT, C-LDL et du C-VLDL (**Fidèle et al., 2017**). Cette hypercholestérolémie, favorise l'augmentation des radicaux libres qui exercent leurs effets cytotoxiques par la lipoperoxydation ou par la réduction de la transcription du gène des récepteurs des LDLs subséquentes à l'accumulation de cholestérol au niveau hépatiques (**Semenkovich & Heinecke, 1997**).

1. Etude phytochimique et cytotoxique de *Syzygium aromaticum*

Les plantes de la famille des *Myrtaceae* sont très aromatiques et ont été connues pour améliorer les propriétés sensorielles des aliments. Certaines plantes de cette famille ont également été appréciées pour leurs valeurs médicinales. Afin de mieux comprendre l'utilisation traditionnelle de *Syzygium aromaticum* (clou de girofle), nous avons entrepris une étude phytochimique et cytotoxique de cette espèce.

1.1. Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de *Syzygium aromaticum*

Syzygium aromaticum (*Sa*) a été achetée chez un herboriste de la ville d'Oran. Il s'agit d'une épice dénommée clou de girofle originaire des îles volcaniques de l'archipel des Moluques en Indonésie (importée de Madagascar). La partie utilisée de la plante pour effectuer l'extraction sont les boutons floraux du *S. aromaticum* qui vont être pulvérisés à l'aide du broyeur électrique.

50 g de poudre des boutons floraux du *Sa* sont mélangés avec 500 mL d'eau distillée, le mélange est porté à frémissement durant 30 min (**Fig. 14**). Le décocté obtenu est filtré, congelé à -70°C, pour être ensuite lyophilisé (Christ, Alpha 1-2 LD). Le rendement de l'extrait lyophilisé de *Sa* est d'environ 23%.

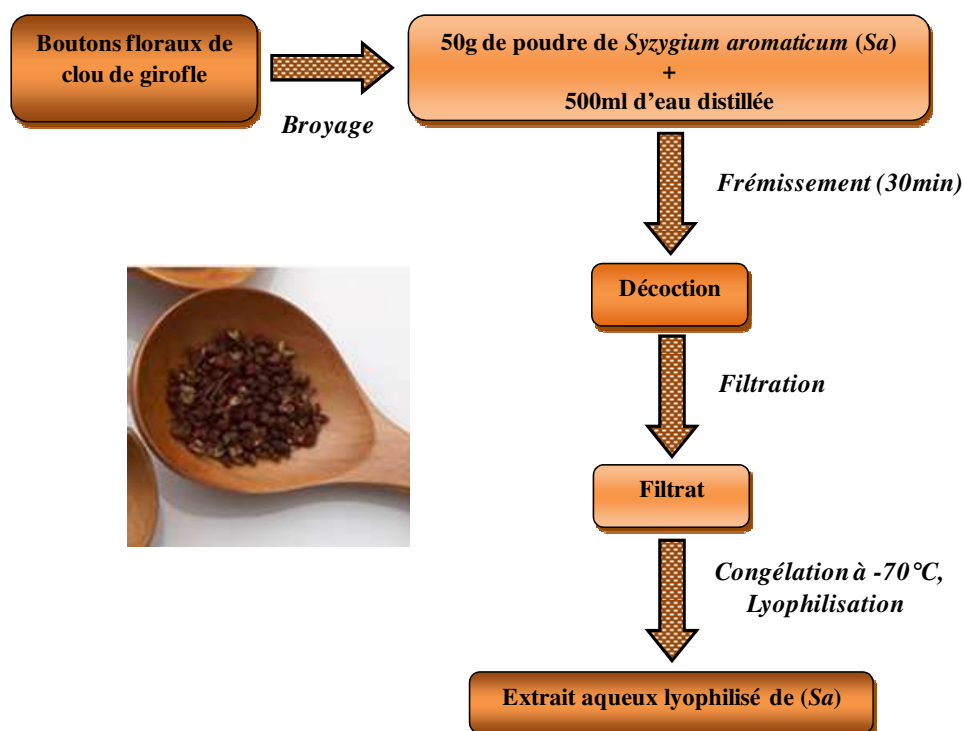


Fig. 14. Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle.

1.2. Analyse de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle par HPLC/UV(DAD)

La détection UV-visible est le mode de détection couplé à la chromatographie liquide qui est de loin le plus utilisé aujourd'hui pour l'analyse des produits naturels possédant un ou plusieurs chromophores (Rouessac & Rouessac, 2009). Les analyses par la chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC/UV(DAD) ont été effectuées à l'aide d'une chaîne HPLC Agilent Technologies 1260 infinity (Zorbax, RRHD), munie d'une pompe et d'un détecteur UV à barrettes de diodes (DAD-UV) pilotés par le logiciel D-7000 HSM (Merck). La pompe garde un débit bien précis pour que le temps de rétention (TRs) de chaque pic puisse être employé pour identifier l'échantillon à tester tout en comparant les chromatogrammes des standards avec celui de l'échantillon. En se basant sur ces généralités, la méthode chromatographique a été optimisée à partir d'un extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle avec pour objectif de visualiser un maximum de molécules extraites à une longueur d'onde de 254 nm. La méthode développée est un gradient constitué d'eau ultra-pure et de méthanol tous les deux acidifiés avec 0,2% d'acide acétique (20:80 V/V). La séparation a été réalisée à 1mL/min et à 25°C en phase inverse avec une colonne RP-C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) en injectant 20 µL d'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle.

1.3. Détermination *in vitro* de l'activité antioxydante

1.3.1. Mesure du pouvoir antiradicalaire par le test DPPH

La méthode du DPPH introduite par Banerjee *et al.*, (2012) est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH) qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPH-H (Fig. 15). 3 mL de la solution d'extrait testée à différentes concentrations (0,2, 0,4, 0,6, 0,8 et 1 mg/mL) sont mélangées avec 75 µL d'une solution méthanolique de DPPH (1,3 mg/mL).

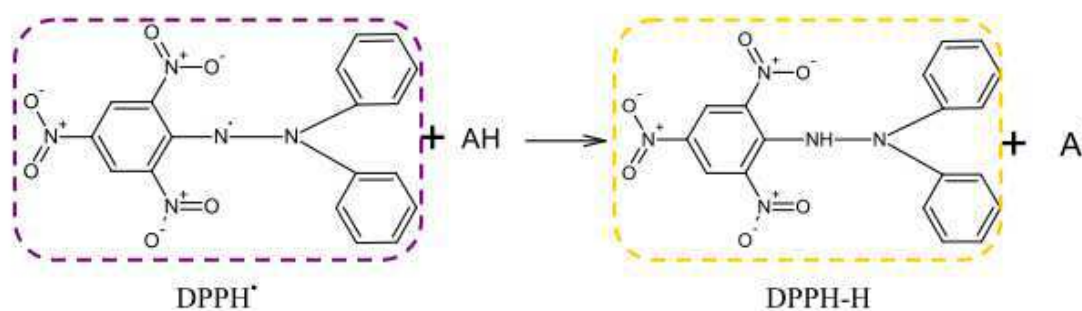


Fig. 15. Principe de piégeage du DPPH (Popovici *et al.*, 2009).

L'inhibition du radical libre DPPH par le Trolox (acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique) (analogue hydrophile de la vitamine E) a été également utilisée comme référence et analysé aux mêmes concentrations pour faire la comparaison. Après 60 min d'incubation à l'obscurité, la réduction du DPPH en DPPH-H⁺ induit une perte de sa couleur violette qui peut être suivie à 517 nm. L'activité anti-radicalaire obtenue à partir de l'extrait aqueux de clou de girofle a été exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH suivant l'équation :

$$PI (\%) = \left[\frac{A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}}{A \text{ blanc}} \right] \times 100$$

A blanc correspond à l'absorbance du contrôle négatif (méthanol).

A échantillon correspond à l'absorbance de l'échantillon.

Ainsi, les résultats sont exprimés en concentration inhibitrice médiane (CI₅₀) qui est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. Elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur de la CI₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée. Cependant, la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire est calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés.

1.3.2. Détermination de la teneur en composés phénoliques totaux (CPT)

Les composés phénoliques totaux (CPT) sont déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu basé sur la réduction d'un complexe jaune de molybdotungstane par les composés phénoliques donnant une coloration bleue au produit de la réaction (**Boligon et al., 2009**). 0,5 mL d'extrait de clou de girofle et 2 mL de carbonate de sodium (75 g/L) sont ajoutés à 2,5 mL du réactif de Folin-Ciocalteu à 10% (v/v). L'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) est utilisé comme standard. Après 30 min de réaction à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 765 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait.

1.4. Test de toxicité de clou de girofle chez le rat Wistar

Une substance cytotoxique se définit comme une molécule qui est toxique pour la cellule à divers degrés, du simple trouble métabolique à l'apoptose. L'étude de la toxicité est une analyse qualitative et quantitative de l'altération irréversible des fonctions vitales après administration régulière d'une substance dans un délai de quelques minutes à quelques jours. Elle permet de déterminer la dose qui ne produit pas d'effets toxiques (**Parasuraman, 2011**).

Les propriétés toxiques de clou de girofle ont été étudiées chez le rat Wistar par voie orale pendant 10 jours. Pour cela, les rats sont répartis en quatre groupes (n=8) et reçoivent quotidiennement, l'extrait aqueux lyophilisé de *Syzygium aromaticum* à doses croissantes de 1, 2, 3 et 4 g/kg poids corporel (PC) (*Sa-1*, *Sa-2*, *Sa-3* et *Sa-4*), respectivement. Les différentes doses sont administrées par gavage aux différents groupes de rats, à raison d'une dose par groupe soit 1mL pour 100 g du poids corporel. Le groupe contrôle (n=8) reçoit seulement de l'eau durant l'expérimentation.

Après l'administration de l'extrait aqueux lyophilisé de *Sa*, les animaux sont observés individuellement durant les 10 jours. Pendant cette période, nous avons enregistré le nombre des rats survivants ainsi que le comportement et les troubles symptomatologiques (démarche anormale, activité réduite, difficulté de respiration ou tremblement) observés à l'œil nu.

1.4.1. Détermination de la dose létale médiane (DL₅₀)

La DL₅₀ d'un extrait est égale à la dose qui entraîne la mort de 50% de l'effectif des rats d'un groupe. La DL₅₀ est déterminée par l'équation de **Dragstedt & Lang, (1957)**.

$$DL_{50} = \frac{(50(X_2 - X_1) + X_1 Y_2 - X_2 Y_1)}{Y_2 - Y_1}$$

X1 : Dose inférieure encadrant la DL₅₀

X2 : Dose supérieure encadrant la DL₅₀

Y1 : Pourcentage de mortalité correspondant à *X1*

Y2 : Pourcentage de mortalité correspondant à *X2*

1.4.2. Détermination de quelques paramètres biochimiques

Le foie et les reins, organes qui régissent d'ordinaire le métabolisme et l'excrétion, sont particulièrement sensibles aux agents toxiques potentiels; leur fonction doit donc être surveillée dans les études toxicologiques (OMS, 2000). Pour cela, cette partie permet de rechercher d'éventuels effets toxiques de clou de girofle, après 10 jours, chez les rats survivants des différents groupes, par le dosage de quelques paramètres biochimiques en relation avec le métabolisme lipidique et glucidique, la fonction hépatique et la fonction rénale. Les prélèvements du sang sont effectués au début (t_0) et à la fin de l'expérimentation (J_{10}), au niveau de la veine caudale, chez les rats à jeun pendant 12 heures. Le sang prélevé est centrifugé à $1000 \times g$ pendant 20 min à 4°C . Le sérum obtenu est utilisé en vue d'analyses des paramètres biochimiques à l'aide de kits de dosages standards commercialisés (Kits Spinreact, Spain).

1.4.2.1. Détermination de l'activité des transaminases

Les transaminases sont des enzymes prédominantes dans le foie, le muscle et notamment dans le cœur. Ce sont des marqueurs importants du fonctionnement hépatique, leur augmentation reflète une lésion cellulaire. L'activité d'alanine aminotransférase (ALT) et de l'aspartate aminotransférase (AST) est mesurée par des méthodes enzymatiques colorimétriques. L'alanine aminotransférase (ALT) est une transaminase connue sous le nom de glutamate-pyruvate-transaminase (GPT). ALT catalyse le transfert du groupe aminé de la L-alanine vers l' α -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. Cependant, l'aspartate aminotransférase (AST) est une transaminase également connue sous le nom de glutamate-oxalo-acetate-transaminase (GOT). Elle catalyse le transfert du groupe aminé du L-aspartate vers l' α -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=340$ nm.

1.4.2.2. Dosage du cholestérol total

Le cholestérol total (CT) est mesuré par une méthode enzymatique colorimétrique. Le cholestérol présent dans l'échantillon donne après hydrolyse enzymatique et oxydation un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. L'indicateur colorimétrique est la quinonéimine formé à partir du 4-amino-antipyrine et le phénol par le peroxyde d'hydrogène sous l'action de la peroxydase. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=500$ nm.

1.4.2.3. Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides (TG) est réalisé par méthode enzymatique colorimétrique. Il s'agit d'une hydrolyse enzymatique des TG suivie du dosage colorimétrique du glycérol libre. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=500$ nm.

1.4.2.4. Dosage de la créatinine

La créatinine sérique est déterminée par une méthode cinétique. La créatinine présente dans l'échantillon réagit avec le picrate en milieu alcalin pour donner un complexe coloré. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 490$ nm.

1.4.2.5. Dosage du glucose

La glycémie est mesurée à l'aide d'un glucomètre (ACCU-CHEK Active, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

2. Protocoles expérimentaux chez les animaux

Des rats mâles de souche Wistar (Institut Pasteur, Alger, Algérie) ayant un poids supérieur à 150g et âgés de 8 semaines sont utilisés dans cette étude. Les animaux sont placés dans une animalerie où la température est maintenue à 24°C, avec alternance jour/nuit de 12h et une hygrométrie moyenne de 55%. L'eau est administrée à volonté. Les conseils pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire sont suivis (**Council of European Communities, 1987**).

2.1. Induction du diabète

Les rats (n=24) pesant 270 ± 10 g consommant le régime contenant 20% de caséine (**Cas**) (**Tableau V**), sont rendus diabétiques après injection intrapéritonéale d'une dose unique de streptozotocine (STZ) (Sigma, St Louis, Mo, USA) à raison de 55 mg/kg PC, diluée dans du tampon citrate (0,05 M, pH 4,5) juste avant son utilisation. L'hyperglycémie est confirmée 48 heures après injection de STZ sur un prélèvement sanguin effectué au niveau de la veine caudale en utilisant un glucomètre (ACCU-CHEK Active, Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne). Seuls les animaux dont la glycémie à jeun est supérieure à 16 mmol/L sont considérés comme diabétiques.

2.2. Induction de l'hypercholestérolémie

Vingt quatre rats pesant 180 ± 5 g sont soumis pendant 15 jours à un régime à 20% de caséine supplémenté avec 1% de cholestérol alimentaire et 0,5% d'acide cholique (**Cas-Ch**) (**Tableau V**). L'hypercholestérolémie est confirmée après cette phase d'adaptation sur des échantillons sanguins prélevés au niveau de la veine caudale. Seuls les rats répondeurs qui présentent une hypercholestérolémie ($CT > 4$ mmol/L) sont utilisés dans cette étude. Le groupe contrôle (C) (n=8) consomme durant toute l'étude le régime caséine (**Cas**).

Tableau V. Composition des régimes en g/kg de régime¹

	Cas	Cas-Ch
Caséine ²	200	200
Amidon de maïs ³	590	585
Huile de tournesol ⁴	50	50
Saccharose ⁵	50	40
Cellulose ⁶	50	50
Mélange vitaminique ⁷	20	20
Mélange minéral ⁸	40	40
Cholestérol ⁹	-	10
Acide cholique ¹⁰	-	5

¹Les régimes sont isoénergétiques (17,8 MJ/kg de régime) et sont donnés sous forme de poudre. **Cas** : régime à 20% de caséine ; **Cas-Ch** : régime à 20% de caséine supplémenté avec 1% de cholestérol alimentaire et 0,5% d'acide cholique.

^{2,6}Prolabo, Paris, France.

³SPA, Maghnia, Tlemcen, Algérie. ⁴Cévital, SPA, Bejaïa, Algérie: Huile de tournesol (13% AGS, 22% AGMI, 65% AGPI). ⁵Sucre cristallisé, Cévital, Algérie. ⁷UAR 200 (Villemoisson, 91360, Epinay/S/Orge, France), mélange vitaminique (mg/kg de régime) : Vit A, 39600 UI; Vit D₃, 5000UI, Vit B₁, 40; Vit B₂, 30; Vit B₃, 140; Vit B₆, 20; Vit B₇, 300; Vit B₁₂, 0,1; Vit C, 1600; Vit E, 340; Vit K, 3,80; Vit PP, 200; choline, 2720; Acide folique, 10; Acide para-aminobenzoïque, 180; Biotine, 0,6; cellulose, qsp, 20g.

⁸UAR 205 B (Villemoisson, 91360, Epinay/S/Orge, France), mélange minéral (mg/kg de régime) CaHPO₄, 17200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO₂, 420; MgSO₄, 2000; Fe₂O₃, 120; FeSO₄, 7H₂O, 200; MnSO₄, H₂SO₄, H₂O, 98; CuSO₄, 5H₂O, 20; ZnSO₄, 80; CuSO₄, 80; CuSO₄, 7H₂O; KI, 0,32.

^{9,10}Sigma-Aldrich Chemie, Germany.

2.3. Traitement avec l'extrait aqueux lyophilisé de *Syzygium aromaticum* (clou de girofle)

Les rats diabétiques et hypercholestérolémiques consomment respectivement les régimes (**Cas et Cas-Ch**), pendant 4 semaines. Les rats diabétiques sont répartis en 3 groupes de 8 rats chacun. Le groupe diabétique non traité (**D**) reçoit seulement de l'eau, alors que le groupe traité reçoit quotidiennement à l'aide d'une sonde de gavage, l'extrait aqueux lyophilisé de *Syzygium aromaticum* (**D-Sa**) (2g/kg PC dissout dans l'eau distillée) ou la metformine comme composé de référence (**D-MTF**) à raison de 350 mg/kg PC dissoutes dans l'eau distillé. De même, les rats rendus hypercholestérolémiques sont divisés en 3 groupes homogènes (n=8) et reçoivent de l'eau (**HC**) ou de l'extrait aqueux lyophilisé de *Syzygium aromaticum* (**HC-Sa**) à raison de 2 g/kg PC ou de la l'atorvastatine comme composé de référence (**HC-ATR**) à raison de 4 mg/kg PC.

La nourriture ingérée est estimée quotidiennement. Le poids des rats et la pression artérielle sont mesurés une fois par semaine. Durant les trois derniers jours de l'expérimentation, les rats sont placés dans des cages à métabolisme afin de recueillir les urines et les fèces. Les urines des 24h des rats diabétiques sont collectées en présence d'un antiseptique (thymol-isopropanol à 10% (P/V)) et conservées à 4°C. Afin d'évaluer la digestibilité des lipides chez les rats hypercholestérolémiques, les fèces sont débarrassés de toutes nourriture, séchés dans une étuve à 40°C, puis broyés finement et conservés à 4°C.

2.4. Mesure de la Pression artérielle

La pression artérielle (PA) est mesurée au niveau de la queue du rat en utilisant le système de coiffe de queue (CODA 4, Kent Scientific Corporation, USA). Le système CODA 4 canaux, mesure la pression artérielle jusqu'à 4 rats simultanément. Ce système de queue-manchette utilise l'enregistrement de pression de volume pour mesurer la tension artérielle en déterminant le volume de sang de la queue. Pour adapter l'animal au support et aux manchettes, une période d'acclimatation est habituellement recommandée en plaçant l'animal dans le support pendant 15 minutes pendant 3 jours consécutifs avant l'étude proprement dite. Trente minutes avant les mesures, les rats sont placés sur une plateforme chauffante (32°C) afin d'augmenter l'afflux sanguin dans la queue, améliorant la détection du pouls. Le pouls est détecté à la queue, au-delà d'un brassard d'occlusion à l'aide d'un détecteur photoélectrique. Le gonflage du brassard est assuré par le système de manière contrôlée durant des périodes de 90 secondes pendant 20 minutes. La pression dans le brassard

d'occlusion et le signal d'impulsion sont surveillés et enregistrés dans un système PowerLab/400 (logiciel Chart for Windows).

2.5. Estimation des lipides ingérés, fécaux et digestibilité des lipides chez les rats hypercholestérolémiques

Les teneurs en lipides des régimes et des fèces sont déterminées selon la technique de **Delsal, (1944)**. Les lipides sont extraits par un mélange chloroforme : méthanol (4:1/v:v). Les solvants sont évaporés sous vide (Rotavapor Büchi) à 48°C. Après séchage du ballon, la quantité de lipides totaux de l'échantillon est estimée par la différence entre le poids final du ballon et le poids initial. Après récupération des lipides dans 10 mL d'isopropanol, le cholestérol ingéré et fécal est mesuré tels que décrit précédemment. La digestibilité des lipides exprimés en % est ensuite calculée comme suit :

$$\text{Digestibilité des lipides(\%)} = \frac{\text{Lipides ingérés} - \text{Lipides excrétés}}{\text{Lipides ingérés}} \times 100$$

2.6. Test de tolérance au glucose chez les rats diabétiques

Afin de vérifier l'efficacité de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle sur la régulation et l'utilisation périphérique du glucose, un test de tolérance au glucose est réalisé à J_{27} chez les rats diabétiques traités ou non, par une injection intrapéritonéale de 4g/kg PC de glucose. La glycémie est suivie pendant 2 heures à différents temps (0, 30, 60 et 120min). Le taux du glucose sanguin est mesuré tels que décrit précédemment.

2.7. Prélèvement des échantillons sanguins et des organes

À J_{28} , après 12 h de jeûne, les 8 rats de chaque groupe sont pesés puis anesthésiés, par injection intrapéritonéale d'une solution de chloral à 10% (3mL/kg PC). Le sang est prélevé par ponction de l'aorte abdominale dans des tubes secs. Une partie de sang total est utilisée pour mesurer l'hémoglobine glyquée, l'autre partie est centrifugée. Le sérum et le culot contenant les érythrocytes sont conservés à -20°C avec de l'azide de sodium (NaN_3) à 0,02% (P/V) et de l'EDTA- Na_2 à 0,1% (P/V). Les différents organes des rats diabétiques (reins, pancréas) et ceux des rats hypercholestérolémiques (foie, tissu adipeux) sont soigneusement prélevés, rincés avec une solution fraîche de NaCl à 0,9 % (P/V), séchés, pesés et conservés à -70°C. À partir de ces organes, des fragments sont prélevés pour l'étude histologique, ensuite fixés dans du formol tamponné à 10% (pH=7) (P/V), afin de garder l'échantillon dans un état proche du vivant.

3. Etude histologique

Les coupes histologiques sont réalisées selon la méthode de **Abo El-khair *et al.*, (2014)**. Les organes fixés dans du formol sont déshydratés dans des bains d'alcool éthylique de concentration croissante (70%, 80%, 90%, 100%), incorporés dans des blocs de paraffines, puis découpées par un microtome à une épaisseur de 5µm.

Ainsi, les coupes sont étalées, fixées sur les lames en utilisant de l'eau gélatineuse, et colorées par l'Hématoxyline-Eosine selon les étapes suivantes :

- Les lames sont déparaffinées par le xylène, hydratées par l'eau distillée, et immergées dans un bain de l'Hématoxyline de Harris (coloration des noyaux en bleu).
- Le cytoplasme des échantillons est coloré en rose par l'éosine.
- Après coloration, les coupes sont réhydratées dans des bains d'alcool à concentration croissantes
- Un milieu de montage (Eukitt) est réalisé pour conserver les coupes entre lame et lamelle.
- Les lames sont ensuite analysées au microscope (Leitz Wetzlar, Leica). Les photographies des coupes observées sont réalisées à l'aide d'un appareil photographique Leica III.

4. Analyses biochimiques

4.1. Mesure de la glycémie

La glycémie est déterminée chaque semaine sur un échantillon de sang total de la veine caudale, à l'aide d'un glucomètre (ACCU-CHEK Active, Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne).

4.2. Evaluation du pourcentage d'hémoglobine glyquée

L'hémoglobine glyquée (HbA_{1c}) est déterminée par méthode chromatographique échangeuse d'ions sur microcolonne (Kit Biocon, Allemagne). Après préparation de l'hémolysat, la fraction labile est éliminée, les hémoglobines sont retenues par une résine échangeuse de cations. L'HbA_{1c} est éluée de façon spécifique, après élimination par lavage de l'hémoglobine (HbA_{1(a+b)}) et est quantifiée par spectrophotométrie à 415 nm. La proportion d'HbA_{1c} est estimée en pourcentage par rapport à la concentration de l'hémoglobine totale.

4.3. Détermination de l'insulinémie

La détermination quantitative de l'insuline sérique est réalisée selon une technique immuno-enzymatique (EIA) (kit EIA, Spi-Bio, France), basée sur la compétition entre l'insuline libre et l'acétylcholinestérase (AChE) lié à l'insuline chez le rat (marqueur) sur des sites spécifiques de l'insuline contenant l'antisérum du cochon d'inde (**Fig.16**). Le complexe formé anticorps de cochon d'inde-insuline libre se lie avec l'anticorps anti-cochon d'inde (de la chèvre) fixé sur les puits. La plaque est ensuite lavée avec le tampon de lavage. Le réactif d'Ellman (contenant le substrat enzymatique de l'AChE et un chromogène) est ajouté aux puits. L'AChE réagit avec le réactif d'Ellman et induit la formation d'un composé coloré en jaune. L'intensité de cette coloration est déterminée par spectrophotométrie à $\lambda=405$ nm, celle-ci est proportionnelle à la quantité de marqueurs fixés sur les puits et est inversement proportionnelle à la quantité d'insuline libre du rat.

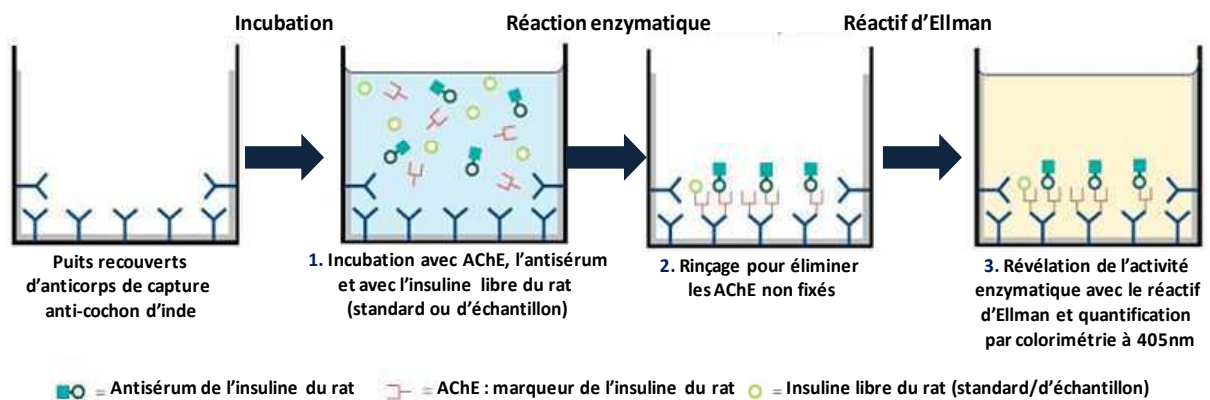


Fig. 16. Principe du dosage de l'insuline par la méthode EIA de type compétitive.

4.4. Evaluation des teneurs en urée, créatinine et estimation des activités enzymatiques de la LDH, γ -GT sériques

L'urée et les activités enzymatiques de la lactate déshydrogénase (LDH) et de gamma-glutamyl transférase (γ -GT) sont déterminées par des méthodes enzymatiques colorimétriques, tandis que la créatinine sérique et urinaire est mesurée par une méthode cinétique (Kit Spinreact, Spain).

4.4.1. Mesure de l'urée

L'urée présente dans l'échantillon donne en présence d'uréase et de nitroprussiate un indophénol coloré quantifiable par spectrophotométrie. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=600$ nm.

4.4.2. Mesure de la créatinine et le calcul du débit de filtration glomérulaire (DFG)

La créatinine sérique et urinaire est mesurée par une méthode cinétique (Kit Spinreact, Spain). La créatinine présente dans l'échantillon réagit avec le picrate en milieu alcalin pour donner un complexe coloré. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 500$ nm.

Le DFG est réalisée par le calcul de la clairance de la créatinine à partir de la récolte des urines de 24 heures (**Gondwe *et al.*, 2008**). Le débit de filtration glomérulaire est calculé selon la formule suivante :

$$DFG = \frac{\text{Créatinine Urinaire} \times \text{Volume Urinaire des 24 heures}}{\text{Créatinine Sérique} \times 1440 \text{ min}}$$

4.4.3. Mesure de l'activité enzymatique de la lactate-déshydrogénase (LDH)

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme importante dans le métabolisme des sucres, son augmentation témoigne d'un dommage tissulaire (hépatique, musculaire et cardiaque). La LDH catalyse la réduction du pyruvate par le NADH, H⁺. L'activité de LDH est déterminée par le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm.

4.4.4. Mesure de l'activité enzymatique de la gamma-glutamyl transférase (γ -GT)

La gamma-glutamyl transférase (γ -GT) est l'enzyme clé du cycle gamma-glutamyl permettant le recyclage du glutathion. Elle est largement distribuée dans les tissus et les organes et son activité est maximale dans le rein et le pancréas et faible au niveau hépatique. La γ -GT catalyse le transfert d'un groupe γ -glutamyl de la γ -glutamyl-p-nitroanilide au dipeptide accepteur glycylglycine. La vitesse de formation de la p.nitraniline qui est proportionnelle à l'activité de la γ -GT est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 405nm.

4.5. Dosages sériques des électrolytes

Les électrolytes (sodium (Na^+) et potassium (K^+)) sont mesurés dans le cadre de l'appréciation de la fonction rénale, par une méthode colorimétrique à l'aide de kits de dosages standards commercialisés (Kits Chronolab, Barcelone Espagne). Le sodium est précipité avec le Mg-d'acétate d'uranyle; les ions d'uranyle en suspension forment un complexe brun jaune avec l'acide thioglycolique. La différence entre la solution de l'essai témoin avec le réactif (sans précipitation du sodium) et l'analyse est proportionnelle à la concentration du sodium, et est mesurée à 360 nm. Les ions potassium dans un milieu alcalin sans protéines réagissent avec le tétraphénylborate de sodium pour produire une suspension du tétraphénylborate de potassium turbide et dispersée en tranches fines. La turbidité produite est proportionnelle à la concentration du potassium et lue de manière photométrique à 578nm.

4.6. Dosage de l'homocystéine totale

L'homocystéine (Hcy) est un acide aminé soufré ayant un rôle majeur dans le cycle de la méthionine, c'est aussi un marqueur de risque cardiovasculaire. L'homocystéine totale (Hcyt) représente la somme de toutes les formes d'Hcy dont les formes oxydées, formes liées aux protéines et formes libres. Le dosage de Hcyt sérique est effectué par la méthode EIA à l'aide d'un kit Elisa (ELISA Kits, Demeditec Diagnostics GmbH, Allemagne). L'Hcy oxydée qui est liée aux protéines est d'abord réduite en Hcy libre. L'Hcy réagit ensuite avec un co-substrat, la S-adénosyl-méthionine (SAM), pour former de la méthionine (Mét) et de la S-adénosyl-homocystéine (SAH) catalysée par une S-Hcy-méthyl-transférase (HMTase) (Fig. 17).

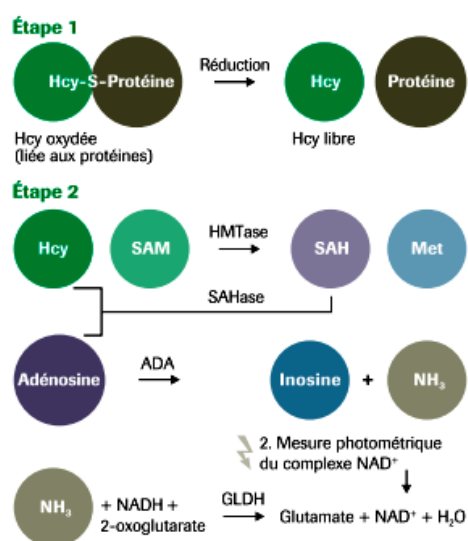


Fig. 17. Principe de dosage de l'homocystéine totale par la méthode EIA.

La SAH est évaluée dans des réactions enzymatiques couplées lors desquelles la SAH est hydrolysée en adénosine et Hcy sous l'action de SAH hydrolase. Hcy est introduite dans une réaction de conversion d'Hcy pour former un cycle réactionnel qui amplifie le signal de détection. L'adénosine formée est immédiatement hydrolysée en inosine et ammoniac (NH₃), qui réagit avec la glutamate déshydrogénase (GLDH) avec conversion concomitante de NADH en NAD⁺. La concentration d'Hcy dans l'échantillon est directement proportionnelle à la quantité de NADH converti en NAD⁺ à 340nm.

4.7. Détermination des teneurs sériques en albumine et en protéines totales

4.7.1. Albumine

Les teneurs en albumine sont déterminées par une méthode colorimétrique (Kit Spinreact, Spain). L'albumine présente dans l'échantillon donne après sa liaison avec le vert de bromocrésol, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'albumine présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 630$ nm.

4.7.2. Protéines totales

Les protéines totales sont dosées selon la méthode de **Lowry *et al.*, (1951)**. Sur 1mL du sérum ou 1g de tissu (reins, pancréas, foie et tissu adipeux). Le dosage des protéines au niveau tissulaire est effectué sur des homogénats préparés dans du KCl à 1,15% (P/V) à raison de 100mg de tissu dans 0,9 mL de KCl. Le sérum albumine bovine (SAB) (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA) est utilisé pour établir la courbe de référence. En milieu alcalin, le complexe formé par les ions Cu²⁺ et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines est réduit par le réactif de Folin. Il se développe alors une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines contenues dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=750$ nm.

4.8. Évaluation du profil lipidique

4.8.1. Extraction des lipides du foie

Les lipides totaux hépatiques sont extraits et estimés selon la méthode de **Delsal, (1944)** décrite précédemment sur 1 g de foie. Les lipides sont repris dans 10 mL d'isopropanol pour le dosage des différents constituants lipidiques.

4.8.2. Dosage des différents composés lipidiques du sérum et du foie

Cholestérol total et Triglycérides

Les teneurs du cholestérol total (CT) et des triglycérides (TG) sériques et hépatiques, sont déterminées par des méthodes enzymatiques colorimétriques développées précédemment.

Cholestérol libre et esters de cholestérol

Le cholestérol libre (CL) du sérum et du foie est estimé par une méthode enzymatique colorimétrique. Le CL présent dans l'échantillon donne après hydrolyse enzymatique et oxydation un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie (Kit Biolabo, France). L'indicateur est la mono-imino-p-benzoquinone-4-phénazone formé à partir du 4-amino-phénazone et le phénol par le peroxyde d'hydrogène sous l'action de la peroxydase. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 546$ nm. Le cholestérol estérifié est obtenu par différence entre le CT et le CL. Les esters de cholestérol (EC) correspondent au cholestérol estérifié multiplié par 1,67 (poids moléculaire moyen d'un acide gras qui estérifie le cholestérol).

Phospholipides

Les concentrations en phospholipides (PL) du sérum et de l'extrait lipidique du foie sont déterminées par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Cypress, Belgium). Les PL (lécithine, lysolécithine et sphingomyéline) sont hydrolysés par la phospholipase D et la choline libérée est ensuite oxydée par la choline oxydase (CHO) en peroxyde d'hydrogène. Ce dernier oxyde le phénol et le 4-amino-antipyrine grâce à la peroxydase (POD). La lecture s'effectue à une longueur d'onde $\lambda = 505$ nm.

4.8.3. Séparation et analyse des différentes fractions de lipoprotéines

4.8.3.1. Séparation des lipoprotéines de faible et haute densité

Les lipoprotéines de faible densité VLDL et LDL-HDL₁ sont séparées selon leur densité par méthode de précipitation décrite par **Burstein *et al.*, (1970)** qui utilise du phosphotungstate (Sigma Chemical Company, France) en présence du MgCl₂ pour séparer les lipoprotéines VLDL ($d < 1,006$) et LDL-HDL₁ ($1,006 < d < 1,075$). Alors que Les lipoprotéines de haute densité HDL₂ ($1,085 < d < 1,121$) et HDL₃ ($1,121 < d < 1,210$) sont précipitées par du sulfate de dextran (pm 500000) (Sigma Chemical Company, France) + MgCl₂ selon la méthode de **Burstein *et al.*, (1989)**. Toutes les centrifugations se font à température ambiante

(20°C), à 1000 x g pendant 30 min. Pour minimiser la contamination par les protéines sériques, les différentes fractions de lipoprotéines sont purifiées par lavages successifs. Les VLDL et les LDL-HDL₁ sont solubilisées dans une solution contenant du citrate trisodique et du NaCl, 0,01M, puis dans du tampon Tris-salin (NaCl 0,14M, Tris 0,05M, EDTA Na₂ 0,1%, pH 7,6). La solution est ensuite précipitée avec le sulfate de dextran 0,05% et le MgCl₂ 0,05M, incubée et centrifugée pour obtenir des surnageants qui correspondent aux fractions VLDL, LDL-HDL₁ purifiées. Les HDL₂ sont dissoutes dans la solution de solubilisation puis dans le tampon Tris-salin. Elles sont reprécipitées par addition de MgCl₂ 2M. Après centrifugation, le précipité est solubilisé dans de l'oxalate de potassium 0,5M et le surnageant contenant les HDL₂ est obtenu par une deuxième centrifugation. Le précipité qui correspond aux HDL₃ est solubilisé dans la solution de solubilisation puis dans l'oxalate de potassium 1M. Le pH est ajusté à 9,5 par du NaOH 1N. Le surnageant obtenu après centrifugation correspond à la fraction HDL₃.

4.8.3.2. Analyse des différents constituants des lipoprotéines

Les contenus en lipides (CT, CL, EC, TG et PL) des VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃ sont déterminés selon les méthodes décrites précédemment. Les teneurs en apolipoprotéine-AI (apo-AI) des différentes fractions de lipoprotéines sont mesurées par immuno-turbidimétrie (kit Orion Diagnostica, Spain). Les variations de turbidité, mesurées par spectrophotométrie à 340 nm sont proportionnelles à la quantité d'apo-AI présente dans l'échantillon.

4.8.4. Mesure de l'activité de la Lécithine:cholestérol acyl-transférase (LCAT)

L'activité de la LCAT, enzyme responsable de la conversion du cholestérol libre en cholestérol estérifié, est déterminée par une méthode endogène (Chen & Lacko, 1986), après 4h d'incubation à 37°C, à partir d'un acide gras et de lécithine. Le CL est dosé par la méthode enzymatique colorimétrique décrite précédemment. L'activité de la LCAT est exprimée en nanomoles de CE/h/ml de sérum. Elle est calculée selon la formule suivante :

$$\text{LCAT} = \frac{\text{CL } t0h - \text{CL } t4h}{4h \text{ d'incubation}}$$

t0h : avant incubation à 37°C

t4h : après 4h d'incubation à 37°C

5. Evaluation du statut redox

5.1. Mesure de la peroxydation lipidique

5.1.1. Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

La détermination des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) est réalisée par la mesure du malondialdéhyde (MDA), principal marqueur de la détermination des radicaux libres et des produits de dégradation des peroxydes lipidiques suite à l'exposition à un stress oxydatif. Cette méthode repose sur une réaction en milieu acide entre le MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) et la formation d'un pigment absorbant (complexe de condensation chromogénique) à 532 nm, extractible par des solvants organiques comme le butanol. La concentration en MDA est déterminée à partir d'une gamme étalon de MDA (Sigma-Aldrich Chemie, Germany).

5.1.1.1. TBARS des lipoprotéines

Les teneurs en TBARS des différentes fractions des lipoprotéines sont déterminées par la méthode de **Quintanilha *et al.*, (1982)**. A 100 mL d'échantillon dilués avec l'eau distillée (1:1, V/V) sont ajoutées 2 mL de mélange réactionnel contenant du TBA 0,017 mM et du buthylhydroxy-toluène (BHT) 3,36 μ M. Le mélange est incubé 30min à 85°C. Après refroidissement dans un bain glacé, les échantillons sont centrifugés à 1000 x g pendant 10min, à 4°C. L'absorbance du surnageant est mesurée à 535 nm.

5.1.1.2. TBARS tissulaires

Les homogénats tissulaires sont préparés à raison de 100 mg de tissu broyé dans 0,9 mL de KCl à 1,15%. Le milieu réactionnel contient 0,2 mL d'homogénat, 0,2 mL de solution contenant du SDS à 8,1%, 1,5 mL d'acide acétique à 20% (pH 3,5) et 1,5 mL d'une solution aqueuse d'acide thiobarbiturique à 0,8%. Le volume final du milieu réactionnel est ajusté à 4 mL avec de l'eau distillée. Les tubes sont incubés à 95°C pendant 60 min, puis placés dans un bain glacé pendant 5min afin de stopper la réaction. 1 mL d'eau distillée et 4 mL de butanol sont ajoutés dans des tubes puis sont vigoureusement agités et centrifugés à 1000 x g, pendant 10min (**Ohkawa *et al.*, 1979**). La lecture de la phase organique (supérieure) est effectuée à une longueur d'onde $\lambda=532$ nm.

5.1.2. Dosage des hydroperoxydes (HPO)

Les concentrations en hydroperoxydes sériques et tissulaires sont mesurées selon une méthode enzymatique et colorimétrique (kit Caymans, USA). Cette méthode est basée sur une réaction d'oxydo-réduction avec les ions ferreux pour produire des ions ferriques. Ces derniers sont détectés en utilisant l'ion thiocyanate comme chromogène. La lecture se fait par spectrophotométrie à 500 nm.

5.1.3. Dosage du 8-Isoprostane $F_{2\alpha}$ (8-IsoP $F_{2\alpha}$)

Les teneurs en 8-Isoprostane $F_{2\alpha}$ sériques sont déterminées par une méthode immuno-enzymatique de type compétitif (kit Cayman, USA). Le principe est basé sur la compétition entre la molécule 8-IsoP $F_{2\alpha}$ et la 8-IsoP $F_{2\alpha}$ conjuguée à l'acétylcholinestérase. L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la quantité de 8-IsoP $F_{2\alpha}$ présente dans le sérum. La lecture se fait par spectrophotométrie à 405 nm.

5.2. Mesure de l'oxydation protéique

La mesure de l'oxydation protéique est déterminée par le dosage des dérivés carbonyles tissulaires selon la méthode de **Reznick & Packer, (1994)** en utilisant le 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) (Sigma, France). La technique est réalisée sur 100 mg de tissu homogénéisés dans du tampon phosphate contenant de la digitonine 0,1%, et des antiprotéases (Sigma), centrifugés à $6000 \times g$ pendant 10 min. Dans 2 tubes, sont déposés 100 μ L de surnageant d'homogénat tissulaire, 500 μ L d'HCl 2,5 M (blanc échantillon) ou 500 μ L de DNPH 10 mM (échantillon). L'incubation se fait pendant 1h, à température ambiante et à l'obscurité en agitant toutes les 15 min. 0,55 mL d'acide trichloracétique à 20% est ajouté dans chaque tube. Après agitation puis centrifugation à $11\ 000 \times g$ pendant 3 min à 20°C, le surnageant est éliminé et le culot (contenant le DNPH) est lavé 3-fois avec 1 mL d'un mélange éthanol-acétate d'éthyle (1/1, V/V) puis centrifugé. Le surnageant est éliminé à chaque fois. Les protéines précipitées sont dissoutes dans 0,6 mL d'une solution de guanidine puis incubées pendant 15 min à 37°C. Un spectre d'absorption est réalisé entre 370 nm et la différence d'absorbance entre blanc-échantillon et échantillon est calculée. Le calcul de la teneur en dérivés carbonylés se fait en utilisant le coefficient d'extinction molaire du DNPH ($\epsilon=22.000 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

5.3. Mesure de la défense antioxydante

5.3.1. Préparation des homogénats tissulaires

Les tissus sont homogénéisés dans le tampon phosphate salin (PBS) à pH 7,4 pour la détermination de la capacité antioxydante totale (CA_{oxT}), le tampon phosphate à 200 mM (pH 7,8) pour la détermination de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD), à 0,12 mM (pH 7,2) celles de la glutathion peroxydase (GSH-P_x) et de la glutathion réductase (GSSH-Red). L'activité de la catalase (CAT) est estimée à partir d'un homogénat contenant du tampon phosphate à 50 mM (pH 7).

5.3.2. Mesure de la capacité antioxydante totale (CA_{oxT})

La capacité antioxydante totale est déterminée par une méthode colorimétrique (kit Cayman, USA). Le principe de dosage est basé sur la méthode ABTS. Le radical cationique ABTS^{•+} est formé par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS (acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (**Fig. 18**). En présence de Trolox (antioxydant de référence) ou d'un autre antioxydant donneur d'Hydrogène H[•], l'atome d'azote concerné piège un H[•], conduisant à l'ABTS⁺⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution à 750 nm.

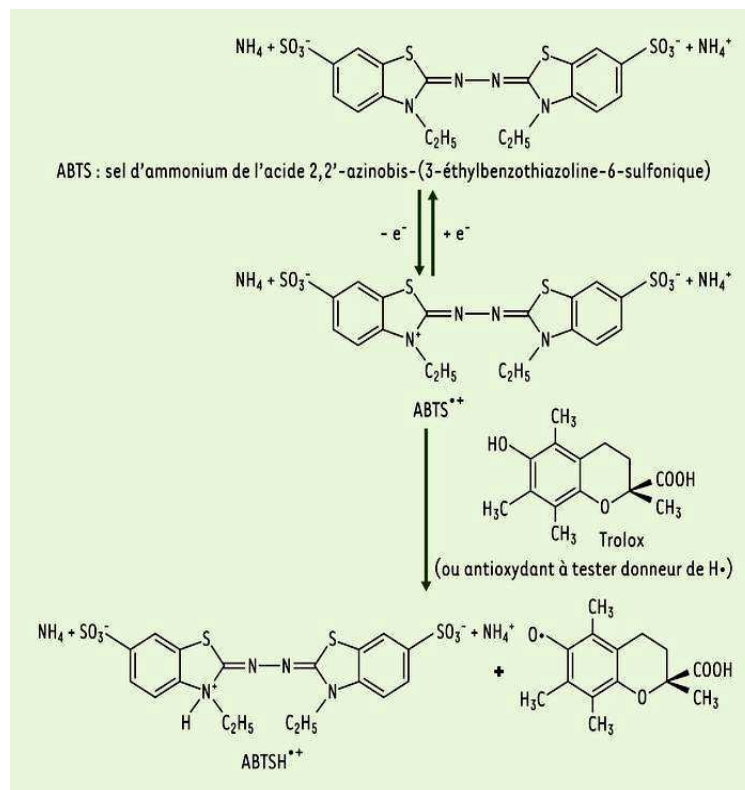


Fig. 18. Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•] (Lien *et al.*, 1999).

5.3.3. Mesure de l'activité de la SOD

L'activité de la superoxyde dismutase (EC.1.6.4.2) est mesurée en utilisant un chromogène le nitrobleu tetrazolium (NTB) afin de détecter les anions superoxydes générés suite à l'action de la xanthine oxydase et de l'hypoxanthine (Kit Cayman, USA). Cette méthode consiste à déterminer la capacité de l'enzyme à inhiber la réduction des anions superoxydes par le NTB. Une unité SOD est définie comme étant la quantité nécessaire à l'inhibition de 50% de la dismutation du radical superoxyde. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 560$ nm.

5.3.4. Mesure de l'activité de la GSH-Px

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

5.3.5. Mesure de l'activité de la GSSH-Red

L'activité de la GSSH-Red (EC 1.6.4.2) est déterminée par la mesure du taux d'oxydation du NADPH, en présence de glutathion oxydé. L'unité d'activité de cette enzyme est définie comme la quantité d'enzyme capable d'oxyder 1 mmol de NADPH par minute. Cette activité est mesurée par rapport à l'activité d'une GSSH-Red de référence à 340 nm (Kit Cayman, USA).

5.3.6. Mesure de l'activité de la CAT

L'activité de la catalase (EC 1.11.1.6) est réalisée selon la méthode décrite par **Aebi, (1974)** par la mesure du taux de décomposition du H_2O_2 . Le dosage s'effectue sur 250 μL de surnageant d'homogénat tissulaire. 250 μL d' H_2O_2 (30 mmol dans du tampon phosphate à 50 mM) et 250 μL de tampon phosphate sont rajoutés, la solution est ensuite agitée et incubée pendant 5 min. Après addition de titanium sulfate (TiOSO_4), la lecture est réalisée par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 420$ nm.

5.3.7. Mesure de l'activité de la paraoxonase 1 (PON1)

L'activité de la PON1 (EC 3.1.8.1) est déterminée au niveau du sérum selon la technique de **Schiavon *et al.*, (1996)**. Cette enzyme catalyse le clivage de l'acétate de phényle entraînant la formation de phénol. Le taux de formation de phénol est mesuré en suivant l'augmentation de l'absorbance à $\lambda = 270\text{nm}$. A 10 μL d'échantillon est ajouté 1mL de solution tampon Tris/HCl à 20 mM, 10 mM d'acétate de phényle et 1 mM de CaCl_2 , pH 8. L'activité enzymatique de la PON1 est calculée par rapport au coefficient d'absorption molaire du phényle ($1310 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

6. Évaluation du statut inflammatoire

6.1. Dosage du facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF- α), de l'interleukine-6 (IL-6) et de l'interleukine-1 β (IL-1 β)

Les concentrations du TNF- α , d'IL-6 et d'IL-1 β dans le sérum sont déterminées par des tests immuno-enzymatiques Elisa spécifiques (kit RayBiotech, Norcross GA, USA). Brièvement, des plaques 96 puits sont traitées par 50 mL/puits d'une solution du premier anticorps monoclonal de capture dilué dans du PBS/thimérosal 0,05 % (P/V). Après une nuit d'incubation, scellées hermétiquement et à 4°C, et après trois lavages supplémentaires, 25 μL d'échantillon et 25 μL d'une solution d'anticorps biotinylés sont déposés en double dans chaque puits, et les plaques sont incubées 2 heures à température ambiante. Après lavages, 50 μL d'une solution de streptavidine-HR-peroxydase sont déposés dans chaque puits. Après 1 heure d'incubation à température ambiante, la réaction enzymatique est révélée par du dichlorate d'O-phénylènediamine (OPD SigmaFast, Sigma) déposé après 4 lavages supplémentaires. La lecture est réalisée par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=450 \text{ nm}$.

7. Analyses statistiques

7.1. Etude phytochimique

Les tests ont été effectués 6 fois afin de s'assurer de la reproductibilité des résultats. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard (\pm ES) de six mesures par échantillon. Après analyse de variance (Statistiques élémentaires), la comparaison des moyennes est réalisée entre les groupes **Sa-0,2**, **Sa-0,4**, **Sa-0,6**, **Sa-0,8**, **Sa-1** et **Trolox**, par le test 't' pour des échantillons appariés (Logiciel Statistica, Version 4.1, Statsoft, Tulsa, Okla). Les moyennes portant l'indice (*) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

7.2. Test de toxicité

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard (\pm ES) de huit rats par groupe. Après analyse de variance (ANOVA à un facteur), la classification des moyennes est réalisée entre les groupes **Sa-1**, **Sa-2**, **Sa-3**, **Sa-4** et **Contrôle** des deux périodes (t_0 et J_{10}), par le test de rang multiple de Duncan (**Sokal & Rohlf, 2012**) (Logiciel Statistica, Version 4.1, Statsoft, Tulsa, Okla). Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

7.3. Etude chez l'animal

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard (\pm ES) de 8 rats par groupe. Après analyse de variance (ANOVA à un facteur), la classification des moyennes est réalisée entre les groupes **D**, **D-Sa**, **D-MTF** et **C** d'une part et d'autre part, entre les groupes **HC**, **HC-Sa**, **HC-ATR** et **C**, par le test de rang multiple de Duncan (**Sokal & Rohlf, 2012**) (Logiciel Statistica, Version 4.1, Statsoft, Tulsa, Okla). Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

1. Analyse qualitative de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle par HPLC/DAD-UV

L'analyse réalisée par HPLC/DAD-UV sur l'extrait aqueux lyophilisé des boutons floraux de clou de girofle montre la présence de plusieurs pics sur le chromatogramme (Fig. 19).

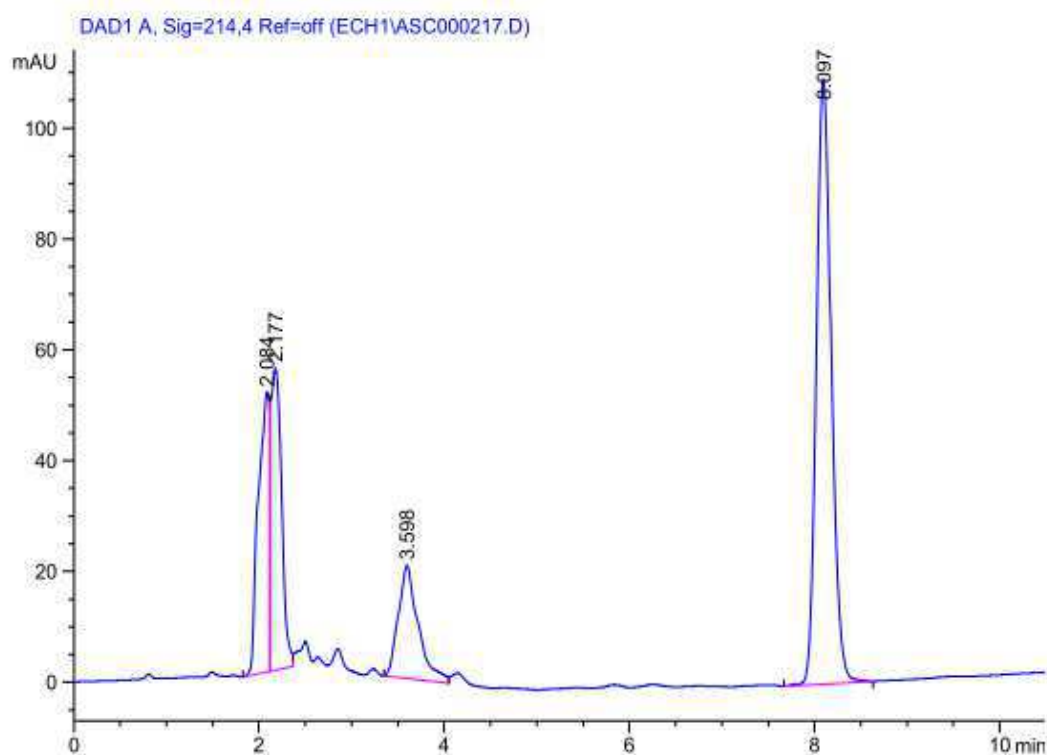


Fig. 19. Chromatogramme de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle à une concentration de 1mg/mL obtenu par HPLC/ DAD-UV à 254 nm sur colonne RP-C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 µm), débit de 1 mL/min, injection 20µL à 25°C.

Quatre composés phénoliques essentiels sont identifiés en comparant les données obtenues avec les standards, dont le plus important est la **Quercétine** avec un pourcentage de (51%) qui est un flavonoïde de type flavonols, vient ensuite un acide phénolique ; l'**Acide gallique** (19%), la **Rutine** (17%) suivi par l'**Eugénol** (13%) qui est un composé aromatique appartenant à la famille des phénylpropène (**Tableau VI**).

