

Sommaire

INTRODUCTION	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1. Etude du diabète.....	4
1.1. Le pancréas.....	4
1.1.1. Le pancréas exocrine.....	4
1.1.2. Le pancréas endocrine.....	5
1.1.2.1. Histologie.....	5
1.2. Physiologie de la cellule β et sécrétion d'insuline.....	6
1.2.1. Insuline.....	6
1.2.2. Définition et biosynthèse.....	6
1.2.3. Actions physiologiques de l'insuline.....	6
2. Définition et diagnostic du diabète sucré	8
2.1. Epidémiologie.....	9
2.2. Classification.....	10
2.2.1. Diabète de type1.....	10
2.2.2. Diabète de type 2.....	11
2.2.3. Diabète gestationnel.....	11
2.2.4. Autres types de diabète : diabète secondaire (spécifique).....	11
3. Diabète et dyslipidémie.....	11
3.1. Anomalies lipidiques du diabétique.....	12
3.1.1. Métabolisme des lipoprotéines de très faible densité (VLDL).....	12
3.1.2. Métabolisme des lipoprotéines de faible densité (LDL).....	13
3.1.3. Métabolisme des lipoprotéines de haute densité (HDL).....	14
3.2. Oxydation et glycosylation des lipoprotéines.....	14
4. Diabète et stress oxydant.....	15
4.1. Hyperglycémie et stress oxydant.....	15
4.2. Hyperglycémie et peroxydation lipidique.....	18
4.3. Hyperglycémie et potentiel antioxydant.....	19
5. Diabète et inflammation.....	21
5.1. Implication des cytokines dans le diabète de type1.....	22
6. Diabète expérimentale induit par streptozotocine.....	24
6.1. Streptozotocine et stress oxydant.....	26
7. Diabète et plantes médicinales.....	27
7.1. Dans le monde.....	27
7.2. En Algérie.....	27
7.3. Modes d'actions des plantes antidiabétiques.....	28
7.4. Principes actifs à effets antidiabétiques.....	31
7.4.1. Les flavonoïdes.....	31
7.4.2. Les saponosides.....	32
7.4.3. Les alcaloïdes.....	33
7.4.4. Les glycosides.....	33
7.5. Toxicité des plantes antidiabétiques.....	35
7.6. Effet des plantes médicinales sur la dyslipidémie associé au diabète.....	35
7.7. Effet des plantes médicinales sur le stress oxydant associé au diabète.....	37
8. Choix du matériel végétale et du modèle expérimentale.....	38
8.1. Matériel végétal.....	38
8.1.1. Description.....	38
8.1.2. Morphologie et anatomie.....	39
8.1.3. Caractéristiques botaniques de <i>Linum usitatissimum</i>	39
8.1.4. Bienfaits et potentiels du lin sur la santé.....	40
8.2. Modèle expérimental.....	40
MATERIELS ET METHODES	42
1. Matériel végétale.....	42
1.1. Préparation de la poudre de lin.....	42

1.1.1. Préparation de la poudre pour le dosage	42
1.1.2. Criblage phytochimique des extraits de la graine de lin.....	42
1.2. Mesure du potentiel antioxydant.....	44
1.2.1. Dosage des composés phénoliques.....	44
1.2.1.1. Polyphénols totaux.....	44
1.2.1.2. Flavonoïdes.....	44
1.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante des graines de lin.....	44
1.2.2.1. Test au DPPH.....	44
1.2.2.2. Piégeage du radical superoxyde (O ₂ [•]).....	45
1.2.2.3. Pouvoir réducteur du fer.....	45
1.2.2.4. Calcule des IC ₅₀	46
2. Animaux et régimes.....	46
2.1. Induction du diabète.....	46
2.2. Traitement avec la graine de lin.....	47
3. Prélèvement des échantillons sanguins et des organes.....	48
4. Analyses biochimiques.....	48
4.1. Détermination de la glycémie.....	48
4.2. Dosage de l'insuline plasmatique.....	48
4.3. Détermination de l'hémoglobine glycosylée.....	49
4.4. Détermination des teneurs plasmatiques et urinaires en urée, créatinine et acide urique.....	49
4.5. Activité des transaminases et de la phosphatase alcaline plasmatiques.....	49
4.6. Détermination des teneurs en protéines totales et en lipides du foie et du plasma.....	50
4.6.1. Dosage des protéines.....	50
4.6.2. Dosage des lipides du foie et du plasma.....	50
4.6.2.1. Extraction des lipides du foie.....	50
4.6.2.2. Teneurs en cholestérol total, libre et esters de cholestérol.....	50
4.6.2.3. Teneurs en triglycérides.....	51
4.6.2.4. Teneurs en phospholipides.....	51
4.7. Séparation et analyse des différentes fractions de lipoprotéines.....	51
4.7.1. Séparation des lipoprotéines plasmatiques.....	51
4.7.2. Purification des précipités.....	51
4.7.3. Analyse de différents constituants des lipoprotéines.....	52
4.7.4. Détermination des teneurs en apolipoprotéines (Apo A-I et Apo B) plasmatiques et rapports d'athérogénicité.....	52
4.7.5. Détermination de l'activité de la lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT)	55
4.8. Evaluation du statut redox.....	55
4.8.1. Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS).....	55
4.8.1.1. TBARS du plasma et des érythrocytes.....	55
4.8.1.2. TBARS tissulaires.....	55
4.8.2. Détermination de l'activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires et tissulaires.....	56
4.8.2.1. Préparation des érythrocytes.....	56
4.8.2.2. Préparation des homogénats tissulaires.....	56
4.8.2.3. Activité de la superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).....	56
4.8.2.4. Activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px, EC 1.11.1.9).....	56
4.8.2.5. Activité de la glutathion réductase (GSSH-Red, EC 1.6.4.2).....	57
4.8.2.6. Activité de la catalase (CAT, EC 1.11.1.6).....	57
4.9. Evaluation du statut inflammatoire.....	57
4.9.1. Dosage du facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et de l'interleukine-6 (IL-6).....	57
5. Etude histologique des organes.....	58
6. Analyse statistique.....	58
RESULTATS.....	59
1. Analyse phytochimique.....	59
1.1. Etude phytochimique.....	59
1.2. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux.....	59
1.3. Evaluation du potentiel antioxydant des extraits de la graine (Lu).....	60

1.3.1. Activité anti-radicalaire par le test au DPPH.....	60
1.3.2. Piégeage du radical superoxyde(O ₂ [·]).....	61
1.3.3. Capacité de réduction des ions ferriques en ions ferreux.....	62
1.3.4. Calcul des concentrations inhibitrices à 50%.....	63
2. Analyse biologique.....	64
2.1. Croissance pondérale des animaux et nourriture ingérée.....	64
2.2. Poids relatif des organes.....	65
2.3. Evolution de la glycémie, l'insulinémie et hémoglobine glycosylée.....	66
2.4. Concentrations plasmatiques et urinaires en urée, créatinine et en acide urique.....	68
2.5. Activités enzymatiques des transaminases et de la phosphatase alcaline plasmatiques.....	68
2.6. Teneurs en protéines et lipides du foie et du plasma.....	69
2.7. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des différentes lipoprotéines plasmatiques.	71
2.7.1. Répartition du cholestérol total plasmatique entre les différentes lipoprotéines.....	71
2.7.2. Répartition des triglycérides plasmatiques entre les différentes lipoprotéines.....	72
2.7.3. Teneurs et composition en lipides et apolipoprotéines des VLDL.....	73
2.7.4. Teneurs et composition en lipides et apolipoprotéines des LDL-HDL ₁	75
2.7.5. Teneurs et composition en lipides et apolipoprotéines des HDL ₂	77
2.7.6. Teneurs et composition en lipides et apolipoprotéines des HDL ₃	77
2.8. Concentrations en apolipoprotéines A-I et B du plasma.....	80
2.9. Rapports d'athérogénicité.....	80
2.10. Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT).....	81
2.11. Statut redox.....	82
2.11.1. Concentrations en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) des érythrocytes et du plasma.....	82
2.11.2. Concentrations en TBARS tissulaires.....	83
2.11.3. Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires.....	84
2.11.4. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires.....	85
2.12. Statut inflammatoire.....	87
2.12.1. Concentration plasmatiques du facteur de nécrose tumorale et en interleukine-6	87
2.13. Examen histologique des organes.....	88
DISCUSSION	90
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	116
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	122
ANNEXES	166