Tableau VI. Composés phénoliques de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle

	TRs (min)	Air du pic	Pourcentages
Quercétine	8,10	109,18	51
Acide gallique	2,20	54,47	19
Rutine	2,10	50,44	17
Eugénol	3,60	20,41	13

TRs : Temps de rétention

2. Potentiel antioxydant de clou de girofle

Six essais sont effectués pour chaque dose (n=6), dont la capacité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH, d'un témoin positif antioxydant, le trolox, analogue hydrosoluble de la vitamine E et de l'extrait de clou de girofle (*Sa*) à différentes concentrations (**Fig. 20**).

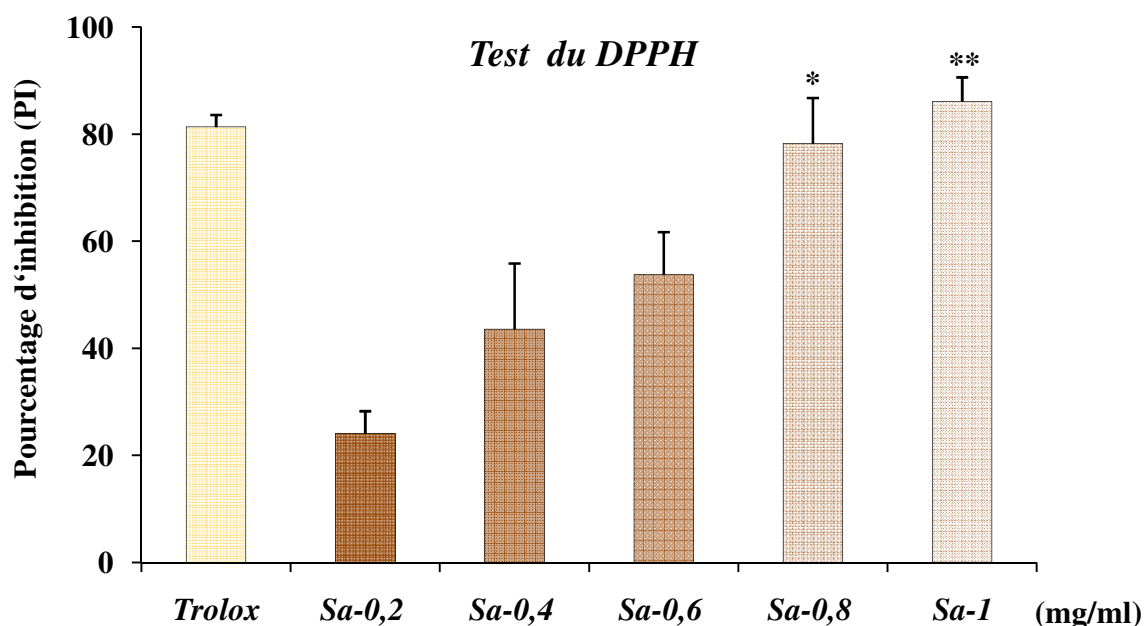


Fig. 20. Pourcentage d'inhibition (PI), illustrant l'activité antioxydante du Trolox (1mg/ml) et de l'extrait de clou de girofle (*Sa*) à différentes concentrations (0,2, 0,4, 0,6, 0,8 et 1 mg/ml).

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de six mesures par échantillon. La comparaison des moyennes est réalisée entre les groupes *Sa-0,2*, *Sa-0,4*, *Sa-0,6*, *Sa-0,8*, *Sa-1* et *Trolox*, par le test 't'.

Les moyennes portant l'indice (*) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

**Sa-dose* vs *Trolox*.

Les résultats montrent que l'extrait de *Sa* est aussi actif voire plus que la solution témoin de trolox (**Fig. 20**). Il apparaît que l'activité ne se retrouve pas de la même façon dans toutes les concentrations. En effet, les concentrations *Sa-0,2*, *Sa-0,4* et *Sa-0,6* (mg/ml) possèdent la capacité antioxydante la plus faible, tandis que les concentrations *Sa-0,8* et *Sa-1* (mg/ml) présentent une activité comparable à celle du trolox. En effet, un fort pouvoir anti-radicalaire est noté pour l'extrait aqueux de clou de girofle représenté par une CI_{50} relativement faible **0,51 mg/ml**, presque similaire à celui du trolox **0,39 mg/ml**.

Tableau VII. Teneurs en composés phénoliques totaux et concentration anti-radicalaire de l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle

	CPT ^a	CI ₅₀ ^b
<i>Syzygium aromaticum</i> (Sa)	116,93±26,69	0,51±0,06

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de six mesures.

^aExprimé en milligramme d'acide gallique par gramme d'extrait de Sa (mg EAG/g)

^bExprimé en milligramme d'extrait de Sa (mg/ml)

CPT: Composés phénoliques totaux

CI₅₀: Concentration inhibitrice médiane

Cependant, l'analyse des composés phénoliques totaux *via* le test de Folin-Ciocalteu révèle que l'extrait aqueux de clou de girofle est riche en composés phénoliques avec une équivalence d'acide gallique (EAG) de 116,93±26,69 mg/g (Tableau VII).

3. Evaluation de la toxicité du clou de girofle chez le rat Wistar

Après l'administration des doses comprises entre 1 et 4 g/kg PC de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) par voie orale, les différents signes de toxicité sont regroupés dans le Tableau VIII.

Tableau VIII. Comportement, signes de toxicité et taux de mortalité chez les rats traités avec des doses croissantes de l'extrait de clou de girofle

	Sa-1	Sa-2	Sa-3	Sa-4	Contrôle
Comportement normale	+	+	+	-	+
Démarche anormale	-	-	-	+	-
Activité réduite	-	-	+	+	-
Difficulté de respiration	-	-	-	+	-
Diarrhée	-	-	-	-	-
Sang dans les urines	-	-	-	-	-
Taux de mortalité	0	0	0	25%	0

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe.

Sa-1, Sa-2, Sa-3 et Sa-4 : groupes traités avec l'extrait lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) à des doses de 1, 2, 3 et 4 g/kg PC, respectivement. Le groupe contrôle reçoit seulement de l'eau durant l'expérimentation.

Aucun signe de toxicité n'a été enregistré au cours du traitement ou de la période d'observation chez les groupes traités (1, 2 et 3 g/kg PC). Par contre, à la dose de 4g/kg PC, les troubles et les signes de toxicité ont conduit à la mort de 25% de rats. D'après ce taux de mortalité enregistré, et selon la formule de **Dragstedt & Lang, (1957)**, la DL_{50} de l'extrait de clou de girofle est de 7 g/kg PC.

La cytotoxicité de l'extrait du clou de girofle est évaluée aussi par le dosage de quelques paramètres biochimiques ainsi que la croissance pondérale, chez les rats survivants au test de toxicité (**Tableau IX**). Ils étaient suivis pendant 10 jours après un traitement avec des doses croissantes de l'extrait de clou de girofle, et les valeurs obtenues sont comparées par rapport aux temps (t_0 : avant le traitement) et à ceux des rats contrôles.

En fait, les résultats montrent que la concentration minimale du clou de girofle utilisée par le test de toxicité (1 g/kg PC) ne présente aucune différence significative en comparaison avec les résultats du contrôle et au temps t_0 . Cependant une diminution significative du taux de cholestérol total (-11%) est notée, par rapport au groupe contrôle.

En revanche, une réduction des valeurs de la glycémie (-18 et -19%), de la cholestérolémie (-23%) et de la triglycéridémie (-19 et -25%) est observée respectivement, chez les groupes *Sa-2* et *Sa-3* vs Contrôle et *Sa-t₀*. Par ailleurs, chez les groupes traités par le clou de girofle à des doses de 2 et 3 g/kg PC durant 10 jours, les valeurs de l'ALT, AST et de la créatinine, sont similaires à celles du groupe contrôle.

Comparée au groupe contrôle ou aux valeurs obtenues avant le traitement (t_0), la glycémie et les teneurs en CT et TG sériques sont significativement diminuées chez le groupe *Sa-4* ($p < 0,05$). Alors que les marqueurs de la fonction hépatique (ALT et AST) sont augmentés de +19 et +22%, respectivement. De même, la concentration de créatinine est élevée (+16%).

Par ailleurs, une croissance régulière et similaire est enregistrée chez les rats des différents groupes, par rapport au groupe contrôle. Ainsi, avec quatre doses testées, la dose de 2g/kg PC n'engendre pas de signes de toxicité chez ces animaux tout le long de la durée de l'étude.

Tableau IX. Evolution du poids corporel et de quelques paramètres biochimiques chez les rats traités à des doses croissantes de l'extrait de clou de girofle

		Sa-1	Sa-2	Sa-3	Sa-4	Contrôle
Poids corporel (g)	<i>t</i> ₀	275,75±7,58	276±6,83	275,5±11,73	278±6,83	276,25±12,84
	<i>J</i> ₁₀	295,50±2,64	290±6,83	289,5±11,73	286±6,83	301,25±14,31
Glycémie (mM)	<i>t</i> ₀	6,09±0,24	5,96±0,07	6,09±0,24	6,09±0,24	6,04±0,14
	<i>J</i> ₁₀	5,34±1,09	4,89±0,05 ^{a,b}	4,82±0,23 ^{a,b}	4,77±0,23 ^{a,b}	5,98±0,09
CT (mM)	<i>t</i> ₀	0,88±0,11	0,87±0,02	0,88±0,11	0,88±0,11	0,87±0,04
	<i>J</i> ₁₀	0,78±0,06 ^b	0,67±0,03 ^{a,b}	0,65±0,11 ^{a,b}	0,60±0,07 ^{a,b}	0,88±0,07
TG (mM)	<i>t</i> ₀	0,34±0,02	0,34±0,02	0,34±0,04	0,34±0,03	0,34±0,03
	<i>J</i> ₁₀	0,30±0,02	0,27±0,02 ^{a,b}	0,25±0,04 ^{a,b}	0,25±0,03 ^{a,b}	0,34±0,02
Créatinine (µM)	<i>t</i> ₀	28,25±4,85	28,00±3,13	27,91±3,94	28,43±6,87	28,75±2,20
	<i>J</i> ₁₀	28,58±7,20	28,33±5,15	27,82±2,40	34,43±1,98 ^{a,b}	28,96±1,55
ALT (UI/L)	<i>t</i> ₀	63,77±3,12	63,27±2,90	63,99±5,85	63,70±9,00	63,25±1,91
	<i>J</i> ₁₀	61,74±3,31	61,86±7,56	64,81±4,36	78,37±1,29 ^{a,b}	63,97±1,85
AST (UI/L)	<i>t</i> ₀	53,46±3,31	52,96±2,85	53,49±5,61	53,00±9,00	53,69±2,56
	<i>J</i> ₁₀	52,03±6,44	53,98±5,62	54,05±3,11	68,05±3,11 ^{a,b}	53,71±1,55

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan entre les différents groupes des deux périodes (*t*₀ et *J*₁₀).

Sa-1, Sa-2, Sa-3 et Sa-4 : groupes traités avec l'extrait lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) à des doses de 1, 2, 3 et 4 g/kg PC, respectivement. Le groupe contrôle reçoit seulement de l'eau durant l'expérimentation.

Les moyennes portant les lettres (a, b) sont significativement différentes (*p*<0,05).

^aSa₁₀-dose vs Sa₁₀-dose, ^bSa₁₀-dose vs Contrôle₁₀.

4. Evolution du poids corporel et de la nourriture ingérée

Durant toute l'expérimentation, une diminution du poids corporel (PC) est notée chez les groupes diabétiques (D, D-*Sa* et D-*MTF*) comparé au groupe contrôle (C) (**Fig. 21**). Alors que, chez les groupes hypercholestérolémiques (HC, HC-*Sa*, et HC-*ATR*), le PC est similaire à celui du groupe C. En effet, par rapport au poids initial, une perte de poids de 12%, est notée chez les rats diabétiques traités (D-*Sa*) ou non (D). En revanche, le PC est élevé de 15% chez les rats diabétiques traités par la metformine (D-*MTF*) comparé à celui du groupe D.

Comparé au groupe C, la nourriture ingérée est augmentée de 12% chez les groupes D et D-*Sa* (**Fig. 21**). Toutefois, elle est identique entre les groupes hypercholestérolémiques et le contrôle.

5. Poids relatif des organes

Le poids relatif du pancréas, qui renseigne sur la croissance pondérale de l'organe par rapport à celle de l'organisme entier, est réduit de 1,4-fois chez le groupe D comparé au groupe contrôle (**Tableau X**). De même, il est respectivement 1,3- et 1,6-fois plus faible chez les groupes D-*Sa* et D-*MTF* vs D. En revanche, aucune différence significative du poids relatif n'est notée au niveau des reins chez tous les groupes diabétiques.

Par ailleurs, le poids relatif du foie et du tissu adipeux est 1,8- et 2,2-fois plus important chez le groupe HC par rapport au groupe C (**Tableau X**). Inversement, le traitement avec clou de girofle (HC-*Sa*) ou par l'atorvastatine (HC-*ATR*) entraîne une réduction significative ($p < 0,05$). En effet, le poids relatif du foie est diminué respectivement de 21 et 31% chez les groupes HC-*Sa* et HC-*ATR* comparé à celui du groupe HC.

De même, celui de tissu adipeux est diminué chez les groupes HC-*Sa* (-33%) et HC-*ATR* (-49%) vs HC. Cependant, chez le groupe HC-*Sa* vs HC-*ATR*, le poids relatif du tissu adipeux est 1,3-fois plus important.

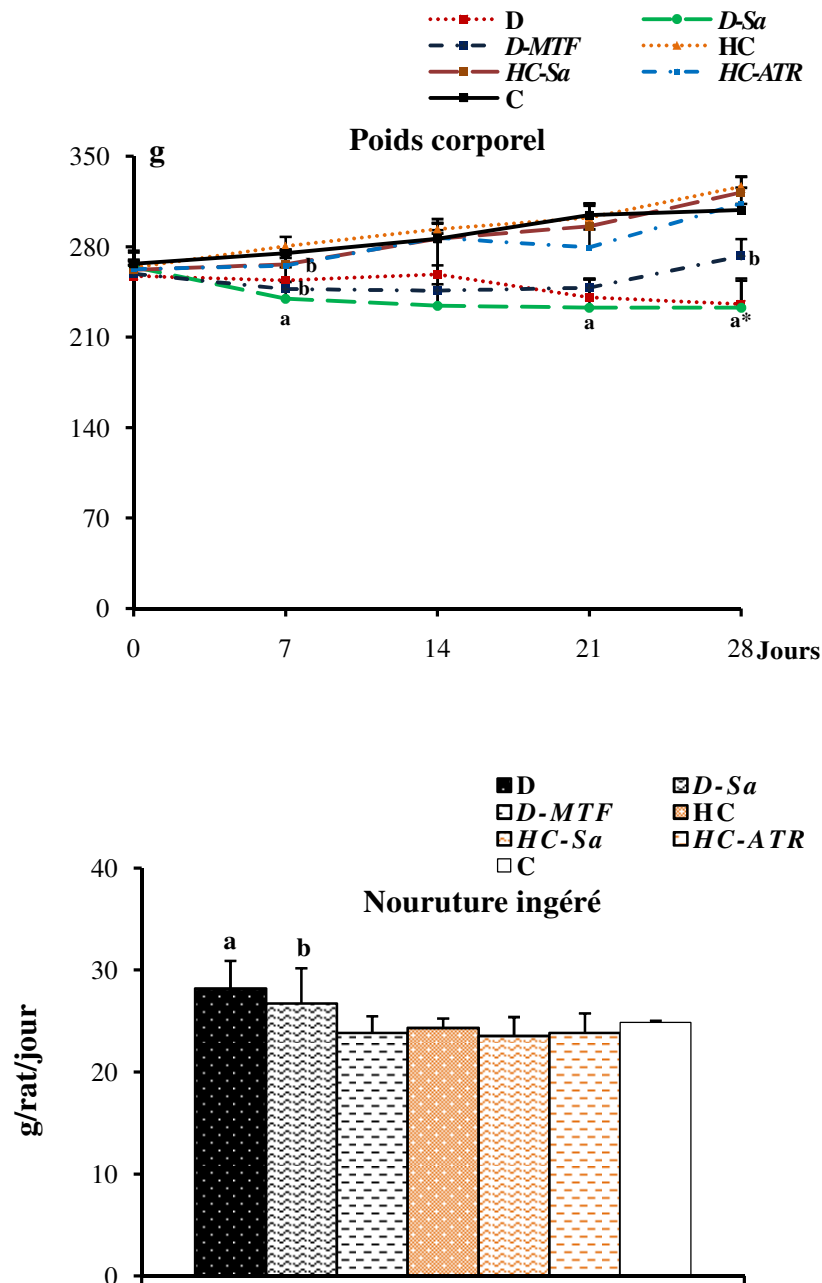


Fig. 21. Croissance pondérale des animaux et nourriture ingérée.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa**: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC**: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa**: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^a**D** vs **C**, ^b**D-Sa** ou **D-MTF** vs **D**.

Tableau X. Poids relatif (g/100g PC) des différents organes

	Rein	Pancréas
D	0,73±0,15	0,24±0,04 ^a
D-Sa	0,77±0,10	0,19±0,03 ^b
D-MTF	0,74±0,02	0,15±0,05 ^b
C	0,75±0,02	0,34±0,01
	Foie	Tissu adipeux
HC	5,06±0,53 ^a	1,27±0,28 ^a
HC-Sa	4,01±0,70 ^b	0,85±0,18 ^{b,c}
HC-ATR	3,47±0,24 ^b	0,64±0,10 ^b
C	2,72±0,24	0,58±0,23

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).
^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

6. Valeurs de la pression artérielle en fonction du temps

Contrairement aux rats du groupe contrôle, la pression artérielle systolique (PAS) des rats diabétiques non traités est progressivement augmentée et les valeurs les plus élevées sont notées à la fin de l'expérience (+18%) (**Fig. 22**).

Après l'administration quotidienne du clou de girofle, la PAS est réduite de 14% à J_{14} , J_{21} et J_{28} par rapport au groupe D. De même, le traitement par la metformine induit une légère réduction de la PAS. De plus, à J_{28} la pression artérielle systolique est réduite de -10% chez le groupe D-Sa vs D-MTF. En revanche, cette valeur se rapproche de celle observée chez le groupe contrôle.

Cependant, la PAS des groupes hypercholestérolémiques est stable tout au long de l'expérimentation et ne montre aucune différence significative (Fig. 22).

À J_{28} , les valeurs représentent $130 \pm 6,08$, $119 \pm 1,73$ et $109,33 \pm 11,01$ mm Hg, chez les groupes HC, HC-Sa et HC-ATR, respectivement. Cependant, par rapport au groupe HC, la PAS est 1,2- fois plus faible chez le groupe HC-ATR.

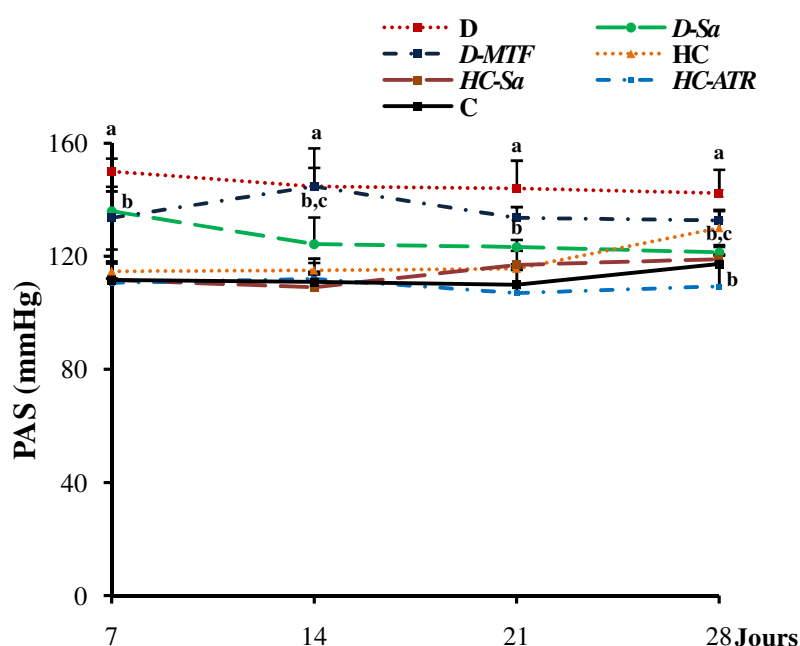


Fig. 22. Effets de quatre semaines de traitement sur la pression artérielle systolique.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF.

7. Digestibilité des lipides chez les groupes hypercholestérolémiques

La quantité de lipides ingérée est semblable chez les quatre groupes d'animaux (Tableau XI). Cependant, l'excrétion fécale des lipides totaux et du cholestérol est plus importante chez les groupes HC-Sa (1,5- et 1,3-fois) et HC-ATR (1,7- et 1,2-fois) comparée à celle du groupe HC, respectivement. Par ailleurs, aucune différence significative n'est notée pour les valeurs de la digestibilité des lipides chez les groupes hypercholestérolémiques traités ou non.

Tableau XI. Lipides ingérés et excrétés (mg/j/rat) et digestibilité des lipides (%) chez les groupes hypercholestérolémiques

	HC	HC-Sa	HC-ATR	C
Lipides ingérés	518±43,84	516,5±7,77	517±43,84	391,5±10,60
Lipides fécaux	39,5±3,53 ^a	61,5±4,94 ^b	68,5±4,94 ^b	16±7,07
Cholestérol ingéré	130,26±5,60 ^a	130,8±6,00	135,34±4,65	0,24±0,17
Cholestérol fécal	21,93±2,13 ^a	28,39±1,60 ^b	27,86±2,30 ^b	2,95±0,30
Digestibilité des lipides¹	92,37±0,03	88,08±0,79	86,74±0,16	95,93±1,69

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

HC: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aHC vs C, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC.

$$^1\text{Digestibilité des lipides} = \frac{\text{Lipides ingérés} - \text{Lipides excrétés}}{\text{Lipides ingérés}} \times 100$$

8. Evolution de la glycémie et test de tolérance au glucose chez les groupes diabétiques

8.1. Variation de la glycémie au cours du traitement

48 heures après injection de streptozotocine, la valeur de la glycémie représente 22,8±1mM, chez les groupes diabétiques traités ou non par rapport au contrôle (5,6±0,2 mM). Ces résultats permettent de confirmer l'installation du diabète.

Aux jours J_7 et J_{14} , la glycémie diminue de -14%, et ensuite augmente à la valeur initiale à J_{21} et J_{28} chez le groupe D vs C (**Fig. 23**). Contrairement au groupe D, les valeurs de la glycémie sont diminuées de 74, 39 et 46% aux jours J_7 , J_{14} et J_{21} , respectivement chez le groupe D-Sa, et de 75, 60 et 36%, respectivement chez le groupe D-MTF.

Après 28 jours de traitement, une diminution significative des teneurs du glucose dans le sang est notée chez les groupes D-Sa (15,1±3mM) et D-MTF (12,6±2mM) par rapport à la valeur initiale (22,8±1mM) (**Fig. 23**). De plus, l'effet du clou de girofle est similaire à celui de la metformine.

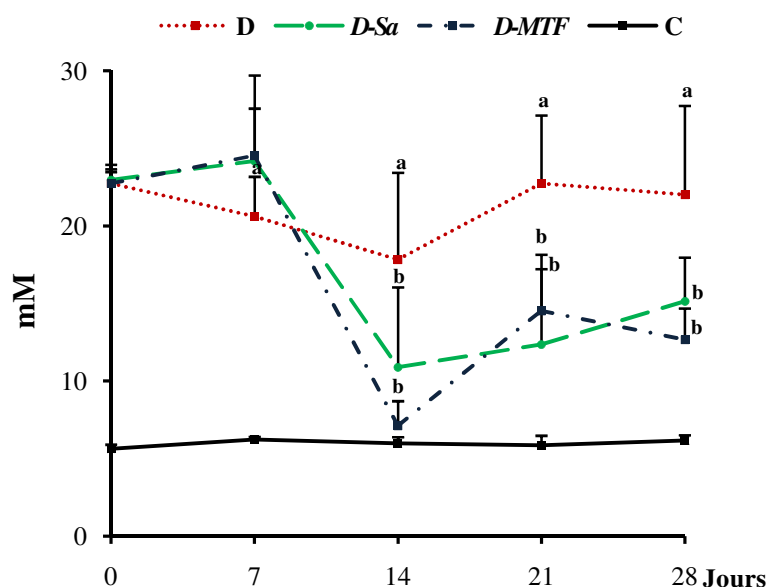


Fig. 23. Evolution de la glycémie chez les groupes diabétiques.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D.

8.2. Test de tolérance au glucose

Un pic d'hyperglycémie est enregistré 30 min après administration d'une solution de glucose (4g/kg PC) chez les quatre groupes par rapport au temps T_0 (**Fig. 24**). La réponse du groupe contrôle est régulière avec une légère augmentation (+23%) et une normalisation à la première heure (-43%).

En parallèle, la glycémie des rats diabétiques non traités est augmentée progressivement et représente 21, 23 et 26% à 30, 60 et 120min, respectivement. Cette augmentation est plus importante par rapport à celle du groupe contrôle.

Toutefois, les rats diabétiques traités par le clou de girofle tolèrent le glucose de manière comparable à celle du groupe traité par la metformine (**Fig. 24**). En observant attentivement le profile de la réponse au glucose des groupes D-Sa et D-MTF, une augmentation modérée (+18 et +10%) est notée après 30min. Cette dernière est rapidement corrigée à la première heure (-38 et -10%), respectivement. De plus, les deux traitements sont efficaces sur la glycémie post-prandiale comparativement au groupe diabétique non traité.

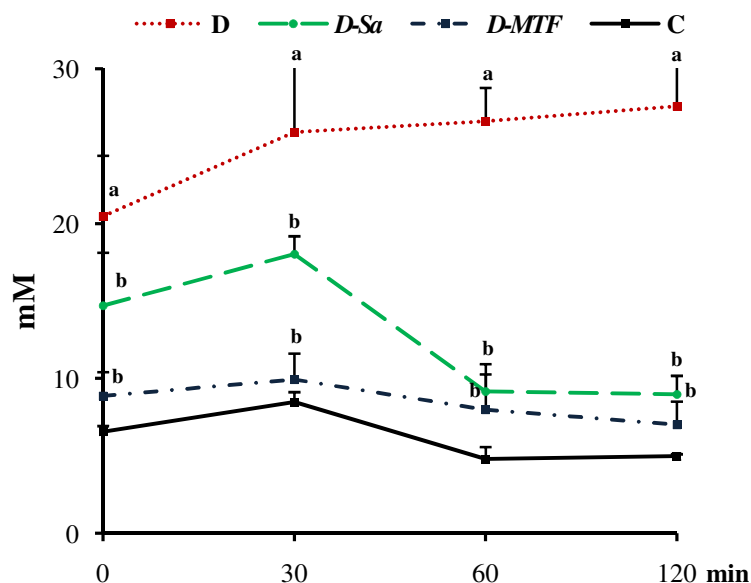


Fig. 24. Test de tolérance au glucose chez les groupes diabétiques.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**). Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D.

9. Glycémie, pourcentage de l'hémoglobine glyquée (HbA_{1c}) et insulinémie

À J_{28} , une réduction des valeurs de la glycémie (-31 et -42%) est notée chez les groupes D-Sa et D-MTF comparés au groupe diabétique non traité (**Tableau XII**). De plus, cet effet est presque le même pour les deux traitements.

Les résultats obtenus à partir de la mesure d'HbA_{1c} montrent une nette différence entre les rats diabétiques non traités (+66%) et le groupe contrôle. Chez le groupe diabétique traité, le pourcentage d'HbA_{1c} est 1,7-fois plus faible avec le clou de girofle comparé au groupe non traité. Cependant, cette valeur est similaire à celle du groupe D-MTF (**Tableau XII**).

Les teneurs sériques en insuline sont 1,7-fois plus diminuées chez le groupe D comparés à celles notés chez le groupe C, et 1,9-fois plus élevée chez le groupe D-MTF vs D. En effet, chez le groupe D-Sa les concentrations de l'insuline tendent à être plus élevée.

Par ailleurs, une augmentation significative des teneurs en glucose est notée chez le groupe HC comparé au groupe C ($p < 0,05$). Cependant, après 28 jours de traitement avec le clou de

girofle ou l'atorvastatine, la glycémie est 1,4- et 1,5-fois plus faible par rapport au groupe non traité (**Tableau XII**). En revanche, le pourcentage d'HbA_{1c} et l'insulinémie sont identiques chez les trois groupes hypercholestérolémiques et le groupe contrôle.

Tableau XII. Glycémie (mM), pourcentage de l'hémoglobine glyquée (%) et insulinémie (pM)

	Glycémie	HbA _{1c}	Insulinémie
D	22,01±5,73 ^a	9,90±0,59 ^a	32,59±6,92 ^a
D-Sa	15,14±2,82 ^b	5,82±0,92 ^b	48,44±8,57
D-MTF	12,66±2,02 ^b	5,89±1,31 ^b	62,72±4,72 ^b
HC	9,17±0,50 ^a	3,48±1,71	52,28±5,22
HC-Sa	6,71±0,14 ^b	3,38±2,61	53,54±9,47
HC-ATR	6,16±0,40 ^b	3,31±0,83	55,31±9,06
C	6,16±0,34	3,34±0,80	56,01±13,73

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa**: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC**: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa**: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC.

10. Concentration sérique en électrolytes, urée, créatinine et débit de filtration glomérulaire chez les groupes diabétiques

La concentration sérique de sodium est 1,3-fois plus élevée, alors que le taux de potassium est 3,5-fois plus faible chez le groupe D comparativement à C (**Tableau XIII**). Chez le groupe D-Sa, une réduction des teneurs sériques du sodium (-18%) et une importante augmentation du taux de potassium (+84%), est notée. Cependant, aucune variation n'est observée chez le groupe D-MTF. De plus, chez le groupe D-Sa les concentrations du Na⁺ sont diminuées de 16%, alors que celles du K⁺ sont augmentées de 80% lorsqu'elles sont comparées à celles du groupe D-MTF. En revanche, les valeurs de ces paramètres se rapprochent aux celles observées chez le groupe contrôle.

Tableau XIII. Concentrations sériques des électrolytes (mM), et évaluation de la fonction rénale chez les groupes diabétiques

	D	D-Sa	D-MTF	C
Électrolytes sériques				
Na ⁺	164,42±26,22 ^a	133,93±19,12 ^{b,c}	159,40±19,03	121,15±14,43
K ⁺	3,22±0,16 ^a	19,66±1,18 ^{b,c}	4,00±1,02	11,36±0,73
Fonction rénale				
Urée (mM)	9,76±1,47 ^a	7,60±3,02	10,17±2,35	5,48±0,68
Créatinine (µM)	60,18±8,57 ^a	44,38±8,57 ^b	42,31±7,12 ^b	28,83±4,55
DFG ¹ (ml/min)	24,64±3,18 ^a	7,47±3,30 ^{b,c}	12,53±1,50 ^b	1,03±0,22

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, D-Sa: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (D-MTF). Le groupe contrôle (C) consomme le régime (Cas).

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes (p<0,05).

^aD vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^cD-Sa vs D-MTF

$$^1\text{Débit de filtration glomérulaire : DFG} = \frac{\text{Créatinine Urinaire} \times \text{Volume Urinaire des 24 heures}}{\text{Créatinine Sérique} \times 1440 \text{ min}}$$

Le suivi de l'évolution des paramètres de la fonction rénale révèle des taux sériques plus élevés d'urée (+44%) et de créatinine (+50%) chez le groupe D comparativement au groupe C (Tableau XIII). Cependant, les teneurs sériques en urée ne présentent aucune différence significative chez les groupes D-Sa et D-MTF vs D. Néanmoins, la valeur obtenue chez le groupe D-Sa comparé au groupe D-MTF, en urée montre une tendance à se diminuer.

Le traitement avec clou de girofle réduit les niveaux de créatinine sérique de 26%. De même, le traitement par la metformine induit une diminution significative (-30%) par rapport aux rats diabétiques non traités. Cette réduction est presque identique chez les deux groupes traités.

Le débit de filtration glomérulaire (volume de liquide filtré par le rein par unité de temps) présente une augmentation significative (+95%) chez le groupe D par rapport au groupe C (Tableau XIII). Inversement, le traitement avec clou de girofle ou la metformine, réduit le DFG respectivement de -70 et -49%. De plus, chez le groupe D-Sa cette valeur est 1,7-fois plus faible comparée à celle du groupe MTF-D.

11. Teneurs sériques en homocystéine et activités LDH et γ -GT

Les teneurs sériques en homocystéine sont augmentées respectivement de 14 et 16% chez les groupes D et HC par rapport à ceux du groupe contrôle, alors qu'elles sont réduites chez les groupes D-Sa (-22%) et D-MTF (-28%) comparés à D, et de (-18 et -21%), respectivement chez les groupes HC-Sa et HC-ATR vs HC (**Tableau XIV**). Toutefois, l'homocystéinémie est légèrement élevée (+10%) chez le groupe D-Sa comparée au groupe D-MTF, mais se rapproche à celle du groupe contrôle. De plus, chez les groupes HC-Sa et HC-ATR, les valeurs de l'homocystéine sont semblables aux valeurs observées chez le groupe contrôle.

Tableau XIV. Tenures sériques d'homocystéine (μ M) et activités LDH et γ -GT (UI/l)

	Homocystéine	LDH	γ -GT
D	8,98 \pm 0,69 ^a	91,93 \pm 24,82 ^a	13,36 \pm 1,42 ^a
D-Sa	7,03 \pm 0,27 ^{b,c}	71,13 \pm 8,72 ^c	4,76 \pm 1,16 ^{b,c}
D-MTF	6,47 \pm 0,60 ^b	33,44 \pm 02,84 ^b	17,35 \pm 2,34 ^b
HC	9,18 \pm 1,50 ^a	378,40 \pm 10,44 ^a	22,41 \pm 3,81
HC-Sa	7,49 \pm 0,73 ^b	171,82 \pm 29,01 ^b	4,95 \pm 0,84 ^c
HC-ATR	7,21 \pm 0,70 ^b	108,35 \pm 13,93 ^b	2,38 \pm 0,56 ^b
C	7,71 \pm 0,41	190,43 \pm 46,10	7,63 \pm 1,53

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa**: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC**: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa**: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

L'activité LDH est 2-fois plus faible chez le groupe D, et inversement, 1,9-fois plus élevée chez le groupe HC comparée à la valeur notée chez le groupe C (**Tableau XIV**). Par ailleurs, cette activité est 1,3-fois plus faible chez le groupe D-*MTF* vs D, alors qu'aucune différence n'est notée entre les groupes D-*Sa* et D. Chez le groupe D-*Sa* comparée au groupe D-*MTF*, l'activité LDH est 2,1-fois plus élevée. Cette activité est 2,2- et 3,5-fois plus faible, respectivement chez les groupes HC-*Sa* et HC-*ATR* comparée au groupe HC. Toutefois, aucune différence significative n'est notée entre les deux groupes traités.

Comparée au groupe contrôle, l'activité γ -GT est augmentée de +43% chez le groupe D. Cependant, elle ne présente aucune différence significative chez le groupe HC (**Tableau XIV**). Chez les rats diabétiques traités vs non traités, l'extrait de clou de girofle réduit l'activité γ -GT de -64%. Inversement, le traitement par la metformine l'augmente de +23%. Toutefois, le clou de girofle réduit efficacement l'activité γ -GT (3,6-fois) comparée à celle de la metformine. Par ailleurs, chez le groupe HC-*Sa*, l'activité γ -GT est diminuée de 78%. Inversement, cette activité est 2-fois plus élevée comparée à celle du groupe HC-*ATR*.

12. Albuminémie et protéinémie

L'albuminémie est augmentée de +12% chez le groupe D, alors que celle du groupe HC ne présente aucune différence significative comparée au contrôle (**Fig. 25**). De plus, chez les groupes D-*Sa*, D-*MTF* et HC-*Sa*, les valeurs sont similaires à celles du groupe non traité. Toutefois, des faibles teneurs en albumine sériques de (-16%) sont observées chez le groupe HC-*ATR* vs HC.

Au niveau sérique, la protéinémie est élevée (+19 et +35%), respectivement chez les groupes D et HC comparée à celle retrouvée chez le groupe C. Néanmoins, aucune différence significative n'est trouvée chez les groupes traités (**Fig. 25**).

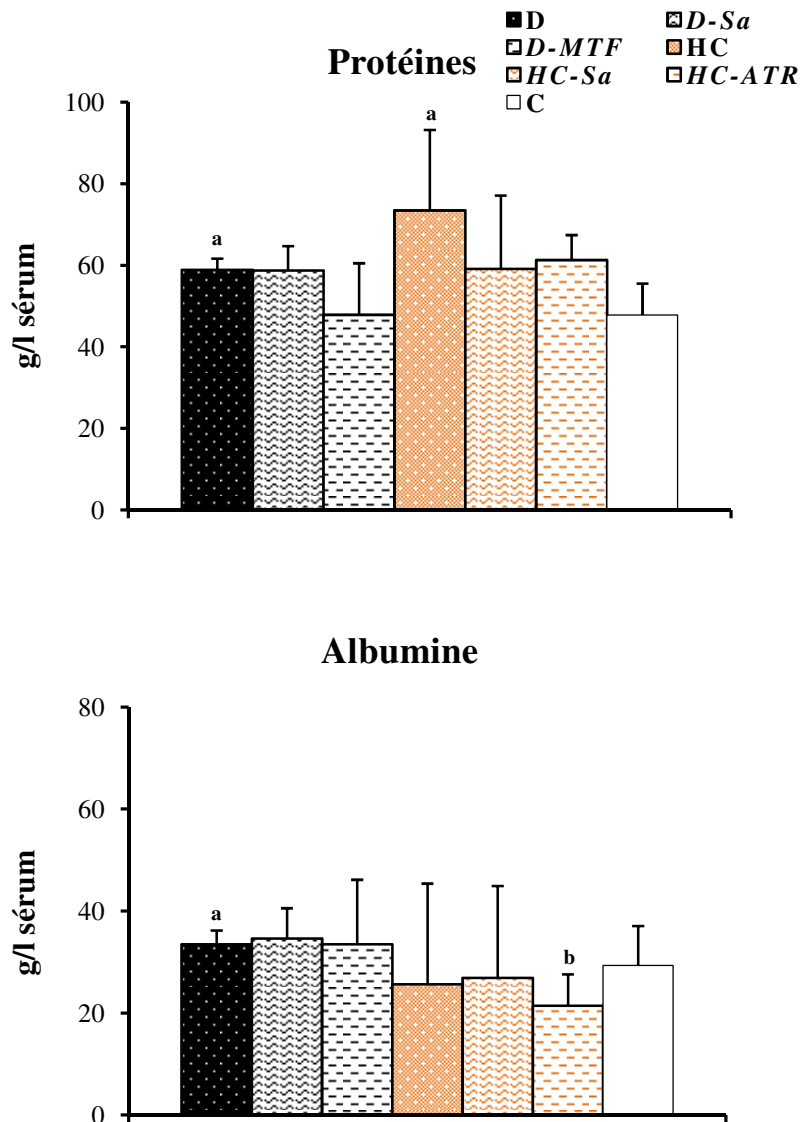


Fig. 25. Teneurs sériques en protéines totales et en albumine.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^a**D** ou **HC** vs **C**, ^b**D-Sa** ou **D-MTF** vs **D**, ^b**HC-Sa** ou **HC-ATR** vs **HC**.

13. Profil lipidique et lipoprotéique

13.1. Cholestérolémie

Des valeurs 1,8- et 4-fois plus élevées en CT sont retrouvées respectivement chez les groupes D et HC comparées au contrôle, alors qu'elle sont 1,3-, 1,8-, 2- et 1,8-fois plus faible respectivement chez les groupes D-Sa, D-MTF, HC-Sa et HC-ATR par rapport aux groupes diabétiques et hypercholestérolémiques. Toutefois, aucune différence significative n'est notée entre les groupes traités (Fig. 26).

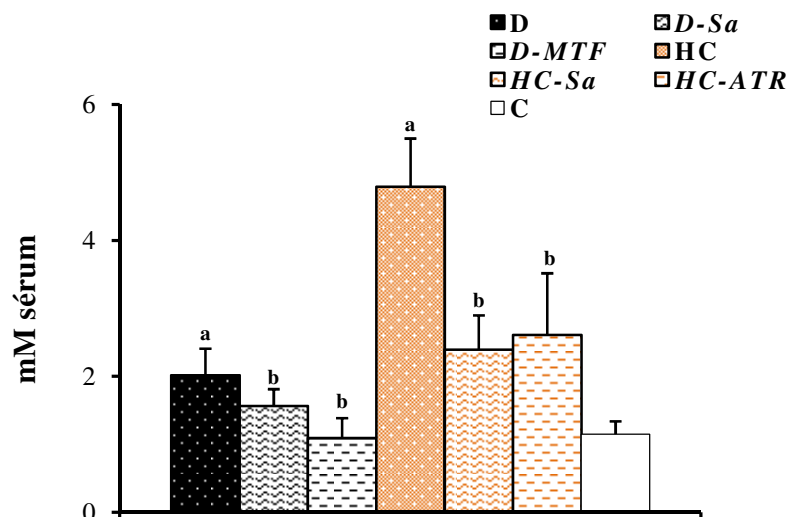


Fig. 26. Concentrations du Cholestérol sérique.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC.

13.2. Teneurs des lipides hépatiques chez les groupes hypercholestérolémiques

Au niveau hépatique, les concentrations des lipides totaux (LT) sont augmentées de 75% chez le groupe HC par rapport au groupe C (**Tableau XV**). En revanche, ces teneurs sont diminuées respectivement de 44 et 33% chez les groupes HC-Sa et HC-ATR comparées à celles du groupe HC.

Par ailleurs, les concentrations hépatiques en CL, EC, TG et PL sont augmentées de 73, 30, 24 et 56% chez le groupe HC comparé à celles retrouvées chez le groupe contrôle. À l'inverse, une réduction des valeurs des CL (-26 et -21%), des EC (-29 et -14%) et des PL (-29 et -28%) sont observées respectivement, chez les groupes HC-Sa et HC-ATR comparées à ceux du groupe HC, alors que les TG sont identiques chez les groupes traités et non traités (**Tableau XV**).

En revanche, une réduction non significative des teneurs en LT, CL, EC et PL est notée chez le groupe traité par le clou de girofle comparé à celles retrouvées chez le groupe HC-ATR.

Tableau XV. Teneurs des différents lipides du foie ($\mu\text{mol/g}$) chez les groupes hypercholestérolémiques

	HC	HC-Sa	HC-ATR	C
LT ¹ (mg/g)	252,00±27,90 ^a	140,25±22,77 ^b	168,00±15,38 ^b	64,00±15,12
CL	107,76±07,10 ^a	80,15±05,06 ^b	84,72±06,92 ^b	29,42±06,77
EC	176,12±15,02 ^a	124,54±19,29 ^b	123,41±14,62 ^b	123,14±06,84
TG	82,68±04,04 ^a	81,54±04,32	81,73±06,26	62,52±05,07
PL	94,42±12,04 ^a	66,61±03,53 ^b	67,81±00,87 ^b	41,85±01,40

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

HC: groupe hypercholestérolémique non traité, HC-Sa: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (HC-ATR). Le groupe contrôle (C) consomme le régime (Cas).

Les moyennes portant les lettres (a, b) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aHC vs C, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC.

¹LT: Lipides totaux

13.3. Teneurs des différents lipides sériques

Par rapport au groupe contrôle, les teneurs sériques en CL, TG et PL sont respectivement 1,6-, 1,7- et -1,5-fois plus élevées chez les rats diabétiques non traités, alors que les concentrations en EC ne montrent aucune différence significative (**Fig. 27**). De même, le régime enrichi en cholestérol pendant 4 semaines induit une augmentation des concentrations en EC et TG (9- et 1,9-fois), alors que les teneurs en CL et PL ne montrent aucune différence significative.

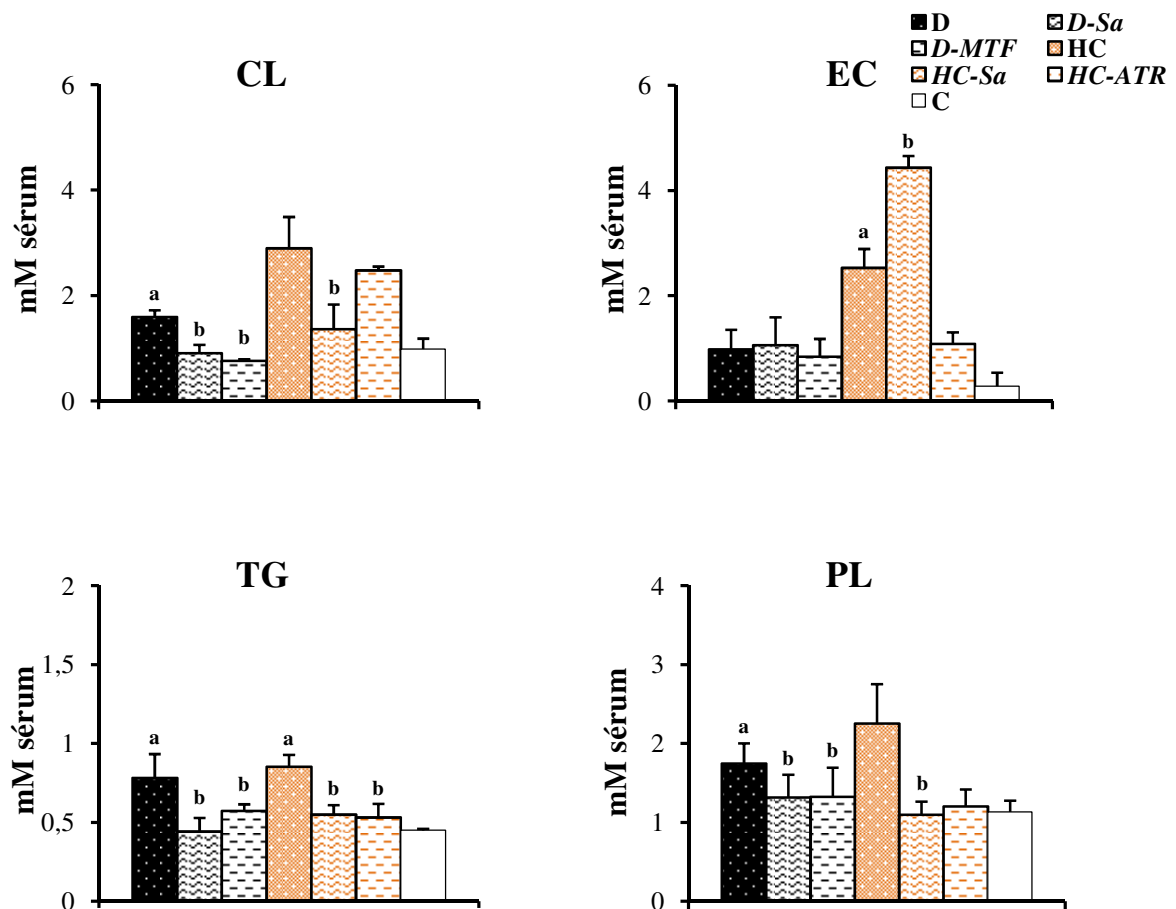


Fig. 27. Teneurs et composition en lipides du sérum.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC.

Les teneurs sériques en CL sont diminuées respectivement chez les groupes D-*Sa*, D-*MTF* et HC-*Sa* (-43, -52 et -53%) comparées aux groupes non traités, alors qu'aucune différence significative n'est constatée chez le groupe HC-*ATR*.

Comparés au groupe D, les concentrations en TG sériques sont diminuées respectivement chez les groupes D-*Sa* et D-*MTF* (-43 et -26%). Cependant, chez le groupe D-*Sa*, cette valeur est semblable à celle du groupe contrôle (**Fig. 27**). Par ailleurs, une réduction de -36% des teneurs en TG sérique est observées chez les groupes HC-*Sa* et HC-*ATR* comparés au groupe HC.

Chez les groupes D-traités avec *Sa* ou *MTF*, les teneurs en PL sérique sont similaires à celles du groupe C, alors qu'elles sont 2-fois plus faible chez le groupe HC-*Sa* vs HC. Inversement, le traitement pendant 4 semaines avec clou de girofle induit une augmentation des concentrations en EC sérique (+93%) chez le groupe HC. Par ailleurs, les teneurs en EC ne montrent aucune différence significative chez les autres groupes traités.

13.4. Répartition du cholestérol total sérique entre les différentes fractions de lipoprotéines

La répartition du cholestérol entre les différentes fractions de lipoprotéines montre que la plus grande part de cholestérol est essentiellement portée par les LDL-HDL₁ (61%) chez les 7 groupes (**Tableau XVI**).

Chez les groupes diabétiques traités D-*Sa* et D-*MTF*, le transport du CT se fait essentiellement par la fraction HDL et plus particulièrement par les HDL₂ (45%), alors que la part du cholestérol portée par la fraction LDL-HDL₁ est plus faible chez le groupe D-*Sa* (24%) comparé à celle des groupes D-*MTF* (26%) et D (37%) (**Tableau XVI**). En revanche, au niveau de la fraction HDL₃ une faible part du cholestérol est notée chez les groupes D-*Sa* (15%) et D-*MTF* (17%) par rapport à celle du groupe D (20%).

Cependant, chez les groupes HC-*Sa* et HC-*ATR*, le C-HDL₂ représente respectivement 14 et 9%, alors qu'il représente seulement (5%) chez le groupe HC (**Tableau XVI**). De plus, la plus faible part de cholestérol est portée par les VLDL chez les groupes HC-*Sa* (18%) et HC-*ATR* (22%), alors que le cholestérol porté par les HDL₃ est de 21 et 23%, respectivement chez les groupes traités et seulement de 12%, chez le groupe non traité.

Tableau XVI. Répartition du cholestérol total (CT) sérique (mM) entre les différentes fractions de lipoprotéines

	C-VLDL	C-LDL-HDL ₁	C-HDL ₂	C-HDL ₃
D	0,43±0,04 (21%)	0,74±0,10 (37%)	0,43±0,02 (22%)	0,40±0,04 (20%)
D-Sa	0,28±0,02 ^b (16%)	0,44±0,07 (24%)	0,82±0,10 (45%)	0,26±0,01 (15%)
D-MTF	0,17±0,01 ^b (12%)	0,39±0,04 (26%)	0,67±0,03 ^b (45%)	0,25±0,03 ^b (17%)
HC	0,97±0,02 ^a (22%)	2,78±0,05 ^a (61%)	0,21±0,01 (5%)	0,54±0,07 (12%)
HC-Sa	0,49±0,05 ^b (18%)	1,33±0,02 ^b (47%)	0,40±0,02 (14%)	0,59±0,03 (21%)
HC-ATR	0,66±0,01 ^b (22%)	1,39±0,01 ^b (46%)	0,29±0,01 (9%)	0,69±0,07 (23%)
C	0,33±0,05 (28%)	0,40±0,05 (34%)	0,24±0,05 (20%)	0,21±0,01 (18%)

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa**: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC**: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa**: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^a**D** ou **HC** vs **C**, ^b**D-Sa** ou **D-MTF** vs **D**, ^b**HC-Sa** ou **HC-ATR** vs **HC**.

13.5. Répartition des triglycérides sériques entre les différentes fractions de lipoprotéines

La répartition des TG sériques entre les différentes fractions de lipoprotéines montre que la majeure partie des TG est portée par les VLDL (37 et 48%) et LDL-HDL₁ (30 et 37%) chez les groupes D et HC, respectivement (**Tableau XVII**). Néanmoins, la part des TG portée par les fractions de densité faible (VLDL et LDL-HDL₁) est respectivement plus faible chez les groupes traités **D-MTF** (24 et 19%), **D-Sa** (26 et 22%), **HC-Sa** (29 et 21%) et **HC-ATR** (31 et 16%) comparées à celles des groupes non traités (**Tableau XVII**).

Tableau XVII. Répartition des triglycérides sériques (TG) (mM) entre les différentes fractions de lipoprotéines

	TG-VLDL	TG-LDL-HDL ₁	TG-HDL ₂	TG-HDL ₃
D	0,27±0,03 ^a (37%)	0,22±0,03 (30%)	0,10±0,02 (15%)	0,13±0,01 (18%)
D-Sa	0,09±0,01 ^b (26%)	0,08±0,01 (22%)	0,08±0,02 ^b (24%)	0,10±0,04 (28%)
D-MTF	0,14±0,03 ^b (24%)	0,11±0,04 ^b (19%)	0,18±0,03 (31%)	0,16±0,05 (26%)
HC	0,41±0,12 (48%)	0,32±0,02 ^a (37%)	0,07±0,05 (8%)	0,06±0,01 (7%)
HC-Sa	0,18±0,02 (29%)	0,13±0,02 ^b (21%)	0,20±0,03 (31%)	0,12±0,01 (19%)
HC-ATR	0,16±0,03 (31%)	0,08±0,01 ^b (16%)	0,18±0,03 (35%)	0,09±0,01 (18%)
C	0,15±0,02 (32%)	0,05±0,01 (10%)	0,17±0,02 (35%)	0,11±0,01 (23%)

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa**: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC**: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa**: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^a**D** ou **HC** vs **C**, ^b**D-Sa** ou **D-MTF** vs **D**, ^b**HC-Sa** ou **HC-ATR** vs **HC**.

La part des TG dans la fraction HDL₂ est plus importante chez les groupes **HC-ATR** (35%), **HC-Sa** et **D-MTF** (31%) et **D-Sa** (24%) par rapport à celle des groupes **HC** (8%) et **D** (15%), mais elle reste identique à celle du groupe contrôle (**Tableau XVII**). Cependant, les TG portés par les HDL₃ représentent respectivement 28 et 26% chez les groupes **D-Sa** et **D-MTF** vs **D** (18%). En revanche, elles sont respectivement de 19 et 18% chez les groupes **HC-Sa** et **HC-ATR** et 7% chez le groupe **HC**.

13.6. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL

Chez les groupes D et HC *vs* C, la masse des VLDL (exprimée en g/l) qui représente la somme du contenu en apolipoprotéines (apos), cholestérol libre (CL), esters de cholestérol (EC), triglycérides (TG) et PL (phospholipides) est 1,6- et 3-fois plus élevée, cette augmentation est essentiellement due à celle de CL, PL et TG (**Fig. 28**). En revanche, elle est plus faible (3,6- et 2,8-fois) chez les groupes D-*Sa* et D-*MTF* et (2- et 1,6-fois) chez les groupes HC-*Sa* et HC-*ATR* comparés respectivement aux groupes non traités. Toutefois, le clou de girofle abaisse efficacement cette valeur (1,2-fois) chez le groupe HC-*Sa* comparée à l'atorvastatine.

Qualitativement, les teneurs en apo-VLDL sont identiques entre les groupes HC-*Sa* et HC-*ATR*, alors que chez les groupes diabétiques traités aucune différence significative n'est notée.

Cependant, une réduction du contenu en CL-VLDL (4,7- et 4-fois) est notée chez les groupes D-*Sa* et D-*MTF* comparés au groupe D. En revanche, chez le groupe D-*Sa* cette valeur est 1,2-fois plus faible comparée au groupe D-*MTF*. De plus, chez les groupes HC-*Sa* et HC-*ATR vs* HC, une diminution des concentrations en CL-VLDL est notée (2,4- et 1,7-fois, respectivement).

Par ailleurs, les teneurs en EC-VLDL sont (9,7- et 3,9-fois) plus importantes chez les groupes D-*Sa* et D-*MTF* comparés à celle du groupe D, alors qu'elle représente environ le triple chez le groupe D-*Sa vs* D-*MTF*. De même, une réduction des contenus en TG des VLDL (2,8- et 2-fois) est observée chez les groupes D-*Sa* et D-*MTF vs* D. Cependant, aucune différence significative n'est constatée dans les teneurs en EC- et TG-VLDL chez les groupes HC-*Sa* et HC-*ATR* comparés à celles du groupe HC.

En outre, les teneurs en PL-VLDL sont similaires chez les groupes diabétiques et hypercholestérolémiques traités ou non.

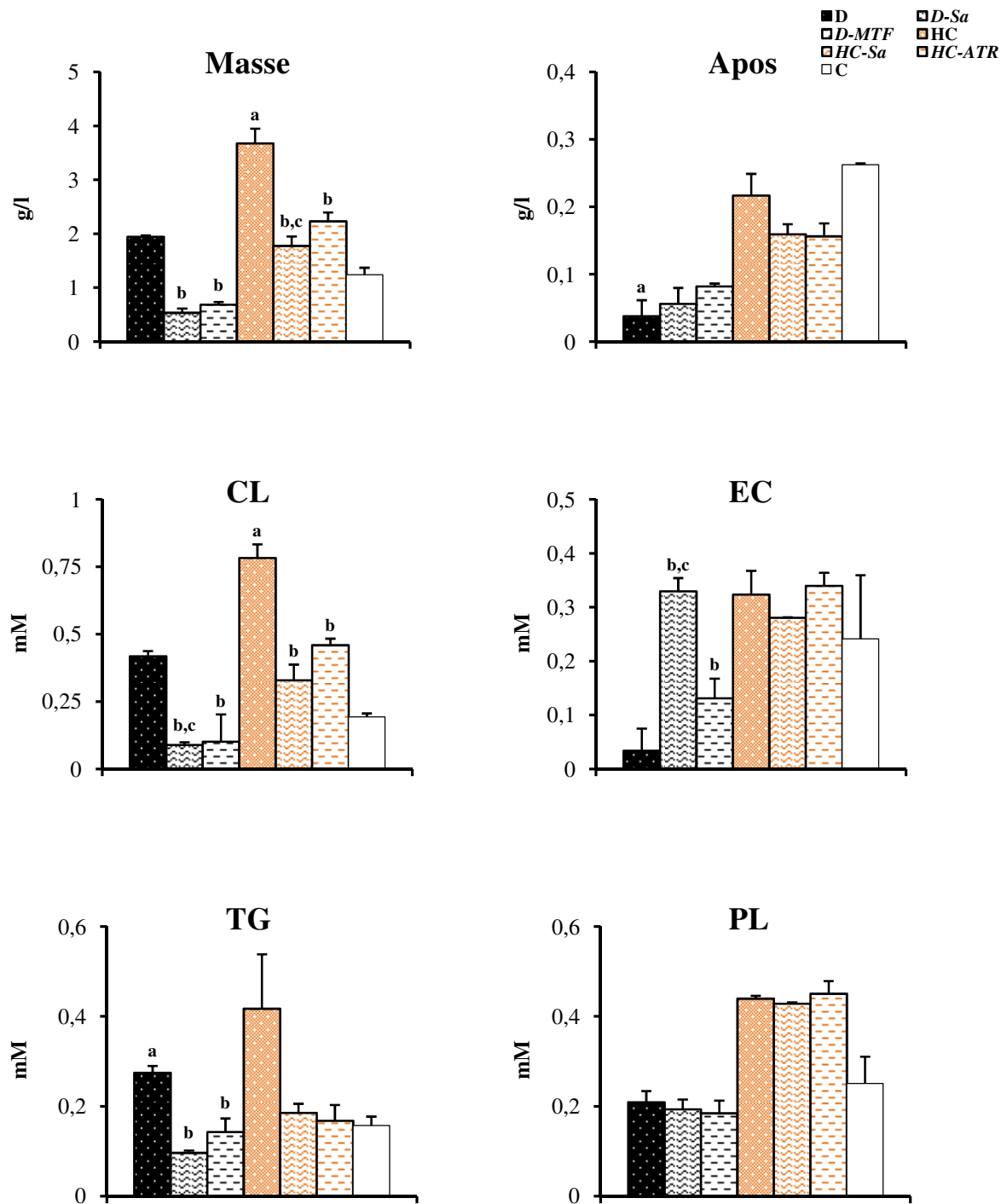


Fig. 28. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

13.7. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL₁

Chez le groupe HC vs C, la masse des LDL-HDL₁ est 3-fois plus élevée, en raison d'une augmentation des teneurs en EC (+90%), CL (+77%), TG (84%) et en PL (+47%), alors qu'aucune différence significative n'est observée chez le groupe D vs C. Néanmoins, les teneurs en apos sont 3-fois plus faibles chez le groupe D vs C (**Fig. 29**).

Cependant, une augmentation des apo-LDL-HDL₁ (+26%) et une diminution des TG-LDL-HDL₁ (-48%) sont observées seulement chez le groupe D-MTF comparé à D. Toutefois, les concentrations en CL-LDL-HDL₁ sont réduites de la même manière chez les groupes D-Sa et D-MTF (2,5- et 2,2-fois) comparées respectivement au groupe D. De plus, ces deux traitements induisent une diminution significative du contenu en PL des LDL-HDL₁, alors qu'aucune différence significative n'est observée dans les teneurs en EC.

Le traitement avec le clou de girofle chez le groupe HC montre une réduction (-66%) de la masse des LDL-HDL₁ et cet effet est plus efficace comparé à celui d'atorvastatine. Cette diminution est concomitante avec celle des contenus en CL (-59%), EC (-44%) et en TG (-58%), alors qu'aucune différence significative n'est observée dans les teneurs en apos et en PL chez le groupe HC-Sa vs HC. De plus, comparé aux valeurs observées chez le groupe HC, l'atorvastatine réduit significativement les teneurs en CL- et EC-LDL-HDL₁. Cependant, cette réduction est plus importante chez le groupe HC-Sa (-52 et -43%, respectivement).

13.8. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₂

La masse des HDL₂ est augmentée chez le groupe D vs C (+48%), alors qu'aucune différence n'est constatée chez les autres groupes (**Fig. 30**). Cependant, l'administration du clou de girofle entraîne une diminution (-69%) des teneurs en apos chez le groupe HC-Sa vs HC-ATR, alors que l'atorvastatine induit une augmentation (+92%) comparée à la valeur du groupe HC. Par ailleurs, aucune différence significative n'est retrouvée dans le contenu en apos chez les groupes diabétiques traités ou non.

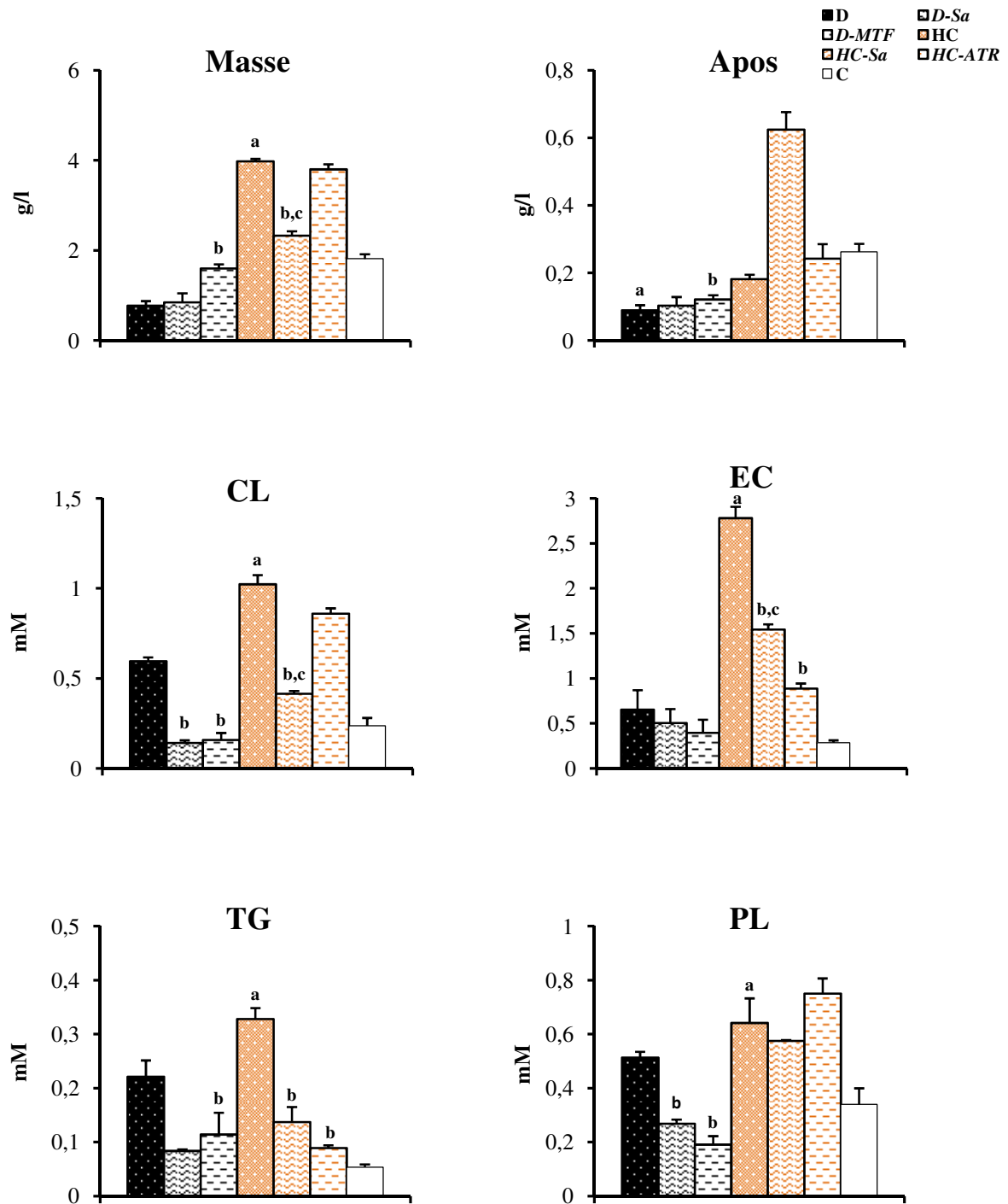


Fig. 29. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL₁.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

Les concentrations en CL-HDL₂ sont plus faibles chez le groupe D-*Sa* par rapport à celles retrouvées chez les groupes D et D-*MTF*, alors que les teneurs en EC-HDL₂ sont 9- et 7-fois plus élevées chez les groupes D-*Sa* et D-*MTF* comparée à D. Toutefois, une diminution des teneurs en TG (-18%) et PL (-53%) sont notées seulement chez le groupe D-*Sa* comparé à celles du groupe D (**Fig. 30**).

Chez les groupes HC-traités ou non, les teneurs en EC et TG ne montrent aucune différence significative, alors que le contenu en CL est 2-fois plus faible chez le groupe HC-*Sa* vs HC et celui en PL est 3,7-fois plus faible chez le groupe HC-*ATR* vs HC.

13.9. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₃

Chez les groupes D et HC vs C, la masse des HDL₃ est 1,6-fois plus élevée, cette augmentation est essentiellement due à celle de PL, CL et EC (**Fig. 31**). Cependant, un pourcentage de réduction identique (-51%) est noté chez les groupes D-*Sa* et D-*MTF* vs D. Toutefois, le clou de girofle abaisse efficacement cette valeur (1,3-fois) chez le groupe HC-*Sa* comparée à l'atorvastatine.

Cependant, une réduction du contenu en CL-HDL₃ (1,5- et 1,8-fois) est notée respectivement, chez les groupes D-*Sa* et D-*MTF* comparés à D. En revanche, chez le groupe D-*Sa* cette valeur est 1,2-fois plus élevée comparée à celle du groupe D-*MTF*, alors qu'aucune différence significative n'est observée chez les groupes HC-*Sa* et HC-*ATR* vs HC.

Par ailleurs, une diminution des contenus en EC-HDL₃ (1,3-fois) est notée seulement chez le groupe D-*MTF* comparé à celle du groupe D.

En revanche, les teneurs en apos- et en TG-HDL₃ obtenus chez les différents groupes, ne révèlent aucune différence significative. Excepté, le contenu des PL-HDL₃ qui est 2,5- et 1,4-fois plus faible chez les groupes D-*Sa* et HC-*Sa* comparé respectivement aux groupes non traités.

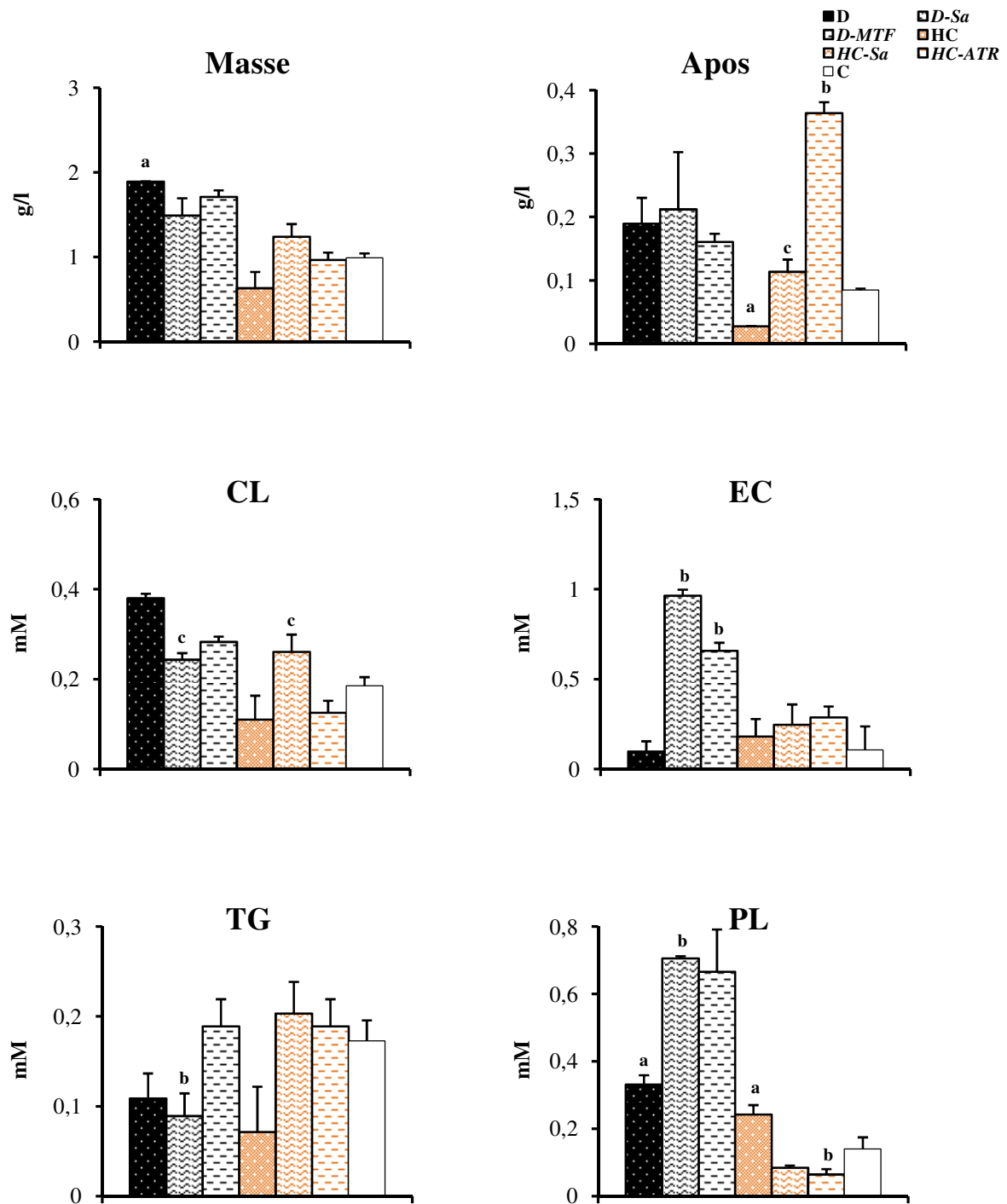


Fig. 30. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₂.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

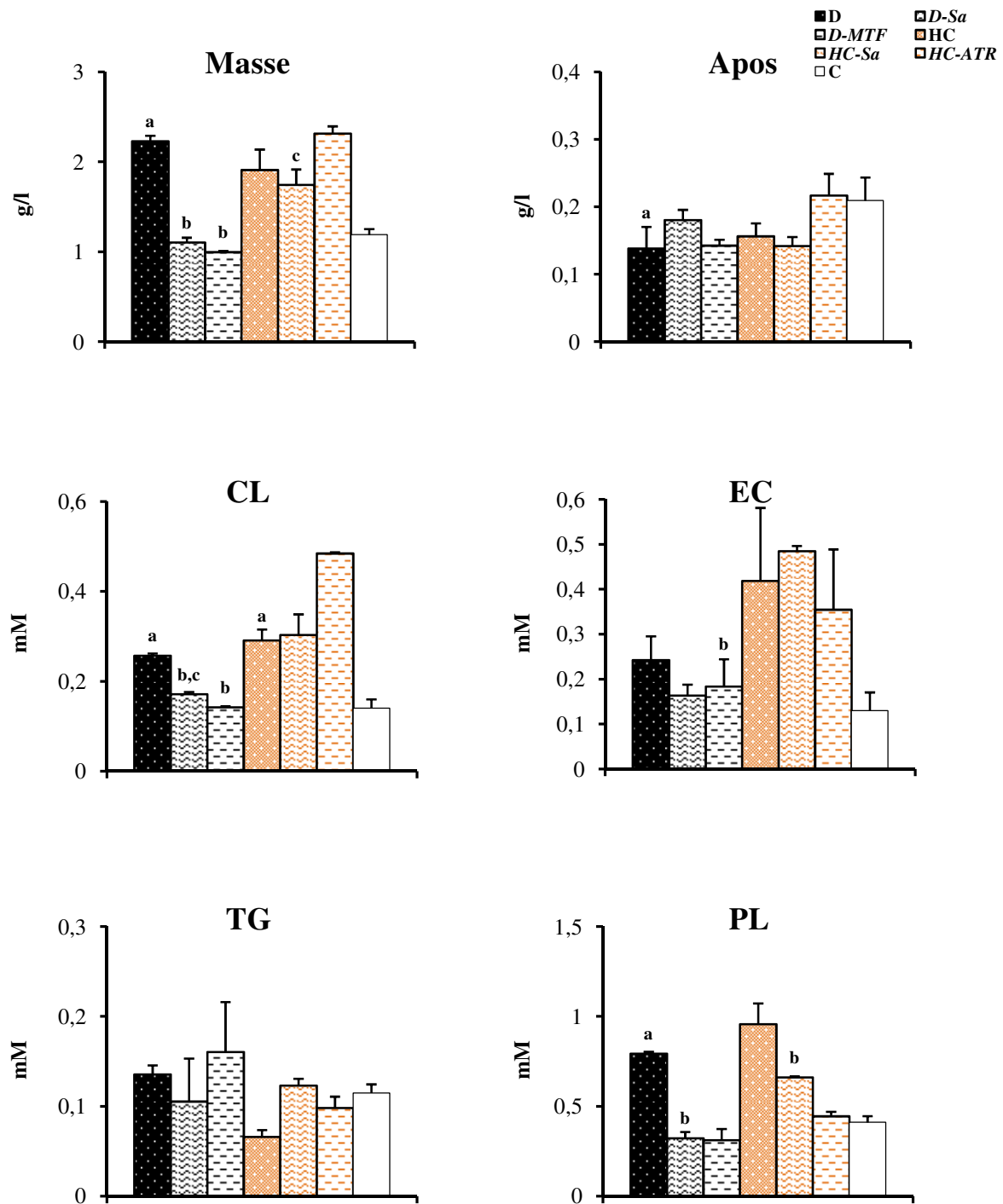


Fig. 31. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₃.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

14. Activité de la LCAT et teneurs sériques en apolipoprotéine-AI (apo-AI)

L'activité de la lécithine:cholestérol acyl-transférase, enzyme qui assure l'estérification du cholestérol des HDL₃, est élevée (+10 et +34%) chez les groupes D-*MTF* et HC-*ATR*, tandis qu'elle a tendance à être plus élevée chez les groupes traités par le clou de girofle (**Tableau XVIII**). De même, une augmentation des teneurs sériques en apo-AI (cofacteur activateur de la LCAT) de 21, 46 et 42% est constatée respectivement chez les groupes D-*Sa*, HC-*Sa* et HC-*ATR* par rapport aux groupes non traités. Chez les groupes D-*Sa* et D-*MTF* comparée à D, cette élévation est accompagnée d'une augmentation des EC-HDL₂ (+90 et +85%), produit de la réaction enzymatique de la LCAT et une diminution du CL-HDL₃, accepteur du groupement acyl (-33 et -45%). Toutefois, les teneurs des PL-HDL₃, substrat de la LCAT sont réduites seulement chez les groupes D-*Sa* (-59%) et HC-*Sa* (-31%) comparés à celles des groupes non traités. En revanche, les teneurs en apos-HDL₃ obtenus chez les différents groupes, ne révèlent aucune différence significative.

Tableau XVIII. Activité de la lécithine:cholestérol acyl-transférase (µM/h) et teneurs sériques en CL-HDL₃, PL-HDL₃, EC-HDL₂ (mM), apos-HDL₃ et en apo-AI (g/l)

	LCAT	CL-HDL ₃	PL-HDL ₃	apos-HDL ₃	EC-HDL ₂	Apo-AI
D	14,85±4,71 ^a	0,25±0,01 ^a	0,79±0,01 ^a	0,13±0,03 ^a	0,09±0,05	0,43±0,10 ^a
D-<i>Sa</i>	21,04±3,82	0,17±0,01 ^{b,c}	0,32±0,03 ^b	0,18±0,01	0,96±0,03 ^b	0,55±0,03 ^b
D-<i>MTF</i>	16,51±1,03 ^b	0,14±0,01 ^b	0,31±0,06	0,14±0,01	0,65±0,04 ^b	0,51±0,06
HC	25,76±4,74 ^a	0,29±0,02 ^a	0,95±0,11	0,15±0,01	0,17±0,09	0,56±0,02 ^a
HC-<i>Sa</i>	33,15±2,91	0,30±0,04	0,66±0,01 ^b	0,14±0,01	0,24±0,11	1,03±0,06 ^b
HC-<i>ATR</i>	39,21±3,11 ^b	0,48±0,01	0,44±0,02	0,21±0,03	0,28±0,06	0,97±0,08 ^b
C	48,42±4,07	0,14±0,01	0,41±0,03	0,20±0,03	0,10±0,13	0,81±0,07

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-*Sa***: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-*MTF***). **HC**: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-*Sa***: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-*ATR***). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-*Sa* ou D-*MTF* vs D, ^bHC-*Sa* ou HC-*ATR* vs HC, ^cD-*Sa* vs D-*MTF*.

15. Etude descriptive histologique des différents organes

15.1. Architecture structurale du rein chez les groupes diabétiques

L'étude histologique du tissu rénal des rats diabétiques montre des glomérules partiellement nécrosés avec une capsule de Bowman dilatée et un épaissement de la membrane basale (**Photo. 1 D**). De plus, chez ce même groupe, une dilatation tubulaire et une disparition des noyaux sont observées comparé au groupe contrôle (**Photo. 1 C**).

En revanche, ces lésions tissulaires sont efficacement réduites après administration du clou de girofle ou de metformine (**Photo. 1 D-Sa et D-MTF**). En effet, le glomérule paraît plus grand avec une capsule de Bowman adéquate. De même, une régénération tubulaire semblable à celle du groupe contrôle est notée chez les deux groupes traités.

15.2. Architecture structurale du pancréas chez les groupes diabétiques

Après 4 semaines d'expérimentation, l'histologie du pancréas des rats soumis à la streptozotocine (55 mg/kg PC), montre une importante nécrose cytoplasmique et une dégénération des îlots de Langerhans, alors que les acini sont intacts (**Photo. 2 D**). Cependant, chez ces rats diabétiques, la surface spécifique du tissu des îlots se rétrécit par rapport à celle observée chez le groupe contrôle (**Photo. 2 C**), ce qui confirme l'induction du diabète.

Le traitement par le clou de girofle, montre une régénération et une augmentation du système vasculaire des cellules des îlots, ainsi qu'une légère nécrose cytoplasmique (**Photo. 2 D-Sa**). Tandis que, une conservation cellulaire d'îlots chez le groupe traité par la metformine, est révélée (**Photo. 2 D-MTF**).

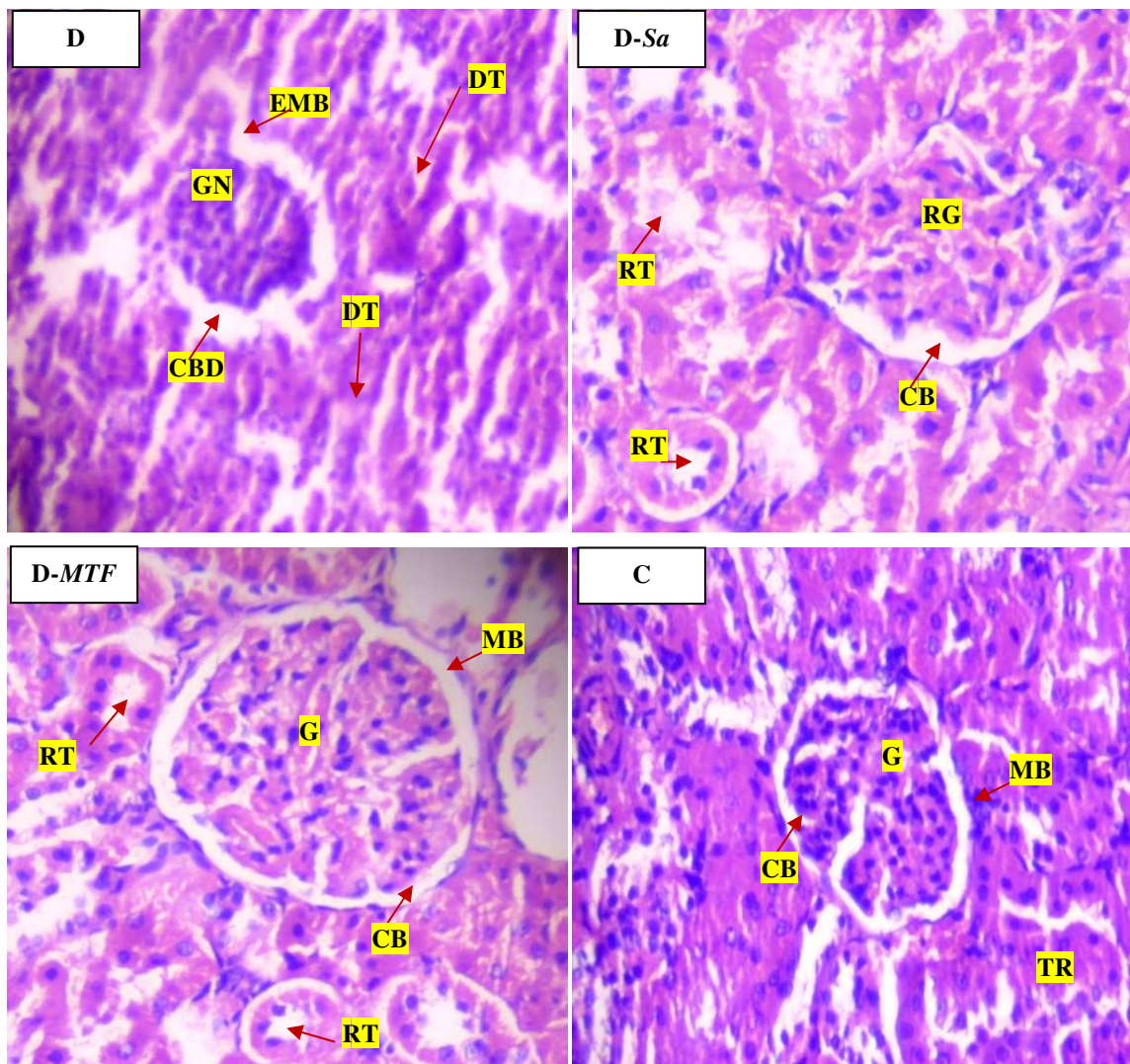


Photo. 1. Observation microscopique des coupes histologiques du tissu rénal colorées avec l'Hématoxyline-Eosine (X 400).

D: groupe diabétique non traité, *D-Sa*: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (*D-MTF*). *C*: groupe contrôle consomme durant toute l'étude le régime (*Cas*).

G: glomérule, *MB*: membrane basale, *CB*: capsule de Bowman, *TR*: tube rénale, *GN*: glomérule nécrosé, *CBD*: capsule de Bowman dilaté, *EMB*: épaissement de la membrane basale, *DT*: dilatation tubulaire, *RG*: régénération glomérulaire, *RT*: régénération tubulaire.

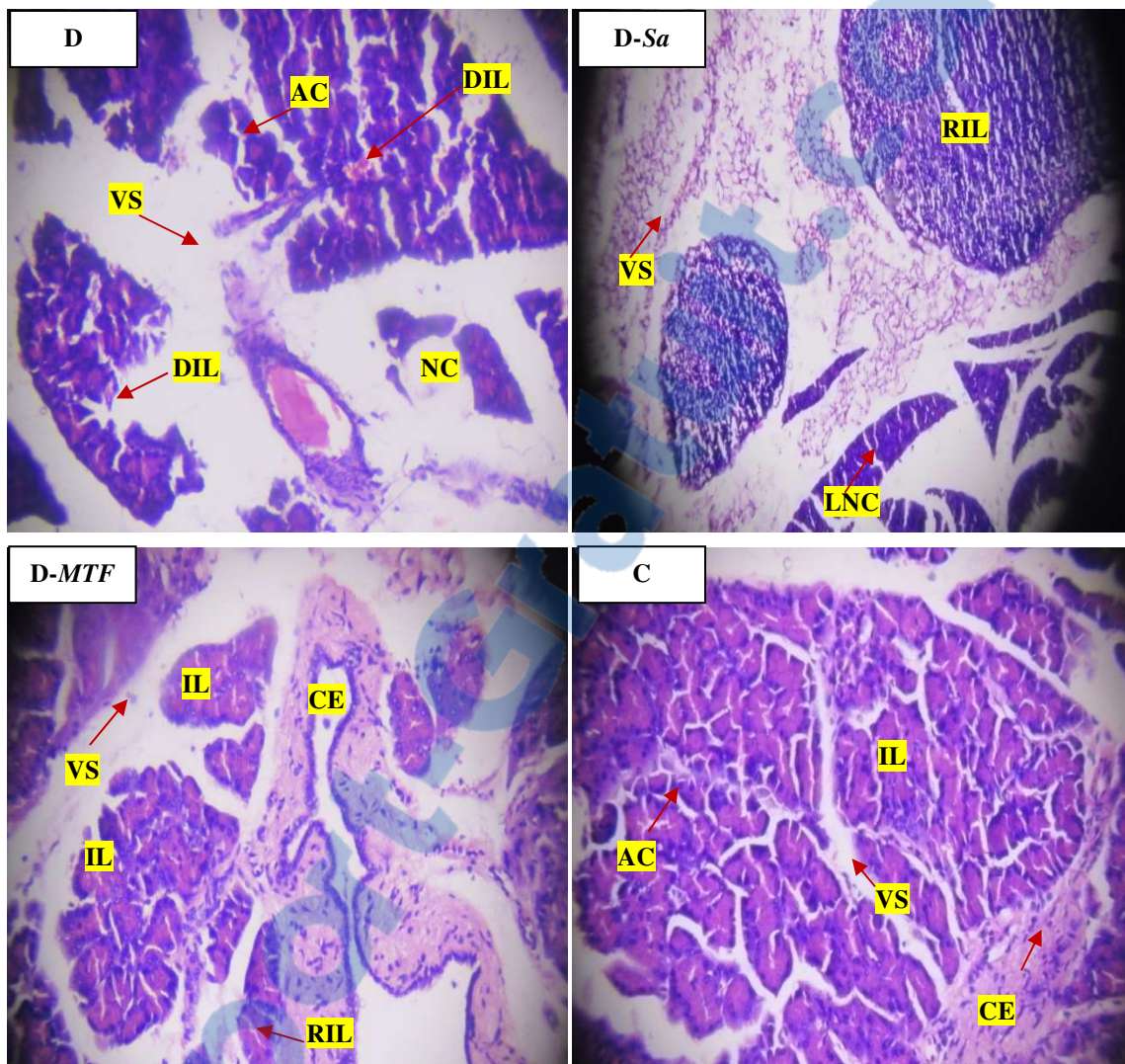


Photo. 2. Observation microscopique des coupes histologiques du pancréas colorées avec l'Hématoxyline-Eosine (X 400).

D: groupe diabétique non traité, *D-Sa*: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (*D-MTF*). *C*: groupe contrôle consomme durant toute l'étude le régime (*Cas*).

IL: îlot de Langerhans, *AC*: acini, *CE*: canalicule exocrine, *VS*: vaisseau sanguin, *NC*: nécrose cytoplasmique, *LNC*: légère nécrose cytoplasmique, *DIL*: dégénération des îlots de Langerhans, *RIL*: régénération des îlots de Langerhans.

15.3. Architecture structurale du tissu hépatique chez les groupes hypercholestérolémiques

La microscopie optique du tissu hépatique des rats hypercholestérolémiques par rapport au groupe contrôle, révèle un infiltrat inflammatoire autour de l'espace porte et une vacuolisation cytoplasmique des hépatocytes, indiquant une accumulation de microgouttelettes graisseuses (**Photo. 3 HC**). De même, les hépatocytes présentent une disposition non ordonnée avec un espace sinusöide dilaté traduisant un éventuel début de nécrose.

Cependant, aucune inflammation n'est observée chez le groupe traité par clou de girofle (**Photo. 3 HC-Sa**). Inversement, le groupe traité par l'atorvastatine montre une présence modérée d'une inflammation portale (**Photo. 3 HC-ATR**). Toutefois, une réduction de la vacuolisation cytoplasmique et une légère amélioration des lésions hépatocellulaires est notée chez les deux groupes traités comparés au groupe HC.

15.4. Architecture structurale du tissu adipeux chez les groupes hypercholestérolémiques

L'analyse microscopique des coupes histologiques du tissu adipeux montre un infiltrat inflammatoire et une accumulation massive de graisse au niveau des adipocytes, chez le groupe HC vs contrôle (**Photo. 4 HC**).

Inversement, l'administration de clou de girofle réduit considérablement l'accumulation des graisses et inhibe l'inflammation induite par le régime enrichi en cholestérol (**Photo. 4 HC-Sa**). Toutefois, un faible infiltrat inflammatoire est noté chez le groupe traité par l'atorvastatine (**Photo. 4 HC-ATR**).

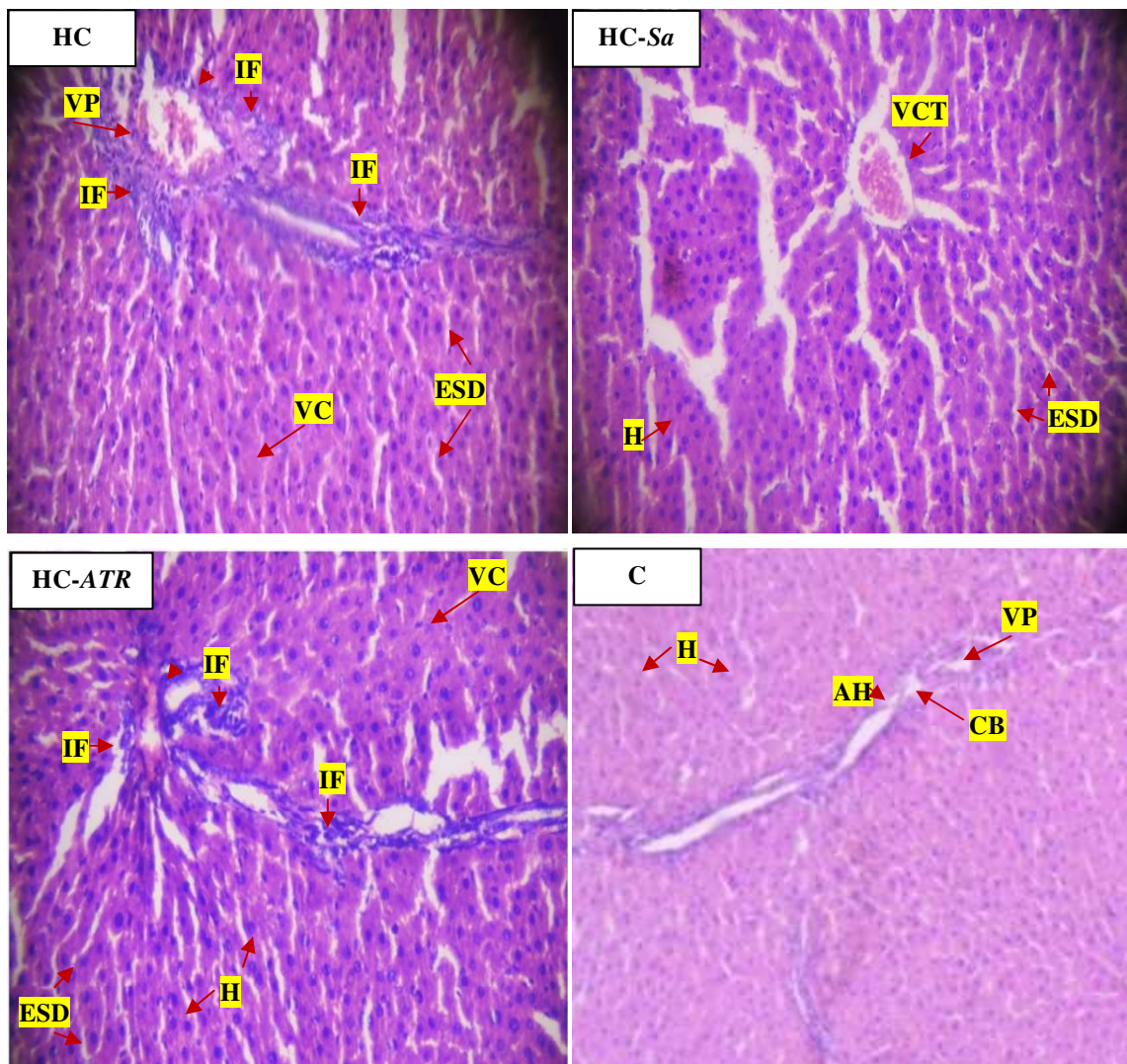


Photo. 3. Observation microscopique du tissu hépatique coloré avec l’Héματοxyline-Eosine (X 400).

HC: groupe hypercholestérolémique non traité, HC-Sa: groupe hypercholestérolémique traité avec l’extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (Syzygium aromaticum) ou l’Atorvastatine (HC-ATR). C : groupe contrôle consomme durant toute l’étude le régime (Cas).

VP: veine porte, VCT: veine centrale tubulaire, CB: canal biliaire, AH: artère hépatique, H: hépatocytes, IF: infiltrat inflammatoire, VC: vacuolisation cytoplasmique des hépatocytes, ESD: espace sinusoïde dilaté.

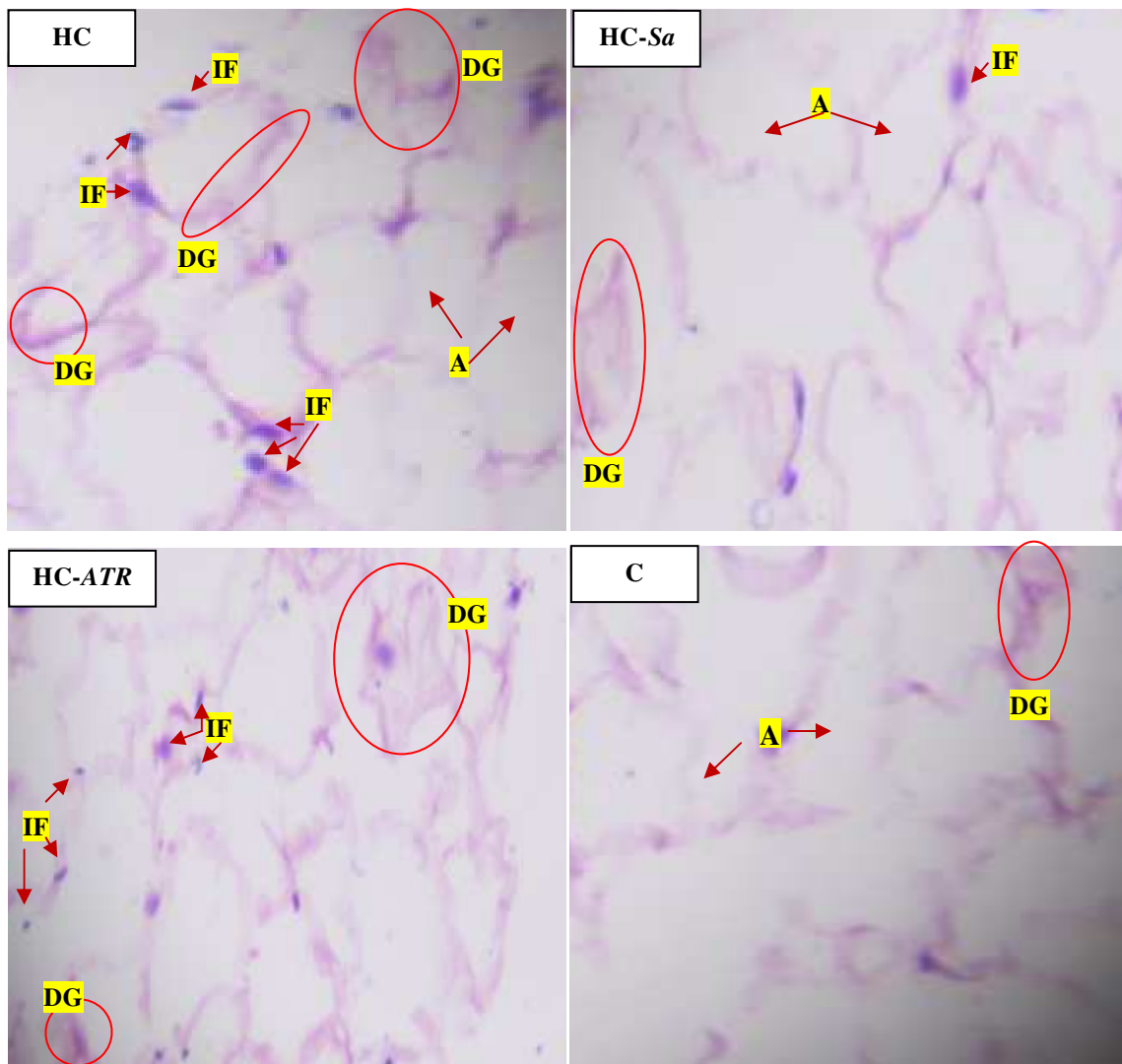


Photo. 4. Observation microscopique des coupes histologiques du tissu adipeux colorées avec l'Hématoxyline-Eosine (X 400).

HC: groupe hypercholestérolémique non traité, *HC-Sa*: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (*HC-ATR*). *C*: groupe contrôle consomme durant toute l'étude le régime (*Cas*).

A: adipocyte, *IF*: infiltrat inflammatoire, *DG*: dépôt de graisse.

16. Evolution du statut redox

16.1. Concentration en TBARS des lipoprotéines sériques

L'étude de la peroxydation lipidique montre une augmentation des teneurs en TBARS de la fraction VLDL (+58 et +23%), LDL-HDL₁ (+56 et +47%), HDL₂ (+79 et +46%) et HDL₃ (+82 et +46%), respectivement chez les groupes D et HC comparés au groupe contrôle (Tableau XIX).

Cependant, au niveau de la fraction LDL-HDL₁, le traitement des rats hypercholestérolémiques respectivement, avec le clou de girofle ou l'atorvastatine entraîne une diminution de la concentration en TBARS (-18 et -39%) comparée à celle du groupe non traité. En revanche, aucune différence n'est notée chez les groupes diabétiques traités.

Tableau XIX. Teneurs en TBARS (nM) des lipoprotéines sériques

	VLDL	LDL-HDL ₁	HDL ₂	HDL ₃
D	337,70±113,44 ^a	227,82±24,96 ^a	484,87±46,48 ^a	736,89±70,79 ^a
D-Sa	234,87±47,06	221,77±35,61	339,71±28,77 ^b	586,69±50,41
D-MTF	233,87±37,96	177,41±26,95	347,78±69,71 ^b	529,23±67,74 ^b
HC	183,46±16,94 ^a	191,53±05,20 ^a	189,51±20,02 ^a	250,00±18,91 ^a
HC-Sa	149,19±18,33	157,25±15,78 ^{b,c}	115,92±15,57 ^b	198,58±16,25
HC-ATR	141,12±15,78	115,92±13,72 ^b	127,01±36,73 ^b	209,67±23,74
C	141,12±15,78	100,80±08,71	101,81±06,88	134,07±44,94

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

Les valeurs des TBARS de la fraction HDL₂ sont 1,4-fois plus faible chez les groupes D-Sa et D-MTF et 1,6- et 1,4-fois chez les groupes HC-Sa et HC-ATR comparées respectivement aux groupes non traités (Tableau XIX). En outre, aucune variation des teneurs en TBARS des fractions VLDL et HDL₃ n'est observée chez les 4 groupes traités.

16.2. Concentrations des TBARS tissulaires

Chez les rats diabétiques vs contrôle, les concentrations des TBARS sont augmentées au niveau des reins (+49%) et du pancréas (+61%), alors que les deux traitements n'affectent pas ces valeurs (Fig. 32).

Les teneurs en TBARS hépatiques et adipocytaire, sont respectivement 3,4- et 2-fois plus élevées chez le groupe HC vs C, alors que chez les groupes HC-Sa et HC-ATR vs HC, ces valeurs sont réduites de -29 et -43% au niveau du foie. De même, au niveau du tissu adipeux les concentrations des TBARS sont 1,3-fois plus faibles chez le groupe HC-ATR vs HC, alors que le traitement par le clou de girofle ne montre aucune différence significative.

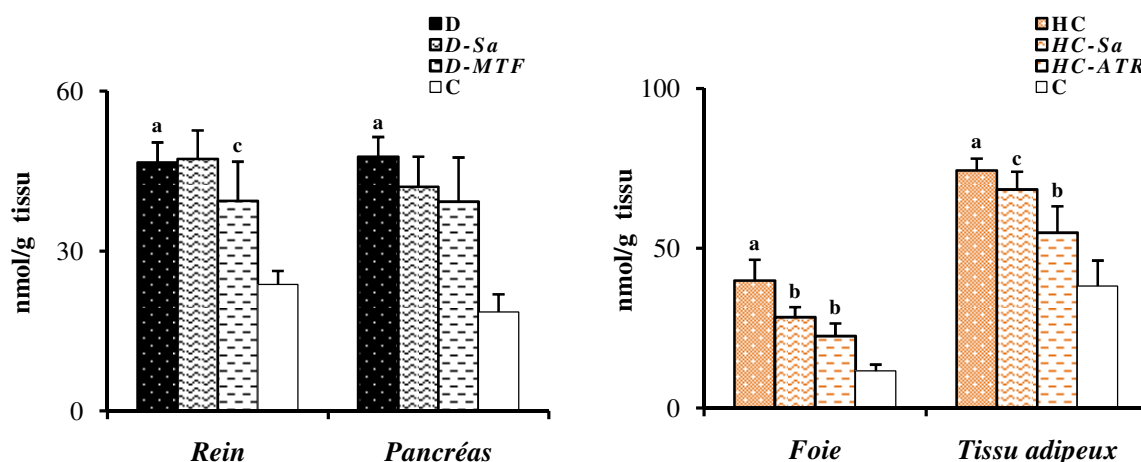


Fig. 32. Teneurs des TBARS tissulaires.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, D-Sa: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (D-MTF). HC: groupe hypercholestérolémique non traité, HC-Sa: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (HC-ATR). Le groupe contrôle (C) consomme le régime (Cas).

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

16.3. Teneurs sériques en hydroperoxydes et 8-isoprostane F_{2α} (8-IsoP F_{2α})

Les concentrations des hydroperoxydes (HPO) sériques sont plus importantes chez les groupes D (1,4-fois) et HC (1,5-fois) comparée au groupe contrôle (**Tableau XX**). De même, les teneurs en isoprostane représentent environ le double chez les mêmes groupes.

À l'inverse, l'administration du clou de girofle ou de la metformine aux rats diabétiques entraîne une diminution des teneurs des HPO (-10 et -11%) et il en est de même chez les groupes HC-Sa et HC-ATR (-17 et -13%) comparés aux groupes non traités.

Comparés aux groupes D et HC, les valeurs des isoprostanes sont 1,4- et 1,2-fois plus faibles chez les groupes D-Sa et D-MTF et chez HC-Sa et HC-ATR (1,7- et 2,7-fois).

Tableau XX. Teneurs sériques des hydroperoxydes (nM) et du 8-IsoP F_{2α} (pM)

	Hydroperoxydes	8-IsoP F _{2α}
D	4,79±0,09 ^a	74,75±7,27 ^a
D-Sa	4,35±0,14 ^b	54,60±1,67 ^b
D-MTF	4,26±0,03 ^b	58,50±9,92 ^b
HC	5,07±0,23 ^a	73,70±4,72 ^a
HC-Sa	4,22±0,20 ^b	42,38±7,82 ^{b,c}
HC-ATR	4,41±0,12 ^b	27,19±3,35 ^b
C	3,39±0,08	36,58±4,23

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

16.4. Concentrations tissulaires en hydroperoxydes

Au niveau des reins et du pancréas, les teneurs en hydroperoxydes (HPO) sont augmentées respectivement de 2,1- et 6-fois chez le groupe D vs C (**Fig. 33**). Par contre, au niveau rénal et pancréatique, une réduction des concentrations en HPO est notée chez le groupe D-Sa (-69 et -18%) et D-MTF (-53 et -31%) comparés au groupe D. En revanche, au niveau rénal, ces concentrations sont 1,5-fois plus faibles chez les groupes traités, alors qu'aucune différence significative n'est observée au niveau pancréatique.

Chez les rats HC comparés aux contrôles, les teneurs en HPO sont respectivement 2,8- et 2-fois plus importante au niveau hépatique et adipocytaire (**Fig. 33**). Cependant, une diminution des teneurs des HPO est notée respectivement au niveau hépatique (1,9- et 2,2-fois) et du tissu adipeux (1,8- et 1,9-fois) chez les groupes HC-Sa et HC-ATR comparés au groupe HC. Une élévation (+14%) des concentrations hépatiques des HPO est notée chez le groupe HC-Sa vs HC-ATR. Toutefois, aucune différence significative n'est observée au niveau adipocytaire.

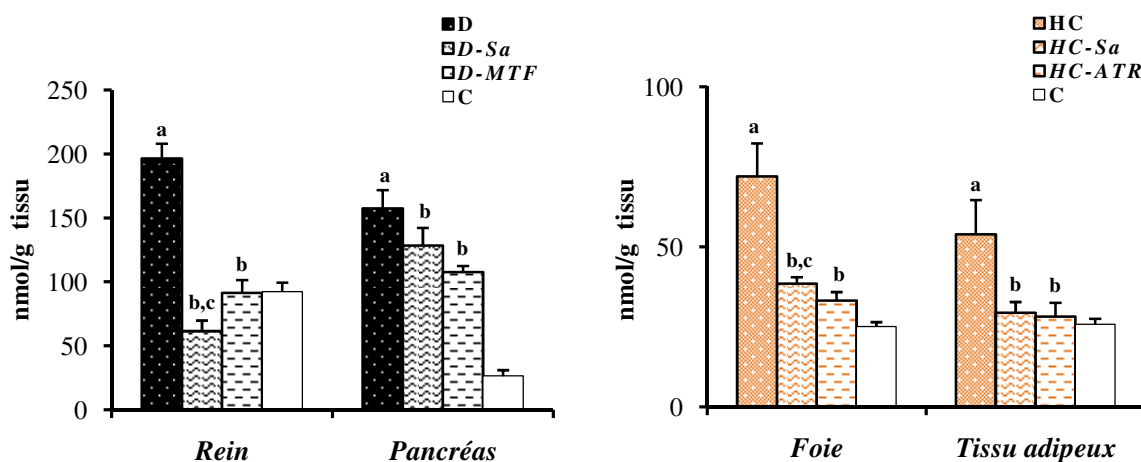


Fig. 33. Concentrations tissulaires en hydroperoxydes.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

16.5. Teneurs des carbonyles tissulaires

L'évaluation de l'oxydation protéique montre une augmentation (6,7-fois) des concentrations des carbonyles au niveau des reins de chez le groupe D vs C, alors que ces valeurs sont 2,4- et 2,9-fois plus faibles respectivement chez les groupes traités D-Sa et D-MTF comparées à celles notées chez le groupe D (**Tableau XXI**). En revanche, aucune différence significative n'est retrouvée au niveau du pancréas.

Les concentrations tissulaires en carbonyles sont plus élevées au niveau du foie (2,3-fois) et du tissu adipeux (3,1-fois) chez le groupe HC comparées à celles du groupe contrôle. Par contre, chez les groupes HC-Sa et HC-ATR vs HC, une diminution des teneurs des carbonyles est notée au niveau du foie (1,8- et 2,3-fois) et tissu adipeux (3- et 2,6-fois). De plus, au niveau adipocytaire chez le groupe HC-Sa vs contrôle, cette valeur est similaire.

Tableau XXI. Concentration des carbonyles tissulaires (mmol/mg protéines)

	Rein	Pancréas
D	1,11±0,02 ^a	3,72±1,56
D-Sa	0,46±0,13 ^b	1,96±0,06
D-MTF	0,38±0,03 ^b	1,84±0,02
C	0,16±0,01	1,56±0,08
	Foie	Tissu adipeux
HC	2,79±0,59 ^a	0,26±0,04 ^a
HC-Sa	1,52±0,19 ^b	0,08±0,02 ^b
HC-ATR	1,22±0,23 ^b	0,09±0,03 ^b
C	1,23±0,11	0,08±0,02

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa**: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC**: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa**: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC.

16.6. Capacité antioxydante totale (CA_{ox}T) des tissus

Au niveau rénal et pancréatique, la capacité antioxydante totale (CA_{ox}T) est significativement réduite chez le groupe D comparé au groupe C ($p < 0,05$), alors que chez les groupes D-Sa et D-MTF vs D, la CA_{ox}T rénale est 1,9- et 1,5-fois plus élevée (Tableau XXII). Néanmoins, chez le groupe D-Sa, cette valeur reste inchangée par rapport au groupe C. Au niveau pancréatique, la CA_{ox}T est réduite de 31% chez le groupe D-Sa vs D.

La CA_{ox}T du foie et du tissu adipeux est respectivement 1,7- et 1,5-fois plus faible chez le groupe HC par rapport à C. Inversement, une augmentation est notée au niveau hépatique (1,8- et 2,6-fois) et du tissu adipeux (1,3- et 1,5-fois) respectivement chez les groupes HC-Sa et HC-ATR comparés au groupe HC. Au niveau du foie, une CA_{ox}T similaire est notée chez les groupes hypercholestérolémiques traités comparé au contrôle.