Abréviations

CAT :	Catalase
CL :	Cholestérol libre
CT :	Cholestérol total
DT1 :	Diabète de type 1
DT2 :	Diabète de type 2
EC :	Esters de cholestérol
ERO :	Espèces réactives de l'oxygène
GSH :	Glutathion réduit
GSH-Px :	Glutathion peroxydase
GSSH-Red :	Glutathion réductase
HbA₁C :	Hémoglobine glycosylée
HDL :	Lipoprotéines de haute densité
IL-6 :	Interleukine 6
LCAT :	Lécithine : cholestérol acyletransférase
LDL :	Lipoprotéines de faible densité
LPL :	Lipoprotéine lipase
<i>Lu :</i>	<i>Linum usitatissimum</i>
MCV :	Maladies cardiovasculaires
MDA :	Malondialdéhyde
PL :	Phospholipides
SOD :	Superoxydédismutase
STZ :	Streptozotocine
TBARS :	Substances réactives à l'acide thiobarbiturique
TG :	Triglycérides
TNF-α :	Tumor Necrosis Factor-alpha
VLDL :	Lipoprotéines de très faible densité

Liste des tableaux

Tableau I.	Exemples de radicaux libres.....	16
Tableau II.	Antioxydants non enzymatiques.....	19
Tableau III.	Antioxydants enzymatiques.....	19
Tableau IV.	Caractéristiques de la streptozocine.....	26
Tableau V.	Modes d'actions de quelques plantes antidiabétiques.....	29
Tableau VI.	Effets de quelques plantes hypoglycémiantes et/ou de leurs produits chez des animaux rendus diabétiques.....	30
Tableau VII.	Les flavonoïdes à effet antidiabétique.....	32
Tableau VIII.	Les saponosides à effet antidiabétique.....	32
Tableau IX.	Les alcaloïdes à effet antidiabétique.....	33
Tableau X.	Les glycosides à effet antidiabétique.....	34
Tableau XI.	Caractéristiques botaniques de <i>Linum usitatissimum</i>	39
Tableau XII.	Bienfaits potentiels du lin pour la santé.....	40
Tableau XIII.	Composition des régimes (g/kg régime).....	47
Tableau XIV.	Composition phytochimique des extraits de <i>L. usitatissimum</i> préparés dans différents solvants à polarité différents.....	59
Tableau XV.	Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux des différents extraits de la graine de lin (<i>Lu</i>).....	60
Tableau XVI.	Valeurs des IC ₅₀ des différents extraits de la graine de lin (<i>Lu</i>).....	64
Tableau XVII.	Poids relatif des organes.....	66
Tableau XVIII.	Insulinémie et hémoglobine glycosylée (HbA ₁ C).....	67
Tableau XIX.	Concentrations plasmatiques et urinaires en urée, créatinine et acide urique plasmatique.....	68
Tableau XX.	Activités enzymatiques des transaminases et de la phosphatase alcaline plasmatiques.....	69
Tableau XXI.	Teneurs en cholestérol total plasmatique et répartition au niveau des lipoprotéines.....	72
Tableau XXII.	Teneurs en triglycérides plasmatiques et répartition au niveau des lipoprotéines.....	73
Tableau XXIII.	Concentrations plasmatiques en Apo A-I et Apo B et rapports d'athérogénicité.....	80
Tableau XXIV.	Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT) et teneurs en apo- HDL ₃ , PL-HDL ₃ , CL-HDL ₃ et EC-HDL ₂	81

Annexes

Tableau XXV.	Pouvoir piégeur du radical DPPH des différents extraits de <i>L. usitatissimum</i> et de l'acide ascorbique.....	166
Tableau XXVI.	Pouvoir piégeur du radical superoxyde des différents extraits et de l'acide ascorbique.....	166
Tableau XXVII.	Pouvoir réducteur du fer des différents extraits de <i>L. usitatissimum</i> et de l'acide ascorbique.....	167
Tableau XXVIII.	Croissance pondérale des animaux et la nourriture ingérée.....	167
Tableau XXIX.	Evolution de la glycémie	168
Tableau XXX.	Teneurs en protéines et en lipides du foie et du plasma.....	168
Tableau XXXI.	Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL.....	169
Tableau XXXII.	Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL ₁	169
Tableau XXXIII.	Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₂	170
Tableau XXXIV.	Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₃	170
Tableau XXXV.	Concentrations en TBARS des érythrocytes et du plasma.....	170
Tableau XXXVI.	Concentrations en TBARS tissulaires	171
Tableau XXXVII.	Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires	171
Tableau XXXVIII	Activité des enzymes antioxydantes tissulaires.....	172
Tableau XXXIX.	Concentration plasmatiques en facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et en interleukine-6 (IL-6).....	173

Liste des figures

Fig. 1 : Représentation schématique du pancréas.....	4
Fig. 2 : Transduction cellulaire après fixation de l'insuline.....	8
Fig. 3 : Echange de triglycérides et de cholestérol entre les sous-classes de lipoprotéines et transformation des LDL et des HDL en particules plus petites, chez le diabétique.....	13
Fig. 4 : Relation entre hyperglycémie et stress oxydant.....	18
Fig. 5 : Régulation des ERO par les antioxydants.....	21
Fig. 6 : Etiologie du diabète de type 1.....	22
Fig. 7 : Fleurs de lin, capsules à maturité et leurs contenus en graines.....	39
Fig. 8 : Principe du dosage de l'insuline par la méthode EIA de type compétitive.....	48
Fig. 9 : Séparation des différentes fractions de lipoprotéines.....	53
Fig. 10 : Purification des différentes fractions de lipoprotéines	54
Fig. 11 : Pouvoir piégeur du radical DPPH par les différents extraits de <i>L. usitatissimum</i> et de l'acide ascorbique.....	61
Fig. 12 : Pouvoir piégeur du radical superoxyde par les différents extraits de <i>L. usitatissimum</i> et de l'acide ascorbique.....	62
Fig. 13 : Pouvoir réducteur du fer des différents extraits de <i>L. usitatissimum</i> et de l'acide ascorbique.....	63
Fig. 14 : Croissance pondérale des animaux et la nourriture ingérée.....	65
Fig. 15 : Evolution de la glycémie.....	67
Fig. 16 : Teneurs en protéines et en lipides du foie et du plasma.....	70
Fig. 17 : Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL.....	74
Fig. 18 : Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL ₁	76
Fig. 19 : Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₂	78
Fig. 20 : Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL ₃	79
Fig. 21 : Concentrations en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) des erythrocytes et du plasma.....	82
Fig. 22 : Concentration en TBARS tissulaires.....	83
Fig. 23 Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires	84
Fig. 24 Activité des enzymes antioxydantes tissulaires	86
Fig. 25 Concentrations plasmatiques en facteur de nécrose tumorale et en interleukine-6 ...	87
Fig. 26 Etude histologique des organes.....	89

Introduction

Les maladies cardiovasculaires (MCV) représentent la première cause de morbi-mortalité des patients diabétiques : 80 % des décès de ces malades sont en rapport direct avec une maladie vasculaire (**OMS, 2015**). Les anomalies métaboliques du diabète sucré constituent non seulement des signes biologiques informatifs, mais aussi des facteurs de complications dégénératives (**Kautzky-Willer et al., 2016**). Le diabète est aujourd’hui une maladie métabolique grave menaçant, d’une manière croissante la santé publique dans le monde (**Kebièche et al., 2011**).