Tableau XXII. Capacité antioxydante totale tissulaire (µmol Eq trolox /g tissu)

	Rein	Pancréas
D	08,01±0,08 ^a	11,79±0,05 ^a
D-Sa	15,65±0,07 ^{b,c}	08,06±0,04 ^{b,c}
D-MTF	18,45±0,04 ^b	14,86±0,08 ^b
C	15,05±0,73	18,38±0,16
	Foie	Tissu adipeux
HC	08,68±0,98 ^a	12,01±0,12 ^a
HC-Sa	15,54±0,26 ^b	16,28±3,25 ^b
HC-ATR	15,72±0,64 ^b	18,32±0,31 ^b
C	15,05±0,73	18,86±0,05

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa:** groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC:** groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa:** groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**, **c**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF.

16.7. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires

Chez les rats diabétiques comparés aux rats contrôles, l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) augmente de 65% au niveau rénal, alors qu'elle est 1,3- et 1,5-fois plus faible respectivement chez les groupes D-Sa et D-MTF vs D (**Fig. 34**). En revanche, aucune différence significative n'est notée au niveau du pancréas. Cependant, l'activité de la SOD hépatique est influencée par le régime enrichi en cholestérol. En effet, elle est 1,3-fois plus faible chez le groupe HC vs C et 1,7-fois plus élevée chez les groupes traités vs HC. Cependant, au niveau adipocytaire des valeurs similaires sont observées chez les 3 groupes hypercholestérolémiques.

L'activité de la catalase (CAT) est 3,2-fois plus élevée au niveau du foie et inversement 1,2-fois plus faible au niveau du tissu adipeux chez le groupe HC vs C (**Fig. 34**). Chez les rats traités par le clou de girofle, cette activité est plus élevée au niveau hépatique (1,3-fois) et au niveau rénal (1,7-fois). Cependant, chez les groupes traités vs les groupes non traités, aucune différence significative n'est observée au niveau du pancréas et du tissu adipeux.

L'activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px) est plus élevée (+79%) au niveau rénal et plus faible (-21%) au niveau du pancréas chez le groupe D vs C (**Fig. 34**). Comparé au groupe D, l'activité de GSH-Px est réduite seulement au niveau des reins (-71 et -65%) respectivement, chez les groupes D-Sa et D-MTF. En effet, l'activité de la GSH-Px hépatique et adipocytaire est similaire chez les 4 groupes de rats. Néanmoins, chez le groupe HC comparé à C, elle reste 1,2-fois plus faible au niveau du tissu adipeux.

Par ailleurs, une réduction de l'activité de la glutathion réductase (GSSH-Red) est notée au niveau des reins (2-fois) et du pancréas (1,2-fois) chez le groupe D vs C (**Fig. 34**). De même, au niveau du tissu adipeux, une diminution (-50%) de l'activité du GSSH-Red est notée chez le groupe HC comparé à C. Par rapport au groupe D, l'activité de la GSSH-Red rénale est 2,7- et 2,6-fois plus élevée respectivement chez les groupes D-Sa et D-MTF, alors qu'une élévation (2,5-fois) est observée au niveau du pancréas chez le groupe D-Sa vs D-MTF. Chez les groupes HC-Sa et HC-ATR comparées au groupe HC, l'activité de la GSSH-Red est plus importante au niveau de tissu adipeux (1,6-fois). En revanche, aucune différence significative n'est retrouvée au niveau hépatique.

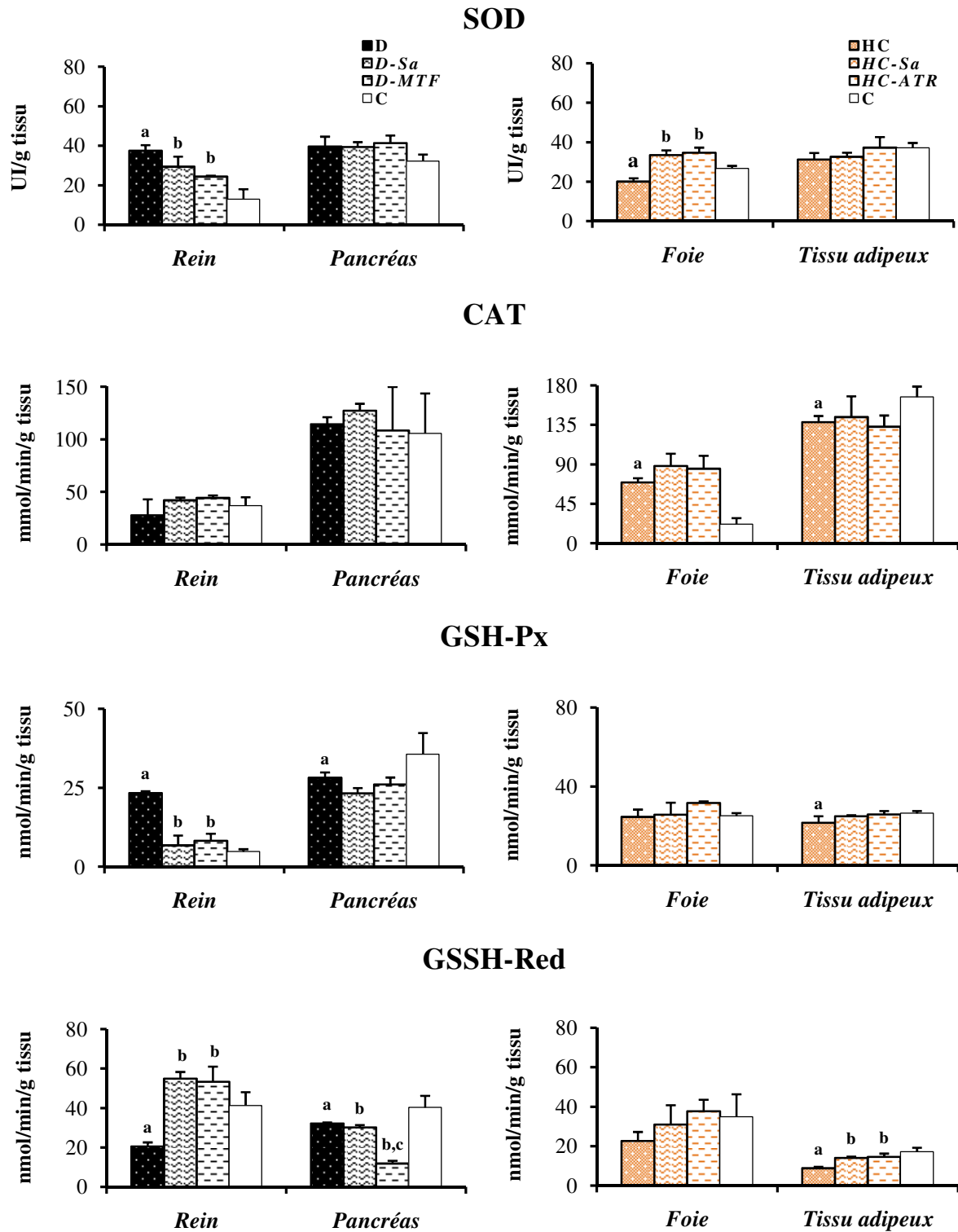


Fig. 34. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa**: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC**: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa**: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF.

16.8. Activité de la paraoxonase 1 (PON1)

L'activité enzymatique de la PON1 sérique est 1,3- et 1,8-fois plus faible respectivement, chez les groupes D et HC comparés au groupe contrôle (Fig. 35). Toutefois, ces valeurs sont plus élevées chez les groupes D-Sa (1,3-fois), D-MTF (1,2-fois), HC-Sa (1,6-fois) et HC-ATR (1,5-fois) comparés aux groupes non traités. En revanche, l'activité de la PON1 chez le groupe D-Sa est similaire à celle du groupe contrôle.

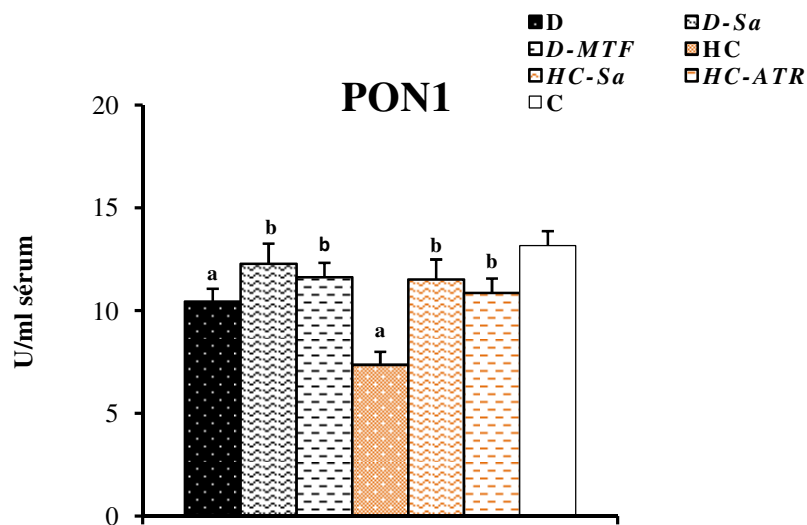


Fig. 35. Activité de la paraoxonase 1 au niveau sérique.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa**: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC**: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa**: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC.

17. Concentration sériques en TNF- α , IL-1 β et IL-6

Les teneurs sériques du TNF- α sont augmentées respectivement de 26 et 31% chez les groupes D et HC vs C, et inversement réduits de 47, 37 et 28% respectivement, chez les groupes D-MTF, HC-Sa et HC-ATR comparées aux groupes non traités (Tableau XXIII). En revanche, chez le groupe D-Sa le taux du TNF- α est similaire à celui du groupe contrôle.

Les concentrations sériques en IL-1 β sont 2,8- et 2,6-fois plus élevées respectivement, chez les groupes D et HC comparés au groupe contrôle, alors que l'administration du clou de girofle entraîne une réduction de ces valeurs (**Tableau XXIII**).

Les teneurs sériques en IL-6 sont plus importantes (+68 et +70%) chez les groupes D et HC comparés respectivement à celle du groupe C. À l'inverse, une même réduction (1,4-fois) des teneurs en IL-6 est notée chez les groupes D-Sa et D-MTF comparée au groupe D. De même, chez les rats hypercholestérolémiques le clou de girofle induit une diminution significative des teneurs sérique en IL-6 comparée au groupe HC ($p < 0,05$).

Tableau XXIII. Concentration sériques en TNF- α , IL-1 β et IL-6 (ng/ml)

	TNF-α	IL-1β	IL-6
D	15,43 \pm 1,28 ^a	11,43 \pm 2,64 ^a	11,68 \pm 1,06 ^a
D-Sa	11,57 \pm 0,94	06,17 \pm 0,45	08,05 \pm 1,95 ^b
D-MTF	08,17 \pm 1,25 ^b	07,31 \pm 1,07	08,25 \pm 2,50
HC	16,46 \pm 1,51 ^a	10,78 \pm 3,46 ^a	12,63 \pm 2,31 ^a
HC-Sa	10,31 \pm 0,79 ^b	06,06 \pm 1,54	08,04 \pm 1,72 ^b
HC-ATR	11,80 \pm 3,26 ^b	08,67 \pm 1,84	10,07 \pm 0,70
C	11,40 \pm 0,94	04,12 \pm 1,56	03,78 \pm 0,18

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

D: groupe diabétique non traité, **D-Sa**: groupe diabétique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou la Metformine (**D-MTF**). **HC**: groupe hypercholestérolémique non traité, **HC-Sa**: groupe hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ou l'Atorvastatine (**HC-ATR**). Le groupe contrôle (**C**) consomme le régime (**Cas**).

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^a**D** ou **HC** vs **C**, ^b**D-Sa** ou **D-MTF** vs **D**, ^b**HC-Sa** ou **HC-ATR** vs **HC**.

Les plantes de la famille des *Myrtaceae* sont très aromatiques et sont connues pour leurs valeurs médicinales et les polyphénols contenus dans certaines de ces plantes seraient à l'origine de leurs effets thérapeutiques (**Ghedira et al., 2010**). Afin de mieux comprendre l'utilisation traditionnelle du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), nous avons mené dans un premier temps une étude phytochimique et cytotoxique de cette espèce.

L'analyse qualitative par HPLC/DAD-UV de l'extrait aqueux du clou de girofle révèle la présence de composés phénoliques, principalement des flavonoïdes (quercétine et rutine), un acide phénolique (acide gallique) et un composé oxygéné phénolique (eugénol) appartenant à la famille des phénylpropène. **Cortés-Rojas et al., (2014) ; Oboh et al., (2015)** ont rapporté que l'extrait aqueux de clou de girofle représente l'une des sources les plus riches en composés phénoliques tels que l'eugénol, l'acétate d'eugénol et l'acide gallique, composés naturels connus pour leurs propriétés antioxydantes. Plus récemment, des études ont identifié dans l'extrait aqueux de clou de girofle, outre les flavonoïdes et l'eugénol, de nombreux alcaloïdes (**Shi et al., 2014 ; Tiwari et al., 2014 ; Adefegha et al., 2016**). D'un point de vue quantitatif, la concentration en polyphénols de l'extrait aqueux de *Syzygium aromaticum* est estimée à 116,93 mg équivalent d'acide gallique (EAG)/g de plante. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Shi et al., (2014)** qui, à travers son étude a pu montrer que le contenu de l'extrait aqueux de clou de girofle en polyphénols est de l'ordre de 106 mg eq EAG/g de plante. Les travaux de **Atawodi et al., (2011)** ont montré une corrélation positive entre le contenu en polyphénols de l'extrait aqueux de clou de girofle et sa capacité antioxydante/neutralisante.

L'activité antioxydante des polyphénols se détermine *in vitro* par mesure de la capacité de piégeage des radicaux libres (test de DPPH) (**Banerjee et al., 2012 ; Alachaher et al., 2018**). Les données obtenues sont comparées à des composés de référence comme le trolox (dérivé hydrosoluble de la vitamine E) (**Taleb-Senouci et al., 2009**). L'extrait aqueux de clou de girofle est révélé plus actif que le trolox lors d'un test au DPPH (**Shi et al., 2014**). De même, l'extrait aqueux de clou de girofle possède une forte activité de piégeage du radical superoxyde et une activité plus modérée vis-à-vis du radical hydroxyle (**Adefegha & Oboh, 2012**). En outre, nos résultats indiquent que le pouvoir réducteur du radical DPPH de l'extrait aqueux de clou de girofle augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait de 0,2-1 mg/ml, cela pourrait être dû à leur pouvoir donneur de l'atome d'hydrogène (**Oboh et**

al., 2011). De plus, l'activité antiradicalaire de l'extrait aqueux de clou de girofle exprimée en CI_{50} est presque similaire à celle du trolox (**Tableau VII**), ceci est en accord avec les résultats établis par **Barakat, (2014)** et ceux de **Tanyawan et al., (2015)**.

Nos résultats révèlent que l'extrait aqueux de clou de girofle est riche en composés phénoliques et possède une importante activité anti-radicalaire.

L'étude de la toxicité de l'extrait aqueux de clou de girofle, administré par voie orale aux rats Wistar, révèle une dose létale médiane (DL_{50}) de 7 g/kg PC. Ce qui permet de classer cet extrait dans la catégorie des substances faiblement toxiques, selon la classification de **Hodge & Sterner, (1943)**. En effet, les travaux d'**Adefegha et al., (2014)** ont montré que l'extrait brut de clou de girofle n'est pas toxique, même s'il est administré à des doses allant jusqu'à 20 g/kg de régime. La nature non-toxique de l'extrait aqueux de clou de girofle est bien soutenue par les niveaux normaux des paramètres biochimiques (ALT, AST et créatinine), suite à un traitement des rats normo-glycémiques par l'extrait aqueux avec des doses de 1-3 g/kg PC, durant 10 jours. En parallèle, les taux sériques du cholestérol, des triglycérides et du glucose sont réduits chez les rats soumis à différentes doses d'extrait. Par contre, à une dose plus élevée (4g/kg PC), nous avons enregistré une augmentation relativement importante des enzymes hépatiques et de la créatinine dans le sang (**Tableau IX**).

Ainsi, sur les quatre doses testées, la dose de l'extrait aqueux de clou de girofle : 2g/kg PC administrée chez les groupes diabétiques ou hypercholestérolémiques a été choisie car elle ne présente aucune toxicité.

De nombreux facteurs de risque cardio-métabolique tel que l'hypercholestérolémie et le diabète favorisent la survenue des maladies cardiovasculaires, qui constituent un problème majeur de santé publique. L'existence d'une relation étroite entre les niveaux accrus de glucose, de cholestérol et les altérations métaboliques, oxydatives et inflammatoires, nous a conduit à considérer les plantes et/ou leurs extraits, à la fois antidiabétiques (**Taleb-Senouci et al., 2009 ; Guenzet et al., 2014**), hypolipémiants (**Chenni et al., 2007 ; Taleb-Dida et al., 2011 ; Bouderbala et al., 2012 ; Mir et al., 2015 ; Zidan et al., 2016 ; Bahlil et al., 2018**) et comme des compléments nutritionnels de choix dans la stratégie de prévention des maladies cardiovasculaires.

De ce fait, l'objectif visé par nos recherches est d'évaluer, dans deux conditions pathophysiologiques, notamment l'hypercholestérolémie et le diabète chez le rat Wistar, si l'administration régulière d'un extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) peut améliorer l'homéostasie glucidique, la tension artérielle, le profil lipidique et réduire les dommages oxydatif et inflammatoire de la même manière que le traitement par la metformine et l'atorvastatine.

Durant toute l'expérimentation, une diminution du poids corporel par rapport au poids initial est notée chez les groupes diabétiques traités ou non par l'extrait aqueux de clou de girofle ou la metformine, bien que la consommation alimentaire chez ces groupes soit similaire à celles du groupe contrôle. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Akbarzadeh *et al.*, 2007 ; Sarkhail *et al.*, 2007 et Ojha *et al.*, 2014) qui ont observé une réduction du poids corporel chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine. En effet, la streptozotocine entraîne une perte de poids des animaux, probablement due à une carence en insuline qui conduit à une diminution de l'absorption des acides aminés par les tissus avec une réduction conséquente de la synthèse des protéines, d'où l'arrêt de la croissance et la fonte musculaire (Deeds *et al.*, 2011). De même, Adefegha *et al.*, (2014) n'ont trouvé aucune variation du poids corporel et de la consommation alimentaire chez des rats rendus diabétiques par la STZ et traités avec un extrait brut de clou de girofle (20 à 40g/kg de régime). Cependant, nos résultats ne concordent pas avec ceux de Chaudhry *et al.*, (2013) qui montrent que l'administration d'un extrait éthanolique de *Syzygium aromaticum* à 750 mg/kg PC améliore le poids corporel des rats diabétiques. En effet, ces auteurs suggèrent que cet effet bénéfique sur la perte de poids des animaux est probablement lié à la composition en polyphénols comme l'eugénol. L'explication possible de ces contradictions pourrait être due au fait que les constituants phénoliques de clou de girofle, sont plus solubles dans une solution d'éthanol que dans la solution aqueuse.

Ainsi, il apparaît que le traitement avec l'extrait aqueux de clou de girofle, probablement la nature de l'extrait, la dose ou la durée de l'expérimentation ne protège pas les rats diabétiques contre la baisse de poids induite par la streptozotocine.

Inversement, nos résultats montrent que l'administration de l'extrait aqueux de clou de girofle ou l'atorvastatine aux rats hypercholestérolémiques, entraîne une croissance pondérale progressive et similaire à celle du groupe contrôle. De plus, les deux traitements semblent être bien acceptés par le rat puisque la consommation alimentaire est identique chez les 4 groupes

expérimentaux. Les mêmes résultats ont été notés chez des rats consommant un régime supplémenté en cholestérol (1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique) et traités par l'extrait aqueux de *Zygophyllum gaetulum* à 1% (g/100g de régime) (Berzou *et al.*, 2014) et de *Portulaca oleracea* à 0,5% (g/100g de régime) (Zidan *et al.*, 2014). De même, Bunnouy *et al.*, (2015) ont rapporté que le traitement avec *Monascus purpureus*, n'a aucun effet sur le poids corporel et la nourriture ingérée chez des rats soumis à un régime enrichi en cholestérol (5%). Cependant, Fidèle *et al.*, (2017) ; Ontawongab *et al.*, (2019) ont montré une diminution significative du poids corporel chez des rats rendus hypercholestérolémiques et traités respectivement, avec un extrait aqueux de *Cassia occidentalis* et de pulpe de *Coffea arabica*. De plus, Gocmen *et al.*, (2013) en utilisant l'atorvastatine à 20 mg/kg PC ont montré chez des rats Wistar soumis à un régime enrichi en cholestérol (5%) pendant 80 jours, une réduction de la prise alimentaire et du poids corporel.

Il ressort que les rat Wistar soumis soit à un régime standard, soit enrichi en cholestérol, traité ou non avec l'extrait aqueux de clou de girofle ou l'atorvastatine présentent une évolution progressive et régulière du poids corporel tout au long de l'expérimentation.

Chez le rat diabétique traité ou non avec l'extrait aqueux de clou de girofle ou la metformine, le poids relatif, qui renseigne sur la croissance de l'organe par rapport à celle de l'organisme, du pancréas est réduit, alors que celui du rein est similaire. Ces résultats concordent avec ceux de Pandurangan & Kim, (2016) observés chez le rat rendu diabétique par la streptozotocine. En effet, ces auteurs ont montré que la réduction du poids relatif du pancréas est principalement due à une augmentation des processus inflammatoires, qui résultent d'une dégénérescence des cellules β pancréatiques. Ces données sont confirmées par l'étude des coupes histologiques, qui montrent une nécrose cytoplasmique et un rétrécissement de la surface spécifique du tissu pancréatique des rats diabétiques non traités (Photo. 2 D), alors que le traitement par l'extrait aqueux de clou de girofle permet la régénération et l'augmentation du système vasculaire des cellules β .

Ainsi, il peut-être suggéré que l'extrait aqueux de clou de girofle par l'intermédiaire de sa capacité antioxydante, protégerait les cellules β du pancréas contre la toxicité provoquée par la streptozotocine.

Par ailleurs, chez le rat ingérant un régime enrichi en cholestérol, le poids relatif du foie et celui du tissu adipeux sont augmentés comparés à celui du contrôle. En revanche, ces poids

sont réduits lorsque les rats hypercholestérolémiques sont traités par l'extrait aqueux de clou de girofle ou l'atorvastatine. Cette réduction serait la conséquence d'une diminution du dépôt graisseux au niveau du tissu adipeux, probablement par une inhibition de la lipogenèse et une réduction des lipides hépatiques. Ceci est confirmé par les observations des coupes histologiques, indiquant que l'administration de l'extrait aqueux de clou de girofle réduit considérablement l'accumulation des graisses au niveau des adipocytes (**Photo. 4 HC-Sa**) et atténuant la lésion hépatocellulaire (**Photo. 3 HC-Sa**). Il a été rapporté que l'extrait éthanolique de clou de girofle (**Jung et al., 2012**) ou l'extrait méthanolique de *Oiltea camellia* riche en polyphénols (**Chen et al., 2014**) empêche l'accumulation des lipides dans les tissus adipeux et hépatiques par régulation de l'adipogenèse chez des souris obèses. Cet effet serait plus frappant lorsqu'il s'agit d'un extrait riche en acide gallique (**Rahman et al., 2016**). Ces résultats sont aussi en accord avec ceux de **Harb et al., (2018)** qui ont rapporté que le poids relatif du foie est réduit chez des rats consommant pendant 14 jours un régime supplémenté en cholestérol (2% cholestérol et 1% d'acide cholique) et traités avec l'atorvastatine ou la β -caryophyllène (composé volatil des huiles essentielles de clou de girofle).

Toutefois, les antioxydants phénoliques comme l'acide gallique présents dans l'extrait aqueux de clou de girofle semblent corriger les altérations induites par le régime enrichi en cholestérol sur le foie et le tissu adipeux.

Dans cette approche, nous avons fixé comme objectif l'étude de l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de clou de girofle en suivant l'évolution de la glycémie à jeun et la réponse des rats diabétiques à une surcharge orale de glucose. La streptozotocine (STZ) est actuellement l'agent diabétogène le plus utilisé dans la recherche de nouveaux médicaments antidiabétiques chez les animaux (**Qinna & Badwan, 2015**). Ainsi, notre étude a montré qu'une injection de STZ à 55mg/kg PC induit une chute du taux d'insuline, entraînant une surproduction de glucose qui contribue à détériorer la tolérance au glucose et à favoriser l'hyperglycémie à jeun. Cependant, nos résultats concordent avec ceux enregistrés par **Wang et al., (2015)** ; **Pandurangan & Kim, (2016)** qui indiquent qu'une dose de 60 mg/kg PC de STZ provoque après 72h une réduction massive des taux d'insuline plasmatique par une destruction des cellules β pancréatiques. Ces données sont confirmées par l'étude des coupes histologiques du pancréas, qui montre une nécrose cytoplasmique et une dégénérescence des îlots de Langerhans des rats diabétiques non traités (**Photo. 2 D**), par rapport à celle observée chez le groupe contrôle. De nombreuses plantes médicinales sont traditionnellement utilisées

dans le traitement du diabète ; *Castanea sativa* et *Lactarius deterrimus* (Jovanović *et al.*, 2017), *Cnidocolus aconitifolius* (Achia *et al.*, 2017) et les feuilles de navet (*Brassica rapa*) (Hassanzadeh-Taheri *et al.*, 2018). En effet, le traitement avec l'extrait aqueux de clou de girofle à la concentration de 2 g/kg PC révèle un effet antihyperglycémiant similaire à l'action antidiabétique de la molécule de référence : la metformine (350 mg/kg PC). Cet effet hypoglycémiant s'observe dès le 7^{ème} jour de l'expérimentation jusqu'au 28^{ème} jour, accompagné par une augmentation des niveaux d'insuline, indiquant l'efficacité de l'extrait dans la réduction de l'hyperglycémie induite par la streptozotocine.

Des études expérimentales ont montré que plusieurs espèces de plantes appartenant à la famille des *Myrtacées* telles que *Syzygium polyanthum* (Widyawati *et al.*, 2015) et *Syzygium cumini* (Chagas *et al.*, 2018 ; Ajiboye *et al.*, 2018) induisent un effet hypoglycémiant. Ainsi, nos résultats concordent avec ceux obtenus par Shukri *et al.*, (2010) et Adefegha *et al.*, (2014) qui ont rapporté que l'extrait aqueux de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) diminue la glycémie avec une augmentation significative des niveaux d'insuline, chez le rat rendu diabétique par la STZ. En outre, l'effet bénéfique de l'extrait aqueux de clou de girofle sur l'hyperglycémie serait probablement lié à la composition en polyphénols. Jayaraman *et al.*, (2018) ont rapporté que l'administration orale de flavonoïdes (hespérétine) pendant 45 jours diminue la glycémie chez les rats diabétiques. En effet, l'extrait aqueux de clou de girofle est riche en flavonoïdes (quercétine, rutine), ceci permet d'expliquer l'effet hypoglycémiant de cette plante. Les flavonoïdes, tels que la quercétine et la rutine, diminuent le risque de diabète probablement en raison de leur forte inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase (Obboh *et al.*, 2015 ; Kittl *et al.*, 2016) en diminuant la dégradation du glycogène (Adefegha *et al.*, 2016). Cet éventuel mécanisme est proche de celui des biguanides hypoglycémiantes (la metformine) qui inhibe l'absorption du glucose dans l'intestin grêle et diminue ainsi la gluconéogenèse dans le foie (Khatune *et al.*, 2016). L'extrait aqueux de clou de girofle pourrait donc agir selon ce même mode d'action pour réduire la glycémie, chez le rat diabétique.

Toutefois, l'extrait aqueux de clou de girofle et la metformine sont efficaces sur la glycémie post-prandiale contrairement au groupe diabétique non traité (Fig. 24). Khathi *et al.*, (2013) ont rapporté que l'administration des triterpènes dérivés de *Syzygium aromaticum*, améliorent l'hyperglycémie postprandiale *via* l'inhibition de l'hydrolyse des glucides et la réduction des transporteurs de glucose dans le tractus gastro-intestinal. Par ailleurs, Subash-Babu *et al.*, (2014) ont rapporté que les polyphénols présents dans les extraits aqueux des

plantes médicinales permettent la régénération des cellules β et la protection des îlots de Langerhans contre les effets cytotoxiques de la STZ. L'examen histopathologique du pancréas des rats diabétiques traités par l'extrait aqueux de clou de girofle, est cohérent avec les résultats précédents (Khathi *et al.*, 2013 ; Subash-Babu *et al.*, 2014), suggérant que l'extrait aqueux de clou de girofle en plus de son activité antidiabétique, joue un rôle antioxydant.

Par conséquent, nous proposons que l'efficacité hypoglycémiant de l'extrait aqueux de clou de girofle serait comparable à celle de la metformine.

En plus du dosage de la glycémie et de l'insulinémie, la détermination du pourcentage de l'hémoglobine glycosylée (HbA_{1c}) est un indice très utile pour évaluer le contrôle de la qualité glycémique (Arivarasan *et al.*, 2012). L'hémoglobine glycosylée est le produit de la fixation non enzymatique du glucose (présent en excès dans le sang) sur les groupements aminés de l'hémoglobine (Alagammal *et al.*, 2012). Le taux d'HbA_{1c} est donc proportionnel à l'importance de la glycémie et reflète ainsi l'équilibre glycémique (Kundu *et al.*, 2013). Dans cette étude, le traitement des rats diabétiques avec l'extrait aqueux de clou de girofle ou la metformine réduit le taux d'HbA_{1c}. Ce résultat serait dû à la réduction des résidus glucose circulants puisqu'un effet hypoglycémiant est retrouvé chez ces groupes. Ces résultats concordent avec ceux obtenus avec les extraits aqueux de *Portulaca oleracea* (Guenzet *et al.*, 2017) et *Zygophyllum album* (Bahlil *et al.*, 2018), chez le rat rendu diabétique par la streptozotocine. En plus, des études ont montré que le traitement avec certains composés phénoliques peut prévenir la glycosylation des protéines (Elosta *et al.*, 2012 ; Ramkissoon *et al.*, 2013). L'extrait aqueux de clou de girofle possède des composés de la même nature (acide gallique, quercétine) qui seraient, probablement en partie, responsables de l'inhibition de la glycation d'hémoglobine chez le groupe traité.

Cependant, le traitement par l'extrait aqueux de clou de girofle est aussi efficace que celui par la metformine pour réduire l'hyperglycémie et améliorer les taux d'insuline et d'HbA_{1c}.

Un autre objectif de cette étude est de voir si l'extrait aqueux de clou de girofle est susceptible d'atténuer les perturbations de l'homéostasie glucidique chez les rats hypercholestérolémiques. De nombreux travaux ont démontré des effets délétères du cholestérol sur l'homéostasie de glucose et la sensibilité à l'insuline (Vijayaraj *et al.*, 2013 ; Ashraf *et al.*, 2017 ; Ulla *et al.*, 2017). En effet, nos données indiquent que la consommation

chronique du cholestérol entraîne une hyperglycémie, alors que le traitement avec l'extrait aqueux de clou de girofle ou l'atorvastatine induit une diminution de la glycémie. En revanche, aucune modification significative n'est observée au niveau des taux circulants en insuline et en HbA_{1c} chez les groupes de rats hypercholestérolémiques traités ou non comparativement au groupe contrôle (**Tableau XII**). L'ensemble des résultats obtenus corrobore avec ceux constatés dans l'étude de **Vijayaraj et al., (2013)** réalisée chez des rats hypercholestérolémiques traités avec l'extrait de *Cassia auriculata* ou dans l'étude d'**Ashraf et al., (2017)**, chez le rat diabétique ou hypercholestérolémique traité avec un extrait de zeste d'agrumes. Par ailleurs, les données de **Ulla et al., (2017)** ont montré chez des rats soumis au régime enrichi en graisse, que l'homéostasie du glucose est normalisée par la supplémentation en extrait de *Syzygium cumini*. Ces effets suggèrent une utilisation très active du glucose par les tissus périphériques et qui pourrait s'expliquer vraisemblablement par l'inactivation de la l' α -amylase et de l' α -glucosidase (**Shinde et al., 2008**).

Ainsi, l'extrait aqueux de clou de girofle entraîne une réduction de la glycémie chez les rats hypercholestérolémiques.

Par ailleurs, les données de la présente investigation montrent à l'évidence que le diabète induit par la STZ a une influence néfaste sur le développement de l'hypertension artérielle. L'injection de STZ à 55mg/kg PC induit une augmentation de la pression artérielle systolique (PAS) pendant toute la durée de l'expérimentation. Cependant, le régime supplémenté en cholestérol n'a aucun effet sur la PAS (**Fig. 22**). Ces résultats corroborent avec ceux obtenus par **Kuate et al., (2015)** chez les rats diabétiques et par **Ferreira-Santos et al., (2017)** chez les rats hypercholestérolémiques. En outre, ces variations des chiffres tensionnels pourrait bien être une des conséquences d'un déséquilibre électrolytique (Na^+/K^+) (**Reza et al., 2015**) associé à une altération de la fonction de la pompe Na^+/K^+ ATPase (**Zicha et al., 2012**). La STZ, de par son influence négative sur la production et/ou la biodisponibilité de l'insuline, entraîne une altération du taux sérique en électrolytes, caractérisé par un excès en ion de Na^+ et un taux faible en ion de K^+ , chez les rats diabétiques non traités par rapport au groupe contrôle (**Tableau XIII**). Il a été proposé précédemment que dans une situation d'hyperglycémie, la Na^+/K^+ ATPase est glycosylée contribuant ainsi, à la pathogenèse de l'hypertension artérielle (**Graner & Spector, 1985**) et ce, chez le modèle animal rendu diabétique par STZ (**Bwititi et al., 2001 ; Eteng et al., 2008 ; Ikpi et al., 2009 ; Prohp & Onoagbe, 2014**). Cependant, le mécanisme exact par lequel la STZ induit l'installation de

l'hypertension artérielle reste peu connu. L'administration quotidienne d'un extrait aqueux de clou de girofle ou metformine aux rats diabétiques, semble contrecarrer les effets de l'hyperglycémie et agit favorablement contre toute élévation de pression artérielle. Notre étude montre que l'introduction d'un extrait aqueux de clou de girofle ou la metformine s'accompagne d'une diminution de la pression artérielle systolique, mais l'effet est plus prononcé avec l'extrait aqueux de clou de girofle. En revanche, chez les rats hypercholestérolémiques traités par l'extrait aqueux de clou de girofle ou l'atorvastatine, aucune différence significative n'est notée (**Fig. 22**). Il est par conséquent possible, que cette baisse de la PAS serait le résultat de l'augmentation des taux de K^+ et de la réduction de la concentration en ion Na^+ au niveau sérique, chez les groupes D-Sa et D-MTF, confirmant ainsi, les études de **Mapanga et al., (2009)** ; **Madlala et al., (2012)** ; **Adefegha et al., (2014)** ; **Madlala et al., (2015)** qui ont souligné que l'acide oléanolique extrait de *Syzygium* affecte positivement le système cardiovasculaire par la diminution de la pression artérielle chez les rats diabétiques. Cet effet serait partiellement lié à l'activité diurétique des flavonoïdes, en favorisant la rétention du potassium (**Roberfroid et al., 2008**). Les mêmes effets ont été observés par **Oh et al., (2008)**, qui ont montré que les flavonoïdes, exerçaient un effet antihypertenseur par leurs actions vasodilatatrices et antioxydantes du système cardiovasculaire, aboutissent à la production de l'oxyde nitrique (vasodilatateur).

En effet, les résultats de l'étude phytochimique ont montré que l'extrait aqueux de clou de girofle est riche en flavonoïdes pouvant être responsables de la propriété antihypertensive de la plante. Ainsi, nous suggérons que le clou de girofle est plus efficace que la metformine pour gérer la pression artérielle.

L'hyperglycémie chronique au cours du diabète, induit précocement des modifications hémodynamiques et un dysfonctionnement endothélial entraînant notamment, une vasodilatation rénale (**Wang et al., 2015**), favorisant l'augmentation du débit de filtration glomérulaire (DFG) (**Ziyadeh, 2004**). L'élévation de la pression cellulaire capillaire locale qui en découle est associée aux effets vasculaires de l'hyperglycémie et induit des modifications morphologiques au niveau des glomérules (**Mason & Wahab, 2003**). Il est à préciser que les résultats de notre étude confirment cela chez les rats diabétiques non traités, par l'augmentation du DFG suite aux altérations tissulaires au niveau rénal (**Photo. 1 D**). En effet, les lésions rénales observées chez les rats diabétiques sont dues essentiellement à la génération excessive d'espèces réactive oxygénées (**Miranda-Diaz et al., 2016**). Ces

observations semblent être comparables à celles de **Sen et al., (2012)** ; **Ahmed et al., (2014)** ; **Jayaraman et al., (2018)** selon lesquelles le diabète induit par la STZ chez le rat, présente des complications rénales. Les lésions rénales semblent aussi être étroitement liées à des troubles fonctionnels des reins. Ceci a été démontré dans notre étude par l'augmentation des teneurs en urée et créatinine chez le groupe D comparé au groupe C. Cela peut être expliqué par une dégradation accélérée des protéines plasmatiques (**Sugdan & Fuller, 1991**). Dans notre travail, les teneurs sériques en protéines et en albumine sont élevées chez le groupe D. L'administration d'un extrait aqueux de clou de girofle aux rats diabétiques réduit le débit de filtration glomérulaire et atténue efficacement les dommages structurels des reins par rapport aux rats diabétiques traités par la metformine. Ceci étant confirmé par une baisse des teneurs en urée et en créatinine sériques, ce qui témoigne d'une amélioration de la fonction rénale. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus avec les extraits aqueux de *Triplochiton scleroxylon* (**Prohp & Onoagbe, 2014**) et d'*Albizzia Lebbeck Benth* (**Ahmed et al., 2014**), chez des rats rendus diabétiques par streptozotocine. En plus, des études ont montré que le traitement par les flavonoïdes peut prévenir les complications rénales induites par la STZ (**Lu et al., 2017** ; **Jayaraman et al., 2018**), suggérant ainsi un effet antioxydant du clou de girofle.

Il est suggéré que l'extrait aqueux de clou de girofle exerce un effet préventif en conservant la structure histologique et en atténuant les lésions structurales des reins chez les rats diabétiques. Cependant, l'effet néphroprotecteur de clou de girofle s'avère plus efficace que la metformine, en raison de son activité antioxydante.

Dans notre étude, l'augmentation des taux sériques de la lactate déshydrogénase (LDH) et de la gamma-glutamyl transférase (γ -GT) chez les rats diabétiques ou hypercholestérolémiques est la preuve d'une lésion cellulaire. La LDH est une enzyme importante dans la transformation des sucres en énergie, son augmentation témoigne d'un dommage tissulaire, en particulier au niveau du tissu cardiaque, hépatique et musculaire (**Abulnaja & El Rabey, 2015**). De même, l'enzyme γ -GT est une aminoacyltransférase impliqué dans le métabolisme des acides aminés, considéré comme un bon indicateur des lésions hépatiques (**Koenig & Seneff, 2015**). Cependant, après 28 jours de traitement par l'extrait aqueux de clou de girofle l'activité de la LDH et celle de la γ -GT sont diminuées, suggérant un effet bénéfique et protecteur de clou de girofle contre les lésions cellulaires. L'étude de **Ali et al., (2017)** a montré chez les rats diabétiques, que l'élévation de la LDH et celle de la γ -GT est liée aux dommages hépatiques causés par la STZ, alors que le traitement

par *Garcinia pedunculata* réduit l'activité de ces enzymes. Toutefois, **Venkadeswaran et al., (2017)** ont observé une réduction des activités de la LDH chez des rats hypercholestérolémiques traités avec l'eugénol.

Il ressort clairement dans cette partie du travail qu'en plus de son activité antioxydante, antidiabétique, l'extrait aqueux de clou de girofle est doté d'un pouvoir protecteur contre les lésions hépatiques induites par la STZ et le régime enrichi en cholestérol.

La dyslipidémie joue un rôle important dans l'apparition et le développement d'une athérosclérose précoce, responsable des maladies cardiovasculaires, dont le diabète et l'hypercholestérolémie (**Ota, 2013**). Il est clairement établi chez le modèle animal, que l'hyperglycémie induite par la streptozotocine est associée à des désordres du métabolisme des lipides et des lipoprotéines plasmatiques, caractérisés par des concentrations élevées en cholestérol total, C-LDL et triglycérides et des teneurs réduites en C-HDL (**Mellouk et al., 2009 ; Djellouli et al., 2014 ; Benaicheta et al., 2016 ; Khelladi et al., 2018**). De même, chez le rat, la consommation d'un régime enrichi en cholestérol est étroitement associé à l'hyperlipidémie progressant vers la stéatose hépatique (**Athmani et al., 2015 ; Mir et al., 2015 ; Saad et al., 2017 ; Harb et al., 2018**). Certaines études expérimentales ont révélé que les plantes médicinales peuvent modifier le métabolisme du cholestérol et des triglycérides chez les rats diabétiques (**Khatune et al., 2016 ; Jovanović et al., 2017**) et chez les rats consommant un régime supplémenté en cholestérol (**Fidèle et al., 2017 ; Ontawongab et al., 2019**). Par conséquent, il est intéressant de savoir si l'extrait aqueux de clou de girofle possède également une activité hypolipémiante chez le rat diabétique ou hypercholestérolémique. Pour cela, nous nous sommes proposé d'étudier dans un premier temps, les effets de l'hyperglycémie et du régime riche en cholestérol sur le profil des lipides sérique, lipoprotéique et hépatique.

Nos investigations ont permis de mettre en exergue que chez les rats diabétiques ou exposés au régime riche en cholestérol les teneurs sériques en CT, TG et PL sont significativement élevés comparativement aux rats du groupe contrôle. Plusieurs mécanismes peuvent expliquer ces altérations lipidiques, entre autres la réduction ou l'inhibition de l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL) due à la déficience en insuline chez les rats diabétiques (**Wang et al., 2016**). De plus, une augmentation des teneurs en lipides hépatiques de part leur fort contenu en CL, EC, TG et PL est constatée, en réponse à l'ingestion du cholestérol. Ces données sont confirmées par l'étude des coupes histologiques au niveau du

foie des rats hypercholestérolémiques, qui montrent une accumulation des lipides, favorisant l'apparition d'une stéatose hépatique (**Photo. 4 HC**). Ces résultats sont soutenus par ceux retrouvés par (**Bunnoy et al., 2015 ; Saad et al., 2017 ; Harb et al., 2018**). L'étude de **Yun et al., (2013)** suggère qu'une teneur élevée d'homocystéine chez des souris soumis à un régime riche en graisses, est associée à une stéatose hépatique, probablement en raison d'une augmentation de l'efflux d'homocystéine hépatique lié à un métabolisme altéré des acides aminés soufrés. Notre étude confirme cette hypothèse par l'obtention d'une hyperhomocystéinémie chez les deux groupes D et HC comparés au groupe contrôle (**Tableau XIV**). Cette découverte est conforme avec celle d'**Amin & Abd-El-Twab, (2009)** qui ont rapporté qu'un régime enrichi en cholestérol (0,2 mg/kg régime) entraîne une augmentation significative du taux d'homocystéine chez le rat. En effet, dans notre étude, une augmentation de la production des VLDL est notée chez les rats diabétiques et hypercholestérolémiques. Les mécanismes responsables des altérations du métabolisme des lipoprotéines VLDL sont associés à une glyco-oxydation des lipoprotéines (**Semenkovich & Heinecke, 1997**) et à une accumulation massive de graisses au niveau des adipocytes (**Bays et al., 2013**), comme le montrent bien nos résultats chez les rats hypercholestérolémiques (**Photo. 4 HC**).

Il est bien été établi que l'augmentation de la taille, du nombre et de l'activité lipolytique des adipocytes, fournit au foie de grandes quantités d'acides gras libres ce qui entraîne une augmentation de l'estérification des acides gras en TG avec une synthèse accrue de cholestérol induisant ainsi une hypersécrétion des VLDL concomitante à une augmentation des taux de TG dans le foie. Cela concorde avec les résultats de **Busnelli et al., (2013) ; Aguilar & Luz Fernandez, (2014)** qui ont montré une augmentation de la taille des adipocytes avec une surcharge en lipides chez des rats soumis à un régime riche en cholestérol. Toutefois, cette hypertriglycéridémie s'accompagne d'une hypercholestérolémie associée à une élévation du CT des VLDL, des LDL-HDL₁ et à une baisse du CT des HDL₂ et HDL₃, chez les groupes D et HC. Ces modifications de la composition de ces lipoprotéines sont associées à une hyperhomocystéinémie, confirmant les résultats de **Momin et al., (2017)**. De nombreuses bases expérimentales appuient l'hypothèse selon laquelle l'homocystéinémie affecte le métabolisme des lipides (**Daly et al., 2009 ; Xiao et al., 2011**). Il semble que l'hypométhylation associée à une hyperhomocystéinémie soit responsable de l'accumulation de lipides dans les tissus. Une réduction du groupement méthyle entraîne une diminution de la synthèse de la phosphatidylcholine, principale phospholipide nécessaire à l'assemblage des lipoprotéines (**Obeid & Herrmann, 2009**). L'effet de l'hyperhomocystéinémie sur les

lipoprotéines est probablement lié à l'inhibition d'enzymes ou de molécules participant à leurs assemblages. En plus, les résultats d'une étude antérieure suggèrent aussi que les mécanismes de l'hyperhomocystéinémie sont étroitement liés à la régulation négative des acteurs clés de la production de HDL (apo-AI et lécithine:cholestérol acyl-transférase (LCAT) (**Velez-Carrasco et al., 2008**). Effectivement, l'activité de la LCAT est réduite chez les rats diabétiques et hypercholestérolémiques (**Tableau XVIII**), cette réduction est accompagnée d'une diminution des concentrations sériques en apo-AI, cofacteur activateur de la LCAT, enzyme intervenant dans le transport réverse du cholestérol des tissus périphériques vers le foie. **Hoang et al., (2007)** ont rapporté que la glycation de l'apo-AI, un constituant protéique majeur des HDL, altère la capacité de la LCAT à estérifier le cholestérol. Certaines études expérimentales ont révélé que les produits naturels tels que les plantes peuvent modifier le métabolisme des lipides chez les rats diabétiques (**Khatune et al., 2016 ; Jovanović et al., 2017**) et chez les rats consommant un régime supplémenté en cholestérol (**Bautista et al., 2017 ; Ontawongab et al., 2019**), avec des effets comparables à ceux de l'atorvastatine.

Notre étude montre qu'après 28 jours de traitement, l'extrait aqueux du clou de girofle induit une hypocholestérolémie et une hypotriglycéridémie chez les groupes D et HC et ces effets sont comparables à ceux de la metformine et l'atorvastatine. Nos résultats vont dans le même sens que ceux retrouvés par **Khan et al., (2006)** qui ont constaté que le clou de girofle améliore le profil lipidique chez des rats diabétiques. Des résultats similaires ont été rapportés par **Parle & Khanna, (2011)** chez des animaux hypercholestérolémiques traités avec le clou de girofle ou par l'atorvastatine (**Fidèle et al., 2015 ; Meko et al., 2017**). De plus, l'administration d'un extrait aqueux de clou de girofle résorbe la stéatose hépatique en augmentant la capacité du foie à excréter l'excès lipidiques et en réduisant l'accumulation des lipides par le tissu adipeux. Ces résultats concordent avec ceux de **Harb et al., (2018)** et **Jung et al., (2012)** qui ont montré une diminution significative des concentrations en lipides du foie et du tissu adipeux, ainsi qu'une atténuation de la stéatose hépatique provoquée expérimentalement par le régime hyperlipidique, chez le rat traité par l'extrait aqueux du clou de girofle. Par ailleurs, une augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol et des acides biliaires a été notée chez des rats hyperlipidémiques suite à un traitement par un extrait aqueux de *Cassia occidentalis* (**Fidèle et al., 2017**). Plusieurs mécanismes peuvent expliquer ces effets hypolipémiants par la réduction de l'activité de la hydroxy-méthyl-glutaryl-CoA-réductase (HMG-CoA) (enzyme clé dans la biosynthèse du cholestérol) ou par une augmentation de l'activité de la cholestérol 7 α -hydroxydase (enzyme responsable de la

conversion du cholestérol en acides biliaires) (Zanchet *et al.*, 2018). En effet, le traitement avec l'extrait aqueux du clou de girofle à la concentration de 2 g/kg PC révèle un effet hypolipémiant similaire à celui de la molécule de référence l'atorvastatine (4 mg/kg PC). L'atorvastatine est l'une des statines connues pour leurs effets hypolipémiants, couramment utilisée pour traiter l'hypercholestérolémie en raison de leur forte inhibition de la HMG-CoA réductase (Meky *et al.*, 2017). Le clou de girofle pourrait donc agir selon ce même mode d'action pour réduire la cholestérolémie, chez le rat diabétique ou hypercholestérolémique.

Nous proposons donc que l'efficacité hypolipémiante du clou de girofle est comparable à celle de l'atorvastatine et pourrait de ce fait jouer un rôle dans la modulation de l'action de la HMG-CoA réductase.

Plusieurs flavonoïdes et composés phénoliques sont présents dans l'extrait aqueux du clou de girofle et l'acide gallique et l'eugénol sont les principaux composés. Le potentiel hypolipémiant de l'extrait aqueux de clou de girofle pourrait être lié à la présence de ces antioxydants, car ces substances, telles que trouvées dans des études similaires, peuvent réduire les concentrations en TG, CT et C-LDL et entraînent une augmentation des concentrations sériques en C-HDL (Rahman *et al.*, 2016 ; Li *et al.*, 2016 ; El-Newary *et al.*, 2016). En effet des études réalisées chez des rats obèses ont rapporté qu'une supplémentation en antioxydant (Chen *et al.*, 2014) ou en eugénol (Elbahy *et al.*, 2015) améliore le profil lipidique. De même, l'administration d'eugénol aux rats diabétiques réduit l'hyperglycémie et la dyslipidémie (Netharakere *et al.*, 2015). En effet, chez les groupes diabétiques ou hypercholestérolémiques traités par l'extrait aqueux de clou de girofle, la diminution des teneurs sériques en TG est concomitante avec une réduction des TG des VLDL et des LDL-HDL₁, dont la masse est réduite. Ceci serait le résultat d'une faible synthèse et/ou sécrétion des VLDL par le foie (Poudyal *et al.*, 2011). Par ailleurs, la faible masse des LDL-HDL₁, laisse suggérer un catabolisme réduit des VLDL puisque ces lipoprotéines sont issues de l'hydrolyse des VLDL. Ainsi, l'hypothèse d'une importante captation des VLDL *via* les récepteurs spécifiques pourrait expliquer les faibles concentrations sériques de ces lipoprotéines. De plus, l'action hypoglycémiant du clou de girofle pourrait également expliquer ces résultats. En effet, il est bien admis que les concentration en glucose sont des déterminants majeurs des TG du plasma et des VLDL (Sorensen *et al.*, 2011). Chez les groupes D et HC traités par l'extrait aqueux de clou de girofle, la répartition du cholestérol entre les différentes fractions de lipoprotéines, montre que la plus grande partie du cholestérol

est transportée par les HDL₂ (fraction antiathérogène), sous forme d'esters de cholestérol essentiellement, alors qu'une partie moins importante est portée par les LDL-HDL₁ (fraction athérogène). Ces résultats s'expliquent par l'importante activité LCAT notée avec l'extrait aqueux de clou de girofle, puisque les EC-HDL₂ sont les produits de cette réaction enzymatique. Des observations similaires ont été retrouvées chez des patients hyperlipidémiques traités par le clou de girofle (**Balasarikha & Lakshmi 2012**). En outre, le clou de girofle peut diminuer le cholestérol en modifiant le métabolisme des lipoprotéines et en renforcent l'absorption des LDL par l'augmentation des récepteurs des LDLs (**Cirico et Omaye, 2006**). De plus, **Ding et al., (2016)** ont confirmé ces résultats chez des animaux hypercholestérolémiques traités par *Grifola frondosa*. De même, une réduction du C-VLDL, du C-LDL et une augmentation du C-HDL₂ ont été notées avec l'extrait de *Grewia asiatica* chez des rats diabétiques (**Khatune et al., 2016**). Par ailleurs, il est bien admis que le C-HDL₂ est un facteur protecteur contre les complications cardiovasculaires (**Akalin-Çiftçi et al., 2015**). Ainsi, l'augmentation du C-HDL₂ en réponse à l'administration d'un extrait aqueux de clou de girofle et la réduction de C-LDL-HDL₁ constatés dans notre étude, semble être en faveur d'un favorable effet cardiovasculaire.

L'association du diabète ou l'hypercholestérolémie a un risque élevé de développement et/ou d'apparition d'une athérosclérose précoce semble être attribuée en partie à des altérations dans le transport inverse du cholestérol (**Ossoli et al., 2016**). En effet, **Taleb-Senouci et al., (2012)** et **Bouderbala et al., (2015)** ont rapporté respectivement, chez des rats diabétiques et chez des rats soumis à un régime enrichi en cholestérol, une diminution de l'activité de la lécithine:cholestérol acyl-transférase (LCAT), enzyme impliquée dans la voie de retour du cholestérol des tissus périphériques vers le foie. De plus, l'hyperglycémie induite par la STZ ou par le régime enrichi en cholestérol, peut entraîner une glycation des protéines dont l'apolipoprotéine-AI, cofacteur activateur de la LCAT (**Ossoli et al., 2016**). Cependant, chez le groupe diabétique ou hypercholestérolémique traité avec l'extrait aqueux de clou de girofle, l'activité de la LCAT est augmentée mais pas de façon significative, avec des teneurs élevées en apolipoprotéine-AI. Ainsi, la stimulation de la LCAT par son activateur, l'apo-AI confirme la réduction du phénomène de glycosylation, secondaire à l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux de clou de girofle. En outre, l'étude du transport inverse du cholestérol montre que le traitement par l'extrait aqueux de clou de girofle diminue les concentrations des phospholipides (substrat de la LCAT) et du cholestérol libre (accepteur du groupement acyl) des HDL₃ mais permet l'augmentation de l'apos-HDL₃ (cofacteur activateur), mais pas de

façon significative. Cela indique que le traitement avec l'extrait aqueux de clou de girofle réduit les teneurs en PL sériques et stimule la conversion des HDL₃ en HDL₂ en vue de leurs captations par le foie et leurs éliminations sous forme d'acide biliaire.

Notre étude révèle que l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle administré aux rats rendus diabétiques ou hypercholestérolémiques a un impact favorable sur la correction de la dyslipidémie, en agissant efficacement sur le transport inverse du cholestérol des tissus périphériques vers le foie par stimulation de l'activité de la LCAT.

Il est communément admis que le stress oxydant est impliqué dans la plupart des maladies métaboliques dégénératives comme le diabète et l'hypercholestérolémie (Abreu *et al.*, 2014 ; Asmat *et al.*, 2016). Le stress oxydant durant le diabète et l'hypercholestérolémie inclut un déséquilibre de la balance redox provenant de l'altération du métabolisme des carbohydrates et des lipides, de l'augmentation de la production des espèces réactives à l'oxygène (ROS) par glycation, de la peroxydation lipidique et de la diminution de la défense des antioxydants (Roy *et al.*, 2008 ; Ellulu *et al.*, 2016). La peroxydation lipidique représente un marqueur clé du stress oxydant et elle est déterminée par la mesure des substances réactives à l'acides thiobarbiturique (TBARS).

Dans notre investigation, l'administration de la STZ ou du cholestérol provoque une nette altération du statut redox qui se manifeste par une augmentation du taux des TBARS au niveau des lipoprotéines (VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃) par rapport aux rats du groupe contrôle (Tableau XIX). Ces résultats convergent avec ceux de Mohd-Esa *et al.*, (2013) ; Demir *et al.*, (2014) ; Fidèle *et al.*, (2015) ; Chen *et al.*, (2017) ; Tunçdemir *et al.*, (2017). Cette augmentation de la peroxydation lipidique au niveau des lipoprotéines est associée à une hyperhomocystéinémie. En outre, l'augmentation des taux d'homocystéine chez les rats diabétiques ou hypercholestérolémiques pourrait être responsable de l'augmentation de la production des ROS par l'activation de l'expression des enzymes pro-oxydante (Tyagi *et al.*, 2005) et par l'auto-oxydation de l'homocystéine, activant ainsi, la formation de thiolactone (Stamler *et al.*, 1993). Les radicaux libres ainsi formés, induisent une peroxydation des lipoprotéines en particulier les LDL. Cette hypothèse est confirmée par l'augmentation du stress oxydant et des taux élevés d'homocystéine observés par des études *in vitro* (Baydas *et al.*, 2005 ; Osanai *et al.*, 2010). En effet la peroxydation lipidique des lipoprotéines pourrait être aussi liées, en partie, à une réduction de la paraoxonase 1 (PON1) enzyme antiathérogène (Kota *et al.*, 2013), responsable des effets antioxydants des HDL (Brites *et al.*, 2017). De

nombreuses études ont déterminé qu'un niveau de peroxydation lipidique des LDL élevé est associé à un faible taux en C-HDL₂ et une réduction de l'activité de la PON1 au cours du diabète (**Rasic-Milutinovic et al., 2012**) et l'hypercholestérolémie (**Crevar-Sakac et al., 2016**). Cependant, les résultats de la présente étude montrent que l'activité de la PON1 est considérablement plus faible chez les deux groupes non traités (D et HC) par rapport au groupe contrôle (**Fig. 35**) et ceci est étroitement associé à la glycation des protéines (**Shen et al., 2015**). Toutefois, les concentrations des dérivés carbonylés sont également augmentées au niveau tissulaire chez les groupes D et HC (**Tableau XXI**), témoignant d'une oxydation protéique et d'une altération tissulaire.

Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégations dans les cellules et dans le compartiment extra-cellulaire. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes comme par exemple un défaut de reconnaissance du récepteur par son ligand ou une perte d'activité enzymatique. De même, l'injection de la STZ et le régime riche en cholestérol augmentent les niveaux de TBARS tissulaires (**Fig. 32**), en favorisant le développement des complications au niveau tissulaire. **Subash-Babu et al., (2014)** ont rapporté que l'injection de la STZ entraîne une augmentation significative des TBARS au niveau du pancréas et d'après les études de **Szkudelski, (2001)**, les produits de la peroxydation lipidique sont nocifs pour les cellules β pancréatiques, ce qui pourrait être corrélé au contrôle glycémique noté dans notre étude. De plus, diverses études menées chez le rat suggèrent que le stress oxydatif induit par la STZ, entraîne des lésions rénales (**Pal et al., 2014 ; Miranda-Diaz et al., 2016**).

Dans notre étude, un effet similaire est observé chez les rats diabétiques, cela laisse suggérer que les altérations de la fonction rénale notée précédemment pourraient être dues à une augmentation de l'attaque radicalaire au niveau des reins. En outre, chez le rat Wistar une étude a montré qu'un régime hyperlipidique induit une augmentation des TBARS au niveau du foie, en favorisant le développement d'une stéatose hépatique (**Xu et al., 2014**), ces observations sont comparables à nos résultats. De plus, **Kesh et al., (2016)** confirment que l'hyperlipidémie engendrée par le régime riche en cholestérol entraîne une augmentation du stress oxydatif au niveau du tissu adipeux. La peroxydation lipidique a été estimée aussi par la mesure des hydroperoxydes; produits primaires de la peroxydation lipidique, leurs décomposition donne naissance aux aldéhydes, seconds messagers toxiques (**Poli et al., 2008**) et aux isoprostanes (isomères de prostaglandine), produits par la peroxydation des acides gras polyinsaturés (**Czerska et al., 2016**). Nos résultats montrent une augmentation des teneurs sériques en hydroperoxydes et en isoprostanes chez les groupes D et HC. De même, au niveau

tissulaire les concentrations en hydroperoxydes sont élevées. Ces résultats convergent vers ceux retrouvés par **Reilly et al., (1998)** ; **Davì et al., (2003)** ; **Subash-Babu et al., (2014)**.

Cependant, il serait intéressant de déterminer si l'extrait aqueux du clou de girofle pourrait améliorer le statut redox et de savoir comment il agirait sur les défenses antioxydantes, chez le rat diabétique ou hypercholestérolémique. Le traitement des rats diabétiques et hypercholestérolémiques avec l'extrait aqueux du clou de girofle réduit significativement les teneurs en TBARS des lipoprotéines (LDL-HDL₁ et HDL₂) et entraîne un effet semblable à celui des groupes traités par la metformine ou l'atorvastatine. En effet, une diminution de la peroxydation lipidique au niveau sérique a été notée chez les rats rendus diabétiques par la STZ ou soumis à un régime riche en cholestérol et traité avec l'extrait méthanolique de *Citrullus colocynthis* (**Jayaraman & Christina, 2013**), de flavonoïdes (statines) (**Anantchoke et al., 2015**), ou l'acide ellagique (**Chao et al., 2010**). Par conséquent, l'effet bénéfique du clou de girofle sur le stress oxydant est dû en partie à sa richesse en polyphénols.

Les études *in vivo* menées sur l'huile essentielle de clou de girofle suggèrent que l'eugénol participe à la protection de la cellule contre les dommages oxydatifs, en piégeant les radicaux libres (**Bakour et al., 2018**). Ces résultats permettent de suggérer que l'effet de réduction de la peroxydation lipidique obtenu avec l'extrait aqueux de clou de girofle pourrait être dû à son activité anti-radicalaire, suite à l'inhibition de la production des ROS et l'augmentation de la défense antioxydante. Ces observations semblent comparables à celles de **Shukri et al., (2010)** qui ont rapporté une baisse des teneurs en TBARS et une amélioration de la sensibilité à l'insuline avec une baisse chronique de la glycémie et une augmentation de la défense antioxydante chez des rats diabétiques recevant 100 mg/kg PC d'un extrait alcoolique de clou de girofle. En effet, des études ont montré que chez des animaux hypercholestérolémiques, l'administration de l'atorvastatine réduit l'oxydation des LDL, suggérant que les faibles concentrations en CT et TG seraient responsables d'une faible production en TBARS (**Bolayirli et al., 2007** ; **Amin & Abd-El-Twab, 2009** ; **Moradi et al., 2012**). Ainsi, cette diminution de la lipoperoxydation pourrait être associée à une réduction de la glycémie et de la dyslipidémie. Par ailleurs, les teneurs élevées en C-HDL₂ qui représentent la fraction antiathérogène peut s'expliquer chez les rats (D et HC) traités avec l'extrait aqueux du clou de girofle, par la réduction de la peroxydation lipidique au niveau des lipoprotéines, en particulier celle des fractions LDL.

La paraoxonase 1 (PON1) joue un rôle important dans la capacité antioxydante des HDL (**Brites et al., 2017**) et elle est négativement corrélée aux teneurs en TBARS des LDL

(Tomás *et al.*, 2000). De plus, nos résultats montrent que chez les rats diabétiques ou hypercholestérolémiques, l'extrait aqueux de clou de girofle, la metformine et l'atorvastatine stimulent de façon similaire l'activité de la PON1 au niveau sérique, en protégeant ainsi les LDL de l'oxydation et par conséquent atténuent le risque oxydatif. Ces résultats concordent avec ceux de Suehiro *et al.*, (2000) ; Gouédard *et al.*, (2004) ; Kim *et al.*, (2010) qui ont rapporté que chez le modèle animal, une alimentation riche en polyphénols réduirait les marqueurs du stress oxydatif en stimulant la transcription de la PON1 et en réduisant la peroxydation lipidique.

Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux de clou de girofle semble jouer un rôle protecteur contre l'oxydation des LDL et protégerait la fraction antiathérogène (HDL) contre l'attaque radicalaire, en stimulant l'activité de la PON1 qui empêcherait ainsi l'oxydation des LDL.

Nos résultats mettent bien en évidence une diminution des concentrations des TBARS hépatiques et adipocytaires et des hydroperoxydes du pancréas, des reins, du foie, du tissu adipeux et sériques, chez les groupes traités comparativement au groupe contrôle. Ces résultats semblent comparables à ceux obtenus par Lu *et al.*, (2017) qui ont rapporté une baisse des teneurs des TBARS rénaux après administration d'une solution antioxydante chez les rats diabétiques et une réduction du stress oxydatif hépatique chez des rats hypercholestérolémiques traités par *Momordica charantia* (Saad *et al.*, 2017). Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux du clou de girofle réduit ainsi, le risque potentiel que les tissus ne soient altérés par la peroxydation lipidique. Par ailleurs, une atténuation des taux des isoprostanes sériques et des carbonyles du foie, des reins et du tissu adipeux, est constatée chez les groupes diabétiques ou hypercholestérolémiques traités avec l'extrait aqueux de clou de girofle, la metformine et l'atorvastatine comparés au groupe non traités. Elosta *et al.*, (2012) et Ramkissoon *et al.*, (2013) ont remarqué que les aliments riches en antioxydants ont la capacité d'empêcher l'oxydation des protéines et que la supplémentation en vitamine C réduit les concentrations en isoprostanes (Paschalis *et al.*, 2016).

L'amélioration du statut antioxydant par l'extrait aqueux du clou de girofle est liée en partie à l'augmentation de l'activité de la PON1. De plus, le clou de girofle semble plus efficace que la metformine et l'atorvastatine contre cette attaque radicalaire, ceci peut s'expliquer probablement par sa richesse en flavonoïdes.

La protection contre les effets délétères induits par les ROS s'effectue à l'aide des enzymes antioxydantes, telles que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GSH-Px) et réductase (GSSH-Red) et la catalase (CAT) qui sont capables de piéger directement les radicaux prooxydants et peuvent prévenir contre les maladies liées au stress oxydatif (**Otunola et al., 2014**). Dans ce travail, il en ressort que l'accumulation des peroxydes lipidiques chez les groupes D et HC est accompagnée soit d'une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes telles que la SOD et la GSH-Px des reins et la CAT du foie, soit une défaillance de l'activité enzymatique de SOD du foie, CAT et GSSH-Red du tissu adipeux et GSH-Px et GSSH-Red du pancréas, laissant supposer une sensibilité de ces tissus à la peroxydation lipidique. En effet, l'augmentation de certains enzymes dans les groupes non traités pourrait être un mécanisme compensatoire par l'organisme pour prévenir les dommages tissulaires. Par contre, leur réduction est due à la glycation des enzymes provoquant leur inactivation contribuant ainsi, à l'aggravation des dommages oxydatifs (**Ramachandran & Saravanan, 2013**). Ces résultats convergent vers ceux trouvés par les études de **Krouf et al., (2008)** ; **Nasar et al., (2009)** ; **Kim et al., (2010)** ; **Tunçdemir et al., (2017)** et **Bahlil et al., (2018)**. Cependant, l'amélioration du statut redox par l'extrait aqueux du clou de girofle est liée à une élévation de la capacité antioxydante totale (CA_{ox}T) associée à une importante activité des enzymes antioxydantes tissulaires, puisque en parallèle, les valeurs des marqueurs de la peroxydation lipidique sont abaissées au niveau de tous les compartiments explorés. Le traitement avec l'extrait aqueux de clou de girofle montre chez les groupes diabétiques et hypercholestérolémiques, une augmentation de la CA_{ox}T tissulaire. Ces résultats, donnent une image complète du statut antioxydant (**Rani & Mythili, 2014**). Ceci est en accord avec les résultats de **Rahman-Alizadeh et al., (2017)** qui ont noté une augmentation de la CA_{ox}T, chez des poules recevant une faible ration $\omega 6/\omega 3$ et traités par le clou de girofle.

Dans notre travail, l'activité de la SOD hépatique est augmentée, alors qu'au niveau rénal cette activité et celle de GSH-Px est réduite chez les groupes traités par l'extrait aqueux de clou de girofle (**Fig. 34**). Il apparaît que l'extrait aqueux de clou de girofle active la SOD et réduit le contenu des ROS dans le foie, l'augmentation de la SOD pourrait constituer une protection contre l'élévation de l'anion superoxyde. En effet, la SOD catalyse la décomposition de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), ce dernier est directement dismuté en H₂O et O₂ par la catalase et la GSH-Px (**Avelar et al., 2015**). En outre, l'activité de la CAT du foie et des reins est élevée chez les groupes traités par l'extrait aqueux de clou de girofle. Nos résultats vont dans le même sens que ceux d'**Adefegha et al.,**

(2014) qui montrent une augmentation de l'activité de la SOD et celle de la CAT chez des rats diabétiques traités par la poudre du clou de girofle. De même, les travaux de **Shyamala et al., (2003)** ; **Elbahy et al., (2015)** ont montré une amélioration de l'activité de la SOD et CAT au niveau hépatique et rénal, chez des rats soumis à un régime supplémenté en cholestérol et traités avec le clou de girofle ou l'eugénol. Chez le groupe diabétique, à l'exception de la GSSH-Red, le traitement avec l'extrait aqueux de clou de girofle ne semble pas stimuler les activités de la SOD, CAT et GSH-Px au niveau du pancréas. Ainsi, il apparaît que cet organe est plus sensible à l'attaque radicalaire et/ou que son système de défense antioxydant n'est pas très efficace pour le protéger des effets néfastes des radicaux oxygénés. Ce résultat concorde avec celui de **Simmons, (2006)** et **Lenzen, (2017)** qui ont constaté que les cellules β pancréatiques possèdent de très faibles taux d'enzymes de système de défense antioxydante, notamment la SOD, CAT et GSH-Px. Toutefois, l'activité de la GSSH-Red (enzyme qui régénère le GSH) est augmentée au niveau pancréatique, hépatique et adipocytaire chez les groupes traités par l'extrait aqueux de clou de girofle.

Le glutathion représente le premier système de défense antioxydante non enzymatique et joue un rôle protecteur contre les effets toxiques de la peroxydation lipidique (**Deponte, 2013**). Cependant, bien que seulement l'activité de la GSSH-Red soit élevée au niveau du pancréas et du tissu adipeux, elle paraît suffisante pour inhiber la peroxydation lipidique chez les groupes traités par l'extrait aqueux de clou de girofle, puisque les concentrations en TBARS sont réduites au niveau de ces organes. Ces effets sont probablement dus à la puissante capacité de clou de girofle à piéger le DPPH. Chez le rat rendu diabétique, **Ajiboye et al., (2018)** ont rapporté une élévation de l'activité des enzymes antioxydante, concomitante avec une diminution de la peroxydation lipidique, après un traitement avec un extrait polyphénolique. De même, une activité antioxydante très importante est noté avec l'acide gallique (**Panchal et al., 2013** ; **Chao et al., 2014**). L'extrait aqueux de clou de girofle possède des composés de la même nature (flavonoïdes, acide gallique) qui seraient, probablement en partie responsables de la stimulation des enzymes de système de défense antioxydante.

Les résultats de notre étude suggèrent que l'extrait aqueux de clou de girofle maintient l'équilibre de la balance pro/antioxydante des cellules et des tissus en réduisant leur exposition aux dommages oxydatifs engendrés par la STZ et le régime riche en cholestérol. En plus de son effet hypoglycémiant et hypolipémiant, l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle joue un rôle déterminant dans la défense antioxydante, en diminuant la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique et en augmentant les activités de certaines enzymes antioxydantes.

Dans la dernière partie de notre investigation, nous avons mis l'accent sur l'impact d'un extrait aqueux de clou de girofle sur les réponses inflammatoires chez le rat diabétique ou hypercholestérolémique. La participation du processus inflammatoire apparaît de plus en plus être un facteur déterminant au cours du développement des MCV (Wang *et al.*, 2017). Le diabète et l'hypercholestérolémie sont associés à l'augmentation des taux plasmatiques de nombreux médiateurs de l'inflammation, dont certaines cytokines pro-inflammatoires comme le (TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6), qui sont produites et libérées en grande quantité par les macrophages et les lymphocytes, conduisant à l'altération des tissus (Donath, 2013 ; Muga & Chao, 2014). Par ailleurs, une récente étude avec le modèle diabétique a montré que les concentrations de ces cytokines sont élevées dans les tissus pancréatiques (Ajiboye *et al.*, 2018) et au niveau rénal (Mensah-Brown *et al.*, 2005). De même, chez le rat, l'ingestion chronique d'un régime riche en cholestérol est associé à un phénomène pro-inflammatoire généralisé dans le foie (Xiao *et al.*, 2005) et le tissu adipeux (Saad *et al.*, 2017). Ainsi, nos résultats montrent une augmentation significative des teneurs sériques en TNF- α , IL-1 β et IL-6 chez les groupes D et HC comparés à celle du groupe C (Tableau XXIII). Ces anomalies semblent être concomitantes avec l'infiltrat inflammatoire observé au niveau tissulaire des rats diabétiques et hypercholestérolémiques.

Les mécanismes d'action des cytokines ne sont pas encore bien élucidés mais il a été suggéré, une diminution de l'expression de transporteur de glucose (Glut₄) (Rotter *et al.*, 2003) et une réduction des récepteurs à l'insuline (Alexandrak *et al.*, 2008), qui pourrait accroître la production de glucose. Par ailleurs, le TNF- α dont la production est augmentée avec l'inflammation hépatique et adipeuse peut également augmenter la lipogenèse hépatique (Choi *et al.*, 2012). D'autres auteurs suggèrent que le taux élevé des TBARS au niveau des LDL participerait au déclenchement du processus inflammatoire (Sottero *et al.*, 2009), conduisant à des lésions au niveau pancréatique (Ramadan *et al.*, 2017) et des vaisseaux sanguins (Lewis, 2011). Nos résultats sont en accord avec les travaux de Bunnoy *et al.*, (2015) ; El-Baz *et al.*, (2016) ; Ramadan *et al.*, (2017) ; Zanchet *et al.*, (2018) qui ont montré qu'une injection de la STZ ou un régime hyperlipidique induit chez le rat, une hyperglycémie, une hypoinsulinémie, une dyslipidémie, un stress oxydatif et une inflammation systématique *via* une augmentation des marqueurs pro-inflammatoires.

Cependant, notre travail montre une réduction similaire des teneurs sériques en TNF- α et IL-6 chez les groupes traités par l'extrait aqueux de clou de girofle par rapport aux groupes traités par la metformine et l'atorvastatine, alors que les concentrations d'IL-1 β ont tendance à diminuer. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Mitsios *et al.*, 2010 ; Gocmen *et al.*, 2013) qui ont montré que certains médicaments à potentiel hypolipémiant, tels que les statines, pourraient agir sur les cellules inflammatoires comme les macrophages pour réduire l'agrégation plaquettaire induite par un régime hyperlipidique. De plus, chez le modèle animal rendu diabétique par STZ, la metformine réduit l'expression de TNF- α et IL-6 (Alhaider *et al.*, 2011). Ces résultats vont aussi dans le même sens que ceux rapportés dans d'autres études (Abdel-Wahhab & Aly, 2005 ; Tanko *et al.*, 2008, Kuroda *et al.*, 2012) qui ont noté une baisse des marqueurs de l'inflammation chez des sujets traités avec le clou de girofle. En effet, certains composés phénoliques de clou de girofle pourraient avoir des effets bénéfiques dans l'atténuation de l'inflammation. L'effet anti-inflammatoire de clou de girofle pourrait être lié à l'augmentation des concentrations en eugénol (Kamatou *et al.*, 2012) et en quercétine (Kleemann *et al.*, 2011).

Les propriétés antioxydantes des polyphénols ont longtemps été considérées comme étant le principal phénomène expliquant leurs effets protecteurs. Cependant, de nombreuses études ont démontré chez le rat que le suivi d'un régime riche en polyphénols est inversement corrélé aux marqueurs de l'inflammation (TNF- α et l'IL-1 β , IL-6) dans le plasma (Gratas-Delamarche *et al.*, 2014 ; Ajiboye *et al.*, 2018). De plus, des études menées *in vitro* ont également montré que des flavonoïdes comme la lutéoline ou l'apigénine inhibent la production de cytokines et que la quercétine inhibe la production de TNF- α par les macrophages et que le kaempférol inhibe l'expression et la sécrétion du TNF- α , de l'IL-1 β et de l'IL-6 dans les mastocytes (González-Gallego *et al.* 2010). Ainsi, l'effet bénéfique du clou de girofle contre l'inflammation pourrait être corrélé à la présence de ces composants bioactifs.

Sur la base des ces résultats, il est suggéré que l'extrait aqueux du clou de girofle exerce un effet préventif et modulateur semblable à celui de la metformine et l'atorvastatine, en atténuant les lésions inflammatoires chez le rat diabétique ou hypercholestérolémique.

De nombreux facteurs de risque cardiométabolique tels que l'hypercholestérolémie, le diabète, l'hypertension artérielle et le stress favorisent la survenue des maladies cardiovasculaires, qui constituent un problème majeur de santé publique. Cependant, dans certaines sociétés traditionnelles non industrialisées, la prise en charge médicamenteuse de pathologies dites chroniques, est en grande partie assurée par l'utilisation de plantes médicinales et alimentaires. De ce fait, l'objectif principal de cette thèse est de chercher une nouvelle approche thérapeutique dans la prévention du diabète ou de l'hypercholestérolémie et de leurs complications associées.

En effet, ce travail a permis de mettre en évidence les bénéfices éventuels d'un extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) comparé à des molécules de référence (metformine ou atorvastatine) sur l'homéostasie glucidique, l'hypertension artérielle, les anomalies du métabolisme des lipides et des lipoprotéines, les statuts redox et inflammatoire, ainsi que sur la prolifération cellulaire des différents tissus, chez le rat présentant un diabète ou une hypercholestérolémie.

Dans la première partie de cette investigation, l'étude phytochimique montre que l'extrait aqueux de clou de girofle est riche en composés phénoliques tels que la quercétine, la rutine, l'acide gallique et l'eugénol. De plus, cet extrait est doté d'une très remarquable activité antiradicalaire. Toutefois, l'extrait aqueux de clou de girofle ne présente aucune toxicité à la dose testée (2g/kg PC).

Chez le groupe diabétique, le traitement par l'extrait aqueux de clou de girofle ne protège pas le rat diabétique contre la baisse du poids corporel induite par la streptozotocine, cependant, il entraîne une croissance pondérale progressive chez le rat hypercholestérolémique. Par ailleurs, nos résultats montrent que cet extrait par l'intermédiaire de sa capacité antioxydante, protégerait les cellules β du pancréas contre la toxicité de la streptozotocine. Ceci, en raison de la régénération et l'augmentation du système vasculaire des cellules β . De plus, une réduction du poids relatif du foie et celui du tissu adipeux est notée chez les rats HC-*Sa*. Cette réduction serait la conséquence d'une diminution du dépôt de la masse graisseuse, atténuant ainsi la stéatose hépatique provoquée expérimentalement.

En outre, l'administration d'un extrait aqueux de clou de girofle ou de la metformine chez le rat diabétique favorise la rétention du potassium, réduit l'excrétion du sodium au niveau sérique et empêche l'augmentation de la pression artérielle systolique. Cet effet hypotenseur de clou de girofle serait partiellement lié à l'activité diurétique des flavonoïdes, en favorisant la rétention du potassium par leurs actions vasodilatatrices. Ainsi, nous suggérons que l'extrait aqueux de clou de girofle possède une activité vasodilatatrice et il est plus efficace que la metformine pour la normalisation de la pression artérielle.

Nous avons également abordé l'implication de clou de girofle dans la prévention des altérations rénales induites par l'hyperglycémie chronique chez le rat diabétique. Le traitement avec l'extrait aqueux de clou de girofle ralentit le débit de filtration glomérulaire et réduit efficacement les dommages structurels rénaux par rapport au rat diabétique traité par la metformine. Ceci étant confirmé par une baisse des teneurs en urée et en créatinine sériques, ce qui témoigne d'une amélioration du fonctionnement des reins. Il est suggéré que l'extrait aqueux de clou de girofle exerce un effet préventif au niveau rénal par la réduction des lésions structurales et la conservation de la structure histologique chez le rat diabétique. De plus, l'effet néphroprotecteur du clou de girofle s'avère plus efficace que la metformine, en raison de son activité antioxydante (**Fig.36**).

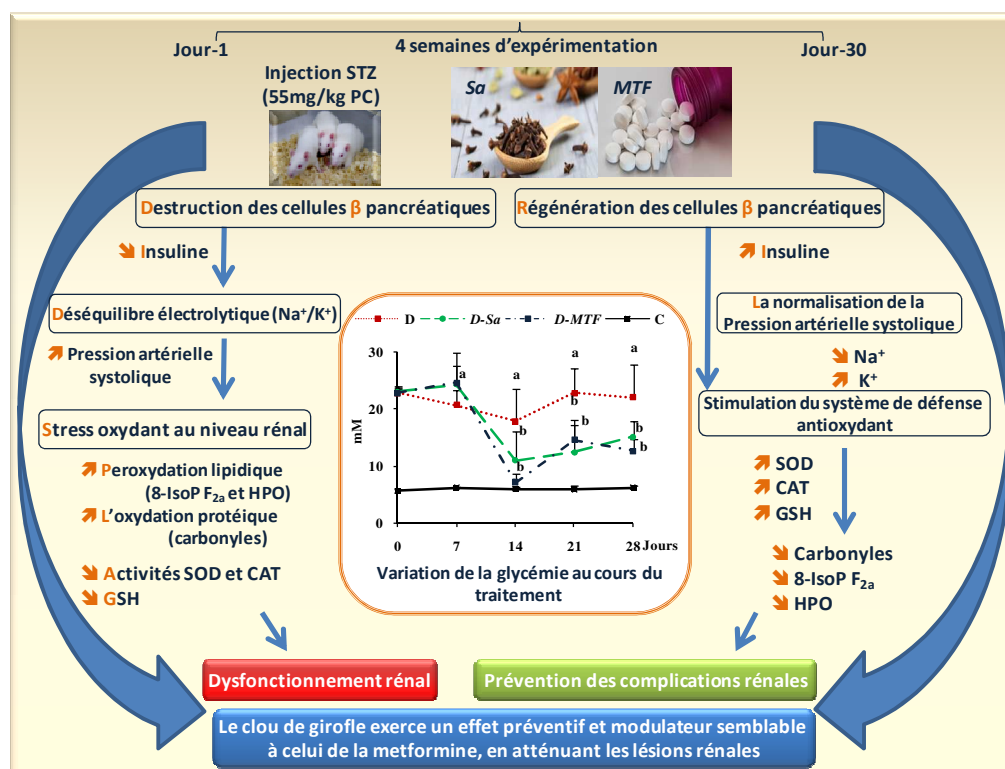


Fig. 36. Effets préventifs et sensibilisants de clou de girofle (Guenzet *et al.*, 2018).

De manière particulièrement intéressante, l'extrait aqueux de clou de girofle agit de façon semblable au biguanide (metformine) en assurant un meilleur équilibre glycémique chez le rat diabétique ou hypercholestérolémique, probablement par une importante utilisation du glucose par les tissus périphériques. Par ailleurs, cet extrait entraîne une réduction des pourcentages de l'HbA_{1c} chez le groupe diabétique, probablement par inhibition de la glycation de l'hémoglobine. De plus, chez le rat diabétique, il semble que l'action hypoglycémiante du clou de girofle pourrait être médié par une stimulation de la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques, puisque cet extrait permet la régénération de ces cellules.

Dans cette étude, l'augmentation des taux sériques de lactate déshydrogénase (LDH) et de gamma-glutamyl transférase (γ -GT) chez le rat diabétique ou hypercholestérolémique est une preuve d'une lésion cellulaire. Cependant, après 28 jours de traitement par l'extrait aqueux de clou de girofle les activités LDH et γ -GT sont diminuées, suggérant un effet bénéfique et protecteur du clou de girofle contre les lésions cellulaires. Il ressort clairement dans cette partie du travail qu'en plus de ses activités antioxydante et antidiabétique, l'extrait aqueux de clou de girofle est doté d'un pouvoir régénératif et curatif contre l'hépatotoxicité induite par la STZ et le régime enrichi en cholestérol.

Notre recherche montre aussi qu'après 28 jours de traitement, l'extrait aqueux de clou de girofle induit une hypotriglycéridémie chez les groupes D et HC, associée à une faible production des TG par le foie et une réduction des TG des fractions lipoprotéiques VLDL et LDL-HDL₁, suite à une probable augmentation de leurs catabolisme. Un autre effet remarquable du clou de girofle, est l'atténuation des concentrations du CT sérique et hépatique et du C-LDL-HDL₁ (fraction athérogène) et inversement, d'une augmentation du CT des HDL₂ (fraction antiathérogène). Ces effets sont similaires à ceux de l'atorvastatine. L'action hypolipémiante du clou de girofle est comparable à celle de l'atorvastatine, qui pourrait jouer un rôle dans la modulation de l'action de la HMG-CoA réductase.

De plus, l'administration de clou de girofle chez le groupe HC, résorbe la stéatose hépatique en augmentant la capacité du foie à excréter l'excès lipidiques et en réduisant l'accumulation des lipides par le tissu adipeux.

Cependant, chez les deux groupes D et HC traités avec l'extrait aqueux de clou de girofle, la diminution des concentrations en PL-HDL₃ (substrat de la LCAT) et en CL-HDL₃ (accepteur du groupement acyl), laisse suggérer une amélioration de la voie antiathérogène par une action d'estérification efficace de la LCAT et une augmentation des teneurs en apo-AI. Ainsi, la stimulation de l'activité LCAT et de son activateur (apo-AI) confirme la réduction du phénomène de glycosylation, secondaire à l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux de clou de girofle.

Le traitement des rats diabétiques et hypercholestérolémiques par l'extrait aqueux de clou de girofle réduit significativement les teneurs en TBARS des lipoprotéines et entraîne un effet comparable à celui des groupes traités par la metformine ou l'atorvastatine. De plus, nos résultats montrent que cet extrait stimule l'activité de la PON1 au niveau sérique, en protégeant ainsi l'oxydation des LDL. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux de clou de girofle semble jouer un rôle protecteur contre l'oxydation des LDL, et protège la fraction antiathérogène (HDL) contre l'attaque radicalaire, en stimulant l'activité de la PON1 qui empêcherait l'oxydation des particules LDL.

Nos résultats révèlent que l'extrait aqueux de clou de girofle possède des propriétés antioxydantes contre le stress oxydant induit par la STZ ou par le régime riche en cholestérol, en réduisant les marqueurs de la peroxydation lipidique (TBARS, hydroperoxyde et isoprostanes) et l'oxydation protéiques (carbonyles) dans la plupart des compartiments explorés. Ces effets sont probablement dus à la puissante capacité de clou de girofle à piéger le radical DPPH.

Parallèlement, le système de défense antioxydant enzymatique mis en place semble agir plus efficacement chez les groupes traités, puisque l'activité de certaines enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GSH-Px, GSSH-Red) est élevée. Les résultats de notre étude suggèrent que l'extrait aqueux de clou de girofle maintient l'équilibre de la balance pro/antioxydante des cellules et des tissus en réduisant leur exposition aux dommages oxydatifs engendrés par la STZ ou le régime riche en cholestérol.

Enfin, dans la dernière partie de cette investigation, nos résultats montrent que l'extrait aqueux de clou de girofle exerce un effet anti-inflammatoire et modulateur analogue à celui de la metformine et l'atorvastatine, en améliorant le profil des cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6), chez le rat diabétique ou hypercholestérolémique.

L'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (Syzygium aromaticum) riche en composés phénoliques, pourrait avoir une action bénéfique dans la correction des troubles métaboliques associées au diabète ou l'hypercholestérolémie, en corrigeant le déséquilibre glycémique, en modulant l'activité de certaines enzymes impliquées dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines, en atténuant l'attaque radicalaire et en inhibant le processus inflammatoire. Cependant, l'extrait aqueux de clou de girofle s'avère plus efficace que la metformine et l'atorvastatine en raison de son puissant effet anti-inflammatoire. Ces résultats laissent suggérer que le clou de girofle pourrait être utilisé comme complément alimentaire dans la prévention des différents troubles métaboliques et oxydatifs induits par le diabète et l'hypercholestérolémie.

Les résultats de cette thèse amèneront sans doute à effectuer d'autres travaux pour élucider les cibles moléculaires de cette plante au niveau des cellules β pancréatiques. Il serait aussi intéressant de déterminer l'action de clou de girofle sur les transporteurs de glucose constitutifs (Glut₁) et ceux insulino-dépendants (Glut₄) afin de mieux comprendre les modalités par lesquelles le clou de girofle potentialise le transport de glucose dans les cellules du muscle squelettique et les adipocytes.

L'extrait aqueux de clou de girofle devra également être fractionné par des techniques de chromatographie sur colonne et de chromatographie liquide à haute performance afin de séparer les composés phytochimiques les uns des autres. De la même façon que l'extrait aqueux, chaque fraction semi-purifiée ou chaque molécule pure ainsi obtenue devra être testée sur des modèles cellulaires et des modèles animaux de diabète ou d'hypercholestérolémie, en vue de déterminer la ou les molécules bioactives responsables de l'effet hypoglycémiant et hypolipémiant du clou de girofle. Des études cliniques devraient ainsi être effectuées afin de confirmer et d'optimiser l'usage thérapeutique de clou de girofle.

Abayomi S. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. *Académie Suisse des Sciences Naturelles, Karthala Canada.* **378:** 36-38.

Abdel-Wahhab M.A. & Aly S.E. (2005). Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. *J Appl Toxicol.* **25(3):**218-223.

Abo El-Khair D.M., El-Nabawia A., El-Safti F., Nooh H.Z. & El-Mehi A.E. (2014). A comparative study on the effect of high cholesterol diet on the hippocampal CA1 area of adult and aged rats. *Anat Cell Biol.* **47(2):** 117-126.

Abreu I.C.M.E.D., Guerra J.F.D.C., Pereira R.R., Silva M., Lima W.G.D., Silva M.E. & Pedrosa M.L. (2014). Hypercholesterolemic diet induces hepatic steatosis and alterations in mRNA expression of NADPH oxidase in rat livers. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia.* **58(3):** 251-259.

Abulnaja K.O. & El Rabey H.A. (2015). The efficiency of barley (*Hordeum vulgare*) bran in ameliorating blood and treating fatty heart and liver of male rats. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.* **740716:** 1-13.

Achia N.K., Ohaeria O.C., Ijeha I.I. & Eleazub C. (2017). Modulation of the lipid profile and insulin levels of streptozotocin induced diabetic rats by ethanol extract of *Cnidioscolus aconitifolius* leaves and some fractions: effect on the oral glucose tolerance of normoglycemic rats. *Biomed Pharmacother.* **86:** 562-569.

Adefegha S.A. & Oboh G. (2012). *In vitro* inhibition activity of polyphenol-rich extracts from *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Clove) buds against carbohydrate hydrolyzing enzymes linked to type 2 diabetes and Fe²⁺-induced lipid peroxidation in rat pancreas. *Asian Pac J Trop Biomed.* **2(10):** 774-781.

Adefegha S.A., Oboh G., Adefegha O.M., Boligon A.A. & Athayde M.L. (2014). Antihyperglycemic, hypolipidemic, hepatoprotective and antioxidative effects of dietary clove (*Syzygium aromaticum*) bud powder in a high- fat diet/streptozotocin induced diabetes rat model. *J Sci Food Agric.* **94(13):** 2726-2737.

Adefegha S.A., Oboh G., Oyeleye S.I. & Osunmo K. (2016). Alteration of starch hydrolyzing enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phenolic profile of clove buds (*Syzygium aromaticum* L.) by cooking duration. *Food Science & Nutrition.* **4(2):** 250-260.

Adeyemi O.O., Okpo S.O. & Adesanya A.A. (2003). Gastrointestinal activity of the aqueous extract of the Nigerian polyherbal preparation. *West African Journal of Pharmacology and drug research.* **19:** 22-27.

Aebi H. (1974). Catalase in methods of enzymatic analysis. *Verlag Chemie Weinheim.* **2:** 673-684.

Aguilar D. & Fernandez L.M. (2014). Hypercholesterolemia induces adipose dysfunction in conditions of obesity and nonobesity. *American Society for Nutrition Adv Nutr.* **5(5):** 497-502.

Aguilar-Salinas C.A., Barrett H. & Schonfeld G. (1998). Metabolic modes of action of the statins in the hyperlipoproteinemias. *Atherosclerosis*. **141(2)**: 203-207.

Ahmed D., Kumar V., Verma A., Gupta P.S., Kumar H., Dhingra V., Mishra V. & Sharma M. (2014). Antidiabetic, renal/hepatic/pancreas/cardiac protective and antioxidant potential of methanol/ dichloromethane extract of *Albizzia lebbeck benth.* stem bark (ALEX) on streptozotocin induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. **16;14**: 243.

Ahmed D., Kumar V., Verma A., Shukla G.S. & Sharma M. (2015). Antidiabetic, antioxidant, antihyperlipidemic effect of extract of *Euryale ferox salisb* with enhanced histopathology of pancreas, liver and kidney in streptozotocin induced diabetic rats. *SpringerPlus*. **3;4**: 315.

Ajiboye B.O., Ojo O.A., Akuboh O.S., Abiola O.M., Idowu O. & Amuzat A.O. (2018). Anti-hyperglycemic and anti-inflammatory activities of polyphenolic-rich extract of *Syzygium cumini* linn leaves in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*. **23**: 1-8.

Akalin-Çiftçi G., Ertorun İ., Akalin A., Alataş İ.Ö. & Musmul A. (2015). The effects of atorvastatin on antioxidant/antiinflammatory properties of HDLs in hypercholesterolemics. *Turkish Journal of Medical Sciences*. **45(2)**: 345-351.

Akbarzadeh A., Norouziyan D., Mehrabi M.R., Jamshidi S.h., Farhangi A., Allah-Verdi A., Mofidian S.M.A. & Lame-Rad B. (2007). Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. **22(2)**: 60-64.

Alachaher F.Z., Dali S., Dida N. & Krouf D. (2018). Comparison of phytochemical and antioxidant properties of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum*) using different solvents. *International Food Research Journal*. **25(1)**: 75-82.

Alagammal M., Nishanthini A. & Mohan V.R. (2012). Antihyperglycemic and antihyperlipidaemic effect of *Polygala rosmarinifolia* Wright & Arn on alloxan induced diabetic rats. *J Appl Pharm Sci*. **2(9)**: 143-148.

Alexandraki K.I., Piperi C., Ziakas P.D., Apostolopoulos N.V., Makrilakis K., Syriou V., Diamanti-Kandarakis E., Kaltsas G. & Kalofoutis A. (2008). Cytokine secretion in long standing diabetes mellitus types 1 and 2: association of low grade systemic inflammation. *J Clin Immunol*. **28(4)**: 314-321.

Alhaider A.A., Korashy H.M., Sayed-Ahmed M.M., Mobark M., Kfoury H. & Mansour M.A. (2011). Metformin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats through modulation of oxidative stress genes expression. *Chemico-Biological Interactions*. **15;192(3)**: 233-242.

Ali M., Paul S., Tanvir E.M., Hossen M., Rumpa N.E.N., Saha M. & Bhoumik N.C. (2017). Antihyperglycemic, antidiabetic, and antioxidant effects of *Garcinia pedunculata* in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **(2979760)**: 1-15.

Allali H., Benmehdi H., Dib M.A., Tabti b., Ghalem S. & Benabadji N. (2008). Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian Journal of Chemistry*. **20(4)**: 2701-2710.

Al-Okbi S.Y., Mohamed D.A., Hamed T.E. & Edris A.E. (2014). Protective effect oil and eugenol microemulsions on fatty liver and dyslipidemia as components of metabolic syndrome. *Journal of medicinal food*. **17(7)**: 764-771.

Al-Seeni M.N., El Rabey H.A., Zamzami M.A. & Alnefayee A.M. (2016). The hepatoprotective activity of olive oil and *Nigella sativa* oil against CCl₄ induced hepatotoxicity in male rats. *BMC Complement Altern Med*. **4;16(1)**: 438.

American Diabetes Association (ADA). (2005). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. **28(suppl 1)**: s37-s42.

American Diabetes Association (ADA). (2011). Standards of medical care in diabetes-2011. *Diabetes Care*. **34 (Suppl 1)**: S11-S61.

Amin K.A. & Abd El-Twab T.M. (2009). Oxidative markers, nitric oxide and homocysteine alteration in hypercholesterolemia rats: role of atorvastatin and cinnamon. *Int J Clin Exp Med*. **5;2(3)**: 254-265.

Amom Z., Zakaria Z., Mohamed J., Azlan A., Bahari H., Baharuldin M., Aris-Moklas M., Osman K., Asmawi Z. & Hassan M. (2008). Lipid lowering effect of antioxidant alpha-lipoic acid in experimental atherosclerosis. *J Clin Biochem Nutr*. **43(2)**: 88-94.

Anantachoke N., Kitphati W., Mangmool S. & Bunyapraphatsara N. (2015). Polyphenolic compounds and antioxidant activities of the leaves of *Glochidion hypoleucum*. *Nat Prod Commun*. **10(3)**: 479-482.

Anderson N. & Borlak J. (2008). Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis. *Pharmacol Rev*. **60(3)**: 311-357.

Anhê F.F., Desjardins Y., Pilon G., Dudonné S., Genovese M.I., Lajolo F.M. & Marette A. (2013). Polyphenols and type 2 diabetes: A prospective review. *PharmaNutrition*. **1(4)**: 105-114.

Aoun M., Fouret G., Michel F., Bonafos B., Ramos J., Cristol J.P., Carbonneau M.A., Coudray C. & Feillet-Coudray C. (2012). Dietary fatty acids modulate liver mitochondrial cardiolipin content and its fatty acid composition in rats with non alcoholic fatty liver disease. *J Bioenerg Biomembr*. **44(4)**: 439-452.

Aribi M. (2011). Autoimmunity and immunotherapy of type 1 diabetes. Type 1 diabetes pathogenesis, genetics and immunotherapy. (Ed.), by David Wagner. pp: 3-46.

Arivarasan A., Rana G., Sharma A., Kumar M., Jhang K., Chakraborty A., Kumar P. & Ambasta R.K. (2012). Clinical management of lipid profile, renal & liver function versus HbA_{1c} profile in diabetes affected patients of Vellore, Tamil Nadu, India. *Afr J Pharma*. **6(40)**: 2832-2836.

Ashraf H., Butt M.S., Iqbal M.J. & Rasul Suleria H.A. (2017). Citrus peel extract and powder attenuate hypercholesterolemia and hyperglycemia using rodent experimental modeling. *Asian Pac J Trop Biomed.* **7(10)**: 870-880.

Asmat U., Abad K. & Ismail K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharm J.* **24(5)**: 547-553.

Atalay M. & Laaksonen D.E. (2002). Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *J Sports Sci Med.* **4;1(1)**: 1-14.

Atawodi S.E., Atawodi J.C., Pfundstein B., Spiegelhalder B., Bartsch H. & Owen R. (2011). Assessment of the polyphenol components and *in vitro* antioxidant properties of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr.& Perry. *EJEAChe.* **10(3)**: 1970-1978.

Athmani N., Dehiba F., Allaoui A., Barkia A., Bougatef A., Lamri-Senhadji M.Y., Nasri M. & Boualga A. (2015). *Sardina pilchardus* and *Sardinella aurita* protein hydrolysates reduce cholesterolemia and oxidative stress in rat fed high cholesterol diet. *Journal of Experimental and Integrative Medicine.* **5(1)**: 47-54.

Avelar T.M.T., Storch A.S., Castro L.A., Azevedo S.V.M.M., Ferraz L. & Lopes P.F. (2015). Oxidative stress in the pathophysiology of metabolic syndrome: which mechanisms are involved? *J Bras Patol Med Lab.* **51(4)**: 231-239.

Bahlil Y., Krouf D. & Taleb-Dida N. (2018). *Zygophyllum album* aqueous extract reduces glycemia and ameliorates lipid profile and oxidative damage in hypercholesterolemic-diabetic rats. *Nutrition & Food Science.* **NFS-03**: 0078.

Bai J., Zheng S., Jiang D., Han T., Li Y., Zhang Y, Liu W, Cao Y. & Hu Y. (2015). Oxidative stress contributes to abnormal glucose metabolism and insulin sensitivity in two hyperlipidemia models. *Int J Clin Exp Pathol.* **1;8(10)**: 13193-13200.

Bakour M., Soulo N., Hammas N., Fatemi H.E., Aboulghazi A., Taroq A., Abdellaoui A., Al-Waili N. & Lyoussi B. (2018). The antioxidant content and protective effect of argan oil and *Syzygium aromaticum* essential oil in hydrogen peroxide-induced biochemical and histological changes. *International Journal of Molecular Sciences.* **18;19(2)**: 610.

Balasarrekha R. & Lakshmi U.K. (2012). Effect of cloves and turmeric on hyperlipidemics. *J Hum Ecol.* **37(2)**: 125-132.

Banerjee R., Verma A.K., Das A.K., Rajkumar V., Shewalkar A.A. & Narkhede H.P. (2012). Antioxidant effects of broccoli powder extract in goat meat nuggets. *Meat Science.* **91(2)**: 179-184.

Barakat H. (2014). Composition, antioxidant, antibacterial activities and mode of action of clove (*Syzygium aromaticum* L.) buds essential oil. *British Journal of Applied Science & Technology.* **4(13)**: 1934-1951.

Bastard J.P., Maachi M., Van-Nhieu J.T., Jardel C., Bruckert E., Grimaldi A., Robert J.J., Capeau J. & Hainque B. (2002). Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both *in vivo* and *in vitro*. *J Clin Endocrinol Metab.* **87(5)**: 2084-2089.

Baudet M., Daugareil C. & Ferrieres J. (2012). Prévention des maladies cardiovasculaires et règles hygiéno-diététiques. *Ann Cardiol d'Angéiol.* **61(2)**: 93-98.

Bautista A.M., Tan M.A. & Apostol J.M. (2017). Lipid-lowering property of *Clausenaanisum-olens* in hypercholesterolemic rats. *Pharmaceutical Biology.* **55(1)**: 833-836.

Baydas G., Reiter R.J., Akbulut M., Tuzcu M. & Tamer S. (2005). Melatonin inhibits neural apoptosis induced by homocysteine in hippocampus of rats via inhibition of cytochrome c translocation and caspase-3 activation and by regulating pro- and anti-apoptotic protein levels. *Neuroscience.* **135(3)**: 879-886.

Baynes J.W. & Thorpe S.R. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm. *Diabetes.* **48(1)**: 1-9.

Bays H.E., Toth P.P., Kris-Etherton P.M., Abate N., Aronne L.J., Brown W.V., Gonzalez-Campoy J.M., Jones S.R., Kumar R., La Forge R. & Samuel V.T. (2013). Obesity, adiposity, and dyslipidemia: A consensus statement from the National Lipid Association. *J Clin Lipidol.* **7(4)**: 304-383.

Beg A.Z. & Ahmad I. (2002). *In vitro* fungitoxicity of the essential oil of *Syzygium aromaticum*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology.* **18(4)**: 313-315.

Bellin C., de-Wiza D.H., Wiernsperger N.F. & Rosen P. (2006). Generation of reactive oxygen species by endothelial and smooth muscle cells: influence of hyperglycemia and metformin. *Horm Metab Res.* **38(11)**: 732-739.

Benaicheta N., Labbaci F.Z., Bouchenak M. & Boukortt F.O. (2016). Effect of sardine proteins on hyperglycaemia, hyperlipidaemia and lecithin:cholesterol acyltransferase activity, in high-fat diet-induced type 2 diabetic rats. *Br J Nutr.* **14;115(1)**: 6-13.

Benetos A. (2003). Pulse pressure and arterial stiffness in type 1 diabetic patients. *J Hypertens.* **21(11)**:2005-2007.

Bentzon J.F., Otsuka F., Virmani R. & Falk E. (2014). Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circulation research.* **6;114(12)**: 1852-1866.

Bernot D., Benoliel A.M., Peiretti F., Lopez S., Bonardo B., Bongrand P., Juhan-Vague I. & Nalbone G.J. (2003). Effect of atorvastatin on adhesive phenotype of human endothelial cells activated by tumor necrosis factor alpha. *Cardiovasc Pharmacol.* **41(2)**: 316-324.

Berrouiguet A.Y., Benyoucef M., Meguenni K. & Brouri M. (2009). Enquête sur la prévalence des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires à Tlemcen (Algérie). *Médecine des maladies Métaboliques.* **3(3)**: 313-319.

Berzou S., Taleb-Senouci D., Guenzet A. & Krouf D. (2014). *Zygophyllum gaetulum* attenuates hypercholesterolemia and protects against oxidative stress in rats fed a high-cholesterol diet. *J Exp Integr Med.* **4(4)**: 255-260.

Berzou S., Krouf D., Dida N., Taleb-Senouci D. & Guenzet A. (2016). Effects of *Zygophyllum gaetulum* aqueous extract on erythrocytes lipid peroxidation and paraoxonase 1 activity in hypercholesterolemic rats hypercholesterolemic rats. *Int J Pharmacognosy and Phytochem Res.* **8(10)**: 1689-1694.

Bi X., Soong Y.Y. & Lim S.W. (2015). Evaluation of antioxidant capacity of Chinese five-spice ingredients. *Int J Food Sci Nutr.* **66(3)**: 289-292.

Boemi M., Leviev I., Sirolla C., Pieri C., Marra M. & James R.W. (2001). Serum paraoxonase is reduced in type 1 diabetic patients compared to non-diabetic, first degree relatives; influence of the ability of HDL to protect LDL from oxidation. *Atherosclerosis.* **155(1)**: 229-235.

Bolayirli I.M., Aslan M., Balci H., Altug T., Hacibekiroglu M. & Seven A. (2007). Effect of atorvastatin therapy on hypercholesterolemic rabbits with respect to oxidative stress, nitric oxide pathway and homocysteine. *Life Sci.* **20;81(2)**: 121-127.

Boligon A.A., Pereira R.P., Feltrin A.C., Machado M.M., Janovik V., Rocha J.B. & Athayde M.L. (2009). Antioxidant activities of flavonol derivatives from the leaves and stem bark of *Scutia buxifolia* Reiss. *Bioresource Technology.* **100(24)**: 6592-6598.

Bonnefont-Rousselot D., Gardès-Albert M., Jore D. & Delattre J. (1998). Lipoprotéines de haute densité et théorie oxydative de l'athérosclérose. *Sang Thromb Vaiss.* **10(3)**: 166-174.

Bonnefont-Rousselot D. (2002). Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* **5(5)**: 561-568.

Bonnefont-Rousselot D., Beaudoux J.L., Théron P., Peynet J., Legrand A. & Delattre J. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Annales Pharmaceutiques Françaises.* **62(3)**: 147-157.

Bouderbala S., Lamri-Senhadj M., Prost J., Lacaille-Dubois M.A. & Bouchenak M. (2008). Changes in antioxidant defense status in hypercholesterolemic rats treated with *Ajuga iva*. *Phytomedicine.* **15(6-7)**: 453-461.

Bouderbala S., Prost J., Lacaille-Dubois M.A. & Bouchenak M. (2012). Iridoid enriched fraction from *Ajuga iva* reduce cholesterolemia, triacylglycerolemia and increase the lecithin:cholesterol acyltransferase activity of rats fed a cholesterol-rich diet. *Journal of Experimental and Integrative Medicine.* **2(1)**: 55-60.

Bouderbala S., Al-Hiti M.K.N., Mahdad N. & Bouchenak M. (2015). Effet des grignons d'olive sur l'activité de la lécithine:cholestérol acyltransférase, chez le rat soumis à un régime enrichi en cholestérol. *Nutr Santé.* **4(2)**: 76-83.
Bouhours-Nouet N. & Coutant R. (2005). Clinique et diagnostic du diabète de l'enfant. *EMC-Pédiatrie.* **2(3)**: 220-242.

- Bradley J.M., Organ C.L. & Lefer D.J. (2016).** Garlic-derived organic polysulfides and myocardial protection. *The Journal of nutrition*. **146(2)**: 403S–409S.
- Breton C.V., Yin F., Wang X., Avol E.D., Gilliland F.D. & Araujo J.A. (2013).** HDL antioxidant function associates with LDL level in young adults. *Atherosclerosis*. **232(1)**: 165-170.
- Brites F., Martin M., Guillas I. & Kontush A. (2017).** Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): mechanistic insights into potential clinical benefit. *BBA Clinical*. **19;8**: 66-77.
- Bunnoy A., Saenphet K., Lumyong S., Saenphet S. & Chomdej S. (2015).** *Monascus purpureus*-fermented Thai glutinous rice reduces blood and hepatic cholesterol and hepatic steatosis concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. **28;15**: 88.
- Burstein M., Fine A., Atger V., Wirbel E. & Girard-Globa A. (1989).** Rapid method for the isolation of two purified subfractions of high density lipoproteins by differential dextran sulphate-magnesium chloride precipitation. *Biochem*. **71(6)**: 741-746.
- Burstein M., Scholnick H.R. & Morfin R. (1970).** Rapid method for isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Journal Lipid Res*. **11(6)**: 583-595.
- Burt S.A. & Reinders R.D. (2003).** Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157 : H7. *Lett Appl Microbiol*. **36(3)**: 162-167.
- Busnelli M., Manzini S., Froio A., Vargiolu A., Cerrito M.G., Smolenski R.T., Giunti M., Cinti A., Zannoni A. & Leone B.E. (2013).** Diet induced mild hypercholesterolemia in pigs: local and systemic inflammation, effects on vascular injury-rescue by high-dose statin treatment. *PLoSOne*. **8(11)**: e80588.
- Bwititi P.T., Machakaire T., Nhachi C.B. & Musabayane C.T. (2001).** Effects of *Opuntia megacantha* leaves extract on renal electrolyte and fluid handling in streptozotocin (STZ)-diabetic rats. *Ren Fail*. **23(2)**: 149-158.
- Calop J., Limat S. & Frnandez C. (2008).** Pharmacie clinique et thérapeutique. Elsevier Masson. (Ed.), **3;pp**: 417-427.
- Canault M., Peiretti F., Poggi M., Mueller C., Kopp F., Bonardo B., Bastelica D., Nicolay A., Alessi M.C. & Nalbhone G. (2008).** Progression of atherosclerosis in apoE-deficient mice that express distinct molecular forms of TNF-alpha. *J Pathol*. **214(5)**: 574-583.
- Cancello R., Tordjman J., Poitou C., Guilhem G., Bouillot J.L., Hugol D., Coussieu C., Basdevant A., Bar Hen A., Bedossa P., Guerre-Millo M. & Clément K. (2006).** Increased infiltration of macrophages in omental adipose tissue is associated with marked hepatic lesions in morbid human obesity. *Diabetes*. **55(6)**: 1554-1561.