Le diabète de type 1 (DT1) autrefois appelé diabète insulino-dépendant (ou encore le diabète juvénile) apparaît le plus souvent de manière brutale chez l’enfant ou chez le jeune adulte. Le **DT1** est une maladie auto-immune dans 90% des cas (10% idiopathiques) aboutissant à une destruction totale des cellules β des îlots de Langerhans (**Smith et al., 2017**). La prévalence du **DT1** est en constante augmentation, il s’agit d’un défaut primaire de sécrétion d’insuline par le pancréas, dont l’étiopathogénie est plurifactorielle. Même traité par l’insuline exogène, le diabète de type 1 induit, au fil de son évolution, un grand nombre de complications (métaboliques, cardiovasculaires, neurologiques...) (**Chilleli et al., 2013**).

L’Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estimait à 415 millions le nombre d’individus affectés en 2015. En Algérie, La prévalence nationale du diabète s’établit à 6,9%, selon les données du nouveau rapport 2017 de la Fédération internationale du diabète (FID). La marge d’incertitude statistique pour les personnes atteintes de diabète en Algérie s’établit entre 1,25 et 2,45 millions, correspondant à un taux de prévalence nationale compris entre 4,9 et 9,5% (**FID, 2017**).

La dyslipidémie associée au diabète constitue un facteur de risque des maladies cardiovasculaires (MCV) et contribue significativement à la morbidité et à la mortalité cardiovasculaire (**Feher, 2004**). Par ailleurs, les anomalies du métabolisme des lipides au cours du diabète sont caractérisées par des concentrations élevées en triglycérides, cholestérol total, C-LDL, et réduites en C-HDL (**Wilbert, 2014**). Ces altérations représentent l’une des complications les plus communes du diabète, observées chez environ 40% des patients diabétiques (**Ravi et al., 2005**).

L’hyperglycémie induit un stress oxydant, défini comme un déséquilibre de la balance entre la production de dérivés instables de l’oxygène (radicaux libres) et/ou une neutralisation insuffisante par les antioxydants (vitamines, oligoéléments, enzymes) (**Asmat et al., 2016**). **Kebièche et al., (2011)** ont étudié le rôle du stress oxydatif dans l’apparition et le développement des troubles chez les diabétiques, éventuellement *via* la formation des

radicaux libres oxygénés. Ces derniers sont responsables des altérations biologiques, ils inhibent, entre autre, la sécrétion d'insuline et interfèrent avec différentes étapes du couplage stimulus/sécrétion (**Bonnard et al., 2008**). Plusieurs études sur des lignées cellulaires *in vitro* ont démontré que le stress oxydatif inhibe la transduction du signal de l'insuline (**Kammoun et al., 2009**). Les effets délétères du stress oxydant sur les molécules permettent de comprendre son rôle dans un grand nombre de pathologies majeures (**Haskins et al., 2003**).

Plusieurs études ont montré une augmentation de la peroxydation lipidique au cours diabète, due au stress oxydatif, dont résulte une déplétion des systèmes protecteurs antioxydants (**Mishra et al., 2013**). Cependant, d'autres travaux ont indiqué qu'une supplémentation avec des antioxydants, réduit le stress oxydant, chez l'animal rendu diabétique (**Wu et al., 2006**) et chez les patients diabétiques (**Jain et al., 2000**).

Néanmoins, les cinq types d'antidiabétiques oraux actuellement utilisés pour le traitement du diabète de type 2 ne semblent pas améliorer le profil lipidique des patients (**Fisman et al., 2004**) et certains de ces médicaments possèdent même des effets secondaires. De même, l'insulinothérapie, traitement substitutif du déficit en insuline dans le diabète de type 1, garde des limitations importantes (**Mosnier-Pudar, 2000**).

Ainsi, de nouveaux agents thérapeutiques, relativement non toxiques, seraient nécessaires pour traiter l'hyperglycémie et corriger la dyslipidémie associée, et par conséquent, réduire le risque de complications cardiovasculaires dues au diabète.

Depuis toujours, les plantes médicinales ont été utilisées pour prévenir ou traiter diverses pathologies, dont le diabète (**Rai et al., 2007 ; Asif, 2014 ; Michel & Sapana, 2017**). La recherche sur les substances naturelles est un thème porteur depuis quelques années et les laboratoires pharmaceutiques, toujours à la recherche de nouveaux composés actifs, se tournent vers l'identification et la caractérisation de molécules naturelles pour la synthèse de nouveaux médicaments.

Selon des études ethnopharmacologiques, plus de 1200 plantes sont utilisées à travers le monde, en médecine traditionnelle, pour leurs activités hypoglycémiantes. L'effet hypoglycémiant de certaines de ces plantes et/ou de leurs produits a été étudié et confirmé dans de nombreuses études, chez des animaux rendus diabétiques (**Jasmine & Daisy, 2007 ; Krouf et al., 2008 ; Taleb-Senouci et al., 2009 ; Zennaki et al., 2009 ; Baragob et al., 2014 ; Kumar et al., 2015 ; Mousavi et al., 2016**) ainsi que chez des patients diabétiques (**Ludvik et al., 2003 ; Herrera-Arellano et al., 2004 ; Jayawardena et al., 2005**).

Parmi les plantes antidiabétiques, certaines possèdent des propriétés hypolipémiantes (Xie *et al.*, 2005 ; Taniguchi *et al.*, 2006 ; Ramesh *et al.*, 2013 ; Kazemian *et al.*, 2015), et d'autres, des effets antioxydants (Ardestani & Yazdanparast, 2006 ; Yazdanparast *et al.*, 2007).

Dans ce travail, nous nous sommes proposés d'étudier les activités biologiques de la graine *Linum usitatissimum* (*Lu.*). Cette plante connue sous le nom de «**Zeriât El Kitten**» au Maghreb est utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de nombreuses pathologies, dont le diabète. Des travaux antérieurs ont rapporté l'effet hypoglycémiant (Arumugam *et al.*, 2013 ; Tjeck *et al.*, 2017) et hypolipémiant (Ciocoiu *et al.*, 2009 ; Guenzet *et al.*, 2013) de certaines plantes, chez le rat rendu diabétique par la streptozotocine (STZ).

Le modèle expérimental utilisé dans cette étude est le rat Wistar rendu diabétique par injection de STZ, agent chimique largement employé pour l'induction du diabète de type 1, par destruction sélective des cellules β des îlots de Langerhans.

Dans cette étude, nous nous sommes fixés quatre objectifs :

Le premier objectif concerne l'effet de la graine de Lin *Linum usitatissimum* sur les marqueurs du diabète tels que, la glycémie, l'insulinémie et l'hémoglobine glycosylée.

Le deuxième objectif porte sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines ainsi que l'activité des enzymes qui y sont impliquées, afin de vérifier si le traitement avec les graines de lin corrige la dyslipidémie associée au diabète et d'essayer de comprendre les mécanismes mis en jeu.