- Cannon C.P., Cariou B., Blom D., McKenney J.M., Lorenzato C. & Pordy R. (2015).** Efficacy and safety of alirocumab in high cardiovascular risk patients with inadequately controlled hypercholesterolaemia on maximally tolerated doses of statins: the ODYSSEY COMBO II randomized controlled trial. *EurHeart J.* **14;36(19):** 1186-1194.
- Cassard-Doulcier A.M. & Perlemuter G. (2011).** Inflammation hépatique liée à (NASH). *Cah Nutr Diét.* **46(5):** 240-246.
- Chagas V.T., Coelho R.M.R.S., Gaspar R.S., da-Silva S.A., Mastrogiovanni M., Mendonça C.J., Ribeiro M.N.S., Paes A.M.A. & Trostchansky A. (2018).** Protective effects of a polyphenol-rich extract from *Syzygium cumini* (L.) skeels leaf on oxidative stress-induced diabetic rats. *Oxid Med Cell Longev.* **26;(5386079):** 1-13.
- Chandrasekaran M. & Enkatesalu V.V. (2004).** Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolanum* seeds. *Journal of Ethnopharmacology.* **91(1):** 105-108.
- Chao C.Y., Mong M.C., Chan K.C. & Yin M.C. (2010).** Anti-glycative and antiinflammatory effects of caffeic acid and ellagic acid in kidney of diabetic mice. *Mol Nutr Food Res.* **54(3):** 388-395.
- Chao J., Huo T.I., Cheng H.Y., Tsai J.C., Liao J.W. & Lee M.S. (2014).** Gallic acid ameliorated impaired glucose and lipid homeostasis in high fat diet-induced nafld mice. *PLoS One.* **11;9(2):** e96969.
- Chapman M.J., Caslake M., Packard C. & McTaggart F. (2003).** New dimension of statin action on ApoB atherogenicity. *Clin Cardiol.* **26(1):** 7-10.
- Chatzigeorgiou A., Harokopos V., Mylona-Karagianni C., Tsouvalas E., Aidinis V. & Kamper E.F. (2010).** The pattern of inflammatory/anti-inflammatory cytokines and chemokines in type 1 diabetic patients over time. *Ann Med.* **42(6):** 426-438.
- Chaudhry Z.R., Chaudhry S.R., Naseer A. & Chaudhry F.R. (2013).** Effect of *Syzygium aromaticum* (clove) extract on blood glucose level in streptozotocin induced diabetic rats. *Pakistan Armed Forces Medical Journal.* **63(3):** 323-332.
- Chen A. & Lacko M. (1986).** Determinations of endogenous cholesterol esterification by lecithin: cholesterol acyltransferase in plasma. *Methods Enzymol.* **129:** 763-783.
- Chen Q., Wu X., Liu L. & Shen J. (2014).** Polyphenol-rich extracts from *Oiltea camellia* prevent weight gain in obese mice fed a high-fat diet and slowed the accumulation of triacylglycerols in 3T3-L1 adipocytes. *J Funct Foods.* **9:** 148-155.
- Chen X., Wu R., Kong Y., Yang Y., Gao Y., Sun D., Liu Q., Dai D., Lu Z., Wang N., Ge S. & Wang F. (2017).** Tanshinone II A attenuates renal damage in STZ-induced diabetic rats via inhibiting oxidative stress and inflammation. *Oncotarget.* **9;8(19):** 31915-31922.
- Chenni A., Ait Yahia D., Boukortt F.O., Prost J., Lacaille-Dubois M.A. & Bouchenak M. (2007).** Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. *Journal of Ethnopharmacology.* **19;109(2):** 207-213.

Chevenne D. & Porquet D. (2003). Biochimie pathologique-Aspects moléculaires et cellulaires. **Chap** : Diabète sucré. Médecine-Sciences, Flammarion. **p**:188.

Choi J.J., Park M.Y., Lee H.J., Yoon D.Y., Lim Y., Hyun J.W., Zouboulis C.C. & Jin M. (2012). TNF- α increases lipogenesis via JNK and PI3K/Akt pathways in SZ95 human sebocytes. *J Dermatol Sci.* **65(3)**: 179-188.

Choy J.C., Granville D.J., Hunt D.W. & McManus B.M. (2001). Endothelial cell apoptosis: biochemical characteristics and potential implications for atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol.* **33(9)**: 1673-1690.

Cirico T.L. & Omaye S.T. (2006). Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. *Food Chem Toxicol.* **44(4)**: 510-516.

Coelho R.P., Feksa D.L., Oliveira P.M., da Costa Güllich A.A., Pilar B.C., da Costa Escobar Piccoli J. & Manfredini V. (2018). Protective effect of the hydroalcoholic extract of *Tripodanthus acutifolius* in hypercholesterolemic Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* **97**: 300-309.

Colombat M., Delenze S. & Callard P. (2008). Lésions élémentaires des glomérules chez l'adulte. *Néphrologie et thérapeutique.* **4(7)**: 617-627.

Cortés-Rojas D.F., Fernandes de Souza C.R. & Oliveira W.P. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* **4(2)**: 90-96.

Council of European Communities. (1987). Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. *Official Journal of European Communities 1987, (JO 86/609/CEE) L358 of 18-12-1986; Corrigendum Official J. L117 of 05-05-1987;358*: 1-28.

Crevar-Sakac M., Vujić Z., Kotur-Stevuljević J., Ivanisević J., Jelić-Ivanović Z., Milenković M., Markelić M. & Vujić Z. (2016). Effects of atorvastatin and artichoke leaf tincture on oxidative stress in hypercholesterolemic rats. *Vojnosanit Pregl.* **73(2)**: 178-187.

Czerska M., Zieliński M. & Gromadzińska J. (2016). Isoprostanes a novel major group of oxidative stress markers. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health.* **29(2)**: 179-190.

Daly C., Fitzgerald A.P., O'Callaghan P., Collins P., Cooney M.T, Graham I.M. & COMAC Group. (2009). Homocysteine increases the risk associated with hyperlipidaemia. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* **16(2)**: 150-155.

Darnaud J. & Darnaud C. (1999). Que sais-je ? le diabète. Paris : Presses Universitaires de France (PUF). (Ed.), **10**;p:128.

Daskalopoulou S.S. & Mikhailidis D.P. (2006). Reaching goal in hypercholesterolaemia: dual inhibition of cholesterol synthesis and absorption with simvastatin plus ezetimibe. *Curr Med Res Opin.* **22(3)**: 511-528.

- Davì G., Chiarelli F., Santilli F., Pomilio M., Vigneri S., Falco A., Basili S., Ciabattini G. & Patrono C. (2003).** Enhanced lipid peroxidation and platelet activation in the early phase of type 1 diabetes mellitus: role of interleukin-6 and disease duration. *Circulation*. **1;107(25)**: 3199-3203.
- De Peretti C., Nicolau J., Chin F., Tuppin P., Danchin N., Danet S. & Iliou M.C. (2014).** Réadaptation cardiaque hospitalière après infarctus du myocarde en France : apports du PMSI-SSR. *Bull Epidemiol Hebd*. **5**: 84-92.
- Deeds M.C., Anderson J.M., Armstrong A.S., Gastineau D.A., Hiddinga H.J., Jahangir A., Eberhardt N.L. & Kudva Y.C. (2011).** Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Lab Anim*. **45(3)**: 131-140.
- Delsal J.L. (1944).** New procedure for extraction of serum lipids with methylal application to micro determination of total cholesterol, phosphoamino lipids, and proteins. *Bull Soc Chim Biol*. **26**: 99-105.
- Dembinska-Kiec A., Mykkänen O., Kiec-Wilk B. & Mykkänen H. (2008).** Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. *Br J Nutr*. **99(suppl 1)**: ES109-ES117.
- Demir B., Demir E., Acıksarı G., Uygun T., Utku I.K., Gedikbasi A., Caglar I.M., Pirhan O., Tureli H.O., Oflar E., Ungan I., Ciftci S. & Karakaya O. (2014).** The association between the epicardial adipose tissue thickness and oxidative stress parameters in isolated metabolic syndrome patients: a multimarker approach. *Int J Endocrinol*. **1**: 1-9.
- Deponte M. (2013).** Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione dependent enzymes. *Biochim Biophys Acta*. **1830(5)**: 3217-3266.
- Dimitrova-Sumkovska J., Dosié-Markovska B., Zafirova-Roganvié D. & Anastasovska V. (2006).** Effects of different dietary fatty acid supplements upon lipoprotein metabolism and lipid peroxides production in hyperlipidemic rats. *Prilozi*. **27(1)**: 67-86.
- Ding Y., Xiao C., Wu Q., Xie Y., Li X., Hu H. & Li L. (2016).** The mechanisms underlying the hypolipidaemic effects of *Grifola frondosa* in the liver of rats. *Front Microbiol*. **3;7**: 1186.
- Djellouli F., Krouf D., Bouchenak M. & Lacaille-Dubois M.A. (2014).** Favorable effects of *Globularia alypum* L. lyophilized methanolic extract on the reverse cholesterol transport and lipoprotein peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. **15;6(4)**: 758-765.
- Djellouli F., Krouf D., Lacaille-Dubois M.A. & Bouchenak M. (2018).** *Portulaca oleracea* reduces lipemia, glycemia, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats fed cholesterol-enriched diet. *J of Pharmaceutical Research Int*. **23(4)**: 1-12.
- Donath M. (2013).** Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. **15(suppl 3)**: 193-196.
- Dragstedt A. & Lang B. (1957).** Etude de la toxicité par administration unique d'un nouveau médicament. *Annales Pharmaceutiques français (Fre)*, **p**: 11.

Dubois-Laforgue D. & Timsit J. (2000). Diabète de type 1 et environnement. *Médecine/Sciences*. **10;16**: 1045-1050.

Dubois-Laforgue D. (2007). Étiologie et physiopathologie du diabète de type 1. *Endocrin Nutr*. **10**: 366.

Dubois-Laforgue D. (2010). Progrès physiopathologique dans le diabète de type 1. *Praticien*. **60(2)**: 165-169.

Ducobu J. (2003). Oral antidiabetic drugs in 2003. *Rev Med Brux*. **24(4)**: A361-368.

Ducobu J., Scheena J., Legat P., De Backer G., Van-Gaal L., Velkeniers B., Kartounian J., Maes M. & Hermans M. (2009). Place des fibrates dans le traitement de patients avec une dyslipidémie athérogènes. *Rev Med Liège*. **64(10)**: 512-518.

Durlach V. (1999). Lipémie postprandiale. *Métabolismes-Hormones-Nutrition*. **3**: 77-81.

Durrington P. (2003). Dyslipidaemia. *Lancet*. **30;362**: 717-731.

Eddouks M., Ouahidi M.L., Farid O., Moufid A., Khalidi A. & Lemhadri A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*. **5(4)**: 194-203.

Elbahy D.A., Madkour H.I. & Abdel-Raheem M.H. (2015). Evaluation of antihyperlipidemic activity of eugenol in triton induced hyperlipidemia in rats. *Int J of Research Studies in Biosciences*. **3(10)**: 19-26.

El-Baz F., Khalil W.K.B., Aly H.F. & Booles H.F. (2016). Berry extracts improved inflammatory cytokines, antioxidant enzyme and suppressed the gene expression alterations in diabetic rats. *Int J Pharm Pharm Sci*. **8(11)**: 294-230.

Ellulu M.S., Patimah I., Khaza'ai H., Rahmat A., Abed Y. & Ali F. (2016). Atherosclerotic cardiovascular disease: a review of initiators and protective factors. *Inflammopharmacology*. **24(1)**: 1-10.

El-Newary S.A., Sulieman A.M., El-Attar S.R. & Sitohy M.Z. (2016). Hypolipidemic and antioxidant activity of the aqueous extract from the uneaten pulp of the fruit from *Cordia dichotoma* in healthy and hyperlipidemic Wistar albino rats. *J Nat Med*. **70(3)**: 539-553.

Elosta A., Ghous T. & Ahmed N. (2012). Natural products as anti-glycation agents: possible therapeutic potential for diabetic complications. *Curr Diabetes Rev*. **8(2)**: 92-108.

Eno A.E., Ofem O.E., Nku C.O., Ani E.J. & Itam E.H. (2008). Stimulation of insulin secretion by *Viscum album* (mistletoe) leaf extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Afr J Med Med Sci*. **37(2)**: 141-147.

Erdmann K., Cheung B.W. & Schröder H. (2008). The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *J Nutr Biochem*. **19(10)**: 643-654.

Eteng M.U., Ibekwe H.A., Essien A.D. & Onyeama H.P. (2008). Effects of *Cataranthus roseus* on electrolyte derangement induced by chlorpropamide (diabinese) R on normoglycemic albino wistar rat. *Bio-Research*. **6(2)**: 364-366.

Farzadfar F., Finucane M.M., Danaei G., Pelizzari P.M., Cowan M.J., Paciorek C.J., Singh G.M., Lin J.K., Stevens G.A., Riley L.M. & Ezzati M. (2011). National regional and global trends in serum total cholesterol since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 321 country and 3.0 million participants. *Lancet*. **12;377(9765)**: 578-586.

Feres D.D., Dos Santos M.P., Buzelle S.L., Pereira M.P., de França S.A., Garófalo M.A., Andrade C.M., Froelich M., de Almeida F.J., Frasson D., Chaves V.E. & Kawashita N.H. (2013). *In vitro* TNF- α - and noradrenaline-stimulated lipolysis is impaired in adipocytes from growing rats fed a low-protein, high-carbohydrate diet. *Lipids*. **48(8)**: 779-786.

Ferrannini E. & DeFronzo R.A. (2015). Impact of glucose-lowering drugs on cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Eur Heart J*. **7;36(34)**: 2288-2296.

Ferreira-Santos P., Carrón R., Recio I., Sevilla M.Á. & Montero M.J. (2017). Effects of milk casein hydrolyzate supplemented with phytosterols on hypertension and lipid profile in hypercholesterolemic hypertensive rats. *Journal of Functional Foods*. **28**: 168-176.

Ferretti G., Bacchetti T., Moroni C., Savino S., Liuzzi A., Balzola F. & Bicchiega V. (2005). Paraoxonase activity in high density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. *J Clin Endocrinol Metab*. **90(3)**: 1728-1733.

Fève B., Bsatard J.P. & Vidal H. (2006). Les relations entre obesite, inflammation et insulinoresistance: acquisitions recentes. *Comp Rend Biol*. **329(8)**: 587-597.

Fève B. & Bastard J.P. (2007). Adipokines : au cœur de la relation entre obésité et insulinoresistance. *MT Cardio*. **3(1)**: 24-38.

Fidèle N., Kakesse M., Hamadjida A., Paul-Faustin S.E. & Théophile D. (2015). Hypolipidemic, antioxidant and anti-atherosclerogenic effects of aqueous extract of *Zanthoxylum heitzii* stem bark in diet-induced hypercholesterolemic rats. *Asian Pac J Trop Med*. **8(5)**: 359-365.

Fidèle N., Joseph B., Emmanuel T. & Théophile D. (2017). Hypolipidemic, antioxidant and anti- atherosclerogenic effect of aqueous extract leaves of *Cassia occidentalis* Linn (*Caesalpinaceae*) in diet-induced hypercholesterolemic rats. *BMC Complement Altern Med*. **17(1)**: 76.

Gaede P. (2008). Intensive glucose control and cardiovascular disease in type 2 diabetes-should we change the recommended target for glycated hemoglobin? commentary to ACCORD and ADVANCE trials. *Pol Arch Med Wewn*. **118(11)**: 619-621.

Ghalandari H., Hosseini-Esfahani F. & Mirmiran P. (2015). The association of polymorphisms in leptin/leptin receptor genes and ghrelin/ghrelin receptor genes with overweight/obesity and the related metabolic disturbances: a review. *Int J Endocrinol Metab*. **1;13(3)**: e19073.

Ghedira K. (2010). *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (*Myrtaceae*) giroflier. *Phytothérapie*. **8(1)**: 37-43.

Ghiravani Z., Hosseini M., Taheri M.H., Fard M.H. & Abedini M.R. (2016). Evaluation of hypoglycemic and hypolipidemic effects of internal septum of walnut fruit in alloxan-induced diabetic rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. **13(2)**: 94-100.

Ghosh D. & Scheepens A. (2009). Vascular action of polyphenols. *Mol Nutr Food Res*. **53(3)**: 322-331.

Gillery P. (2006). Stress oxydant et glycation des protéines au cours du diabète sucré. *Annales de Biologie Clinique*. **64(4)**: 309-314.

Girona J., La Ville A.E., Sola R., Plana N. & Masana L. (1999). Simvastatin decreases aldehyde production derived from lipoprotein oxidation. *Am J Cardiol*. **15;83(6)**: 846-851.

Gocmen A.Y., Ocak G.A., Ozbilim G., Delibas N. & Gumuslu S. (2013). Effect of atorvastatin on atherosclerotic plaque formation and platelet activation in hypercholesterolemic rats. *Can J Physiol Pharmacol*. **91(9)**: 680-685.

Gondwe M., Kamadyaapa D.R., Tufts M., Chaturgoon A.A. & Musabayane C.T. (2008). *Sclerocarya birrea* [(A. Rich.) Hochst.] [*Anacardiaceae*] stem-bark ethanolic extract (SBE) modulates blood glucose, glomerular filtration rate (GFR) and mean arterial blood pressure (MAP) of STZ-induced diabetic rats. *Phytomedicine*. **15(9)**: 699-709.

González-Gallego J., Sánchez-Campos S. & Tuñón M.J. (2007). Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutricin hospitalaria*. **22(3)**: 287-293.

González-Gallego J., Garcia-Mediavilla M.V., Sánchez-Campos S. & Tuñón M.J. (2010). Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *Br J Nutr*. **104(3)**: S15-27.

González-Peña D., Angulo J., Vallejo S., Colina-Coca C., de Ancos B., Sánchez-Ferrer C.F., Peiró C. & Sánchez-Moreno C. (2014). High-cholesterol diet enriched with onion affects endothelium-dependent relaxation and NADPH oxidase activity in mesenteric microvessels from Wistar rats. *Nutr Metab (Lond)*. **23;11**: 57.

Gouédard C., Barouki R. & Morel Y. (2004). Induction of the paraoxonase-1 gene expression by resveratrol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. **24(12)**: 2378-2383.

Graner M.H. & Spector A. (1985). Glucose-6-phosphate modification of bovine renal Na,K-ATPase: A model for changes occurring in the human renal medulla in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*. **30;131(3)**: 1206-1211.

Gratas-Delamarche A., Derbré F., Vincent S. & Cillard J. (2014). Physical inactivity, insulin resistance, and the oxidative-inflammatory loop. *Free Radic Res*. **48(1)**: 93-108.

Guenzet A., Krouf D., Zennaki S. & Berzou S. (2014). *Zygophyllum gaetulum* protects against diabetic dyslipidemia and attenuates liver and kidney oxidative damage. *Int J of Pharma Sciences and Research*. **5(11)**: 4709-4717.

Guenzet A., Berzou S. & Krouf D. (2016). Effets antidiabétique et antioxydant d'un extrait aqueux lyophilisé de *Zygophyllum gaetulum* chez le rat rendu diabétique par injection de streptozotocine. *Revue Médicale Int Maghrébine*. **239**: 5-14.

Guenzet A., Krouf D. & Berzou S. (2017). *Portulaca oleracea* leaf aqueous lyophilized extract reduces hyperglycemia and improves antioxidant status of red blood cells and liver in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology David Publishing*. **5**: 139-148.

Guo W., Kong E. & Meydani M. (2009). Dietary polyphenols, inflammation, and cancer. *Nutr Cancer*. **61(6)**: 807-810.

Haddad P.S., Musallam L., Martineau L.C., Harris C., Lavoie L., Arnason J.T., Foster B., Bennett S. & Johns T. (2012). Comprehensive evidence-based assessment and prioritization of potential antidiabetic medicinal plants: a case study from Canadian eastern james bay cree traditional medicine. *Evid Based Complement Alternat Med*. **2012**: 893426.

Halliwell B. & Gutteridge J.M.C. (2007). Free radicals in biology and medicine. OUP Oxford, (Ed.), **4**: 20-23.

Hamat I., Abderraman M.G., Cisse M.M., Youssouf M., Djafar S.M., Mbainguinam D. & Fotclossou T. (2016). Profil de la néphropathie diabétique à l'hôpital général de référence nationale de N'Djamena (Tchad). *Pan Afr Med J*. **24**: 193.

Hamza N., Berke B., Cheze C., Agli A.N., Robinson P., Gin H. & Moore N. (2010). Prevention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the C57BL/6J mouse by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the east of Algeria. *J Ethnopharmacol*. **24;128(2)**: 513-518.

Hamza-Reguig S., Louala S., Boualga A. & Lamri-Senhadjji M.Y. (2013). Effect of sardine protein on redox status in hypercholesterolemic rats. *Nutrition & Food Science*. **43(3)**: 277-284.

Harb A.A., Bustanji Y.K. & Abdalla S.S. (2018). Hypocholesterolemic effect of β -caryophyllene in rats fed cholesterol and fat enriched diet. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. **62(3)**: 230-237.

Hartog J.W., Voors A.A., Bakker S.J., Smit A.J. & Veldhuisen D.J. (2007). Advanced glycation end-products (AGEs) and heart failure: pathophysiology and clinical implications. *Eur J Heart Fail*. **9(12)**: 1146-1155.

Hassanzadeh-Taheri M., Hassanpour-Fard M., Doostabadi M., Moodi H., Vazifeshenas-Darmiyani K. & Hosseini M. (2018). Co-administration effects of aqueous extract of turnip leaf and metformin in diabetic rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. **8(1)**: 178-183.

Hayek T., Fuhrman B., Vaya J., Rosenblat M., Belinky P., Coleman R., Elis A. & Aviram M. (1997). Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin, is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation and aggregation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **17(11):** 2744-2752.

Hennebelle T., Sahpaz T. & Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie.* **2(1):** 3-6.

Hermida N. & Balligand J.L. (2014). Low density lipoprotein cholesterol induced endothelial dysfunction and oxidative stress: the role of statins. *Antioxid Redox Signal.* **10 ;20(8):** 1216-1237.

Hernández-Perera O., Pérez-Sala D., Navarro-Antolín J., Sánchez-Pascuala R., Hernández G., Díaz C. & Lamas S. (1998). Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest.* **15;101(12):** 2711-2719.

Hiragi C.O., Miranda-Vilela A.L., Rocha D.M., Oliveira S.F., Hatagima A. & Klautau-Guimarães M.N. (2011). Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferases M1 and T1 gene polymorphisms in three Brazilian population groups. *Genet Mol Biol.* **34(1):** 11-18.

Hoang A., Murphy A.J., Coughlan M.T., Thomas M.C., Forbes J.M., O'Brien R., Cooper M.E., Chin-Dusting J.P. & Sviridov D. (2007). Advanced glycation of apolipoprotein A-I impairs its anti-atherogenic properties. *Diabetologia.* **50(8):** 1770-1779.

Hodge H.C. & Sterner J.H. (1943). Determination of substance acute toxicity by LD50. *Am Ind Hyg Assoc.* **10:** 93-96.

Hurt-Camejo E., Camejo G., Rosengren B., Lopez F., Wiklund O. & Bondjers G. (1990). Differential uptake of proteoglycan-selected subfractions of low density lipoprotein by human macrophages. *J Lipid Res.* **31(8):** 1387-1398.

Ikpi D.E., Obembe A.O. & Nku C.O. (2009). Aqueous leaf extract of *Rothmannia longiflora* improves basal metabolic rate and electrolyte parameters in alloxan-induced diabetic rats. *Nig J Physiol Sci.* **24(1):** 67-71.

Institut National de Santé Publique, Alger (INSP). (2008). Projet INCO-MED-TAHINA. Synthèse enquête mortalité. Alger, p: 18.

Jacob C., Knight I. & Winyard P.G. (2006). Aspects of the biological redox chemistry of cysteine: from simple redox responses to sophisticated signalling pathways. *Biol Chem.* **387(10-11):** 1385-1397.

Jager J., Grémeaux T., Cormont M., Le Marchand-Brustel Y. & Tanti J.F. (2007). Interleukin-1 β -induced insulin resistance in adipocytes through down-regulation of insulin receptor substrate-1 expression. *Endocrinology.* **148(1):** 241-251.

James R.W. & Pometta D. (1991). The distribution profiles of very low density and low density lipoproteins in poorly-controlled male, type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia*. **34(4)**: 246-252.

James R.W. (2002). Particularités de la dyslipidémie du diabète. *Méd Hyg*. **60**: 545-552.

Jarald E., Joshi S.B. & Jain D.C. (2008). Diabetes and herbal medicine. *Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics*. **7(1)**: 97-106.

Jayaraman R. & Christina A.J.M. (2013). *Citrullus colocynthis* attenuates hyperlipidemia and hyperglycemia through its anti-oxidant property against hyperlipidemic and diabetic animal models. *Der Pharmacia Sinica*. **4(1)**: 60-66.

Jayaraman R., Subramani S., Sheik Abdullah S.H. & Udaiyar M. (2018). Antihyperglycemic effect of hesperetin, a citrus flavonoid, extenuates hyperglycemia and exploring the potential role in antioxidant and antihyperlipidemic in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomed Pharmacother*. **97**: 98-106.

Jin L., Xue H.Y., Jin L.J., Li S.H. & Xu Y.P. (2008). Antioxidant and pancreas-protective effect of aucubin on rats with streptozotocin-induced diabetes. *Eur J Pharmacol*. **17;582(1-3)**: 162-167.

Jin S. & Cho K.H. (2011). Water extracts of cinnamon and clove exhibits potent inhibition of protein glycation and anti-atherosclerotic activity *in vitro* and *in vivo* hypolipidemic activity in zebrafish. *Food Chem Toxicol*. **49(7)**: 1521-1529.

Jovanović J.A., Mihailović M., Uskoković A.S., Grdović N., Dinić S., Poznanović G., Mujić I. & Vidaković M. (2017). Evaluation of the antioxidant and antiglycation effects of *Lactarius deterrimus* and *Castanea sativa* extracts on hepatorenal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Front Pharmacol*. **31;8**: 793.

Jung C.H., Ahn J., Jeon T.I., Kim T.W. & Ha T.Y. (2012). *Syzygium aromaticum* ethanol extract reduces high-fat diet-induced obesity in mice through downregulation of adipogenic and lipogenic gene expression. *Exp Ther Med*. **4(3)**: 409-414.

Kabamba A.T., Bakari S.A., Longanga A. & Lukumwena Z.K. (2014). Baisse du HDL-cholestérol indicateur du stress oxydatif dans le diabète de type 2. *Pan Afr Med J*. **19**: 140.

Kamatou G.P., Vermaak I. & Viljoen A.M. (2012). Eugenol from the Remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*. **6;17(6)**: 6953-6981.

Kandouli C., Cassien M., Mercier A., Delehedde C., Ricquebourg E., Stocker P., Mekaouche M., Leulmi Z., Mechakra A., Thétiot-Laurent S., Culcasi M. & Pietri S. (2017). Antidiabetic, antioxidant and antiinflammatory properties of water and n-butanol soluble extracts from Saharian *Anvillea radiata* in high-fat-diet fed mice. *J Ethnopharmacol*. **31;207**: 251-267.

- Kaplan M., Hayek T., Raz A., Coleman R., Dornfeld L., Vaya J. & Aviram M. (2001).** Pomegranate juice supplementation to atherosclerotic mice reduces macrophage lipid peroxidation, cellular cholesterol accumulation and development of atherosclerosis. *J Nutr.* **131(8)**: 2082-2089.
- Karlsson H., Lindqvist H., Tagesson C. & Lindahl M. (2006).** Characterization of apolipoprotein M isoforms in low-density lipoprotein. *J Proteome Res.* **5(10)**: 2685-2690.
- Kesh S.B., Sarkar D. & Manna K. (2016).** High-fat diet-induced oxidative stress and its impact on metabolic syndrome: A review. *Asian J Pharm Clin Res.* **9(1)**: 47-52.
- Khan A., Qadir S.S. & Nawaz K. (2006).** Cloves improve glucose, cholesterol and triglycerides of people with type 2 diabetes mellitus. *Experimental Biology San Francisco.* **20(5)**: 640.
- Khan T.J., Ahmed Y.M., Zamzami M.A., Mohamed S.A., Khan I., Baothman O.A.S., Mehanna M.G. & Yasir M. (2018).** Effect of atorvastatin on the gut microbiota of high fat diet-induced hypercholesterolemic rats. *Sci Rep.* **12;8(1)**: 662.
- Khathi A., Serumula M.R., Myburg R.B., Van-Heerden F.R. & Musabayane C.T. (2013).** Effects of *Syzygium aromaticum*-derived triterpenes on postprandial blood glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. following carbohydrate challenge. *PLoSOne.* **22;8(11)**: e81632.
- Khatune N.A., Rahman B.M., Barman R.K. & Wahed M.I. (2016).** Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant properties of ethanol extract of *Grewia asiatica* Linn. bark in alloxan-induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med.* **18;16**: 295.
- Khelladi H.M., Krouf D. & Taleb-Dida N. (2018).** Sardine proteins (*Sardina pilchardus*) combined with green lemon zest (*Citrus latifolia*) improve blood pressure, lipid profile and redox status in diabetic hypertensive rats. *Nutrition & Food Science.* **48(4)**: 654-668.
- Kim J.H., Jeon S.M., Lee M.K., Cho Y.Y., Kwon E.Y., Lee J.H. & Choi M.S. (2010).** Comparison of hesperetin and its metabolites for cholesterol-lowering and antioxidative efficacy in hypercholesterolemic hamsters. *J Med Food.* **13(4)**: 808-814.
- Kim J.H., Lee H.J., Jeong S.J., Lee M.H. & Kim S.H. (2012).** Essential oil of *Pinus koraiensis* leaves exerts antihyperlipidemic effects via up-regulation of low-density lipoprotein receptor and inhibition of acyl-coenzyme A: Cholesterol acyltransferase. *Phytotherapy Research.* **26(9)**: 1314-1319.
- Kim M.Y., Cheong S.H., Lee J.H., Kim M.J, Sok D.E. & Kim M.R. (2010).** Spirulina improves antioxidant status by reducing oxidative stress in rabbits fed a high-cholesterol diet. *J Med Food.* **13(2)**: 420-426.
- Kim S.H., Jo S.H., Kwon Y.I. & Hwang J.K. (2011).** Effects of onion (*Allium cepa* L.) extract administration on intestinal α -glucosidases activities and spikes in postprandial blood glucose levels in SD rats model. *Int J Mol Sci.* **12(6)**: 3757-3769.

- Kittl M., Beyreis M., Tumurkhuu M., Fürst J., Helm K., Pitschmann A., Gaisberger M., Glasl S., Ritter M. & Jakab M. (2016).** Quercetin stimulates insulin secretion and reduces the viability of rat ins-1 beta-cells. *Cell Physiol Biochem.* **39(1)**: 278-293.
- Kleemann R., Verschuren L., Morrison M., Zadelaar S., van Erk M.J., Wielinga P.Y. & Kooistra T. (2011).** Anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-atherosclerotic effects of quercetin in human *in vitro* and *in vivo* models. *Atherosclerosis.* **218(1)**: 44-52.
- Koenig G. & Senef S. (2015).** Gamma-Glutamyltransferase: a predictive biomarker of cellular antioxidant inadequacy and disease risk. *Dis Markers.* **2015**: 818570.
- Koriem K.M.M. (2014).** Antihyperlipidemic activity of the medicinal plants among *Kadazan* and *Dusun* communities in Sabah, Malaysia: a review. *Asian Pac J Trop Biomed.* **4(10)**: 768-779.
- Kota S.K., Meher L.K., Kota S.K., Jammula S., Krishna S.V.S. & Modi K.D. (2013).** Implications of serum paraoxonase activity in obesity, diabetes mellitus, and dyslipidemia. *Indian J Endocrinol Metab.* **17(3)**: 402-412.
- Krouf D., Zennaki S., Djellouli F., Taleb-Senouci D., Marouf A., Lacaille-Dubois M.A. & Bouchenak M. (2008).** Beneficial effects of a methanolic extract of *Globularia alypum* on glycaemia, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activities in rats with streptozotocin induced diabetes. *Proc Nutri Soc.* **67(OCE)**: 192.
- Kuate D., Kengne A.P., Biapa C.P., Azantsa B.G. & Abdul Manan B.W.M. (2015).** *Tetrapleura tetraptera* spice attenuates high-carbohydrate, high-fat diet-induced obese and type 2 diabetic rats with metabolic syndrome features. *Lipids Health Dis.* **24;14**: 50.
- Kuivenhoven J.A., Pritchard H., Hill J., Frohlich J., Assmann G. & Kastelein J. (1997).** The molecular pathology of lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency syndromes. *J Lipid Res.* **38(2)**: 191-205.
- Kulkarni C.R., Joglekar M.M., Patil S.B. & Arvindekar A.U. (2012).** Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effect of *Santalum album* in streptozotocin induced diabetic rats. *Pharm Biol.* **50(3)**: 360-365.
- Kumar P.S., Febriyanti R.M., Sofyan F.F., Luftimas D.E. & Abdulah R. (2014).** Anticancer potential of *Syzygium aromaticum* L MCF-7 human breast cancer cell lines. *Phcog Res.* **6(4)**: 350-354.
- Kundu D., Roy A., Mandal T., Bandyopadhyay U., Ghosh E. & Ray D. (2013).** Relation of microalbuminuria to glycosylated haemoglobin and duration of type 2 diabetes. *Nig J Clin Pract.* **16(2)**: 216-220.
- Kuroda M., Mimaki Y., Ohtomo T., Yamada J., Nishiyama T., Mae T., Kishida H. & Kawada T. (2012).** Hypoglycemic effects of clove (*Syzygium aromaticum* flower buds) on genetically diabetic KK-Ay mice and identification of the active ingredients. *J Nat Med.* **66(2)**: 394-399.

- Lacquemant C., Francis V., Frederic L. & Philippe F. (2003).** Cytokines d'origine adipocytaire, obésité et développement du diabète. *Med Scien.* **19(8-9)**: 809-817.
- Lamarche B., Lemieux I. & Despres J.P. (1999).** The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: Epidemiology, pathophysiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab.* **25(3)**: 199-211.
- Lecerf J.M. (2016).** Ail et santé cardiovasculaire. *Phytothérapie.* **14(3)**:154-158.
- Lenzen S. (2008).** The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* **51(2)**: 216-226.
- Lenzen S. (2017).** Chemistry and biology of reactive species with special reference to the antioxidative defence status in pancreatic β -cells. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* **1861(8)**: 1929-1942.
- Lewis S.J. (2011).** Lipid-lowering therapy: who can benefit? *Vasc Health Risk Manag.* **7**: 525-534.
- Li J., Gong F. & Li F. (2016).** Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoids from tartary buckwheat in type 2 diabetic rats. *Biomed Res.* **27(1)**: 132-137.
- Libby P. & Aikawa M. (2003).** Mechanisms of plaque stabilization with statins. *Am J Cardiol.* **20;91(4A)**: 4B-8B.
- Liberale L., Bonaventura A., Vecchiè A., Matteo C., Dallegri F., Montecucco F. & Carbone F. (2017).** The role of adipocytokines in coronary atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* **19(2)**: 10.
- Lien E.J., Ren S., Bui H.H. & Wang R. (1999).** Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radic Biol Med.* **26(3-4)**: 285-294.
- Litvinov D., Mahini H. & Garelnabi M. (2012).** Antioxidant and anti-inflammatory role of paraoxonase 1: implication in arteriosclerosis diseases. *N Am J Med Sci.* **4(11)**: 523-532.
- Louala S., Benyahia-Mostefaoui A. & Lamri-Senhadj M.Y. (2013).** Energy restriction reduces oxidative stress in the aorta and heart and corrects the atherogenic risk in obese rat. *Ann Cardiol Angeiol (Paris).* **62(3)**: 155-160.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randall R.J. (1951).** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry.* **193(1)**: 256-275.
- Lu Z., Wang F. & Liang M. (2017).** SerpinC1/antithrombin III in kidney related diseases. *Clin Sci (Lond).* **1;131(9)**: 823-831.
- Luc G. (2007).** Métabolisme de lipoprotéines de haute densité. *Métab Horm Diab et Nutr.* **11(4)**: 151-155.

Madlala H.P., Masola B., Singh M. & Musabayane C.T. (2012). The effects of *Syzygium aromaticum*-derived oleanolic acid on kidney function of male sprague–dawley rats and on kidney and liver cell lines. *Ren Fail.* **34(6)**: 767-776.

Madlala H.P., Van-Heerden F.R., Mubagwa K. & Musabayane C.T. (2015). Changes in renal function and oxidative status associated with the hypotensive effects of oleanolic acid and related synthetic derivatives in experimental animals. *PLoSOne.* **5;10(6)**: e0128192.

Maessen D.E., Stehouwer C.D. & Schalkwijk C.G. (2015). The role of methylglyoxal and the glyoxalase system in diabetes and other age-related diseases. *Clin Sci (Lond).* **128(12)**: 839-861.

Mapanga R.F., Tufts M.A., Shode F.O. & Musabayane C.T. (2009). Renal effects of plant-derived oleanolic acid in streptozotocin-induced diabetic rats. *Renal Failure.* **31(6)**: 481-491.

Marc T., Gerard W. & Denis L. (2001). Classification des anti-inflammatoires in Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. (Ed.), **4**; p: 426.

Martin H.J., Kornmann F. & Fuhrmann G.F. (2003). The inhibitory effects of flavonoids and antiestrogens on the Glut1 glucose transporter in human erythrocytes. *Chem Biol Interact.* **15;146(3)**: 225-235.

Martin S. & Andriantsitohaina R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Ann Cardiol Angiol.* **51(6)**: 304-315.

Martineau L.C., Adeyiwola-Spoor D.C., Vallerand D., Afshar A., Arnason J.T. & Haddad P.S. (2010). Enhancement of muscle cell glucose uptake by medicinal plant species of *Canada's native* populations is mediated by a common, metformin-like mechanism. *J Ethnopharmacol.* **3;127(2)**: 396-406.

Mason R.M. & Wahab NA. (2003). Extra-cellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* **14(5)**: 1358-1373.

Matough F.A., Budin S.B., Hamid Z.A., Alwahaibi N. & Mohamed J. (2012). The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos Univ Med J.* **12(1)**: 5-18.

Mbaveng A.T. & Kuete V. (2017). Therapeutic potential against metabolic, inflammatory, infectious and systemic diseases. **Chap 29**; *Syzygium aromaticum. Medicinal Spices and Vegetables from Africa.* **1**: 611-625.

Meky N.H.AE.R., Fouad D.A., Mahmoud A.A., Hegazy H.G.ED.S. & Rekaby M.H.A. (2017). Pleiotropic effects of atorvastatin (Lipitor) on experimentally-induced hypercholesterolemic model. *Egypt J Exp Biol (Bot.).* **13(1)**: 31-41.

Mellouk Z., Ait-Yahia D., Boukourt F.O. Benaicha N., Madani Z. & Bouchenak M. (2009). Dietary sardine (*Sardina pilchardus*) protein attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia and ameliorates tissue morphology changes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolic and Functional Research on Diabetes.* **2**: 45-54.

Mensah-Brown E.P., Obineche E.N., Galadari S., Chandranath E., Shahin A., Ahmed I., Patel S.M. & Adem A. (2005). Streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats: the role of inflammatory cytokines. *Cytokine*. **7**;31(3): 180-190.

Mertens A., Verhamme P., Bielicki J.K., Phillips M.C., Quarck R., Verreth W., Stengel D., Ninio E., Navab M., Mackness B., Mackness M. & Holvoet P. (2003). Increased low density lipoprotein oxidation and impaired high-density lipoprotein antioxidant defense are associated with increased macrophage homing and atherosclerosis in dyslipidemic obese mice: LCAT gene transfer decreases atherosclerosis. *Circulation*. **1**;107(12): 1640-1646.

Migdal C. & Serres M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/Sciences*. **27**(4): 405-12.

Mir H., Krouf D., Taleb-Senouci D. & Taleb-Dida N. (2015). Combined treatment with sardine proteins and *Citrus latifolia* extract corrects dyslipidemia, prevents lipid peroxidation and improves lecithin: cholesterol acyltransferase and paraoxonase1 activities in hypercholesterolemic rats. *British Journal of Applied Science & Technology*. **7**(2): 156-167.

Miranda-Diaz A.G., Pazarin-Villasenor L., Yanowsky-Escatell F.G. & Andrade-Sierra J. (2016). Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease. *J Diabetes Res*. **2016**: 7047238.

Mitsios J.V., Papathanasiou A.I., Goudevenos J.A. & Tselepis A.D. (2010). The antiplatelet and antithrombotic actions of statins. *Curr Pharm Des*. **16**(34): 3808-3814.

Mocelin R., Marcon M., Sant, G.D., Zanatta L., Sachett A., Schönell A.P., Bevilaqua F., Giachini M., Chitolina R., Wildner S.M., Duarte M.M.M.F., Conterato G.M.M., Piato A.L., Gomes D.B. & Roman Junior W.A. (2016). Hypolipidemic and antiatherogenic effects of *Cynara scolymus* in cholesterol-fed rats. *Rev Bras Farmacogn*. **26**(2): 233-239.

Mohd Esa N., Abdul Kadir K.K., Amom Z. & Azlan A. (2013). Antioxidant activity of white rice, brown rice and germinated brown rice (*in vivo* and *in vitro*) and the effects on lipid peroxidation and liver enzymes in hyperlipidaemic rabbits. *Food Chem*. **15**;141(2): 1306-1312.

Mohora M., Greabu M., Muscurel C., Duta 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.

Mokgolodi N.C., Yan H., Shi L. & Yu-jun L. (2011). *Ziziphus mucronata*: an underutilized traditional medicinal plant in Africa. *For Stud China*. **13**: 163-172.

Momin M., Jia J., Fan F., Li J., Dou J., Chen D., Huo Y. & Zhang Y. (2017). Relationship between plasma homocysteine level and lipid profiles in a community-based Chinese population. *Lipids Health Dis*. **16**(1): 54.

Moradi M.T., Gatreh-Samani K., Farrokhi E., Rafeian-Koupaei M. & Karimi A. (2012). The effects of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) on serum level of lipids, lipoproteins and paraoxanase 1(PON1) activity in hypercholesterolemia patients. *Life Science Journal*. **9**(4): 5548-5552.

- Morgan P.E., Dean R.T. & Davies M.J. (2002).** Inactivation of cellular enzymes by carbonyls and protein-bound glycation/glycoxydation products. *Arch Biochem Biophys.* **15;403(2):** 259-269.
- Moulin B. & Peraldi M.N. (2016).** Néphropathies diabétiques, **Chap 11;** Item 245. Néphrologie . (Ed.), **7;** 165-176.
- Muga M.A. & Chao J.C. (2014).** Effects of fish oil and spirulina on oxidative stress and inflammation in hypercholesterolemic hamsters. *Send to BMC Complement Altern Med.* **6;14:** 470.
- Müller S., König I., Meyer W. & Kojda G. (2004).** Inhibition of vascular oxidative stress in hypercholesterolemia by eccentric isosorbide mononitrate. *J Am Coll Cardiol.* **4;44(3):** 624-631.
- Muruganandam A., Drouillard C., Thibert R.J., Cheung R.M., Draisey T.F. & Mutus B. (1992).** Glutathione metabolic enzyme activities in diabetic platelets as a function of glycemic control. *Thromb Res.* **15;67(4):** 385-397.
- Myant N.B. (1993).** Familial defective apolipoprotein B-100: a review, including some comparisons with familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* **104(1-2):** 1-18.
- Nakajima K., Nakano T. & Tanaka A. (2006).** The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta.* **367(1-2):** 36-47.
- Nalbone G., Bernot D., Peiretti F., Alessi M. & Juhan-Vague I. (2002).** Les statines en thérapeutique cardiovasculaire. *Med Sci.* **18(12):** 1257-1265.
- Nalbone G., Peiretti f., Canault M. & Alessi M.C. (2006).** Lipides peroxydés et réaction immuno-inflammatoire dans l'athérosclérose. *OCL.* **13(5):** 337-342.
- Nam H. & Kim M.M. (2013).** Eugenol with antioxidant activity inhibits MMP-9 related to metastasis in human fibrosarcoma cells. *Food Chem Toxicol.* **55:** 106-112.
- Nasar M., Jarrari A., Naseer M., Subhani T., Shetty B. & Shakeel F. (2009).** Antioxidant status of atorvastatin in hypercholesterolemic patients. *J Serb Chem Soc.* **74(10):** 1063-1073.
- Navab M., Hama S.Y., Anantharamaiah G.M., Hassan K., Hough G.P., Watson A.D., Reddy S.T., Sevanian A., Fonarow G.C. & Fogelman A.M. (2000).** Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3. *J Lipid Res.* **41(9):** 1495-1508.
- Netharakere C., Nayak N.I., Kundapur V., Bhat N.G., Mathai P. & Rajesh D. (2015).** Comparison of the efficacy of clove (*Syzygium aromaticum*) oil with pioglitazone on dexamethasone induced hepatic steatosis, dyslipidemia and hyperglycemia in albino rats. *J Clin Exp Res.* **3:** 169-173.
- Ng D.S. (2004).** Insight into the role of LCAT from mouse models. *Rev Endoc Metab Disord.* **5(4):** 311-318.

Ngubane P.S., Masola B. & Musabayane C.T. (2011). The effects of *Syzygium aromaticum*-Derived oleanolic acid on glycogenic enzymes in streptozotocin induced diabetic rats. *Ren Fail.* **33(4)**: 434-439.

Nigon F., Lesnik P., Rouis M. & Chapman M.J. (1991). Discrete subspecies of human low density lipoproteins are heterogenous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J Lipid Res.* **32(11)**: 1741-1753.

Nobecourt E., Davies M.J., Brown B.E., Curtiss L.K., Bonnet D.J., Charlton F., Januszewski A.S., Jenkins A.J., Barter P.J. & Rye K.A. (2007). The impact of glycation on apolipoprotein A-I structure and its ability to activate lecithin:cholesterol acyltransferase. *Diabetologia.* **50(3)**: 643-653.

Noriega-Cisneros R., Ortiz Avila O., Esquivel-Gutierrez E., Clemente-Guerrero M., Manzo-Avalos S., Salgado-Garciglia R., Cortes-Rojo C., Boldogh I. & Saavedra-Molina A. (2012). Hypolipidemic activity of *Eryngium carlinae* on streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem Res Int.* **2012;603501**: 1-5.

Obeid R. & Herrmann W. (2009). Homocysteine and lipids: S-adenosyl methionine as a key intermediate. *FEBS Lett.* **17;583(8)**: 1215-1225.

Oboh G., Akomolafe T.L., Adefegha S.A. & Adetuyi A.O. (2011). Inhibition of cyclophosphamide induced oxidative stress in brain by polar and non-polar extracts of Annatto (*Bixa orellana*) seeds. *Exp Toxicol Pathol.* **63(3)**: 257-262.

Oboh G., Agunloye O.M., Adefegha S.A., Akinyemi A.J. & Ademiluyi A.O. (2015). Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type-2 diabetes (*in vitro*): a comparative study. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* **26(2)**: 165-170.

Ogurtsova K., da Rocha Fernandes J.D., Huang Y., Linnenkamp U., Guariguata L., Cho N.H., Cavan D., Shaw J.E. & Makaroff L.E. (2017). IDF diabetes atlas: global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes Res Clin Pract.* **128**: 40-50.

Oh K.S., Ryu S.Y., Oh B.K., Seo H.W., Kim Y.S. & Lee B.H. (2008). Antihypertensive, vasorelaxant, and antioxidant effect of root bark of *Ulmus macrocarpa*. *Biol Pharm Bull.* **31(11)**: 2090-2096.

Ohkawa H., Ohishi N. & Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* **95(2)**: 351-358.

Ohmura H., Mokuno H., Sawano M., Hatsumi C., Mitsugi Y., Watanabe Y., Daida H. & Yamaguchi H. (2002). Lipid compositional differences of small, dense low-density lipoprotein particle influence its oxidative susceptibility: possible implication of increased risk of coronary artery disease in subjects with phenotype B. *Metabolism.* **51(9)**: 1081-1087.

Ojha S., Alkaabi J., Amir N., Sheikh A., Agil A., Fahim M.A. & Adem A. (2014). *Withania coagulans* fruit extract reduces oxidative stress and inflammation in kidneys of streptozotocin-induced diabetic rats. *Oxid Med Cell Longev.* **2014(201436)**: 1-9.

Ontawongab A., Duangjaib A., Muanprasat C., Pasachana T., Pongchaidechaa A., Amornlerdpisond D. & Srimareong C. (2019). Lipid-lowering effects of *Coffea arabica* pulp aqueous extract in Caco-2 cells and hypercholesterolemic rats. *Phytomedicine*. **52**: 187-197.

Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2000). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. **WOH/TRM/2000, 1;annexe II;pp**: 31-35.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2010). WHO library cataloguing in publications data, world health statistics. **pp**: 2.

Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2016). Hearts: technical package for cardiovascular disease management in primary health care. **pp**: 11-12.

Osanai T., Fujiwara N., Sasaki S., Metoki N., Saitoh G., Tomita H., Nishimura T., Shibutani S., Yokoyama H., Konta Y., Magota K. & Okumura K. (2010). Novel pro-atherogenic molecule coupling factor 6 is elevated in patients with stroke: a possible linkage to homocysteine. *Ann Med*. **42(1)**: 79-86.

Oshaghi E.A., Khodadadi I., Tavilani H. & Goodarzi M.T. (2016). Aqueous extract of *Anethum Graveolens* L. has potential antioxidant and antiglycation effects. *Iran J Med Sci*. **41(4)**: 328-333.

Ossoli A., Pavanello C. & Calabresi L. (2016). High-density lipoprotein, lecithin: cholesterol acyltransferase, and atherosclerosis. *Endocrinol Metab*. **31(2)**: 223-229.

Ota T. (2013). Chemokine systems link obesity to insulin resistance. *Diabetes Metab J*. **37(3)**: 165-172.

Ott C., Jacobs K., Haucke E., Navarrete-Santos A., Grune T. & Simm A. (2014). Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biol*. **9;2**: 411-429.

Otunola G.A., Oloyede O.B., Oladiji A.T. & Afolayan A.J. (2014). Selected spices and their combination modulate hypercholesterolemia-induced oxidative stress in experimental rats. *Biol Res*. **47(1)**: 5.

Packard C.J. (1996). Plasma lipid and lipoprotein metabolism in the 1990s. Lipids : current perspectives. D.J. Betteridge (Ed.) by Martin Dunitz (London). **pp**: 114.

Pal P.B., Sinha K. & Sil P.C. (2014). Mangiferin attenuates diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress mediated signaling cascade, TNF α related and mitochondrial dependent apoptotic pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. *PLoSOne*. **18;9(9)**: e107220.

Panchal S.K., Ward L. & Brown L. (2013). Ellagic acid attenuates high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *Eur J Nutr*. **52(2)**: 559-568.

Pandurangan M. & Kim D.H. (2016). Therapeutic potential of *cyanobacteria* against streptozotocin-induced diabetic rats. *3 Biotech*. **6(1)**: 94.

- Parasuraman S. (2011).** Toxicological screening. *J Pharmacol Pharmacother.* **2(2)**: 74–79.
- Parle M. & Khanna D. (2011).** Procholinergic, hypocholesterolemic and memory improving effects of clove. *International research journal of pharmacy.* **2(4)**: 119-126.
- Parthasarathy S., Litvinov D., Selvarajan K. & Garelnabi M. (2008).** Lipid peroxidation and decomposition conflicting roles in plaque vulnerability and stability. *Biochim Biophys Acta.* **1781(5)**: 221-231.
- Paschalis V., Theodorou A.A., Kyparos A., Dipla K., Zafeiridis A., Panayiotou G., Vrabas I.S. & Nikolaidis M.G. (2016).** Low vitamin C values are linked with decreased physical performance and increased oxidative stress: reversal by vitamin C supplementation. *Eur J Nutr.* **55(1)**: 45-53.
- Patterson C.C., Gyurus E., Rosenbauer J., Cinek O., Neu A., Schober E., Parslow R.C., Joner G., Svensson J. & Castell C. (2012).** Trends in childhood type 1 diabetes incidence in Europe during 1989-2008: evidence of non-uniformity over time in rates of increase. *Diabetologia.* **55(8)**: 2142-2147.
- Paul J.L. & Baudin B. (2009).** Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs précoces. *Rev Franc des lab.* **39(409)**: 145-150.
- Pekiner B., Ulusu N.N., Das-Evcimen N., Sahilli M., Aktan F., Stefek M., Stolc S. & Karasu Ç. (2002).** The ADIC study group. *In vivo* treatment with stobadine prevents lipid peroxidation, protein Glycation and calcium overload but does not ameliorate Ca^{2+} -ATPase activity in heart and liver of streptozotocin-diabetic rats: comparison with vitamin E. *Biochem Biophys Acta.* **9;1588(1)**: 71-78.
- Penumathsa S.V., Thirunavukkarasu M., Koneru S., Juhasz B., Zhan L., Pant R., Menon V.P., Otani H. & Maulik N. (2007).** Statin and resveratrol in combination induces cardioprotection against myocardial infarction in hypercholesterolemic rat. *J Mol Cell Cardiol.* **42(3)**: 508-516.
- Pinent M., Blay M., Bladé M.C., Salvadó M.J., Arola L. & Ardévol A. (2004).** Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology.* **145(11)**: 4985-4990.
- Podrez E.A. (2010).** Anti-oxidant properties of high density lipoprotein and atherosclerosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **37(7)**: 719-725.
- Poli G., Schaur R.J., Siems W.G. & Leonarduzzi G. (2008).** 4-hydroxynonenal: A membrane lipid oxidation product of medicinal interest. *Med Res Rev.* **28(4)**: 569-631.
- Popovici C., Saykova I. & Tylkowski B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel.* **4**: 25-39.

Poudyal H., Panchal S.K., Diwan V. & Brown L. (2011). Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: Effects and emerging mechanisms of action. *Prog Lipid Res.* **50(4)**: 372-387.

Prasad R.C., Herzog B., Boone B., Sims L. & Waltner-Law M. (2005). An extract of *Syzygium aromaticum* represses genes encoding hepatic gluconeogenic enzymes. *J Ethnopharmacol.* **4;96(1-2)**: 295-301.

Prasad R.B. & Groop L. (2015). Genetics of type 2 diabetes-pitfalls and possibilities. *Genes (Basel).* **6(1)**: 87-123.

Preet A., Gupta B.L., Yadava P.K. & Baquer N.Z. (2005). Efficacy of lower doses of vanadium in restoring altered glucose metabolism and antioxidant status in diabetic rat lenses. *J Biosci.* **30(2)**: 221-230.

Prohp T.P. & Onoagbe I.O. (2014). Plasma electrolyte concentrations in normal and streptozotocin-induced diabetic rats treated with extracts of *Triplochiton scleroxylon K. Schum.* *American Journal of Research Communication.* **2(5)**: 154-174.

Qinna N.A. & Badwan A.A. (2015). Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Drug Des Devel Ther.* **5;9**: 2515-2525.

Quintanilha A.T., Packer L., Davies J.M., Racanelly T.L. & Davies K.J. (1982). Membrane effects of vitamin E deficiency: bioenergetic and surface charge density studies of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann N Y Acad Sci.* **393**: 32-47.

Rahman N., Jeon M. & Kim Y.S. (2016). Methyl gallate, a potent antioxidant inhibits mouse and human adipocyte differentiation and oxidative stress in adipocytes through impairment of mitotic clonal expansion. *Biofactors.* **12;42(6)**: 716-726.

Rahman-Alizadeh M., Mahdavi A.H., Rahmani H.R. & Jahanian E. (2017). Clove bud (*Syzygium aromaticum*) improved blood and hepatic antioxidant indices in laying hens receiving low n-6 to n-3 ratios. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* **101(5)**: 881-892.

Rajasekaran S., Ravi K., Sivagnanam K. & Subramanian S. (2006). Beneficial effects of *Aloe vera* leaf gel extract on lipid profile status in rats with streptozotocin diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **33(3)**: 232-237.

Ramachandran V. & Saravanan R. (2013). Asiatic acid prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Functional Foods.* **5(3)**: 1077-1087.

Ramadan B.K., Schaalan M.F. & Tolba A.M. (2017). Hypoglycemic and pancreatic protective effects of *Portulaca oleracea* extract in alloxan induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med.* **17**: 37.

Ramkissoon J.S., Mahomoodally M.F., Ahmed N. & Subratty A.H. (2013). Antioxidant and anti-glycation activities correlates with phenolic composition of tropical medicinal herbs. *Asian Pac J Trop Med.* **6(7)**: 561-569.

Rani A.J. & Mythili S.V. (2014). Study on total antioxidant status in relation to oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* **8(3):** 108-110.

Rasic-Milutinovic Z., Popovic T., Perunicic-Pekovic G., Arsic A., Borozan S. & Glibetic M. (2012). Lower serum paraoxonase-1 activity is related to linoleic and docosahexanoic fatty acids in patients with type 2 diabetes. *Arch Med Res.* **43(1):** 75-82.

Raverot G. (2003). Diabète sucré de type 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. *Endocrinologie-Métabolisme.* Paris : Concours médical. **pp:** 49-96.

Reilly M.P., Praticò D., Delanty N., DiMinno G., Tremoli E., Rader D., Kapoor S., Rokach J., Lawson J. & FitzGerald G.A. (1998). Increased formation of distinct F2 isoprostanes in hypercholesterolemia. *Circulation.* **22-29;98(25):** 2822-2828.

Rena G., Hardie D.G. & Pearson E.R. (2017). The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia.* **60(9):** 1577-1585.

Reza M.E., Rashid M.A., Haque M., Pervin F. & Ali L. (2015). Serum and intracellular levels of ionized sodium, potassium, and magnesium in type 2 diabetic subjects. *Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis.* **5(2):** 69-74.

Reznick A.Z. & Packer L. (1994). Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol.* **233:** 357-363.

Ribeiro R.M., Pinheiro-Neto V.F., Ribeiro K.S., Vieira D.A., Abreu I.C., Silva Sdo N., Cartágenes-Mdo S., Freire S.M., Borges A.C. & Borges M.O. (2014). Antihypertensive effect of *Syzygium cumini* in spontaneously hypertensive rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* **2014:605452:** 1-7.

Riddle M.C. (2011). Glycemic control and cardiovascular mortality. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* **18(2):** 104-109.

Roberfroid M.B., Coxam V. & Delzenne N. (2008). Aliments fonctionnels. TEC & DOC. Lavoisier. (Ed.), **2;1042:** 211-212.

Rodier M. (2001). Le diabète de type 1. *Médecine Nucléaire-Imagerie fonctionnelle et métabolique.* **25(2):** 95-101.

Romero R., Erez O., Hüttemann M., Maymon E., Panaitescu B., Conde-Agudelo A., Pacora P., Yoon B.H. & Grossman L.I. (2017). Metformin, the aspirin of the 21st century: its role in gestational diabetes, prevention of preeclampsia and cancer, and the promotion of longevity. *Am J Obstet Gynecol.* **217(3):** 282-302.

Rosenson R.S., Brewer H.B., Ansell B.J., Barter P., Chapman M.J., Heinecke J.W., Kontush A., Tall A.R. & Webb N.R. (2016). Dysfunctional HDL and atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol.* **13(1):** 48-60.

Rotter V., Nagaev I. & Smith U. (2003). Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *J Biol Chem.* **14;278(46):** 45777-45784.

Rouessac F. & Rouessac A. (2009). Chromatographie liquide haute performance, in Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales modernes-cours et exercices corrigés. (Ed.), 7;pp: 36-59.

Roussel R., Hadjadj S. & Marre M. (2009). Rein et diabète, traité de diabétologie. Flammarion Médecine-Science. (Ed.), 2;pp: 608.

Roy M., Sen S. & Chakraborti A.S. (2008). Action of pelargonidin on hyperglycemia and oxidative damage in diabetic rats: implication for glycation-induced hemoglobin modification. *Life Sci.* **23;82(21-22)**: 1102-1110.

Royer M., Diouf P.N. & Stevanovic T. (2011). Polyphenol contents and radical scavenging capacities of red maple (*Acer rubrum L.*) extracts. *Food Chem Toxicol.* **49(9)**: 2180-2188.

Rozan P., Hidalgo S., Nejdi A., Bisson J.F., Lalonde R. & Messaoudi M. (2007). Preventive antioxidant effects of Cocoa polyphenolic extract on free radical production and cognitive performances after heat exposure in Wistar rats. *J Food Sci.* **72(3)**: S203-S206.

Ruggenti P., Cravedi P. & Remuzzi G. (2010). The RAAS in the pathogenesis and treatment of diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol.* **6(6)**: 319-330.

Saad D.Y., Soliman M.M., Baiomy A.A., Yassin M.H. & El-Sawy H.B. (2017). Effects of Karela (Bitter Melon; *Momordica charantia*) on genes of lipids and carbohydrates metabolism in experimental hypercholesterolemia: biochemical, molecular and histopathological study. *BMC Complement Altern Med.* **17**: 319.

Salvayre R., Auge N., Benoist H. & Negre-Salvayre A. (2002). Oxidized low density lipoprotein-induced apoptosis. *Biochim Biophys Acta.* **1585(2-3)**: 213-221.

Sanae F., Kamiyama O., Ikeda-Obatake K., Higashi Y., Asano N., Adachi I. & Kato A. (2014). Effects of eugenol-reduced clove extract on glycogen phosphorylase b and the development of diabetes in db/db mice. *Food Funct.* **5(2)**: 214-219.

Santangelo C., Vari R., Scazzocchio B., Di Benedetto R., Filesi C. & Masella R. (2007). Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanita.* **43(4)**: 394-405.

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. *Pharmacol Res.* **56(3)**: 261-266.

Scheen A.J., Philips J.C. & Krzesinski J.M. (2012). Hypertension et diabète : à propos d'une association commune mais complexe. *Rev Med Liège.* **67(3)**: 133-138.

Schiavon R., De Fanti E., Giavarina D., Biasioli S., Cavalcanti G. & Guidi G. (1996). Serum paraoxonase activity is decreased in uremic patients. *Clin Chim Acta.* **29;247(1-2)**: 71-80.

Selam J.L. (2003). Diabète sucré de type 1 de l'enfant et de l'adulte. *Rev Prat.* **53(9)**: 995-1005.

- Semenkovich C.F. & Heinecke J.W. (1997).** The mystery of diabetes and atherosclerosis: time for a new plot. *Diabetes*. **46(3)**: 327-334.
- Sen S., Chen S., Feng B., Wu Y., Lui E. & Chakrabarti S. (2012).** Preventive effects of North American ginseng (*Panaxquinque-folium*) on diabetic nephropathy. *Phytomedicine*. **15;19(6)**: 494-505.
- Senn J.J., Klover P.J., Nowak I.A., Zimmers T.A., Koniaris L.G., Furlanetto R.W. & Mooney R.A. (2003).** Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem*. **18;278(16)**: 13740-13746.
- Sharma B., Balomajumder C. & Roy P. (2008).** Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol*. **46(7)**: 2376-2383.
- Sharma V.M. & Puri V. (2016).** Mechanism of TNF- α -induced lipolysis in human adipocytes uncovered. *Obesity (Silver Spring)*. **24(5)**: 990.
- Shehata A. & Yousef O. (2010).** Physiological studies on the risk factors responsible for atherosclerosis in rats. *Nature and Sciences*. **8(5)**: 144-151.
- Shen Y, Ding F.H., Sun J.T., Pu L.J., Zhang R.Y., Zhang Q., Chen Q.J., Shen W.F. & Lu L. (2015).** Association of elevated apoA-I glycation and reduced HDL-associated paraoxonase1, 3 activity, and their interaction with angiographic severity of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovascular Diabetology*. **14**: 52.
- Shi C., Cui J., Yin X., Luo Y. & Zhou Z. (2014).** Grape seed and clove bud extracts as natural antioxidants in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during chilled storage: effect on lipid and protein oxidation. *Food Control*. **40**: 134-139.
- Shinde J., Taldone T., Barletta M., Kunaparaju N., Hu B., Kumar S., Placido J. & Zito S.W. (2008).** α -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) seeds in vitro and in Goto-Kakizaki (GK) rats. *Carbohydr Res*. **19;343(7)**: 1278-1281.
- Shukri R., Mohamed S. & Mustapha N.M. (2010).** Cloves protect the heart, liver and lens of diabetic rats. *Food Chem*. **122(4)**: 1116-1121.
- Shyamala M.P., Venukumar M.R. & Latha M.S. (2003).** Antioxidant potential of the *Syzygium aromaticum* (Cloves) in rats fed with high fat diet. *Indian Journal of Pharmacology*. **35(2)**: 99-103.
- Simmons R.A. (2006).** Developmental origins of diabetes: the role of oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. **15;40(6)**: 917-922.
- Simpson R.J. & Smith S.C. (2011).** Hypercholestérolémie : évaluation et traitement. *Médecine interne de Netter*. **Chap 35**: 276-283.

- Skalicky J., Muzakova V., Kandar R., Meloun M., Rousar T. & Palicka V. (2008).** Evaluation of oxidative stress and inflammation in obese adults with metabolic syndrome. *Clin Chem Lab Med.* **46(4)**: 499-505.
- Skyler J.S. (1996).** Diabetic complication, the importance of glucose control. *Endocrinol Metabol Clin N Am.* **25(2)**: 243-254.
- Sokal R.R. & Rohlf F.J. (2012).** Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. *W H Freeman New York.* **4**: 937.
- Sorensen L.P., Sondergaard E., Nellemann B., Christiansen J.S., Gormsen L.C. & Nielsen S. (2011).** Increased VLDL-triglyceride secretion precedes impaired control of endogenous glucose production in obese, normoglycemic men. *Diabetes.* **60(9)**: 2257-2264.
- Sottero B., Gamba P., Gargiulo S., Leonarduzzi G. & Poli G. (2009).** Cholesterol oxidation products and disease: an emerging topic of interest in medicinal chemistry. *Curr Med Chem.* **16(6)**: 685-705.
- Spranger J., Kroke A., Möhlig M., Hoffmann K., Bergmann M.M., Ristow M., Boeing H. & Pfeiffer A.F. (2003).** Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes.* **52(3)**: 812-817.
- Squires P.E., Hills C.E., Rogers G.J., Garland P., Farley S.R. & Morgan N.G. (2004).** The putative imidazoline receptor agonist, harmaline, promotes intracellular calcium mobilisation in pancreatic beta-cells. *Eur J Pharmacol.* **6;501(1-3)**: 31-39.
- Stamler J.S., Osborne J.A., Jaraki O., Rabbani L.E., Mullins M., Singel D. & Loscalzo J. (1993).** Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest.* **91(1)**: 308-318.
- Stein Y. & Stein O. (2003).** Lipoprotein lipase and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* **170(1)**: 1-9.
- Stephen-Irudayaraj S., Sunil C., Duraipandiyar V. & Ignacimuthu S. (2012).** Antidiabetic and antioxidant activities of *Toddalia asiatica* (L.) Lam. leaves in Streptozotocin induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **28;143(2)**: 515-523.
- Suantawee T., Wesarachanon K., Anantsuphasak K., Daenphetploy T., Thien-Ngern S., Thilavech T., Pasukamonset P., Ngamukote S. & Adisakwattana S. (2015).** Protein glycation inhibitory activity and antioxidant capacity of clove extract. *J Food Sci Technol.* **52(6)**: 3843-3850.
- Subash-Babu P., Alshatwi-Ali A. & Ignacimuthu S. (2014).** Beneficial antioxidative and antiperoxidative effect of *Cinna maldehyde* protect streptozotocin-induced pancreatic β -Cells damage in wistar rats. *Biomol Ther.* **22(1)**: 47-54.

Subramanian S., Goodspeed L., Wang S., Kim J., Zeng L., Ioannou G.N., Haigh W.G., Yeh M.M., Kowdley K.V., O'Brien K.D., Pennathur S. & Chait A.J. (2011). Dietary cholesterol exacerbates hepatic steatosis and inflammation in obese LDL receptor-deficient mice. *J Lipid Res.* **52(9)**: 1626-1635.

Suehiro T., Nakamura T., Inoue M., Shiinoki T., Ikeda Y., Kumon Y., Shindo M., Tanaka H. & Hashimoto K. (2000). A polymorphism upstream from the human paraoxonase (PON1) gene and its association with PON1 expression. *Atherosclerosis.* **150(2)**: 295-298.

Sugdan P.H. & Fuller S.J. (1991). Regulation of protein turn over in skeletal and cardiac muscle. *Biochem J.* **273**: 21-37.

Sung B., Prasad S., Yadav V.R. & Aggarwal B.B. (2012). Cancer cell signaling pathways targeted by spice-derived nutraceuticals. *Nutr Cancer.* **64(2)**: 173-197.

Suryanarayana P., Satyanarayana A., Balakrishna N., Kumar P.U. & Reddy G.B. (2007). Effect of turmeric and curcumin on oxidative stress and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat. *Med Sci Monit.* **13(12)**: BR286-BR292.

Szkudelski T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* **50(6)**: 536-546.

Szkudelski T. (2012). Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat, characteristics of the experimental model. *Exp Biol Med (Maywood).* **237(5)**: 481-490.

Taleb-Dida N., Krouf D. & Bouchenak M. (2011). *Globularia alypum* aqueous extract decreases hypertriglyceridemia and ameliorates oxidative status of the muscle, kidney, and heart in rats fed a high-fructose diet. *Nutr Res.* **31(6)**: 488-495.

Taleb-Senouci D., Ghomari H., Krouf D., Bouderbala S., Prost J., Lacaille-Dubois M.A. & Bouchenak M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine.* **16(6-7)**: 623-631.

Taleb-Senouci D., Lacaille-Dubois M.A. & Bouchenak M. (2012). *Ajuga iva* aqueous extract improves reverse cholesterol transport in streptozotocin-induced diabetic rat. *J Pharm Pharmacol.* **64(8)**: 1188-1194.

Tanko Y., Mohammed A., Okasha M.A., Umar A.H. & Magaji R.A. (2008). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of ethanol extract of *Syzygium aromaticum* flower bud in Wistar rats and mice. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* **5(2)**: 209-212.

Tarry-Adkins J.L. & Ozanne S.E. (2016). Nutrition in early life and age associated diseases. *Ageing Res Rev.* **39**: 96-105.

Taskinen M.R. & Smith U. (1998). Lipid disorders in NIDDDM: implications for treatment. *J Intern Med.* **244(5)**: 361-370.

Tenenbaum M., Bonnefond A., Froguel P. & Abderrahmani A. (2018). Physiopathologie du diabète. *Revue Francophone des Laboratoires.* **2018(502)**: 26-32.



- Therond P. (2006).** Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, ADN) par le stress oxydant. *Ann Pharm Fr.* **64(6)**: 383-389.
- Thulé P.M. (2012).** Mechanisms of current therapies for diabetes mellitus type 2. *Adv Physiol Educ.* **36(4)**: 275-283.
- Tilg H. & Moschen A.R. (2008).** Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med.* **14(3-4)**: 222-231.
- Tiwari P., Verma R., Ahirwar D., Chandy A., & Dwivedi S. (2014).** Evaluation of anxiolytic effect of *Syzygium aromaticum*: a traditional herb of India. *Asian Pac J Trop Dis.* **4(Suppl 1)**: S77-S80.
- Toda M., Kawabata J. & Kasai T. (2000).** Alpha-glucosidase inhibitors from clove (*Syzygium aromaticum*). *Biosci biotechnol biochem.* **64(2)**: 294-298.
- Tomás M., Sentí M., García-Faria F., Vila J., Torrents A., Covas M. & Marrugat J. (2000).** Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **20(9)**: 2113-2119.
- Tran-Dinh A., Diallo D., Delboso S., Varela-Perez L.M., Dang Q.B., Lapergue B., Burillo E., Michel J.B., Levoye A., Martin-Ventura J.L. & Meilhac O. (2013).** HDL and endothelial protection. *Br J Pharmacol.* **169(3)**: 493-511.
- Tu Z., Moss-Pierce T., Ford P. & Jiang T.A. (2014).** *Syzygium aromaticum* L. (clove) extract regulates energy metabolism in myocytes. *J Med Food.* **17(9)**: 1003-1010.
- Tunçdemir M., Ertürküner S.P. & Özçelik D. (2017).** Investigation of lipid peroxidation and antiapoptotic effects of zinc against liver damage in diabetic rats. *Hum Exp Toxicol.* **36(8)**: 813-822.
- Tyagi N., Moshal K.S., Ovechkin A.V., Rodriguez W., Steed M. & Henderson B. (2005).** Mitochondrial mechanism of oxidative stress and systemic hyper-tension in hyperhomocysteinemia. *J Cell Biochem.* **96(4)**: 665-671.
- Ulla A., Alam M.A., Sikder B., Sumi F.A., Rahman M.M., Habib Z.F., Mohammed M.K., Subhan N., Hossain H. & Reza H.M. (2017).** Supplementation of *Syzygium cumini* seed powder prevented obesity, glucose intolerance, hyperlipidemia and oxidative stress in high carbohydrate high fat diet induced obese rats. *BMC Complement Altern Med.* **2;17(1)**: 289.
- Vallianou I., Peroulis N., Pantazis P. & Hadzopoulou-Cladaras M. (2011).** Camphene, a plant-derived monoterpene, reduces plasma cholesterol and triglycerides in hyperlipidemic rats independently of HMG-COA reductase activity. *PLoSOne.* **6(11)**: e20516.
- Velez-Carrasco W., Merkel M., Twiss C.O. & Smith J.D. (2008).** Dietary methionine effects on plasma homocysteine and HDL metabolism in mice. *J Nutr Biochem.* **19(6)**: 362-370.

Venkadeswaran K., Thomas P.A. & Geraldine P. (2016). An experimental evaluation of the antiatherogenic potential of the plant, Piper betle, and its active constituent, eugenol, In rats fed an atherogenic diet. *Biomed Pharmacother.* **80**: 276-288.

Venkadeswaran K., Muralidharan A.R., Annadurai T., Ruban V.V., Sundararajan M., Anandhi R., Thomas P.A. & Geraldine P. (2017). Antihypercholesterolemic and antioxidative potential of an extract of the plant, *Piper betle*, and its active constituent, eugenol, in triton WR-1339-induced hypercholesterolemia in experimental rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* **2014**: 1-11.

Vergès B. (2009). Lipid modification in type 2 diabetes: the role of LDL and HDL. *Fundam Clin Pharmacol.* **23(6)**: 681-685.

Vergès B. (2013). Lipides et diabète de type 1. *Médecine des Maladies Métaboliques.* **7(5)**: 437-442.

Vijayaraj P., Muthukumar K., Sabarirajan J. & Nachiappan V. (2013). Antihyperlipidemic activity of *Cassia auriculata* flower sin triton WR1339 induced hyperlipidemic rats. *Exp Toxicol Pathol.* **65(1-2)**: 135-141.

Waltenberger B., Mocan A., Smejkal K., Heiss E.H. & Atanasov A.G. (2016). Natural products to counteract the epidemic of cardiovascular and metabolic disorders. *Molecules.* **22;21(6)**: 1-33.

Wang L., Huang Z., Huang W., Chen X., Shan P., Zhong P., Khan Z., Wang J., Fang Q., Liang G. & Wang Y. (2017). Inhibition of epidermal growth factor receptor attenuates atherosclerosis via decreasing inflammation and oxidative stress. *Sci Rep.* **4;8(45917)**: 1-14.

Wang Q., Würtz P., Auro K., Morin-Papunen L., Kangas A.J. & Soininen P. (2016). Effects of hormonal contraception on systemic metabolism: cross-sectional and longitudinal evidence. *Int J Epidemiol.* **45(5)**: 1445-1457.

Wang Y.H., Liu Y.H., He G.R., Lv Y. & Du G.H. (2015). Esculin improves dyslipidemia, inflammation and renal damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med.* **15**: 402.

Wang Y.M., Zhang B., Xue Y., Li Z.J., Wang J.F., Xue C.H. & Yanagita T. (2010). The mechanism of dietary cholesterol effects on lipids metabolism in rats. *Lipids Health Dis.* **9**: 4-9.

Wautier J.L., Zoukourian C., Chappey O., Wautier M.P., Guillausseau P.J., Cao R., Hori O., Stern D. & Schmidt A.M. (1996). Receptor-mediated endothelial cell dysfunction in diabetic vasculopathy. Soluble receptor for advanced glycation end products blocks hyperpermeability in diabetic rats. *J Clin Invest.* **1;97(1)**: 238-243.

Weekers L. & Krzesinski J.M. (2005). La néphropathie diabétique. *Rev Med Liège.* **60**: 479-486.

Whiting D.R., Guariguata L., Weil C. & Shaw J. (2011). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* **94(3)**: 311-321.

Widyawati T., Yusoff N.A., Asmawi M.Z. & Ahmad M. (2015). Antihyperglycemic effect of methanol extract of *Syzygium polyanthum* (Wight.) leaf in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrients.* **14;7(9)**: 7764-7780.

Wierzbicki A.S. & Grant P. (2016). Drugs for hypercholesterolaemia from statins to pro protein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) inhibition. *Clin Med (Lond).* **16(4)**: 353-357.

Witztum J.L. & Steinberg D. (1991). Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest.* **88(6)**: 1785-1792.

Wolff S.P. (1993). Diabetes mellitus and free radicals. Free radicals, transition metals and oxidative stress in the aetiology of diabetes mellitus and complications. *Br Med Bull.* **49(3)**: 642-652.

Xiao F.Y., Lu F.E. & Xu L.J. (2005). Effect of different parts of *Portulaca oleracea* on the levels of TNF-alpha and IL-6 in the supernatant of cultured adipose cell. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **30**: 1763-1766.

Xiao Y., Zhang Y., Lv X., Su D., Li D., Xia M., Qiu J., Ling W. & Ma J. (2011). Relationship between lipid profiles and plasma total homocysteine, cysteine and the risk of coronary artery disease in coronary angiographic subjects. *Lipids Health Dis.* **10**: 137.

Xu J., Cao K., Li Y., Zou X., Chen C., Szeto IM., Dong Z., Zhao Y., Shi Y., Wang J., Liu J. & Feng Z. (2014). Bitter melon inhibits the development of obesity-associated fatty liver in C57BL/6 mice fed a high-fat diet. *J Nutr.* **144(4)**: 475-483.

Xu L., Wang Y.R., Li P.C. & Feng B. (2016). Advanced glycation end products increase lipids accumulation in macrophages through upregulation of receptor of advanced glycation end products: increasing uptake, esterification and decreasing efflux of cholesterol. *Lipids Health Dis.* **19;15(1)**: 161.

Yang S., Chen X.Y. & Xu X.P. (2015). The relationship between lipoprotein associated phospholipase A(2), cholesteryl ester transfer protein and lipid profile and risk of atherosclerosis in women with iron deficiency anaemia. *Clin Lab.* **61(10)**: 1463-1469.

Yin J., Zhang H. & Ye J. (2008). Traditional chinese medicine in treatment of metabolic syndrome. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* **8(2)**: 99-111.

Younis N., Charlton-Menys V., Sharma R., Soran H. & Durrington P.N. (2009). Glycation of LDL in non-diabetic people: small dense LDL is preferentially glycated both *in vivo* and *in vitro*. *Atherosclerosis.* **202(1)**: 162-168.

Yu R., Yekta B., Vakili L., Gharavi N., Navab M., Marelli D. & Ardehali A. (2008). Proatherogenic high-density lipoprotein, vascular inflammation, and mimetic peptides. *Curr Atheroscler Rep.* **10(2)**: 171-176.

Yun K.U., Ryu C.U., Oh J.M., Kim C.H., Lee K.S., Lee C.H., Lee H.S., Kim B.H. & Kim S.K. (2013). Plasma homocysteine level and hepatic sulfur amino acid metabolism in mice fed a high-fat diet. *Eur J Nutr.* **52(1)**: 127-134.

Zanchet B., Gomes D.B., Corralo V.S., Diel K.A.P., Schönell A.P., Faust C. & Nicola P. (2018). Effects of hydroalcoholic extract of *Celtis iguanaea* on markers of cardiovascular diseases and glucose metabolism in cholesterol-fed rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia.* **28(1)**: 80-91.

Zennaki S., Krouf D., Taleb-Senouci D. & Bouchenak M. (2009). *Globularia alypum* L. lyophilized methanolic extract decreases hyperglycemia and improves antioxidant status in various tissues of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine.* **6(1)**: 1553-3840.

Zicha J., Dobešová Z., Vokurková M., Rauchová H., Hojná S., Kadlecová M., Behuliak M., Vaněčková I. & Kuneš J. (2012). Age-dependent salt hypertension in Dahl rats. *Physiol Res.* **61(Suppl 1)**: S35-87.

Zidan Y., Bouderbala S., Djellouli F., Lacaille-Dubois M.A. & Bouchenak M. (2014). *Portulaca oleracea* reduces triglyceridemia, cholesterolemia, and improves lecithin: cholesterol acyltransferase activity in rats fed enriched-cholesterol diet. *Phytomedicine.* **15;21(12)**: 1504-1508.

Zidan Y., Bouderbala S., Mitaine-Offer A.C., Lacaille-Dubois M.A. & Bouchenak M. (2016). *Portulaca oleracea* aqueous extract reduces oxidative stress in erythrocytes and tissues, in rats fed enriched-cholesterol diet. *J Exp Integr Med.* **(6)1**: 21-25.

Ziyadeh F.N. (2004). Mediators of diabetic renal disease: the case for TGF-Beta as the major mediator. *J Am Soc Nephrol.* **15(Suppl 1)**: S55-S57.

Tableau XXIV. Capacité antioxydante de l'extrait du clou de girofle (*Sa*) à différentes concentrations

	<i>Sa-0,2</i>	<i>Sa-0,4</i>	<i>Sa-0,6</i>	<i>Sa-0,8</i>	<i>Sa-1</i>	Trolox
Pourcentage d'inhibition (PI)	24,11±4,19	43,58±12,3	53,73±8,01	78,25±8,51*	86,10±4,53**	81,33±2,29

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de six mesures par échantillon. La comparaison des moyennes est réalisée entre les groupes *Sa-0,2*, *Sa-0,4*, *Sa-0,6*, *Sa-0,8*, *Sa-1* et **Trolox**, par le test 't'.

Les moyennes portant l'indice (*) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Sa-dose* vs **Trolox.

Tableau XXV. Croissance pondérale (g) des rats diabétiques et hypercholestérolémiques

	<i>J₀</i>	<i>J₇</i>	<i>J₁₄</i>	<i>J₂₁</i>	<i>J₂₈</i>
D	257,33±08,16	253,83±17,74 ^a	258,51±39,60	240,83±14,74 ^a	235,5±20,08 ^{a*}
D-Sa	264,16±12,98	239,66±13,36	234,33±16,77	232,83±22,16	232,83±20,99
D-MTF	259,01±11,19	247,25±16,95	246,02±19,68	248,25±06,65	272,75±13,32 ^b
HC	263,83±05,26	280,50±07,28	293,50±08,06	302,33±11,43	326,33±08,16
HC-Sa	262,16±03,97	266,16±10,88 ^b	286,16±12,59	295,66±16,09	322,02±12,13
HC-ATR	262,66±06,28	265,16±08,79 ^b	286,83±06,11	279,33±14,27	313,33±12,48
C	266,66±09,01	275,01±03,02	286,02±04,35	304,33±08,96	308,33±04,93

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^a**D** vs **C**, ^b**D-Sa** ou **D-MTF** vs **D**.

Tableau XXVI. Nourriture ingérée (g/rat/jour) chez les rats diabétiques et hypercholestérolémiques

	Nourriture ingérée
D	28,19±2,70 ^a
D-Sa	26,72±3,45 ^b
D-MTF	28,22±1,63
HC	24,33±0,91
HC-Sa	23,54±1,85
HC-ATR	23,83±1,91
C	24,86±0,16

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (a, b) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D.

Tableau XXVII. Effets de quatre semaines de traitement sur la pression artérielle systolique (mmHg)

	J ₇	J ₁₄	J ₂₁	J ₂₈
D	150±05 ^a	145±14 ^a	144±10 ^a	142±08 ^a
D-Sa	136±07	124±9 ^{b,c}	123±02 ^b	121±02 ^{b,c}
D-MTF	134±11 ^b	145±7	134±04	133±04
HC	115±08	115±03	116±15	130±06
HC-Sa	112±06	109±06	117±05	119±02
HC-ATR	111±02	112±07	107±08	109±11 ^b
C	112±06	111±03	110±06	117±07

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF.

Tableau XXVIII. Evolution de la glycémie (mM) des rats diabétiques

	D	D-Sa	D-MTF	C
Temps (Jours)				
<i>J₀</i>	22,74±0,92	22,95±0,52	22,74±1,20	5,62±0,27
<i>J₇</i>	20,60±2,56 ^a	24,18±3,38	24,53±5,17	6,21±0,20
<i>J₁₄</i>	17,81±5,62 ^a	10,88±5,16 ^b	7,11±1,59 ^b	5,97±0,40
<i>J₂₁</i>	22,73±4,38 ^a	12,35±5,78 ^b	14,52±2,69 ^b	5,84±0,63
<i>J₂₈</i>	22,01±5,73 ^a	15,14±2,82 ^b	12,66±2,02 ^b	6,16±0,34

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D.

Tableau XXIX. Test de tolérance au glucose (mM) chez les rats diabétiques

	D	D-Sa	D-MTF	C
Temps (min)				
<i>t₀</i>	20,46±3,92 ^a	14,69±3,43 ^b	8,88±1,53 ^b	6,54±0,38
<i>t₃₀</i>	25,90±5,44 ^a	18,02±1,16 ^b	9,91±1,69 ^b	8,47±0,06
<i>t₆₀</i>	26,61±2,16 ^a	09,15±1,11 ^b	7,97±2,96 ^b	4,79±0,79
<i>t₁₂₀</i>	27,57±2,86 ^a	08,97±1,21 ^b	7,01±1,50 ^b	4,97±0,13

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D.

Tableau XXX. Teneurs sériques en albumine et en protéines totales (g/l) chez les groupes de rats diabétiques et hypercholestérolémiques

	Albuminémie	Protéïnémie
D	33,43±1,23 ^a	58,88±02,73 ^a
D-Sa	34,59±3,74	58,73±05,92
D-MTF	33,45±4,98	47,84±12,64
HC	25,62±2,54	73,43±19,73 ^a
HC-Sa	26,88±6,28	59,07±18,01
HC-ATR	21,40±3,12 ^b	61,25±06,14
C	29,32±2,37	47,77±07,70

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC.

Tableau XXXI. Teneurs et composition des lipides sériques (mM)

	CT	CL	EC	TG	PL
D	2,01±0,38 ^a	1,59±0,12 ^a	0,98±0,36	0,78±0,15 ^a	1,74±0,25 ^a
D-Sa	1,56±0,24 ^b	0,90±0,15 ^b	1,06±0,52	0,44±0,08 ^b	1,31±0,28 ^b
D-MTF	1,08±0,29 ^b	0,75±0,03 ^b	0,84±0,33	0,57±0,04 ^b	1,32±0,36 ^b
HC	4,78±0,71 ^a	2,89±0,59	2,52±0,35 ^a	0,85±0,07 ^a	2,25±0,49
HC-Sa	2,39±0,50 ^b	1,35±0,46 ^b	4,43±3,28	0,54±0,06 ^b	1,09±0,16 ^b
HC-ATR	2,60±0,90 ^b	2,47±0,07	1,08±0,22	0,53±0,08 ^b	1,20±0,21
C	1,14±0,18	0,98±0,19	0,28±0,25	0,44±0,01	1,13±0,14

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (**a**, **b**) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC.

Tableau XXXII. Teneurs et composition en lipides (mM) et en apolipoprotéines (g/l) des VLDL

	Masse (g/l)	Apos	CL	EC	TG	PL
D	1,94±0,02	0,03±0,02 ^a	0,41±0,01	0,03±0,04	0,27±0,01 ^a	0,20±0,02
D-Sa	0,53±0,07 ^b	0,05±0,02	0,08±0,01 ^{b,c}	0,32±0,02 ^{b,c}	0,09±0,01 ^b	0,19±0,02
D-MTF	0,68±0,05 ^b	0,08±0,01	0,10±0,01 ^b	0,13±0,03 ^b	0,14±0,03 ^b	0,18±0,02 ^b
HC	3,67±0,27 ^a	0,21±0,03	0,78±0,05 ^a	0,32±0,04	0,41±0,12	0,43±0,01
HC-Sa	1,77±0,17 ^{b,c}	0,15±0,01	0,32±0,05 ^b	0,28±0,01	0,18±0,02	0,42±0,01
HC-ATR	2,23±0,16 ^b	0,15±0,01	0,45±0,02 ^b	0,33±0,02	0,16±0,03	0,45±0,02
C	1,23±0,13	0,26±0,01	0,19±0,01	0,24±0,11	0,15±0,02	0,25±0,05

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

Tableau XXXIII. Teneurs et composition en lipides (mM) et en apolipoprotéines (g/l) des LDL-HDL₁

	Masse (g/l)	Apos	CL	EC	TG	PL
D	1,81±0,10	0,08±0,01 ^a	0,35±0,02	0,65±0,21	0,22±0,03	0,51±0,02
D-Sa	0,77±0,09	0,10±0,02	0,14±0,01 ^b	0,50±0,15	0,08±0,01	0,26±0,01 ^b
D-MTF	0,84±0,19 ^b	0,12±0,01 ^b	0,15±0,03 ^b	0,39±0,14	0,11±0,04 ^b	0,19±0,03 ^b
HC	3,98±0,05 ^a	0,18±0,01	1,00±0,05 ^a	2,78±0,12 ^a	0,32±0,02 ^a	0,64±0,09 ^a
HC-Sa	2,32±0,09 ^{b,c}	0,62±0,05	0,41±0,01 ^{b,c}	1,54±0,05 ^{b,c}	0,13±0,02 ^b	0,57±0,01
HC-ATR	3,80±0,11	0,24±0,04	0,85±0,02	0,88±0,05 ^b	0,08±0,01 ^b	0,75±0,05
C	1,36±0,12	0,26±0,02	0,23±0,04	0,28±0,02	0,05±0,01	0,33±0,05

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

Tableau XXXIV. Teneurs et composition en lipides (mM) et en apolipoprotéines (g/l) des HDL₂

	Masse (g/l)	Apos	CL	EC	TG	PL
D	1,89±0,01 ^a	0,18±0,04	0,38±0,01	0,09±0,05	0,10±0,02	0,33±0,02 ^a
D-Sa	1,49±0,20	0,21±0,09	0,24±0,01 ^c	0,96±0,03 ^b	0,08±0,02 ^b	0,70±0,01 ^b
D-MTF	1,71±0,07	0,16±0,01	0,28±0,01	0,65±0,04 ^b	0,18±0,03	0,66±0,12
HC	0,63±0,19	0,02±0,01 ^a	0,10±0,05	0,17±0,09	0,07±0,05	0,24±0,02 ^a
HC-Sa	1,24±0,14	0,11±0,01 ^c	0,26±0,03 ^c	0,24±0,11	0,20±0,03	0,08±0,01
HC-ATR	0,96±0,08	0,36±0,01 ^b	0,12±0,02	0,28±0,06	0,18±0,03	0,06±0,01 ^b
C	0,98±0,05	0,08±0,01	0,18±0,01	0,10±0,13	0,17±0,02	0,13±0,03

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes (p<0,05).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

Tableau XXXV. Teneurs et composition en lipides (mM) et en apolipoprotéines (g/l) des HDL₃

	Masse (g/l)	Apos	CL	EC	TG	PL
D	2,22±0,06 ^a	0,13±0,03 ^a	0,25±0,01 ^a	0,24±0,06	0,13±0,01	0,79±0,01 ^a
D-Sa	1,10±0,05 ^b	0,18±0,01	0,17±0,01 ^{bc}	0,16±0,02	0,10±0,04	0,32±0,03 ^b
D-MTF	0,99±0,01 ^b	0,14±0,01	0,14±0,01 ^b	0,18±0,06 ^b	0,16±0,05	0,31±0,06
HC	1,91±0,22	0,15±0,01	0,29±0,02 ^a	0,41±0,16	0,06±0,01	0,95±0,11
HC-Sa	1,74±0,17 ^c	0,14±0,01	0,30±0,04	0,48±0,01	0,12±0,01	0,66±0,01 ^b
HC-ATR	2,31±0,08	0,21±0,03	0,48±0,01	0,35±0,13	0,09±0,01	0,44±0,02
C	1,19±0,06	0,20±0,03	0,14±0,01	0,12±0,02	0,11±0,01	0,41±0,03

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes (p<0,05).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

Tableau XXXVI. Teneurs en protéines tissulaires chez les différents groupes expérimentaux (mg/g tissu)

	Rein	Pancréas
D	251,48±63,27	056,33±20,74
D-Sa	270,36±62,86 ^c	227,87±20,06 ^{b,c}
D-MTF	404,55±48,96 ^b	183,39±24,71 ^b
C	248,65±08,25	030,84±07,73
	Foie	Tissu adipeux
HC	169,36±09,12 ^a	69,84±08,71
HC-Sa	257,24±17,74 ^{b,c}	99,51±09,45 ^{b,c}
HC-ATR	304,93±10,69 ^b	72,85±09,38
C	270,38±19,27	90,87±10,79

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

Tableau XXXVII. Teneurs des TBARS tissulaires (nmol/g tissu)

	Rein	Pancréas
D	46,60±3,77 ^a	47,69±3,70 ^a
D-Sa	47,28±5,36 ^c	42,05±5,63
D-MTF	39,40±7,37	39,26±8,28
C	23,70±2,56	18,54±3,30
	Foie	Tissu adipeux
HC	39,94±6,49 ^a	74,38±3,64 ^a
HC-Sa	28,46±3,11 ^b	68,41±5,55 ^c
HC-ATR	22,55±3,97 ^b	54,89±8,28 ^b
C	11,61±2,01	38,17±8,01

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Tableau XXXVIII. Concentrations tissulaires en hydroperoxydes (nmol/g tissu)

	Rein	Pancréas
D	196,48±11,64 ^a	157,43±14,39 ^a
D-Sa	061,63±08,21 ^{b,c}	128,58±13,77 ^b
D-MTF	091,43±10,08 ^b	107,77±04,82 ^b
C	092,29±07,19	026,41±04,59
	Foie	Tissu adipeux
HC	072,09±10,30 ^a	053,98±10,67 ^a
HC-Sa	038,58±02,00 ^{b,c}	029,45±03,38 ^b
HC-ATR	033,31±02,63 ^b	028,31±04,26 ^b
C	025,13±01,39	025,81±01,74

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF, ^cHC-Sa vs HC-ATR.

Tableau XXXIX. Activité de la paraoxonase 1 au niveau sérique (U/ml) chez les rats diabétiques et hypercholestérolémiques

	Paraoxonase
D	10,43±0,62 ^a
D-Sa	12,27±0,97 ^b
D-MTF	11,62±0,70 ^b
HC	07,36±0,62 ^a
HC-Sa	11,50±0,97 ^b
HC-ATR	10,85±0,70 ^b
C	13,15±0,70

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (a, b) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Tableau XL. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires

	<i>SOD</i> ¹	<i>CAT</i> ²	<i>GSH-Px</i> ³	<i>GSSH-Red</i> ⁴	<i>SOD</i> ¹	<i>CAT</i> ²	<i>GSH-Px</i> ³	<i>GSSH-Red</i> ⁴
	Rein				Pancréas			
D	37,39±2,88 ^a	27,90±15,17	23,39±0,51 ^a	20,52±1,99 ^a	39,61±4,93	114,45±06,68	28,20±01,70 ^a	32,15±0,45 ^a
D-Sa	29,37±5,07 ^b	42,13±02,50	06,79±3,08 ^b	54,85±3,39 ^b	39,35±2,41	127,27±06,55	23,31±01,64	30,13±1,15 ^c
D-MTF	24,34±0,43 ^b	44,40±02,37	08,25±2,22 ^b	53,27±7,64 ^b	41,34±3,81	108,40±41,46	26,10±02,18	11,84±1,35 ^b
C	12,93±4,97	37,04±07,90	04,80±0,77	41,20±6,76	32,13±3,34	105,72±37,92	35,59±16,76	40,23±5,90
	Foie				Tissu adipeux			
HC	20,03±1,63 ^a	69,36±04,81 ^a	24,64±3,69	22,62±4,53	31,20±3,28	138,15±07,02 ^a	21,69±03,25 ^a	08,77±0,73 ^a
HC-Sa	33,42±2,42 ^b	88,18±14,02	25,77±6,09	30,90±9,81	32,60±2,03	143,90±23,66	24,92±00,50	13,98±0,68 ^b
HC-ATR	34,67±2,56 ^b	85,06±14,68	31,67±0,77	37,64±5,83	37,23±5,36	132,90±12,85	25,85±01,75	14,51±1,67 ^b
C	26,69±1,30	21,81±06,93	25,09±1,47	34,90±9,30	37,13±2,48	166,79±11,95	26,42±01,16	17,21±1,90

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de huit rats par groupe. La classification des moyennes est effectuée par le test de rang multiple de Duncan.

Les moyennes portant les lettres (a, b, c) sont significativement différentes ($p < 0,05$).

^aD ou HC vs C, ^bD-Sa ou D-MTF vs D, ^bHC-Sa ou HC-ATR vs HC, ^cD-Sa vs D-MTF.

¹(U/g tissu), ²(mmol/min/g tissu), ³(nmol/min/g tissu), ⁴(nmol/min/g tissu).

Résumé

L'objectif de cette étude est d'explorer l'impact d'un extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) comparé aux agents antidiabétiques et hypolipémiants (metformine ou atorvastatine) sur la pression artérielle, l'équilibre glycémique, le profil lipidique et lipoprotéique, et les statuts redox et inflammatoires, dans deux modèles expérimentaux (diabète et hypercholestérolémie) induits chez le rat mâle Wistar. Le diabète est induit par une injection intrapéritonéale d'une dose unique de streptozotocine (STZ) à raison de 55 mg/kg poids corporel (PC), tandis que l'hypercholestérolémie est provoquée pendant 15 jours par un régime contenant 20% de caséine et enrichi en cholestérol (régime **Cas-Ch** : 1% de cholestérol alimentaire + 0,5% d'acide cholique). Les rats répondeurs (diabétiques et hypercholestérolémiques) consommant respectivement les régimes (**Cas** et **Cas-Ch**), pendant 28 jours, sont répartis en 6 groupes (n = 8) et reçoivent quotidiennement à l'aide d'une sonde de gavage, de l'eau (**groupes D** et **HC**), de l'extrait aqueux lyophilisé de *Syzygium aromaticum* (**groupes D-Sa** et **HC-Sa**) à raison de 2g/kg PC, de la metformine (**groupe D-MTF**) à raison de 350 mg/kg PC et de l'atorvastatine (**groupe HC-ATR**) à raison de 4 mg/kg PC. Un groupe de rats (n = 8) consomme un régime contenant 20% de caséine (**Cas**) durant toute l'expérimentation et sert de contrôle (**groupe C**). Les données révèlent que l'injection de la STZ favorise le développement de l'hypertension artérielle et la détérioration de la tolérance au glucose. En outre, une inhibition de l'insulinosécrétion, une hyperglycémie à jeun, une augmentation de l'HbA_{1c}, urée, créatinine et du débit de filtration glomérulaire (DFG) est notée chez le groupe D vs C. Il a été constaté par ailleurs, une réduction du K⁺ et une augmentation du Na⁺ sérique dans le même groupe. Chez les groupes diabétiques, l'administration de l'extrait aqueux de clou de girofle agit de façon semblable à la metformine, en assurant un meilleur équilibre glycémique par une hypersécrétion d'insuline, une réduction du glucose sérique et de la Hb_{1c}. De même, le clou de girofle altère la tolérance au glucose après 60min, de manière comparable avec le groupe **D-MTF**. En outre, l'administration de l'extrait aqueux de clou de girofle chez le groupe diabétique favorise la rétention du K⁺ (+84%), réduit l'excrétion du Na⁺ (-18%) et de la créatinine (-26%) et empêche le développement de l'hypertension artérielle. De plus, le traitement par le clou de girofle comparé à la metformine est plus efficace dans la modulation du fonctionnement rénal puisque le taux de DFG est 1,7-fois plus faible. L'hyperglycémie induite par la STZ et l'addition du cholestérol alimentaire au régime, augmentent les taux circulants en triglycérides (TG), cholestérol total (CT) et phospholipides (PL). Ainsi, l'analyse du profil lipoprotéique montre à l'évidence une augmentation de la masse des VLDL et des TG des VLDL, et de C-LDL-HDL₁, chez les groupes D et HC vs C. En outre, une augmentation de la formation des HDL₂ qui contiennent moins de CT et une élévation des TG et PL des HDL₃ sont observées chez les groupes non traités. L'exposition à l'extrait aqueux de clou de girofle prévient l'apparition de la dyslipidémie par réduction des teneurs sériques en TG (-43 et -36%), PL (-25 et -51%) et en cholestérol libre (CL) (-43 et -53%), chez les groupes D-Sa et HC-Sa vs D et HC, respectivement. De même, cet extrait par sa richesse en composés phénoliques (eugénol, quercétine, acide gallique et rutine) augmente plus efficacement la capacité du foie à excréter l'excès lipidique, atténuant ainsi la stéatose hépatique induite par le régime enrichi en cholestérol, par réduction des concentrations en CL (-26%), en PL et en ester de cholestérol (EC) (-29%), comparées au groupe HC. De plus, une diminution de la masse des VLDL est notée (3,6- et 2,8-fois) chez les groupes D-Sa et D-MTF vs D et (2- et 1,6-fois) chez les groupes HC-Sa et HC-ATR vs HC. Par ailleurs, une réduction des contenus des VLDL en TG (2,8- et 2-fois) est trouvée chez les groupes D-Sa et D-MTF vs D, alors, qu'aucune différence significative n'est constatée chez les groupes HC-Sa et HC-ATR. Une réduction significative du C-VLDL et C-LDL-HDL₁ est aussi notée chez les groupes D-Sa et HC-Sa (p<0,05). Chez les groupes D-MTF et HC-ATR comparés respectivement aux groupes D et HC, l'activité de la lécithine:cholestérol acyl-transférase (LCAT) est élevée (+10 et +34%) tandis qu'elle a tendance à être plus élevée, mais pas significativement chez les groupes traités par le clou de girofle. Cette élévation est accompagnée d'une augmentation des taux circulants d'apo-AI (cofacteur activateur de la LCAT) de 21, 46 et 42%, chez les groupes D-Sa, HC-Sa et HC-ATR, respectivement. De même, une augmentation des EC-HDL₂ (+90 et +85%), produits de la réaction enzymatique de la LCAT et une diminution du CL-HDL₃, accepteur du groupement acyl (-33 et -45%) est constatée seulement chez les groupes D-Sa et D-MTF, respectivement. Toutefois, les teneurs des PL-HDL₃, substrats de la LCAT sont réduites chez les groupes D-Sa (-59%) et HC-Sa (-31%) comparées à celles des groupes non traités. Parallèlement, l'injection de la STZ et l'ingestion du régime enrichi en cholestérol induisent un stress oxydant caractérisé par des taux élevés en TBARS, hydroperoxydes, carbonyles et en isoprostanes, associés à une réduction de la défense antioxydante enzymatique. Les rats traités par clou de girofle présentent des taux significativement plus faibles en TBARS des lipoprotéines et des tissus (p<0,05). De plus, les teneurs sériques en isoprostanes sont 1,7- et 2,7-fois plus faibles, respectivement chez HC-Sa et HC-ATR. De même, l'extrait aqueux de clou de girofle réduit aussi de manière significative les teneurs en hydroperoxydes et en carbonyles des différents tissus (p<0,05). Chez les groupes D-Sa et D-MTF, une réduction des activités de SOD (-21 et -35%), de GSH-Px (-71 et -65%) et une augmentation de GSSH-Red (+63 et +61%) est notée au niveau des reins. Au niveau du pancréas, une importante activité GSSH-Red (2,5-fois) est constatée chez les groupes D-Sa vs D-MTF. De plus, au niveau du foie, une augmentation de l'activité de la SOD (+41%) est notée chez les groupes HC-Sa et HC-ATR. Au niveau du tissu adipeux, seulement l'activité de la GSSH-Red est 1,6-fois plus importante chez les groupes HC-Sa et HC-ATR. L'extrait aqueux de clou de girofle stimule aussi de façon similaire que la MTF et l'ATR, l'activité de la paraoxonase 1 sérique protégeant ainsi les LDL de l'oxydation. Les résultats de cette étude montrent également une réduction des marqueurs de l'inflammation chez le groupe HC-Sa (TNF-α -37% et IL-6 -35%) et chez le groupe D-Sa (IL-6 -31%).

En conclusion, l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (Syzygium aromaticum) riche en composés phénoliques, pourrait avoir une action bénéfique dans la correction des troubles métaboliques associées au diabète et l'hypercholestérolémie, en corrigeant le déséquilibre glucido-lipidique, en atténuant l'attaque radicalaire et en neutralisant le processus inflammatoire. Cependant, l'extrait aqueux de clou de girofle s'avère plus efficace que la metformine et l'atorvastatine en raison de son puissant effet anti-inflammatoire. Ceci laisse supposer que clou de girofle peut être utilisé comme complément alimentaire en vue de la prévention des complications induites par le diabète et l'hypercholestérolémie.

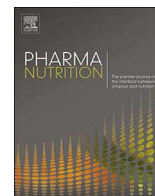
Mots clés : Diabète – Hypercholestérolémie – Rat – Streptozotocine – Cholestérol – *Syzygium aromaticum* – Équilibre glycémique – Dyslipidémie – Stress oxydatif – Inflammation.

Abstract

The objective of this study was to explore the impact of the lyophilized aqueous extract of clove (*Syzygium aromaticum*) compared to oral antidiabetic and lipid-lowering agents (metformin or atorvastatin) on blood pressure, glycemic control, lipid and lipoprotein profiles, redox and inflammatory status in two experimental models (diabetes and hypercholesterolemia) induced in male Wistar rats. Diabetes was induced intraperitoneally by a single injection of streptozotocin (STZ) at a dose of 55 mg/kg body weight (bw), while, hypercholesterolemia was induced by cholesterol-enriched diet (**Cas-Ch** : diet containing 20% casein supplemented with 1% of cholesterol and 0.5% cholic acid), for 15 days. Responder rats (diabetic and hypercholesterolemic) consuming respectively the diets (**Cas** and **Cas-Ch**), for 28 days, were divided into 6 groups (n = 8) and received daily oral gavage, water (**groups D** and **HC**), lyophilized aqueous extract of *Syzygium aromaticum* (**groups D-Sa** and **HC-Sa**) at 2 g/kg bw, metformin (**group D-MTF**) at 350 mg/kg bw and atorvastatin (**group HC-ATR**) at 4 mg/kg bw. A normal group (n = 8) was fed a diet containing 20% casein (**Cas**) throughout the experiment and used as a control (**group C**). The data revealed that injection of STZ leads to the development of hypertension and glucose tolerance impairment. Moreover, the decreased in insulin secretion, high fasting blood glucose, an increase in serum HbA_{1c}, urea, creatinine and high glomerular filtration rate (GFR) was noticed in D group vs C. A decrease in serum K⁺ and increase in Na⁺ was also observed. Administration of aqueous extract of clove in diabetic groups, acts in a similar way to the metformin in ensuring a better glycemic control by increasing insulin and decreasing serum glucose and HbA_{1c} levels. However, both clove and metformin altered glucose tolerance after 60min. In addition, administration of the aqueous extract of clove in the diabetic group promoted the retention of K⁺ (+ 84%), reduced the excretion of Na⁺ (-18%) and creatinine (-26%) and prevented the high blood pressure. Interestingly, treatment with clove compared to the metformin was more effective in modulating renal function since the GFR rate was 1.7-fold lower. Hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes and the addition of cholesterol to diet increases circulating triglycerides (TG), total cholesterol (TC) and phospholipids (PL) levels. Furthermore, lipoprotein profile analysis clearly showed an increase in VLDL mass and its TG contents and LDL-HDL₁-C in D and HC groups vs C. Moreover, increased HDL₂ formation which contained less TC and elevated TG and PL in HDL₃ were observed in untreated groups. Exposition to aqueous extract of clove prevented the dyslipidemia by decreasing serum TG (-43 and -36%), PL (-25 and -51%) and unesterified cholesterol (UC) (-43 and -53%) in D-Sa and HC-Sa groups vs D and HC, respectively. Moreover, this extract by its high phenolic (eugenol, quercetin, gallic acid, and rutin) contents increased more effectively liver ability to excrete excess lipid, which attenuated hepatic steatosis induced by the cholesterol-enriched diet, by reducing the concentration of UC (-26%), PL and cholesteryl ester (CE) (-29%) compared to HC group. A decrease in VLDL mass was also noted (3.6- and 2.8-fold) in D-Sa and D-MTF groups vs D and (2- and 1.6-fold) in HC-Sa and HC-ATR groups vs HC. In addition, reduced values of TG in VLDL (2.8- and 2-fold) were founded in D-Sa and D-MTF groups vs D, whereas no significant difference was noted in HC-Sa and HC-ATR groups. A significant decrease in VLDL-C and LDL-HDL₁-C was also noted in D-Sa and HC-Sa groups ($p < 0.05$). In D-MTF and HC-ATR groups compared with D and HC groups, respectively, lecithin:cholesterol acyl-transferase (LCAT) activity was higher (+10 and +34%), but in Sa-treated groups this activity tended to be higher, but not significantly. This rise was accompanied by an increase in circulating levels of apo-AI (cofactor activator of LCAT) by 21, 46 and 42%, in D-Sa, HC-Sa and HC-ATR groups, respectively. Furthermore, an increase in HDL₂-CE (+90 and +85%), the enzymatic reaction products, and a decrease in HDL₃-UC, the acyl acceptor group (-33 and -45%) was founded only in D-Sa and D-MTF groups, respectively. However, the contents of HDL₃-PL, the substrate of LCAT were reduced in D-Sa group by -59% and by -31% in HC-Sa compared to untreated groups. In parallel, injection of STZ and cholesterol-enriched diet induced oxidative stress characterized by elevated TBARS, hydroperoxydes, carbonyls and isoprostanes levels, associated with impaired enzymatic antioxidant defense. The clove treated rats displayed significant lower lipoproteins and tissues TBARS ($p < 0.05$). Moreover, serum isoprostanes values were 1.7- and 2.7-fold lower in HC-Sa and HC-ATR groups, respectively. Similarly, the aqueous extract of clove also significantly reduced hydroperoxydes and carbonyls values in all tissues ($p < 0.05$). In the kidney of D-Sa and D-MTF groups, SOD activity decreased by -21 and -35%, GSH-Px by -71 and -65% and GSSH-Red increased by +63 and +61%, respectively. Moreover, in D-Sa compared with D-MTF GSSH-Red activity was 2.5-fold higher in pancreas. Furthermore, in HC-Sa and HC-ATR groups, SOD activity was increased by +41% in liver. In adipose tissue, only GSSH-Red activity was 1.6-fold higher in HC-Sa and HC-ATR groups. The aqueous extract of clove stimulate serum paraoxonase 1 activity similarly to that of MTF and ATR, thus protecting LDL from oxidation. The results of the present study showed also a reduction in inflammation markers, in HC-Sa group (TNF- α -37% and IL-6 -35%) and in D-Sa (IL-6 -31%).

In conclusion, the lyophilized aqueous extract of clove (Syzygium aromaticum) with high phenolic compounds could have beneficial action in the correction of metabolic disorders associated to diabetes and hypercholesterolemia, correcting metabolic imbalance, attenuating the radical attacks and neutralizing inflammatory processes. However, aqueous extract of clove is more effective than metformin and atorvastatin because of its powerful anti-inflammatory affect. This suggests that clove might be able to be used as food antioxidants in prevention of diabetes and hypercholesterolemia complications.