Le troisième objectif porte un intérêt particulier à l'évaluation du statut redox, puisque la relation entre stress oxydant, genèse du diabète et ses complications, est certaine. L'effet protecteur ou non de la graine de lin vis-à-vis de l'attaque radicalaire sera donc examiné.

Le quatrième objectif porte sur l'impact de la supplémentation dans les régimes de la graine de lin sur les altérations histopathologiques tissulaires au cours du diabète expérimental induit par la streptozotocine. De plus, les propriétés anti-inflammatoires de cette graine et sa capacité à moduler le fonctionnement du système immunitaire, est étudié.

Les résultats sont précédés d'une revue bibliographique concernant le diabète et ses conséquences sur le métabolisme des lipides d'une part, et sur les statuts du stress oxydant et de l'inflammation, d'autre part. De plus, l'effet des plantes médicinales dans la régulation de la glycémie et le traitement du diabète et de ses complications est également abordé.

*Revue
bibliographique*

1. Etude du diabète

Le diabète sucré résulte d'un dysfonctionnement partiel ou total de l'hormone antidiabétique l'insuline sécrétée en totalité par le pancréas.

1.1. Le pancréas

Le pancréas est une glande abdominale, annexée au tube digestif, appartenant à la cavité péritonéale située derrière l'estomac, devant et au-dessus des reins. Chez l'homme, le pancréas avoisine les 15 cm de long pour une masse allant de 70 à 100 g. C'est la deuxième glande la plus grosse en volume après le foie. Le pancréas comporte deux parties distinctes tant au niveau anatomique que fonctionnel : une partie exocrine et une partie endocrine (Fig. 1) (Papin, 2009).

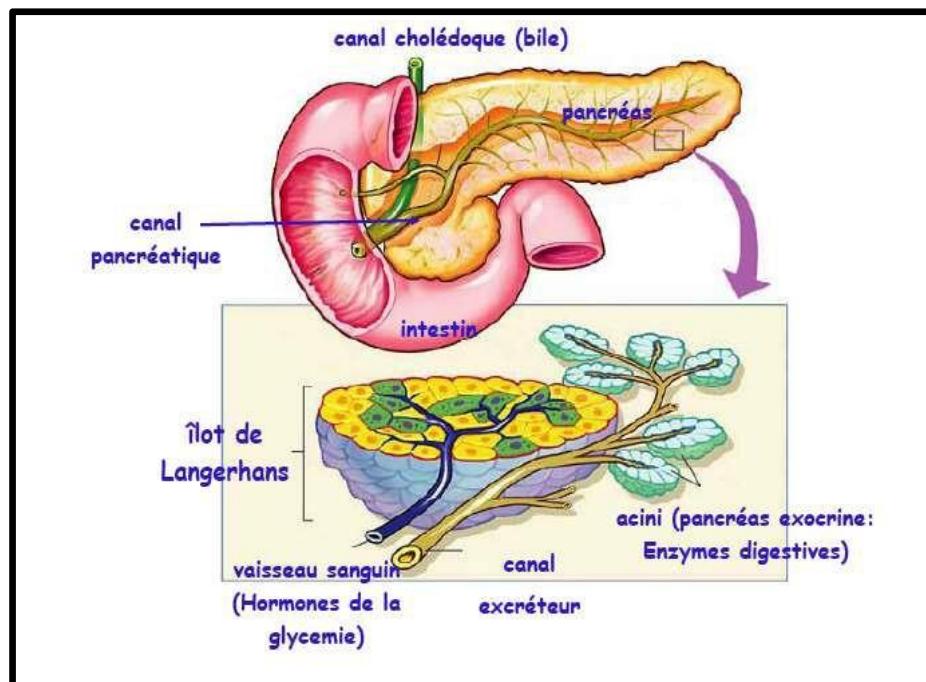


Fig. 1. Représentation schématique du pancréas (porcher, 2014).

1.1.1. Le pancréas exocrine

Le pancréas exocrine est l'organe qui sécrète la grande quantité d'enzymes par rapport à sa masse ; ces enzymes responsables de la dégradation des aliments en éléments simples (oligopeptides; oligosaccharides et monoglycérides) qui peuvent être digérés et absorbés par l'intestin (Reichert & Rustji, 2011).

La suppression de cette fonction entraîne des désordres graves de la digestion et de l'absorption intestinale, le pancréas exocrine représente 90% de la masse parenchymateuse

comme les glandes salivaires ; il est composé de cellules glandulaires groupées en acini à l'intérieur des lobules. Ces cellules zymogènes responsables de sécrétion des enzymes pancréatiques (**Garcia et al., 2008**).

Le produit de sécrétion est déversé dans des canaux excréteurs (cellules canalaires responsables de la majeure partie de sécrétion hydro électrolytiques du pancréas) dont le principal est celui de Wirsung qui se jette dans le duodénum (**Reichert & Rustji, 2011**).

1.1.2. Le pancréas endocrine

Langerhans a décrit les îlots pour la première fois en **1869** et indique que c'est un amas de cellules polygonales d'aspect homogène. Mais, c'est l'histologiste français **Laguesse** en **1893** qui a montré son rôle endocrine (**Cabrera et al., 2006**).

1.1.2.1. Histologie

Le rôle endocrine du pancréas est dévolu à des amas de cellules disséminés dans l'organe, les îlots de Langerhans. Chaque îlot, de forme plus ou moins sphérique, mesure environ 200 à 400 µm de diamètre et contient plusieurs milliers de cellules. Le pancréas contient environ un million d'îlots dispersés dans toute la glande, mais plus nombreux dans la queue de l'organe (**Brissova et al., 2006**).

Les îlots de Langerhans sont entourés d'une fine enveloppe de réticuline qui ne les sépare qu'à peine des acini. Leur structure est celle d'une glande endocrine trabéculée. Ils sont très richement vascularisés par un réseau capillaire très dense (**Cabrera et al., 2006**).

Les colorations histologiques traditionnelles montrent de discrètes différences de taille entre les cellules, dont certaines contiennent des granulations basophiles (cellules B) et les autres des granulations acidophiles (cellules A) (**Cabrera et al., 2006**).

La microscopie électronique et surtout l'immunocytochimie révèlent l'existence de quatre types cellulaires dans les îlots de Langerhans : les cellules A, B, D et PP (**Cabrera et al., 2006**).

- **Les cellules A:** qui constituent environ 20% de la population, sont grandes et contiennent des granulations α insolubles dans l'alcool. En microscopie électronique, il s'agit de vésicules de 230 nm de diamètre contenant un volumineux granule dense, les cellules A sont situées surtout en périphérie des îlots (**Garcia et al., 2008**).
- **Les cellules B:** sont les plus nombreuses (75%), plus petites, elles occupent le centre de l'îlot. Leurs granulations β sont solubles dans l'alcool et en microscopie

électronique, apparaissent comme des vésicules de 270 nm de diamètre contenant des granulations cristallines irrégulières (**Reichert & Rustji, 2011**).

- **Les cellules D** : peu fréquentes (5 %), contiennent de grosses granulations (330nm) peu denses, encloses dans une membrane (**Reichert & Rustji, 2011**).
- **Les cellules PP** : récemment mises en évidence par immunocytochimie, sont très mal connues. Leurs vacuoles sont de petites tailles (150nm) et ont un contenu dense. Elles sont responsables de la sécrétion du peptide pancréatique (**Reichert & Rustji, 2011**).