Key words: Diabetes – Hypercholesterolemia – Rat – Streptozotocin – Cholesterol – *Syzygium aromaticum* – glycemic control – Dyslipidemia – Oxidative stress – Inflammation.



Comparative study of antihypertensive and antioxidant effects of clove and metformin on renal dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats

Guenzet Akila, Krouf Djamil*, Dida Nawal, Berzou Saadia

Laboratory of Clinical and Metabolic Nutrition, Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, University of Oran 1 Ahmed Benbella, BP 1524 EL M'Naouer, 31000, Oran, Algeria

ARTICLE INFO

Chemical compounds studied in this article:
 Streptozotocin (PubChem CID: 29327)
 2,4-Dinitrophenylhydrazine (PubChem CID: 3772977)
 Digitonin (PubChem CID: 6474107)
 Streptomycin sulfate (PubChem CID: 19648)
 5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoic acid (PubChem CID: 6254)
 Titanium (IV) oxysulfate-sulfuric acid (PubChem CID: 10866624)

Keywords:
 Diabetic rats
 Clove
 Metformin
 Redox status
 Kidney
 Arterial pressure

ABSTRACT

The effect of exposure to diabetes on the kidney appears to be modulated by elevated level of oxidative stress and increased blood pressure. We used streptozotocin-induced diabetes in rats to further explore the importance of renal dysfunction associated with oxidative status and hypertension and the modulatory anti-hyperglycemic effects of clove in comparison with metformin against kidney injury. Diabetes was induced intraperitoneally by a single injection of streptozotocin (55 mg/kg bw). One untreated diabetic group (D) consumed 20% casein and drinks only water, whereas the two other groups consumed the same diet and received either *Syzygium aromaticum* extract dissolved in water (D-Sa) by gavage or a glucophage MTF dissolved in water (D-MTF), for 4 weeks. The injection of streptozotocin in rats leads to increases blood pressure, alteration in the redox state of the kidney and electrolytic imbalance. However, administration of clove or metformin reduces blood pressure, serum sodium and increases potassium level. Histology analysis revealed several glomerular and tubule-interstitial alterations were effectively reduced by treatment with both clove and metformin. The renoprotective effect induced by these drugs was due to modulation of oxidative status. The present study, thereby demonstrates the hypotensive and renoprotective effects of clove.

1. Introduction

Diabetes mellitus is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia resulting from either an absolute or relative deficiency of insulin secretion or action [1]. One of the most important complications of this metabolic disease is the diabetic nephropathy, which contributes to high blood pressure [2]. Several previous investigations have confirmed the role of oxidative stress in developmental diabetic nephropathy [3], possibly by oxygen free radical formation [4], in which oxidative stress cause increased accumulation of advanced glycosylated end products in the kidney of diabetic patients [5]. Experimental studies have consistently reported that hyperglycemia can affect renal function by increasing renin angiotensin system activity [6], causing more reabsorption of sodium [7]. However, these alterations of electrolytes may play a vital role in diabetic nephropathy leading to hypertension [8]. Most of the studies reveal the inference of oxidative stress in diabetes pathogenesis by augmenting arachidonic acid

oxidation and formation of vasoconstrictive prostaglandins [9]. 8-Iso-prostaglandin a major F2-isoprostane is not only an indicator of oxidative stress but also a potent renal vasoconstrictor [10]. Therefore, a broad derangement in nonenzymatic biochemistry involving both lipids and carbohydrates exists in diabetic glomerular lesions [11]. Protein oxidation may, therefore, represent an important factor in the development of symptoms in diabetic patients [12]. In the other hand, hyperglycemia overwhelms the enzymatic systems defense include [superoxide dismutase (SOD), an enzyme that inactivates superoxide radicals, and catalase (CAT), an enzyme responsible for the removal of H₂O₂] and impaired glutathione metabolism [13]. Thus, besides controlling weight and hyperglycemia, reduction of blood pressure and oxidative stress is an efficient way of slowing the progression of nephropathy disorders in clinical treatment of diabetes [14]. A popular oral drug for treating diabetes, metformin is a member of a class of drugs called biguanides that helps lower blood glucose levels by improving the way the body handles insulin [15]. Furthermore, it has

Abbreviations: Sa, *Syzygium aromaticum*; STZ, streptozotocin; 8Iso-PGF2 α , F2-isoprostanes; BP, blood pressure; C, control group; CAT, catalase; GFR, glomerular filtration rate; GSH, reduced glutathione; H&E, hematoxylin and eosin; HbA1c, glycosylated haemoglobin; K⁺, potassium ion; LPO, lipid hydroperoxides; Na⁺, sodium ion; SOD, superoxide dismutase

* Corresponding author.

E-mail address: djamil@lncm-univoran.com (K. Djamil).

<https://doi.org/10.1016/j.phanu.2018.01.001>

Received 30 September 2017; Received in revised form 6 December 2017; Accepted 17 January 2018
 2213-4344/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

been reported that glucophage, a widely used metformin, not only lowers blood glucose levels, which in the long term reduces the risk of diabetic complications, but it also appears to have antioxidant properties [16], could play an important role in preventing nephropathy disorders. In the same way, a substantial body of evidence suggests that plant extracts with hypoglycemic properties had a range of important pharmacological properties that may retard the progressive decline in renal function in diabetes [17]. However, spices which have been known to improve the sensory properties of foods have also been appreciated for their medicinal values. Clove bud (*Syzygium aromaticum* L.) Is an aromatic flower bud belonging to the family of Myrtaceae, it has a deep brown color, intense fragrance and burning taste. Commonly used in Africa in preparation of various spicy, rich dishes [18] and they are consumed as whole spices or ground into powder and mixed with diets containing cereals [19]. In addition to its culinary uses, the clove bud and its oil have an abundance of medicinal and recreational uses. Clove has been identified as a hypoglycemic food adjunct in both laboratory animals and human experimental protocols [20,21]. For instance, it has been reported that clove bud diet has antihyperglycemic, hypolipidemic, hepatoprotective and antioxidative properties in the type 2 diabetic condition [22]. However, the favorable effects of aqueous extract of clove buds of kidney injury in streptozotocin induced type 1 diabetic rats have not been elucidated. Consequently, the present study examined the importance of renal dysfunction associated with oxidative stress and hypertension and the modulatory effects of clove in comparison with metformin against kidney injury through the approaches of using STZ-induced diabetes in rats.

2. Materials and methods

2.1. Plant material

Dried clove buds *Syzygium aromaticum* (L) Merr. and Perry were purchased from the local market of Oran, Algeria. Buds were powdered with the help of the grinder and clove extract was prepared as follows: 50 g of the powdered buds was refluxed at 60–70 °C in 500 ml distilled water for 30 min and the decoction was filtered with cotton wool. The filtrate was concentrated at 65 °C by a rotavapor (BuchiLabortechnik AG, Postfach, Switzerland) under a reduced pressure and frozen at –70 °C before lyophilization (Christ, alpha 1–2 LD). The crude yield of the lyophilized extract was approximately 23% (wt/wt). It was stored at ambient temperature until further use.

2.2. Animals

Male Wistar rats (Pasteur Institute, Algiers, Algeria), weighing 285 ± 10 g were housed under standard environmental conditions (23 ± 1 °C, $55 \pm 5\%$ humidity and a 12 h light/dark cycle) and maintained with free access to water and a casein diet *ad libitum*. The composition of casein diet (expressed in g/kg) was: casein, 200 (95% purity, Prolabo, Paris, France); sunflower oil, 50; sucrose, 50; cellulose, 50; cornstarch, 600; minerals 40; vitamins, 20 (Merck, Darmstadt, Germany). The general guidelines for the care and use of laboratory animals recommended by the Council of European Communities [23] were followed and all the experimental protocols involving the use of laboratory animals were approved by the Institutional Animal Ethics Committee of Oran 1 ABB University (Reg. No. 13/355/2015).

Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) (Sigma, St Louis, Mo, USA) at a dose of 55 mg/kg bw STZ was dissolved in 0.05 mol/l cold sodium citrate buffer, pH 4.5 immediately before use. After 48 h, hyperglycemia was confirmed using a strips test, Glucometer (ACCU-CHEK Active, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Only animals with fasting blood glucose levels greater than 16 mmol/l were considered diabetic and then included in this study.

2.3. Diet and treatments

Diabetic rats ($n = 24$) were divided into three groups and fed for 4 weeks a casein diet. The untreated group (D) only received water, whereas the treated group received daily orally through gavage, *Syzygium aromaticum* extract (D-Sa) (2 g/kg bw) or glucophage as a reference compound (D-MTF) at 350 mg/kg bw. A normal rats (control group: C, $n = 8$) was injected with 0.25 ml of cold sodium citrate buffer and was fed a casein diet during the experiment. Blood pressure measurements of animals were recorded one every week and blood glucose levels were also measured weekly as described above. At the end of the study period, all rats are subjected to 24-h urine collection.

After the 4 weeks of the experiment, the rats were fasted overnight and anesthetized with chloral hydrate 10% (3 ml/kg bw) and then bled from the abdominal aorta in tubes. Blood was collected into dried tubes and serum was prepared by low speed centrifugation (1000g for 20 min at 4 °C). The kidneys were removed immediately, rinsed with cold saline, and weighed. A small section of this tissue was placed in 10% neutral buffered formalin for histological evaluation. Aliquots of serum and kidney were stored at –70 °C until analyzed.

2.4. Blood pressure

Blood pressure (BP) is measured in the tail of rat using tail cuff System (CODA 4; Kent Scientific Corporation, USA). The CODA 4-Channel system measures the blood pressure up to 4 rats simultaneously. This tail-cuff system uses volume pressure recording to measure the blood pressure by determining the tail blood volume. To adapt the animal to the holder and cuffs, an acclimation period is usually recommended by placing the animal in the holder for 15 min for 3 consecutive days prior to the actual study. Thirty minutes before the measurements, the rats were placed into a preheated restrainer 32 °C, with the tail exposed. The tail cuff was pushed up to the base of the tail and fit closely but freely on the tail and the pulse sensor was placed just behind the tail cuff. The cuff was then inflated and deflated automatically during periods of 90 s during 20 min. The pressure in the occlusion cuff and the pulse signal was monitored and recorded in a PowerLab/400 (software Chart for Windows) system.

2.5. Blood and urine parameters

Serum Insulin was analyzed using an enzyme immunoassay kit based on the competition between unlabeled rat insulin and acetyl cholinesterase linked to rat insulin (tracer) for limited specific guinea-pig anti-rat insulin antiserum sites (Spi-Bio, Le Bretonneux, France). Glycosylated haemoglobin (HbA1c) was estimated by ion exchange chromatography method (KitBiocon, Germany). Quantitative measurements of sodium ion (Na^+) was estimated by Mg-Uranil acetate method and that of potassium ion (K^+) was performed using tetraphenylboron-Na method (Kits Chronolab, Barcelona Spain).

Kidney function parameters including urea and creatinine were measured in serum by enzymatic colorimetric methods (Kits Spinreact, Girona Spain). Glomerular filtration rate (GFR), as assessed by creatinine clearance from measurements of urinary and serum concentrations of creatinine and urine flow rate in the 4th week.

2.6. Histological analysis

Hematoxylin and eosin (H&E) staining was performed to reveal the morphological features of the tissue [24]. Kidney samples for histology were obtained after proper fixation with formalin then dehydrated in ascending grades of ethyl alcohol, and subsequently embedded in paraffin blocks. Slices with 5 μm sections were stained with (H&E) and investigated under bright field Leitz microscope (Leitz Wetzlar, LEICA).

2.7. Evaluation of redox status in kidney

2.7.1. LPO

Lipid peroxidation was determined by Caymans lipid hydroperoxide (LPO) assay using the redox reaction with ferrous ions (kit Caymans Chemical, Ann Arbor, MI, USA). In brief, 0.5 ml of kidney homogenate (prepared in cold 50 mmol/l potassium phosphate buffer, pH 7.4) was treated with 1 ml of chloroform and centrifuged at 1500g for 5 min. 0.45 ml of chloroform-methanol solvent was added to 0.5 ml of supernatant followed by addition of 50 μ l chromogen and the absorbance was measured at 500 nm.

2.7.2. Total 8-Iso-prostaglandin-F2 α concentrations

kidney tissue hydrolysis (1 ml of sample in 3 ml phosphate buffer, incubated with 3 ml of KOH at 37 °C for 60 min and acidified to pH 4 with HCl) were used in the enzyme immunoassay for quantification of total amounts of 8-Iso-prostaglandin F2 α (8-iso-PGF2 α) (kit Cayman's Chemical, Ann Arbor, MI, USA). 8-iso-PGF2 α is a family of eicosanoids of non-enzymatic lipid peroxidation, produced by the oxidation of tissue phospholipids by oxygen radicals. This assay uses a competition between 8-Isoprostane and 8-Isoprostane-acetylcholinesterase conjugate for a limited number of 8-Isoprostane-specific rabbit antiserum binding sites. The procedure was according to the instructions provided by the manufacturer.

2.7.3. Carbonyl levels

Protein oxidation, as measured by protein carbonyl according to the procedure described by Reznick and Packer [25] using the 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) reagent and spectrophotometric method. Briefly, 200 mg of the kidney in 2 ml phosphate buffer were incubated with 0.1% digitonin for 15 min and 1% of streptomycin sulfate was added and centrifuged at 2800g for 10 min. Two tubes of 1 ml kidney homogenate were taken; one was marked as test and the other as blank. 4 ml of 10 mmol/l DNPH in 2.5 mol/l HCl was added to the test sample and 4 ml of 2.5 mol/l HCl alone was added to the blank sample. Tubes were mixed and incubated in the dark (room temperature) for 1 h and swirled every 15 min. Then protein was precipitated with 5 ml of 20% trichloroacetic acid. The tubes were then centrifuged at 11,000g for 3 min to obtain the protein pellet. The precipitates were washed three times with 4 ml of ethanol-ethyl acetate (1:1) to remove unreacted DNPH and lipid remnants. Finally, the protein pellet was dissolved in 1 ml 6 mol/l guanidine-HCl solution and incubated for 15 min. The absorbance was measured at 370 nm. The carbonyl contents were expressed as mole of carbonyl groups per milligram of protein using a molar extinction coefficient of 22,000 mol/l/cm. Protein contents were measured according to the method of Lowry et al., using bovine serum albumin as a standard [26].

2.7.4. SOD activity

Homogenate kidney (1 g of tissue in 5 ml phosphate buffer) was used in the assay for measurement of SOD activity. Superoxide dismutase (SOD; EC.1.6.4.2) was assayed using a tetrazolium salt for detection of superoxide radicals generated by xanthine oxidase and hypoxanthine. The procedure for assays was according to the instructions provided by the manufacturer (kit Cayman's Chemical, Ann Arbor, MI, USA).

2.7.5. CAT activity

Catalase (CAT; EC 1.11.1.6) activity was assayed in kidney by measuring the rate of hydrogen peroxide (H₂O₂) decomposition according to the method described by Aebi [27]. Briefly, 250 μ l of homogenate tissue, 250 μ l H₂O₂ (30 mmol in phosphate-buffered saline 50 mmol/l), and 250 μ l of phosphate-buffered saline were added. The contents were shaken and incubated for 5 min, and then titanium (IV) oxysulfate-sulfuric acid (TiOSO₄) was added. The absorbance was measured at 240 nm.

2.7.6. GSH levels

Glutathione (GSH) in hydrolysed kidney tissue (as described above) was measured according to Sedlak and Lindsay [28]. The spectrophotometric method for GSH involves oxidation of GSH 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DNTB) to form the yellow derivative 5'-thio-2-nitrobenzoic acid (TNB), measurable at 412 nm.

2.8. Statistical analysis

Data were presented as means \pm S.E.M of eight rats per group. Statistical analysis was carried out by STATISTICA (Version 4.1; Statsoft, Tulsa, Okla). Comparisons across groups were performed by a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's multiple range test [29]. Differences with $P < 0.05$ were considered statistically significant.

^a $P < 0.05$, untreated diabetic group compared to control group.

^b $P < 0.05$, Sa-treated or MTF-treated group compared to untreated diabetic group.

^c $P < 0.05$, Sa-treated diabetic vs MTF-treated group diabetic group.

3. Results and discussion

Herbs and spices have a traditional history of use, with strong roles in cultural heritage, and in the appreciation of food and its links to health. Hence, researchers are always looking for an optimal treatment that can overcome diabetes with minimal side effects and clove (*Syzygium aromaticum*) is one of those spices that could be used in this regard. For instance, the hypoglycemic activity of ethanol extract of clove has been evaluated and confirmed in streptozotocin induced diabetic rats and has produced the maximum effect at a dose of 750 mg/kg bw [30]. However, the favorable effects of aqueous extract of clove buds on kidney injury in diabetic rats have not been elucidated. Thus, the present study examined the importance of renal dysfunction associated with oxidative stress and hypertension and the modulatory effects of clove in comparison with metformin against kidney injury through the approaches of using STZ-induced diabetes in rats. Streptozotocin (STZ) is currently the most used diabetogenic agents in testing new antidiabetic drugs in animals. Due to its toxic and disruptive nature, involved in destroying the pancreatic endocrine cells and can cause renal damage [31].

3.1. Effect of treatments on anti-hyperglycemic index and body weight

The injection of streptozotocin in rats leads to the development of a clinical syndrome characterized by hyperglycemia and hypoinsulinemia. 48-h after streptozotocin injection, glucose levels were 23 ± 4 mmol/l in diabetic groups compared with control 6 ± 1 mmol/l, hence, diabetes was confirmed. In the first and second weeks, glycemia was decreased by -14% , and thereafter increased to initial value in weeks 3 and 4 in untreated diabetic group vs. control (Fig. 1). By contrast, at 4th week of the experiment, serum insulin levels in untreated diabetic rats were 1.71-fold lower than the control [Table 2]. These changes are caused by autoimmune destruction of the pancreatic β -cells induced by STZ causing hyperglycemia and decrease in insulin production and release [32]. In contrast with the D – group at w1, w2 and w3 of the experiment, glycemia was lowered respectively by -74 , -39 and -46% in clove-treated group and by -75 , -60 and -36% in metformin-treated group. After 4 weeks, a significant decrease in blood glucose levels was observed in D-Sa and D-MTF groups from an initial 23 ± 4 mmol/l to the level of 15 ± 2 mmol/l and 12.6 ± 3 mmol/l, respectively (Fig. 1). The hypoglycemic effect could be due to stimulation of functioning pancreatic beta cells, to increase the release of insulin, or this may be due to regeneration of beta cells. These data were confirmed by higher levels of insulin in the treated group [Table 2]. Zhou et al. reported that metformin produces a hypoglycemic effect and inhibits small intestinal glucose absorption via

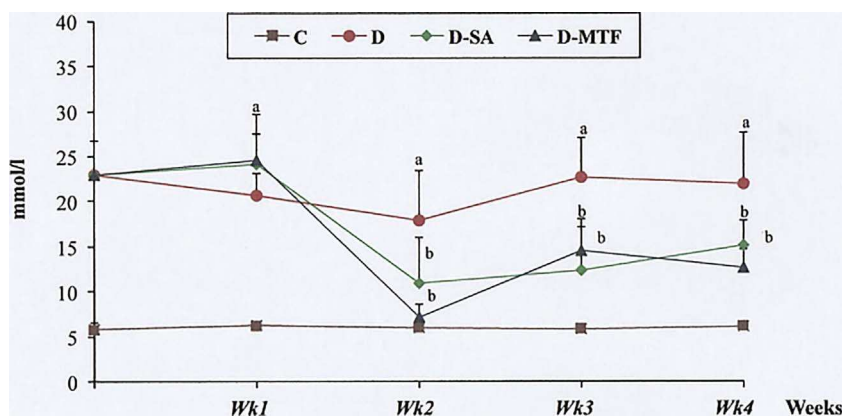


Fig. 1. Blood glucose concentration during the experiment of normal rats (C), untreated (D) and treated diabetic rats with *Syzygium aromaticum* extract (D-Sa) or with standard Metformin (D-MTF). Data are shown as the mean \pm S.E.M. for eight values per group. A difference of $P < 0.05$ was considered significant. W: week.

increases in its uptake by cells [33]. Therefore, we propose that glucose-lowering efficacy of clove is comparable to metformin and may play a role as an insulin sensitizer helping to increase glucose utilization in skeletal muscle.

Glycated hemoglobin (HbA1c) levels are monitored as a reliable index of glycemic control in diabetes and increased levels are directly proportional to the hyperglycemic state [34]. The results obtained from the measurement of HbA1c show a clear difference between untreated diabetic (10%) and a clove or metformin treated-diabetic rats (6%) [Table 2]. It is found that, the decrease in HbA1c levels in diabetic rats receiving these drugs could be due to an improvement in hyperglycemia. At the end of the experiment, control rats progressively gained weight while untreated diabetic rats lost weight (–24%). This loss was primarily attributed to loss of adipose tissue and increased water intake. This indicates a polydipsic condition and loss of weight due to excessive breakdown of tissue proteins [35] and this may be due to dehydration and catabolism of fats as well as proteins, which might lead to muscle wasting [36]. However, the change in body weight in untreated and clove-treated diabetic rats did not differ, but in rats treated with metformin higher gain weight was noted (+14%) compared with untreated [Table 2]. However, clove was as effective as metformin treatment in reducing hyperglycemia and amelioration of insulin and HbA1c levels.

3.2. Effect of treatments on blood pressure and electrolyte handling

These metabolic alterations induced by STZ plays an important role in the development of diabetes complications, which can contribute to increased blood pressure. Weekly blood pressure of control rats was stable throughout the 4-week experimental period [Table 1]. In contrast to control, the diabetic rats systolic and diastolic blood pressures were progressively increased to higher values by the end of the experiment (+18% and +25%), respectively. Our results are in agreement with other investigations that reported a significant increase in arterial pressure, in short-term experimental diabetes rats [37]. The mechanisms for the development of hypertension involve, at least in part, abnormal electrolyte handling by endothelial dysfunction due to oxidative stress [38]. It has been suggested that alterations in Na^+ , K^+ might occur due to malfunction of Na^+/K^+ pumps. There is also preliminary evidence to suggest that the plasma membrane bound enzyme Na^+/K^+ ATPase is glycosylated in diabetic subjects [39]. This is supported by our study, whose values for serum sodium concentration were increased by (+26%), whereas serum potassium level was 3.5-fold lower in the D group compared with control [Table 2].

After daily administration of clove, the periods studied week 2, 3 and 4 presented lower systolic blood pressure (–14%) compared to the untreated group [Table 1]. At each time point of the study, diastolic blood pressure was also lower in the clove treated group compared to untreated ($P < 0.05$). We noticed that metformin administration in diabetic rats slightly reduced blood pressure, although the difference

Table 1
Changes in Blood Pressure (mmHg) during the Experiment.

	Diabetic			Control
	Untreated	Sa-treated	MTF-treated	
<i>Week 1</i>				
SBP ¹	150 \pm 4 ^a	136 \pm 7	134 \pm 11 ^b	112 \pm 6
DBP ²	95 \pm 4 ^a	82 \pm 6 ^{b,c}	93 \pm 7	82 \pm 1
<i>Week 2</i>				
SBP ¹	145 \pm 13 ^a	124 \pm 9 ^{b,c}	145 \pm 7	111 \pm 3
DBP ²	98 \pm 2 ^a	90 \pm 8	94 \pm 8	82 \pm 6
<i>Week 3</i>				
SBP ¹	144 \pm 10 ^a	123 \pm 2 ^b	134 \pm 4	110 \pm 6
DBP ²	98 \pm 6 ^a	86 \pm 3 ^b	90 \pm 4	79 \pm 7
<i>Week 4</i>				
SBP ¹	142 \pm 8 ^a	121 \pm 2 ^{b,c}	133 \pm 4	117 \pm 7
DBP ²	106 \pm 2 ^a	77 \pm 6 ^{b,c}	91 \pm 1 ^b	79 \pm 7

Data are shown as the mean \pm S.E.M. for eight values per group. Three Diabetic groups fed for 4 weeks a casein diet, untreated or treated with *Syzygium aromaticum* extract (Sa-treated) or with standard Metformin (MTF-treated). A normal rats (control group) was fed a casein diet during the experiment. A difference of $P < 0.05$ was considered significant. a; $P < 0.05$ untreated compared to control rats, b; $P < 0.05$ Sa-treated or MTF-treated compared to untreated rats, c; $P < 0.05$ Sa-treated compared to MTF-treated rats.

¹SBP: Systolic blood pressure.

²DBP: Diastolic blood pressure.

was not statistically significant for all periods of diabetes evaluated [Table 1]. According to these results, we would suggest that clove is more effective than metformin to manage arterial pressure in diabetes. Previous studies show that oleanolic acid isolated from clove induce vasorelaxation of aortic rings from normal animals [40] and caused increased renal Na^+ excretion in STZ-induced diabetic rats. Vasodilation could be implicated in the blood pressure lowering effect obtained in our experiments. In support of this notion, in diabetic rats treated with clove, a decrease in sodium concentration by –18% remained within normal ranges and important increase in potassium levels (+84%) were marked, whereas in MTF-treated group, no significant change was noted in these parameters compared with the untreated group. Therefore we speculate that hypoglycemic effect of clove influences electrolyte handling by altering the blood pressure, suggesting that this plant may have hypotensive effects.

3.3. Effect of treatments on kidney function indicators

It has been demonstrated previously that hyperglycemia increase arterial pressure and affect electrolytes levels in diabetic rats. There is also increasing evidence that electrolyte imbalances are early biochemical events responsible of the mechanism of cellular injury leading to nephropathy in diabetic subjects [41]. Monitoring of kidney function parameters showed higher serum levels of urea (+44%) and creatinine (+50%) in diabetic rats compared with control [Table 2], which were

Table 2
Body weight and Biochemical Parameters.

	Diabetic			Control
	Untreated	Sa-treated	MTF-treated	
Body Weight (g)	235.5 ± 20.08 ^a	232.83 ± 20.99	272.75 ± 13.32 ^{b,c}	308.33 ± 4.93
Insulin (pmol/l)	32.59 ± 6.92 ^a	48.44 ± 8.57	62.72 ± 4.72 ^b	56.01 ± 13.73
HbA1C (%)	9.90 ± 0.59 ^a	5.82 ± 0.92 ^b	5.89 ± 1.31 ^b	3.34 ± 0.80
<i>Serum Electrolytes (mmol/l)</i>				
Na ⁺	164.42 ± 26.22 ^a	133.93 ± 19.12 ^{b,c}	159.40 ± 19.03	121.15 ± 14.43
K ⁺	3.22 ± 0.16 ^a	19.66 ± 1.18 ^{b,c}	4.00 ± 1.02	11.36 ± 0.73
<i>Renal Profile</i>				
Urea (mmol/l)	9.76 ± 1.47 ^a	7.60 ± 3.02	10.17 ± 2.35	5.48 ± 0.68
Creatinine (μmol/l)	60.18 ± 8.57 ^a	44.38 ± 8.57 ^b	42.31 ± 7.12 ^b	28.83 ± 4.55
GRF ¹ (ml/min)	24.64 ± 3.18 ^a	7.47 ± 3.30 ^{b,c}	12.53 ± 1.50 ^b	1.03 ± 0.22

Data are shown as the mean ± S.E.M. for eight values per group. Three Diabetic groups fed for 4 weeks a casein diet, untreated or treated with *Syzygium aromaticum* extract (Sa-treated) or with standard Metformin (MTF-treated). A normal rats (control group) was fed a casein diet during the experiment. A difference of $P < 0.05$ was considered significant. a; $P < 0.05$ untreated compared to control rats, b; $P < 0.05$ Sa-treated or MTF-treated compared to untreated rats, c; $P < 0.05$ Sa-treated compared to MTF-treated rats.

¹ Glomerular Filtration Rate: $GFR = \frac{\text{urine creatinine} \times 24 \text{ hour urinary volume}}{\text{serum creatinine} \times 1440 \text{ min}}$

taken as a direct index for nephropathy in STZ-treated rats [42]. Similar results were reported by other investigations that mentioned an alteration of renal function in uncontrolled diabetes [43]. Interestingly, treatment with clove reduced serum creatinine levels by –26%, also metformin treatment produced a significant reduction (–30%) compared with untreated diabetic rats. Therefore, no significant differences were observed in the amounts of serum urea between diabetic rats treated with both drugs and untreated. Some reports have mentioned that treatment of diabetic rats with metformin 500 mg/kg bw for 4 weeks significantly decreased the levels of serum creatinine [44], which indicated that clove prevents the progression of renal damage in the same way as metformin.

Also, diabetic nephropathy is associated with glomerular hyperfiltration processes that have been linked to progression of the kidney disease [45]. Assessment of glomerular filtration rate (GFR), a characteristic feature of diabetic nephropathy reflected by creatinine clearance, showed significant increase (+95%) in the diabetic group compared with control group [Table 2]. Compared with untreated diabetic rats, treatment with either clove or metformin reduces GFR levels by –70% and –49%, respectively. Moreover, the GFR value in Sa-D was 1.7-fold lower than MTF-D group. Our results demonstrated that, the renal protective effect of clove was comparable and better to that observed with metformin in diabetic rats.

3.4. Effect of treatments on renal histopathology injury and oxidative stress markers

Parallel evidence from epidemiological studies have confirmed the role of oxidative stress in developmental diabetic mediated damages, possibly by oxygen free radical formation, nonenzymatic protein glycosylation, and lipid peroxides production [46]. Our study investigated the oxidative status of kidney harvested from normal rats, untreated and treated diabetic rats with clove or metformin at the end of the 4-week study period. Although the most direct approach for the assessment of lipid peroxidation is the quantification of the primary (hydroperoxides) products, a mediator of radical reaction [47] and these peroxides are labile and short-lived. Hence, detection of lipid peroxidation has relied largely on indirect methods, that is, analyses of secondary such as 8-Iso-prostaglandin. We also determined carbonylation protein, which is a type of protein oxidation and could be an active contributor to the pathogenesis of diabetic complications. Their levels in tissues serve as relatively stable markers of oxidative damage [48]. Our results showed that in untreated rats, the kidney concentration of lipid hydroperoxides, F2-isoprostane and carbonyl were, respectively 2.1-, 1.51- and 6.7-fold higher than in the control rats [Table 3]. F2-isoprostane, which is quantified in this study, has like dual properties, is

not only an indicator of oxidative stress but also may contribute to hypertensive effects of streptozotocin [49]. Effectively, our results suggest that higher F2-isoprostanes levels alter blood pressure, which was remarkably related to renal dysfunction induced by the cytotoxic action of streptozotocin.

However, after taking clove or metformin a considerable decline in the levels of lipid peroxide production and carbonylation protein in the kidney of the treated diabetic group. Thus, LPO concentration were respectively decreased by –69% and –53% in Sa-D and MTF-D than untreated diabetic group [Table 3]. Further, a notable decrease in 8-iso-PGF2α (–15%) was also observed in MTF-D, whereas in Sa-treated this parameter tended to be lower, but not significantly. Compared to the untreated diabetic group, carbonyl concentrations were 2.4- and 2.9-fold lower in Sa and MTF-treated group, respectively [Table 3]. This result suggests that clove, by decreasing oxidative stress, may be effective in preventing oxidative protein damage. Several studies have shown that metformin possesses a direct scavenging effect against oxygenated free radicals through the reduction of both NADPH oxidase and inhibition of protein C kinase activity [50]. Therefore, we propose that the antioxidant efficacy of clove is comparable to metformin and may play a role in modulating the action of NADPH oxidase. In other hand, excess blood glucose triggers the increase in oxidative stress producing a homeostatic imbalance at the cellular level that alters the renal histology [51].

The results of diabetes induction were confirmed by microscopical examination of renal sections (Fig. 2). Sections from untreated diabetic kidney revealed several glomerular and tubule-interstitial alterations as compared to control (Fig. 2a and b). Observed lesions included dilated tubules (arrows) with thickening of the basement membrane of glomeruli. This can be explained by the high lipid peroxidation levels noted of kidney in diabetic rats, which in turn leads to extensive membrane damage and produce tissue injury [52]. However, these alterations were effectively reduced by treatment with both clove and MTF for 4 weeks (Fig. 2c and d). These results indicated that clove extract might protect the tissues against the cytotoxic action of streptozotocin by stimulation of defense systems that protect the body from free radical damage.

3.5. Effect of treatments on kidney antioxidant defense

The streptozotocine induces a disturbance in the physiological state, which affects the enzyme activity. It then causes distortions in the cell organelles, which may lead to the elevation in the activity of various enzymes [53]. However, the activity of SOD showed a marked increase (+65%) in untreated diabetic rats. SOD catalyzes the dismutation of the highly reactive superoxide anion to form oxygen and hydrogen

Table 3
Oxidative Stress Markers in Kidney of Experimental Rats.

	Diabetic			Control
	Untreated	Sa-treated	MTF-treated	
LPO ¹ (nmol/g tissue)	196.48 ± 11.64 ^a	61.63 ± 8.21 ^{b,c}	91.43 ± 10.08 ^b	92.29 ± 7.19
8-iso-PGF2α ² (nmol/g tissue)	868.17 ± 26.57 ^a	823.26 ± 12.62	739.04 ± 56.14 ^{b,c}	573.49 ± 23.12
Carbonyl (mmol/mg protein)	1.11 ± 0.02 ^a	0.46 ± 0.13 ^b	0.38 ± 0.03 ^b	0.16 ± 0.01

Data are shown as the mean ± S.E.M. for eight values per group. Three Diabetic groups fed for 4 weeks a casein diet, untreated or treated with *Syzygium aromaticum* extract (Sa-treated) or with standard Metformin (MTF-treated). A normal rats (control group) was fed a casein diet during the experiment. A difference of P < 0.05 was considered significant. a; P < 0.05 untreated compared to control rats, b; P < 0.05 Sa-treated or MTF-treated compared to untreated rats, c; P < 0.05 Sa-treated compared to MTF-treated rats.

¹ LPO: Lipid hydroperoxide.
² 8-iso-PGF2α: 8-Iso-prostaglandin-F2α.

peroxide. For this is that the rise in SOD activity in untreated diabetic group could be a compensatory mechanism by the body to prevent kidney damage by the increased free radicals. Inversely, this activity was respectively decreased by -21% and -35% in clove and metformin treated diabetic rats (Fig. 3). Furthermore, Liu et al. have pointed the beneficial antioxidant properties of metformin in alloxan and STZ-induced diabetes in rats [54]. These findings suggest that clove can attenuate kidney oxidative damage in the same way as metformin therapy, on diabetic rats. Furthermore, the kidney of diabetic rats

showed lower CAT activity compared with control, but not significantly different (P > 0.05). The decreased activities of CAT in diabetic rats clearly delineate that CAT is easily inactivated by ROS and lipid peroxides and could be due to their decreased protein expression level [55]. Oral treatment of clove or metformin caused increases in the activity of CAT, almost but not quite significant (Fig. 3). In our study, GSH in kidney of diabetic rats was 2.58-fold lower, and this result is in accordance with those reported earlier studies [56]. GSH is an important cellular antioxidant that stabilizes cells in its neutralized state,

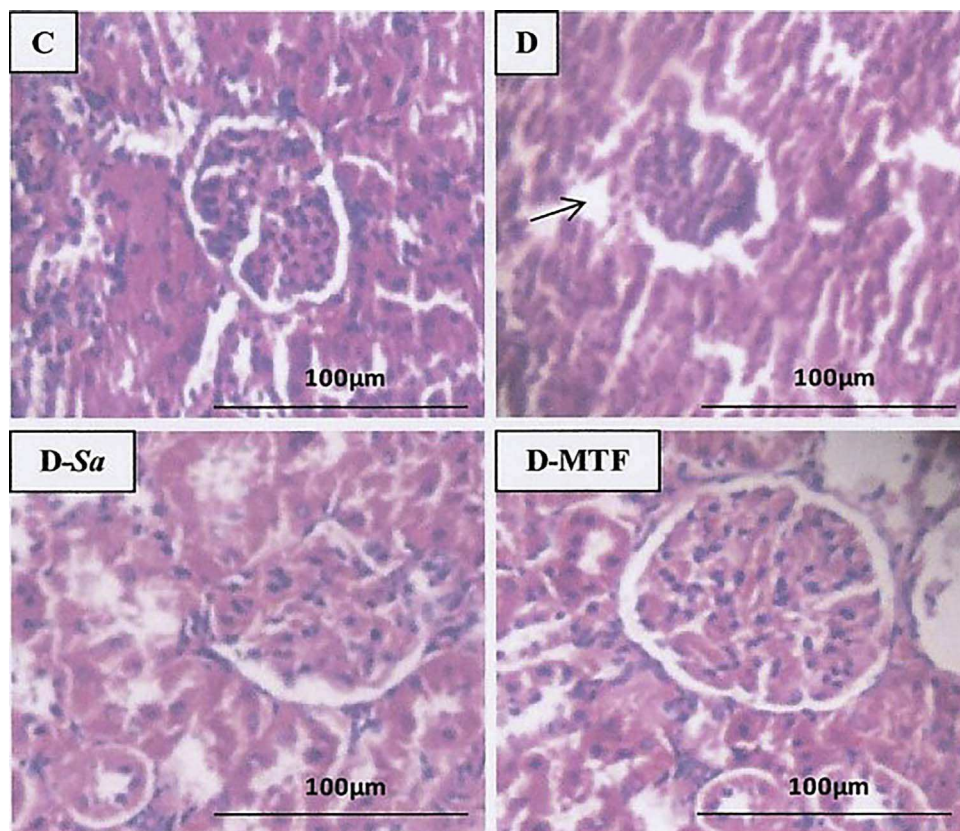


Fig. 2. Histopathology structure of kidney (×200) from normal rats (C), untreated (D) and treated diabetic rats with *Syzygium aromaticum* extract (D-Sa) or with standard Metformin (D-MTF). Arrow represents the dilated tubules. Bars express 100 µm.

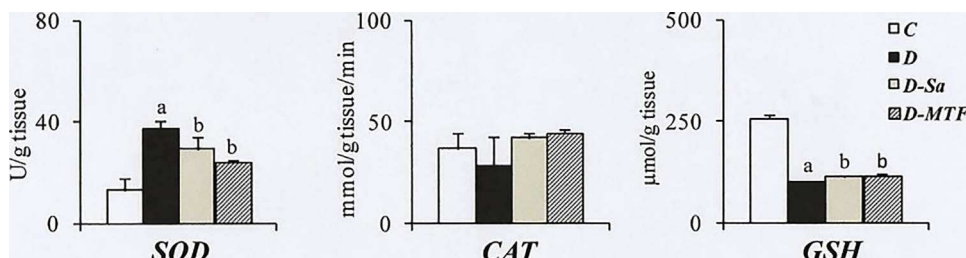


Fig. 3. Activities of antioxidant enzymes and glutathione concentrations in kidney of normal rats (C), untreated (D) and treated diabetic rats with *Syzygium aromaticum* extract (D-Sa) or with standard Metformin (D-MTF). Data are shown as the mean ± S.E.M. for eight values per group. A difference of P < 0.05 was considered significant.

preventing redox cycling and free radicals generation [57]. Therefore, the GSH depletion may be due to reduction in GSH synthesis or degradation of GSH by oxidative stress in diabetes. In this context, the clove and metformin treated diabetic rats showed significantly increased levels of GSH in kidney ($P < 0.05$). GSH can participate in the elimination of reactive intermediates via reduction of hydroperoxides [58]. These result explained the low LPO levels in the kidney by restoring the levels of antioxidant defense.

4. Conclusion

The alterations found in diabetic rats as hyperglycemia, hypertension, and renal damage were prevented by clove or metformin administration, suggesting that the renal protective effect of clove was comparable and to that observed with metformin. We also show that clove protects against diabetic renal dysfunction by modulation of oxidative status. Therefore, this study has led to findings which are still obscure. There is a need to identify compounds in relation to existing anti-diabetic drugs in order to improve potency and efficacy of bioactive compounds, hence develop novel drugs for diabetes management.

Funding information

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Conflict of interest

The authors have no conflict of interest regarding this manuscript.

Acknowledgement

This research was supported by the General Directorate for Scientific Research and Technological Development of the Ministry of Higher Education and Scientific Research.

References

- [1] B.J. [1].Boucher, Vitamin D insufficiency and diabetes risks, *Curr. Drug Targets* 12 (1) (2011) 61–87.
- [2] J.S. Skyler, Diabetic complication, the importance of glucose control, *Endocrinol. Metabol. Clin. N. Am.* 25 (2) (1996) 243–254.
- [3] H. Sakai, K. Jinde, D. Suzuki, M. Yagame, Y. Nomoto, Localization of glycosylated proteins in the glomeruli of patients with diabetic nephropathy, *Nephrol. Dial. Transplant.* 11 (5) (1996) 66–71.
- [4] D. Bonnefont-Rousselot, J.L. Beaudoux, P. Thérond, J. Peynet, A. Legrand, J. Delatte, Diabetes mellitus, oxidative stress and advanced glycation products, *Ann. Pharm. Franc.* 62 (3) (2007) 147–157.
- [5] H.Z. Pan, L. Zhang, M.Y. Guo, H. Sui, H. Li, W.H. Wu, et al., The oxidative stress status in diabetes mellitus and diabetic nephropathy, *Acta Diabetol.* 47 (1) (2009) 71–76.
- [6] S. Anderson, J.P. Vora, Current concepts of renal hemodynamics in diabetes, *J. Diabetes Complications* 9 (1995) 304–307.
- [7] E.A. Dupree, M.B. Mayer, Role of risk factors in complications of diabetes, *Am. J. Epidemiol.* 112 (1) (1980) 100–112.
- [8] S. Chen, C. Yuan, J.F. Schooley, F.J. Haddy, M.B. Pamnani, A consistent model of insulin-dependent diabetes mellitus hypertension, *Am. J. Hypertens.* 5 (1992) 671–680.
- [9] Y. Yu, M.B. Lucitt, J. Stubbe, Y. Cheng, U.G. Friis, P.B. Hansen, et al., Prostaglandin F₂α elevates blood pressure and promotes atherosclerosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106 (2009) 7985–7990.
- [10] K. Takahashi, T.M. Nammour, M. Fukunaga, J. Ebert, J.D. Morrow, L.J.D. Roberts, et al., Glomerular actions of a free radical generated novel prostaglandin, 8-epi-prostaglandin F₂α, in the rat: evidence for interaction with thromboxane A₂ receptors, *J. Clin. Invest.* 90 (1992) 136–141.
- [11] T. Miyata, S. Sugiyama, D. Suzuki, R. Inagi, K. Kurokawa, Increased carbonyl modification by lipids and carbohydrates in diabetic nephropathy, *Kidney Int. Suppl.* 71 (1999) S54–56.
- [12] E. Altomare, I. Grattagliano, G. Vendemaile, T. Micelli-Ferrari, A. Signorile, L. Cardia, Oxidative protein damage in human diabetic eye: evidence of a retinal participation, *Eur. J. Clin. Invest.* 27 (1997) 141–147.
- [13] U. Asmat, K. Abad, K. Ismail, Diabetes mellitus and oxidative stress, a concise review, *Saudi Pharm. J.* 24 (5) (2016) 547–553.
- [14] B. Stengel, S. Billon, P.C.W. van Dijk, K.J. Jager, F.W. Dekker, K. Simpson, et al., Trends in the incidence of renal replacement therapy for end-stage renal disease in Europe, 1990–1999, *Nephrol. Dialysis Transplant.* 18 (9) (2003) 1824–1833.
- [15] M. Hanefeld, A. Pfützner, T. Forst, I. Kleine, W. Fuchs, Double-blind, randomized, multicentre, and active comparator controlled investigation of the effect of Pioglitazone, Metformin, and the combination of both on cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes receiving stable basal insulin therapy: the PICOOMB study, *Cardiovasc. Diabetol.* 10 (2011) 65.
- [16] C. Bellin, D.H. Wiza, N.F. Wiernsperger, P. Rosen, Generation of reactive oxygen species by endothelial and smooth muscle cells: influence of hyperglycemia and metformin, *Horm. Metab. Res.* 38 (2006) 732–739.
- [17] Y.Y. Kim, K.M. Kang, S.H. Chung, Long-term administration of Sopungsungiwon (SP) prevents diabetic nephropathy in Zucker diabetic fatty rats, *Arch. Pharmaceut. Res.* 25 (6) (2002) 917–922.
- [18] P. Milind, K. Deepa, Clove: a champion spice, *Int. J. Res. Ayurveda Pharm.* 2 (2011) 47–54.
- [19] S.A. Adefegha, G. Oboh, Phytochemistry and mode of action of some tropical spices in the management of type 2 diabetes and hypertension, *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 7 (2013) 332–346.
- [20] R. Shukri, S. Mohamed, N.M. Mustapha, Cloves protect the heart, liver and lens of diabetic rats, *Food Chem.* 122 (2010) 1116–1121.
- [21] A. Khan, S.S. Qadir, K.K. Nawaz, R.A. Anderson, Cloves improve glucose, cholesterol and triglycerides of people with type 2 diabetes mellitus, *Exp. Biol.* (2006) 640–645.
- [22] S.A. Adefegha, G. Oboh, O.M. Adefegha, A.A. Boligon, M.L. Athayde, Antihyperglycemic, hypolipidemic, hepatoprotective and antioxidative effects of dietary clove (*Syzygium aromaticum*) bud powder in a high-fat diet/streptozotocin-induced diabetes rat model, *J. Sci. Food Agric.* 94 (13) (2014) 2726–2737.
- [23] Council of European Communities. Council Instructions about the Protection of Living Animals Used in Scientific Investigations. Official Journal of European Communities 1987, (JO 86/609/CEE) L358 of 18-12-1986, Corrigendum Official J. L117 of 05-05-1987, 358, 1–28.
- [24] D.M. Abo El-Khair, F. El-Safti, A. El-Nabawia, H.Z. Nooh, A.E. El-Mehi, A comparative study on the effect of high cholesterol diet on the hippocampal CA1 area of adult and aged rats, *Anat. Cell Biol.* 47 (2014) 117–126.
- [25] A.Z. Reznick, L. Packer, Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay, *Methods Enzymol.* 233 (1994) 357–363.
- [26] O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* 193 (1951) 256–275.
- [27] H. Aebi, Catalase, *Methods of Enzymatic Analysis* vol. 2, Verlag Chemie Weinheim, 1974, pp. 673–684.
- [28] J. Sedlak, R.H. Lindsay, Estimation of total protein bound and non-protein sulphhydryl groups in tissues with ellman's reagent, *Anal. Biochem.* 25 (1968) 192–205.
- [29] R.R. Sokal, F.J. Rohlf, *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research* vol. 2, W. H. Freeman, New York, 2012 937.
- [30] Z.R. Chaudhry, S.R. Chaudhry, A. Naseer, F.R. Chaudhry, Effect of *Syzygium aromaticum* (clove) extract on blood glucose level in streptozotocin induced diabetic rats, *Pak. Armed Forces Med. J.* 63 (2013) 3.
- [31] G.H. Tesch, T.J. Allen, Rodent models of streptozotocin induced diabetic nephropathy (methods in renal research), *Nephrology* 12 (3) (2007) 261–266.
- [32] T. Szkudelski, The mechanism of alloxan and Streptozotocin action in B cells of the rat pancreas, *Physiol. Res.* 50 (2001) 536–546.
- [33] G. Zhou, R. Myers, Y. Li, Y. Chen, X. Shen, J. Fenyl-Melody, et al., Role of AMP-activated protein kinase mechanism of metformin action, *J. Clin. Invest.* 108 (2001) 1167–1174.
- [34] P.S. Babu, S. Prabuseenivasan, S. Ignacimuthu, Cinnamaldehyde a potential anti-diabetic agent, *Phytomedicine* 14 (2007) 15–22.
- [35] A. Shirwaikar, K. Rajendran, D.C. Kumar, Oral antidiabetic activity of *Annona squamosa* leaf alcohol extract in NIDDM rats, *Pharm. Biol.* 42 (2004) 30–35.
- [36] S.Z. Hakim, B.K. Patel, R.K. Goyal, Effect of chronic ramipril treatment in streptozotocin-induced diabetic rats, *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 41 (4) (1997) 353–360.
- [37] M.W. Brands, T.E. Hopkins, Poor glycemic control induces hypertension in diabetes mellitus, *Hypertension* 27 (2) (1996) 735–739.
- [38] J. Zicha, Z. Dobesova, M. Vokurkova, H. Rauchova, S. Hojna, M. Kadlecova, Age-dependent salt hypertension in Dahl rats: fifty years of research, *Physiol. Res.* 61 (2012) S35–S87.
- [39] M.H. Graner, A. Spector, Glucose-6-phosphate modification of bovine renal Na,K-ATPase: a model for changes occurring in the human renal medulla in diabetes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 131 (1985) 1206–1211.
- [40] R. Rodriguez-Rodriguez, E. Stankevicius, M.D. Herrera, L. Ostergaard, M.R. Andersen, V. Ruiz-Gutierrez, et al., Oleoanolic acid induces relaxation and calcium-independent release of endothelium-derived nitric oxide, *Br. J. Pharmacol.* 155 (2008) 535–546.
- [41] J.M. Lowery, J. Eichberg, A.J. Saubermann, LoPachin RMJr Distribution of elements and water in peripheral nerve of streptozotocin-induced diabetic rats, *Diabetes* 39 (1990) 1498–1503.
- [42] P. Odetti, C. Pesce, N. Traverso, S. Menini, E.P. Maineri, L. Cosso, et al., Comparative trial of N-acetyl-cysteine, taurine, and oxerutin on skin and kidney damage in long-term experimental diabetes, *Diabetes* 52 (2003) 499–505.
- [43] R.L. Bijlani, R.P. Vempati, R.K. Yadav, A brief but comprehensive lifestyle education program based on yoga reduces risk factors for cardiovascular disease and diabetes mellitus, *J. Altern. Complement. Med.* 11 (2005) 267–274.
- [44] A.A. Alhaider, H.M. Korashy, M.M. Sayed-Ahmed, M. Mobark, H. Kfoury, M.A. Mansour, Metformin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats through modulation of oxidative stress genes expression, *Chem. Biol. Interact.* 192 (2011) 233–242.
- [45] F.N. Ziyadeh, Mediators of diabetic renal disease: the case for tgf-Beta as the major

- mediator, *J. Am. Soc. Nephrol.* 15 (1) (2004) 55–57.
- [46] M. Roy, S. Sen, A.S. Chakraborti, Action of Pelargonidin on hyperglycemia and oxidative damage in diabetic rats: implication for glycation-induced hemoglobin modification, *Life Sci.* 82 (2008) 1102–1110.
- [47] F. Sun, K. Iwaguchi, R. Shudo, Y. Nagaki, K. Tanaka, K. Ikeda, et al., Change in tissue concentrations of lipid hydroperoxides, vitamin C and vitamin E in rats with streptozotocin-induced diabetes, *Clin. Sci.* 96 (2) (1999) 185–190.
- [48] M. Chevon, E. Berenshtein, E.R. Stadtman, Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage, *Free Radic. Res.* 33 (2000) S99–S108.
- [49] J.C. Romero, J.F. Reckelhoff, State-of-the-art lecture: role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension, *Hypertension* 34 (1999) 943–949.
- [50] M. Mahruf, N. Ouslimani, J. Peynet, R. Djelidi, M. Couturier, P. Therond, et al., Metformin reduces angiotensin-mediated intracellular production of reactive oxygen species in endothelial cells through the inhibition of protein kinase C, *Biochem. Pharmacol.* 72 (2006) 176–183.
- [51] E.F. Grone, H.J. Grone, Does hyperlipidemia injure the kidney? *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* 4 (2008) 424–425.
- [52] A. Alfay, A. Ahmed, A. Fatani, Protective effect of red grape seeds proanthocyanidins against induction of diabetes by alloxan in rats, *Pharmacol. Res.* 52 (2005) 264–270.
- [53] V. Sharma, A. Sharma, L. Kansal, The effect of oral administration of *Allium sativum* extracts on lead nitrate induced toxicity in male mice, *Food Chem. Toxicol.* 48 (2010) 928–936.
- [54] Z. Liu, J. Li, Z. Zeng, M. Liu, M. Wang, The antidiabetic effects of cysteinyl metformin, a newly synthesized agent, in alloxan and streptozocin-induced diabetic rats, *Chem. Biol. Interact.* 173 (2008) 68–75.
- [55] R.K. Sindhu, J.R. Koo, C.K. Roberts, N.D. Vaziri, Dysregulation of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in diabetes response to insulin and antioxidant therapies, *Clin. Exp. Hypertens.* 26 (2004) 43–53.
- [56] P. Arulselvan, S.P. Subramanian, Beneficial effects of *murraya koenigii* leaves on antioxidant defense system and ultra structural changes of pancreatic-cells in experimental diabetes in rats, *Chem. Biol. Interact.* 165 (2007) 155–164.
- [57] M. Oliveira, M.A. Santos, M. Pacheco, Glutathione protects heavy metal-induced inhibition of hepatic microsomal ethoxyresorufin O-deethylase activity in *Dicentrarchus labrax* L, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 58 (2004) 379–385.
- [58] N. Rajarajeswari, L. Pari, Antioxidant role of coumarin on streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetic rats, *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 25 (2011) 355–361.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'explorer l'impact d'un extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) comparé aux agents antidiabétiques et hypolipémiants (metformine ou atorvastatine) sur la pression artérielle, l'équilibre glycémique, le profil lipidique et lipoprotéique, et les statuts redox et inflammatoires, dans deux modèles expérimentaux (diabète et hypercholestérolémie) induits chez le rat mâle Wistar. Chez les groupes diabétiques, l'administration de l'extrait aqueux de clou de girofle agit de façon semblable à la metformine, en assurant un meilleur équilibre glycémique par une hypersécrétion d'insuline, une réduction du glucose sérique et de la Hb₁Ac. De même, le clou de girofle altère la tolérance au glucose après 60min, de manière comparable avec le groupe D-MTF. En outre, l'administration de l'extrait aqueux de clou de girofle chez le groupe diabétique favorise la rétention du K⁺ (+84%), réduit l'excrétion du Na⁺ (-18%) et de la créatinine (-26%) et empêche le développement de l'hypertension artérielle. De plus, le traitement par le clou de girofle comparé à la metformine est plus efficace dans la modulation du fonctionnement rénal puisque le taux de DFG est 1,7-fois plus faible. L'hyperglycémie induite par la STZ et l'addition du cholestérol alimentaire au régime, augmentent les taux circulants en triglycérides (TG), cholestérol total (CT) et phospholipides (PL). Chez les groupes D-Sa et D-MTF, une réduction des activités de SOD (-21 et -35%), de GSH-Px (-71 et -65%) et une augmentation de GSSH-Red (+63 et +61%) est notée au niveau des reins. *En conclusion, l'extrait aqueux lyophilisé de clou de girofle (Syzygium aromaticum) riche en composés phénoliques, pourrait avoir une action bénéfique dans la correction des troubles métaboliques associées au diabète et l'hypercholestérolémie, en corrigeant le déséquilibre glucido-lipidique, en atténuant l'attaque radicalaire et en neutralisant le processus inflammatoire. Cependant, l'extrait aqueux de clou de girofle s'avère plus efficace que la metformine et l'atorvastatine en raison de son puissant effet anti-inflammatoire.*

Mots clés :

Diabète; Hypercholestérolémie; Rat; Streptozotocine; Cholestérol; *Syzygium aromaticum*; Équilibre glycémique; Dyslipidémie; Stress oxydatif; Inflammation.