1.2. Physiologie de la cellule β et sécrétion d'insuline

1.2.1. Insuline

L'insuline est produite dans les cellules β qui constituent 75% des îlots de Langerhans du pancréas (**Sambo, 2005**). C'est la seule hormone hypoglycémiant de l'organisme, elle favorise la disparition du glucose du milieu extracellulaire ainsi que sa captation par les tissus. Les perturbations de sa sécrétion entraînent une intolérance aux glucides et conduit au diabète (**Amadou, 2006**).

1.2.2. Définition et biosynthèse

L'insuline est un polypeptide hormonal, formé par deux chaînes peptidiques A (acide) et B (basique) réunies par des ponts disulfures et secrété par les cellules β des îlots de Langerhans (pancréas endocrinien) sous forme de pré-pro-insuline. Ce précurseur est une molécule de 98 acides aminés (AA). Par élimination des 16 AA du peptide signal en position N-terminal, le précurseur se transforme en pro-insuline (poids moléculaire (PM) = 12000 Daltons) qui est également une longue chaîne aminoacide comprenant trois parties de l'extrémité N-terminale à l'extrémité C-terminale : une chaîne de 30 AA dites de chaîne B ; un peptide de 31AA ou peptides de connexion (peptide C) et une chaîne A. Par coupure enzymatique, le peptide C est détaché de l'ensemble et les deux chaînes sont reliées par deux ponts sulfures, ce qui constitue la molécule d'insuline définitive de PM 6000 (**Amadou, 2006**).

1.2.3. Actions physiologiques de l'insuline

L'insuline stimule le processus anabolique et la mise en réserve de l'énergie. Elle agit essentiellement sur 3 organes cibles et sur le métabolisme glucidique et lipidique des divers

tissus périphériques. Son action métabolique générale s'exerce en favorisant l'entrée de certains substrats dans les cellules et en agissant sur le métabolisme cellulaire de ces substrats (Fig. 2) (Idelman, 2000).

- *Effet sur le foie*

Le foie est le siège de la néoglucogenèse (Verne & Hebert, 1964). Le glucose y est produit à partir de précurseurs issus du catabolisme protidique et lipidique. L'insuline stimule la synthèse de la glucokinase, qui est une hexokinase spécifique du foie, favorisant la formation du Glucose 6 Phosphate (G6P) et sa transformation en glycogène (augmentant son effet hypoglycémiant) ou son utilisation (glycolyse). Elle stimule aussi la lipogenèse hépatique et inhibe l'effet cétogène du glucagon (Soman & Felig, 1977). L'insuline possède également sur les protides une action à la fois anabolique et anti-catabolique. De plus, des études ont mis en question l'insulino-sensibilité du foie en mettant en évidence que la production hépatique de glucose diminuait lentement quand l'insulinémie systémique, et non portale, augmentait (Bergman, 2000).

- *Effets sur le tissu adipeux*

Le tissu adipeux constitue le principal réservoir d'énergie de l'organisme et la source des acides gras libres (AGL). Par ailleurs, ces derniers, dont la diminution de concentration plasmatique est fortement corrélée à la suppression de la production hépatique de glucose, sont connus pour stimuler la gluconéogenèse (Van kempen *et al.*, 2006). Enfin l'insuline, diminue la libération des AGL par le tissu adipeux en inhibant la lipolyse et en favorisant la lipogenèse (Mittelman & Bergman, 2000). Ainsi, le mode de contrôle de la production hépatique de glucose par l'insuline peut être d'une part indirect, par la régulation de la libération des acides gras non estérifiés à partir des adipocytes et d'autre part, direct, *via* la néoglucogenèse (Ishiki & Klip, 2005).

- *Effets sur le muscle strié (squelettique et cardiaque)*

L'insuline stimule la synthèse du glycogène par stimulation de l'hexokinase, mais elle stimule surtout la glycolyse. Elle inhibe la protéolyse et la lipolyse musculaires et favorise le transport actif de certains acides aminés à travers la membrane cellulaire (Idelman, 2000).

- *Effets périphériques (adipocytes et muscles)*

L'insuline stimule le transport du glucose par l'intermédiaire des transporteurs du glucose. Parmi les différentes formes de transporteurs actuellement identifiées : Glut 1 à Glut 6, seul le Glut 4, présent principalement dans les tissus adipeux et musculaires, voit son activité et sa synthèse accrues par l'effet de l'insuline (Scheepers *et al.*, 2004 ; Ishiki & Klip,

2005). Les Glut1 ubiquitaires sont, pour l'essentiel, régulés par la concentration du glucose assurant ainsi un apport énergétique aux tissus dont la fourniture en glucose est vitale (système nerveux et le placenta) en particulier (Wiernsperger, 2005).

Les Glut 2, présents dans le foie et les cellules β pancréatiques, sont régulés par la glycémie et non par l'insuline (Milburn *et al.*, 1993). Le glucose est transformé ensuite en G6P dont les 3 voies métaboliques (glycolyse, voie des pentoses phosphates et glycogénogenèse) sont stimulées par l'insuline. De plus, en stimulant la lipogenèse, l'insuline augmente la cholestérolémie. Enfin sur les protéines, l'insuline exerce un double effet anabolique et anti catabolique (Timmerman, 2008).

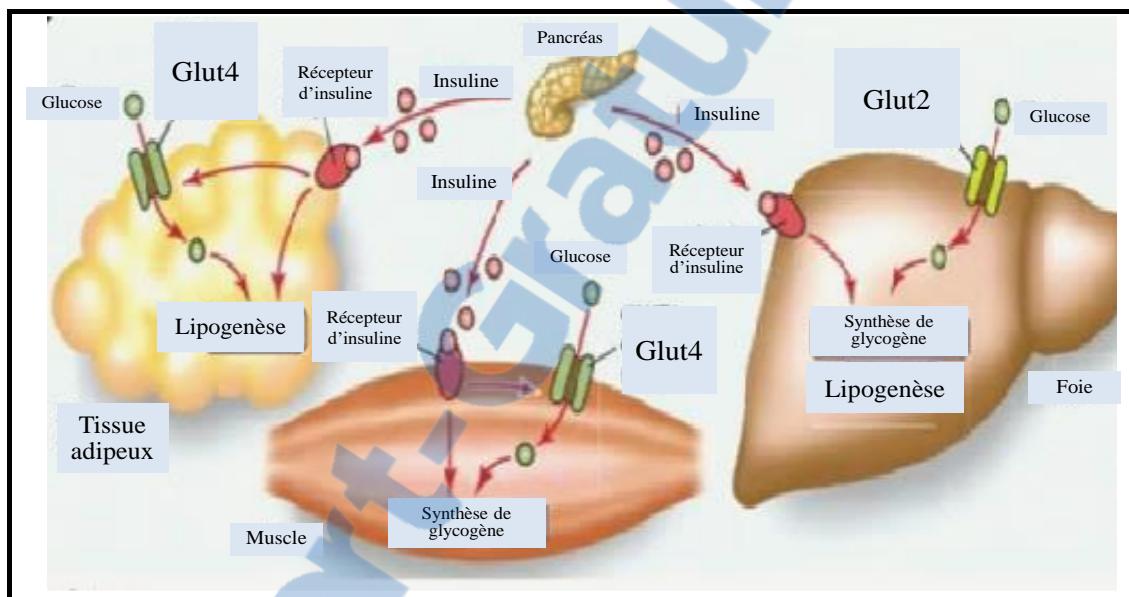


Fig. 2. Transduction cellulaire après fixation de l'insuline (Huang & Czech, 2007).

2. Définition et diagnostic du diabète sucré

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques, d'étiologie diverse, caractérisées par une hyperglycémie chronique, accompagnées d'une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées. Cette hyperglycémie provoque des complications métaboliques aigues et chroniques dégénératives (Rodier, 2001 ; ADA, 2008).

Une personne est diagnostiquée comme étant diabétique quand elle présente une glycémie à jeun de 126 mg/L et plus ou 7,00 mmol/L, avec des symptômes du diabète associées avec une glycémie plasmatique occasionnelle de 200 mg/dL (11,1 mmol/L); ou une glycémie de 200 mg/dL (11,1 mmol/L) 2h après une charge de 75 g de glucose prise par voie

orale (**ADA, 2008**). Il y a quelques symptômes communs associés avec le diabète, incluant la polydipsie (soif excessive), polyurie (urines abondantes), polyphagie (faim excessive), fatigue, perte de poids inhabituel, infections vaginales pour les femmes atteintes de cette maladie, irritabilité, vision floue. Dans son dernier rapport, le Comité d'expert ADA, recommande aussi l'utilisation du test de l'hémoglobine glyquée ($\text{HbA1C} \geq 6.5\%$), comme critère pour le diagnostic du diabète sucré (**Rodier, 2001**).

2.1. Epidémiologie

Le nombre des personnes atteintes de diabète ne cesse d'augmenter. Il est passé de 108 millions en 1980 à 422 millions en 2014. Ce chiffre devrait continuer de croître pour atteindre 622 millions en 2040. La prévalence mondiale du diabète chez les adultes de plus de 18 ans est passée de 4,7% en 1980 à 8,5% en 2014 (**OMS, 2016**).

En 2012, on a estimé que 1,5 million de décès étaient directement dû au diabète et que 2,2 millions de décès supplémentaires devaient être attribués à l'hyperglycémie. Près de la moitié des décès dû à l'hyperglycémie surviennent avant l'âge de 70 ans. L'OMS prévoit qu'en 2030, le diabète sera la septième cause de décès dans le monde avec un coût économique de 612 milliards d'US dollar durant l'année 2014 (**OMS, 2016**).

Cependant, environ 1,8 million de personnes sont atteintes de diabète en Algérie, avec une prévalence nationale du diabète établie à 6,9%, selon les données du nouveau rapport 2017 de la Fédération internationale du diabète (FID), «l'Atlas du diabète», publié dans le cadre de la journée mondiale du diabète. Dans le détail, la marge d'incertitude statistique pour les personnes atteintes de diabète en Algérie s'établit entre 1,25 et 2,45 millions, correspondant à un taux de prévalence nationale compris entre 4,9 et 9,5%. Ce chiffre pourrait atteindre jusqu'à 2 millions 850 milles en 2030, avec une augmentation de 61 milles nouveaux cas recensés par an.

À l'échelle mondiale, près d'un demi-milliard de personnes souffrent actuellement de diabète. 327 millions de diabétiques ont entre 20 et 64 ans, tandis que 123 millions ont plus de 65 ans. Chez les pays voisins, environ 1,65 million de personnes sont atteintes de diabète au Maroc tandis que 762.000 personnes sont diabétiques en Tunisie. La prévalence mondiale, déclarée par la FID peut augmenter à plus 9,3% en 2030 (**Whiting, 2011**).

Pour le diabète de type 1, 42 500 cas ont été diagnostiqués chez les enfants et les adolescents en Algérie en 2017. 3800 nouveaux cas de diabète de type 1 sont apparus en Algérie durant cette même année chez les enfants et adolescents de moins de 20 ans, dont 2900 cas chez les enfants et adolescents de moins de 15 ans. Statistiquement, 26 nouveaux cas de diabète de type 1 sont décelés chez les personnes de moins de 20 ans par tranche de

100.000 habitants. « L'Algérie (42.500), l'Arabie saoudite (35.000) et le Maroc (31.800) sont les pays qui comptent le plus grand nombre de cas de diabète de type 1 chez les enfants et les adolescents (0-19 ans) en 2017 », explique le rapport de la FID, qui indique en outre que ces pays enregistrent également le plus grand nombre de nouveaux cas de diabète de type 1 chez les enfants et les adolescents.

Dans la région de Tlemcen, l'étude épidémiologique réalisée par **Zaoui et al., 2007** sur un échantillon de population de 7656 personnes, a révélé une prévalence globale de diabète de 14,2%.

Le diabète de type 1 est environ 10 fois moins fréquent que le diabète de type 2 (200 000 diabétiques de type 1 *versus* 2 millions de diabétiques de type 2 en France). Son incidence augmente, suggérant l'implication de facteurs environnementaux. Il concerne essentiellement les sujets jeunes, et il est découvert le plus souvent sur un mode aigu (syndrome cardinal, acido-cétose). A l'échelle mondiale, le nombre de patients diabétiques est en augmentation spectaculaire ces dernières années.

2.2. Classification

L'association Américaine du diabète a classé le diabète en 4 catégories importantes depuis 1997, le diabète de type 1, le diabète de type 2, le diabète gestationnel et les autres types spécifiques de diabète (**ADA, 2015**).

2.2.1. Diabète de type 1

Autrefois appelé diabète insulino-dépendant (DID, ou encore diabète juvénile), cette maladie est une forme de diabète sucré qui apparaît le plus souvent de manière brutale chez l'enfant ou chez le jeune adulte. Il se caractérise par une émission d'urine excessive (polyurie), une soif intense (polydipsie) et un appétit anormalement augmenté (polyphagie). Il a aussi pour conséquence un amaigrissement malgré une prise de nourriture abondante, une hyperglycémie supérieure à 2 g/L (la limite supérieure étant de 1,26 g/L à jeun) avec parfois présence d'acétone dans les urines et d'une haleine «de pomme reinette» caractéristique (**Forouhi & Wareham, 2014**).

Le diabète de type 1 est dû à une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices dites cellules β . L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20% de cellules β fonctionnelles. Le processus auto-immun responsable d'une «insulite» pancréatique se déroule sur de nombreuses années (5 à 10 ans voire plus, avant l'apparition du diabète). Cette réaction auto-immune survient sur un terrain de susceptibilité génétique à la suite de

facteurs déclenchant et peut être dépistée avant l'apparition de l'hyperglycémie par des dosages sanguins d'auto-anticorps (**Notkins & Lernmark, 2001**).

2.2.2. Diabète type 2

C'est la forme de diabète la plus répandue représentant près de 90% des cas diagnostiqués. Il survient le plus souvent chez l'adulte. Le diabète de type 2 est caractérisé par une altération de l'insulino-sécrétion et des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles (insulino-sensibilité). Il résulte de la conjonction de plusieurs gènes de susceptibilité, dont l'expression dépend de facteurs environnementaux comme la consommation excessive de graisses saturés, de sucres rapides, la sédentarité et l'obésité. L'histoire familiale et l'appartenance à un groupe ethnique à risque sont des facteurs de risques majeurs de développer un diabète de type 2 (**Haffner, 1998**).

2.2.3. Diabète gestationnel

Cette forme de diabète est généralement transitoire et disparaît dans les semaines suivant l'accouchement. Les femmes qui ont souffert du diabète gestationnel risquent davantage de développer un diabète type 2 par la suite (**Naylor *et al.*, 1997**).

2.2.4. Autres types de diabète : diabète secondaire (spécifique)

Un diabète sucré peut être secondaire à une pancréatopathie (pancréatite chronique ou aiguë, tumeur, l'hémochromatose), à diverses endocrinopathies (phéochromocytomes, acromégalie, syndrome de Cushing, hyperthyroïdie, tumeurs endocrines pancréatiques et digestives) à des dysfonctionnements d'origine génétique des cellules β (diabète MODY: Maturity Onset Diabetes of the Young) et diabète mitochondrial (**Sivitz & Yorek, 2010**).

3. Diabète et dyslipidémie

Le diabète est associé à un risque de 3 à 4 fois plus élevé de maladie cardiovasculaire (MCV) et les événements cardiovasculaires aigus sont responsables de la moitié des décès chez les patients diabétiques (**Shen, 2010**).

L'hypercholestérolémie est l'un des facteurs de risque majeur des maladies cardiovasculaires (MCV) et il est bien établi que la dyslipidémie ainsi que l'incidence de l'athérosclérose sont augmentées dans le diabète (**Noriega-Cisneros *et al.*, 2012**).

3.1. Anomalies lipidiques du diabétique

Quantitativement, les perturbations des teneurs des lipides sériques qui caractérisent la dyslipidémie diabétique sont dues à une surproduction de triglycérides par les VLDL (Very Low Density Lipoprotein) et une diminution du cholestérol HDL (High Density Lipoprotein) (**Bruno, 2007**). Cependant, les anomalies qualitatives, particulièrement athérogènes, comprennent une augmentation des VLDL enrichies en triglycérides, et une oxydation excessive des LDL (Low Density Lipoprotein) (**Adiels et al., 2006**).

3.1.1. Métabolisme des lipoprotéines de très faible densité (VLDL)

En situation de déséquilibre glycémique et d'insulinopénie relative, du fait de la lipolyse, une accumulation de substrats est observée au niveau du foie, et est responsable d'une synthèse accrue de VLDL et donc d'une hypertriglycéridémie. En situation de décompensation acido-cétosique lorsque l'insulinopénie est majeure, intervient essentiellement le déficit de la lipoprotéine lipase (LPL) insulinodépendante, responsable d'un défaut de clairance métabolique des chylomicrons et des VLDL responsables de l'hyperlipémie chez le diabétique (**Lewis et al., 2004**).

La surproduction des VLDL peut-être due à deux facteurs: l'incapacité de l'insuline à réduire leur synthèse hépatique et un flux accéléré d'acides gras en provenance du tissu adipeux vers le foie. Une résistance à l'insuline en serait la cause dans les deux cas. Un autre aspect de l'hypertriglycéridémie diabétique (qualitatif) est l'augmentation de la taille de la particule VLDL. 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) (**Fried & Rao, 2003**).

L'enrichissement des LDL et des HDL en triglycérides (TG) peut modifier leur comportement. En effet, ce type de lipoprotéines contribue au développement de la plaque d'athérome. De plus, l'hydrolyse des TG par la lipase hépatique transforme les LDL et les HDL en particules plus petites et plus denses qui représentent une forme de lipoprotéine athérogène (**Fig. 3**).

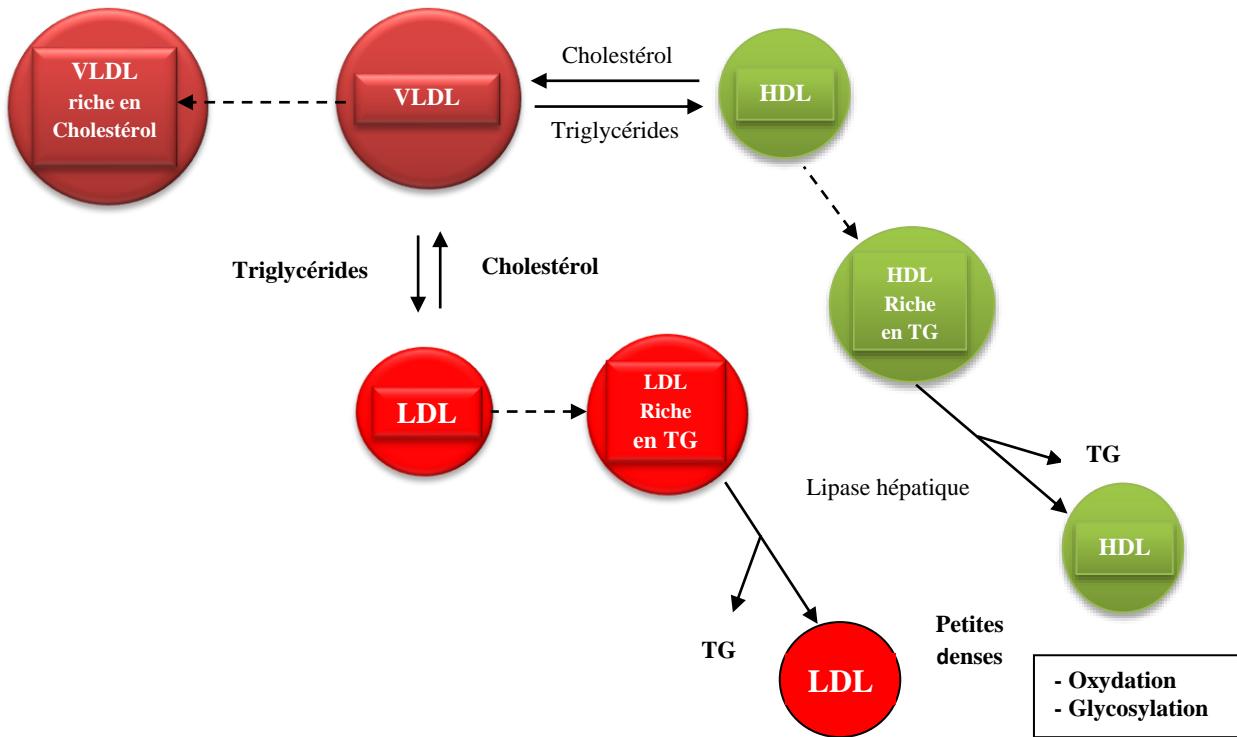


Fig. 3. Echange de triglycérides et de cholestérol entre les sous-classes de lipoprotéines et transformation des LDL et des HDL en particules plus petites, chez le diabétique (James, 2002).

3.1.2. Métabolisme des lipoprotéines de faible densité (LDL)

Les LDL proviennent de la transformation des VLDL par la lipoprotéine lipase, dont l'activité est réduite, et il en résulte une diminution de LDL. Un deuxième facteur à prendre en considération est le fait que les concentrations de LDL sont exprimées en fonction de leur teneur en cholestérol. Ainsi, un échange important de cholestérol et de TG entre les LDL et les lipoprotéines riches en TG *via* la CETP, se traduit par une diminution apparente des LDL et de leur diamètre.

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 (Carr *et al.*, 2002 ; Broedl *et al.*, 2004). 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 (ERO). 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.

Par ailleurs, il a également été démontré que les LDL de petite taille sont plus susceptibles aux modifications chimiques (oxydation, peroxydation, glycosylation), ce qui accentue davantage leurs propriétés physiopathologiques (**Ohmura et al., 2002**). Chez des sujets diabétiques de type 2, une relation inverse significative a été montrée entre la taille des particules LDL et leur niveau d'oxydation (**Scheffer et al., 2003**).

3.1.3. Métabolisme des lipoprotéines de haute densité (HDL)

Au cours de la dyslipidémie diabétique, la diminution du taux des HDL (HDL₂ essentiellement) est en partie la conséquence des liens métaboliques entre les HDL et les lipoprotéines riches en TG.

En effet, le transfert de constituants libérés lors du catabolisme des VLDL et des chylomicrons par la LPL, contribue à la réduction des HDL sériques et leur taux est abaissé lorsque le métabolisme des VLDL/chylomicrons est ralenti.

D'autre part, le transfert de 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.

Plus récemment, d'autres modifications fonctionnelles des HDL ont été révélées chez le patient diabétique. De nombreuses études ont démontré le rôle antioxydant des HDL. Cependant, la capacité antioxydante des HDL du diabétique, et notamment la protection des LDL contre l'oxydation est diminuée (**Hedrick et al., 2000**). Les causes de cette déficience ne sont pas encore établies, mais elles pourraient être liées, en partie, à une réduction de la paraoxonase, enzyme antioxydante (**Boemi et al., 2001**).

3.2. Oxydation et glycosylation des lipoprotéines

Les modifications oxydatives des lipoprotéines sont considérées comme étant la cause principale de leur transformation en particules athérogènes (**Steinberg, 1997**). Ces altérations chimiques donnent également les propriétés inflammatoires aux LDL.

Le patient diabétique semble soumis à un stress oxydatif plus important, en raison non seulement d'une production plus importante de molécules ou de dérivés prooxydants, mais également d'une diminution ou d'une altération des mécanismes de défense antioxydants (**Giugliano et al., 1996**). Plusieurs études ont noté un taux de LDL oxydées élevé chez le sujet diabétique (**Nourooz-Zadeh et al., 1995**).

Winer & Sowers, (2004) ont rapporté que l'hyperglycémie provoque une importante modification des lipoprotéines par peroxydation et glycation, due à la présence d'une grande quantité d'espèces réactives de l'oxygène. La glycation des apolipoprotéines (AI, AII, B, C et E) peut modifier la structure et les fonctions des lipoprotéines (**Halimi, 2000**).

4. Diabète et stress oxydant

Plusieurs études indiquent que l'augmentation du stress oxydatif et la production excessive de produits de glycation avancée au cours du diabète, conduisent à un dysfonctionnement endothélique qui contribue au développement des complications diabétiques (**Michel et al., 2008 ; Durackova et al., 2008**).

Il a été montré que les patients diabétiques présentent un stress oxydant important et des systèmes de défense antioxydante altérés, qui semblent contribuer à l'initiation et à la progression des complications chroniques associées au diabète (**Kang et al., 2005 ; Jin et al., 2008**).

4.1. Hyperglycémie et stress oxydant

L'hyperglycémie induit un stress, défini comme un déséquilibre de la balance entre la production de dérivés instables de l'oxygène (radicaux libres) et /ou une neutralisation insuffisante par les antioxydants (vitamines, oligoéléments, enzymes) (**Barbosa et al., 2008**). Par ailleurs, le stress oxydant peut être à l'origine du diabète de type1. **Kebiéche et al., (2011)** ont examiné le rôle du stress oxydatif dans l'apparition et le développement des troubles chez les diabétiques, éventuellement *via* la formation de radicaux libres oxygénés (**Fig. 4**).

Des concentrations anormalement élevées en glucose circulant peuvent induire un stress oxydant par le biais de divers mécanismes. En effet, l'hyperglycémie peut entraîner une suractivation de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie, dont résulte une surproduction d'anions superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) (**Brownlee, 2001**). L'altération de la chaîne respiratoire mitochondriale est une première cause de l'augmentation du stress oxydant.

Tableau I. Exemples de radicaux libres (**Barbosa et al., 2008**)

Radicaux libres oxygénés	
Radical superoxyde	$O_2^{\bullet-}$
Radical hydroxyle	$\cdot OH$
Radical peroxyde	RO_2^{\bullet}
Radical alkoxyle	RO^{\bullet}
Radical perhydroxyle	HO_2^{\bullet}
Radicaux libres azotés	
Monoxyde d'azote	$\cdot NO$
Dioxyde d'azote	$\cdot NO_2$

Un autre mécanisme par lequel l'augmentation du glucose peut générer un stress oxydant est l'auto-oxydation du glucose en présence de métaux de transition (cuivre, fer), ainsi que la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) au cours du processus de glycation (**Wolff et al., 1989**). La formation de produits d'Amadori et de glycation avancée (AGE : advanced glycation end products) à partir d'une base de Schiff, est accompagnée de réactions générant des ERO (**Kennedy & Lyons, 1997** ; **Yim et al., 2001**). Une fois formés, les AGE peuvent se lier à leurs récepteurs (RAGE) et produire des ERO, en particulier l'anion superoxyde (**Chappey et al., 1997** ; **Wautier et al., 2001**). Il a été rapporté que les AGE sont fortement impliqués dans les complications micro- et macrovasculaires du diabète (**Delattre et al., 2001**).

Par ailleurs, l'hyperglycémie active la voie des polyols entraînant une formation accrue d'anions superoxydes. En effet, le glucose à des concentrations intracellulaires anormalement élevées, est préférentiellement métabolisé en sorbitol par l'aldose réductase, enzyme qui utilise le NADPH pour son activité (**Ramana et al., 2003**).

Il a été également proposé que le stress carbonylé, qui implique les sucres et les lipides est à l'origine du stress oxydant au cours du diabète (**Baynes & Thorpe, 1999**). Le stress carbonylé est le résultat d'une augmentation des composés carbonylés réactifs. Celui-ci peut entraîner une importante modification chimique des protéines et à un état plus avancé un stress oxydant et des dommages tissulaires. Un défaut de détoxification des dérivés carbonylés par les enzymes de la voie des glyoxalase et de l'aldose réductase est supposé être

en partie responsable du stress carbonylé et du stress oxydant qui en résulte (**Bhor et al., 2004**).

En plus de l'hyperglycémie, d'autres facteurs sont susceptibles de générer un stress oxydant. Chez les patients diabétiques de type 2, l'hyperinsulinémie peut induire un stress oxydatif selon des mécanismes divers: l'insuline peut stimuler la production de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui peut indirectement activer les réactions d'oxydation.

L'insuline stimule aussi le système nerveux sympathique, ce qui entraîne l'activation de neurotransmetteurs et de leurs systèmes enzymatiques, certains d'entre eux induisant un stress oxydatif (**McCarty, 2002**). A côté de l'insuline, il a été rapporté que la leptine est également une hormone qui stimule le stress oxydant (**Yamagishi et al., 2001**).

L'augmentation des concentrations plasmatiques en triglycérides, en cholestérol et en acides gras libres est une caractéristique du diabète qui stimule la génération d'espèces réactives de l'oxygène (**Inoguchi et al., 2000**). Au niveau des parois vasculaires, l'afflux ou la formation de LDL oxydées représente un mécanisme central impliqué dans la pathogenèse de l'athérosclérose et de la dysfonction endothéliale (**Gül et al., 2003**).

Le monoxyde d'azote (NO) est à la fois un piègeur et un prooxydant lorsqu'il est attaqué par les radicaux libres oxygénés lesquels le transforment en peroxynitrite ($ONOO^-$) (**Pratico, 2005**). Le $ONOO^-$ est un agent oxydant potentiel très puissant, capable d'attaquer diverses molécules de l'endothélium vasculaire, du muscle lisse et du myocarde induisant une dysfonction cardiovasculaire (**Durmus et al., 2008**), en raison de sa rapide décomposition en dioxyde d'azote (NO_2) et en radical hydroxyle ($'OH$) (**Fonovich de Schroeder et al., 1998**). Des teneurs élevées en NO ont été rapportées dès le début du diabète et contribuent de façon significative au stress oxydant (**Wiernsperger, 2003**).

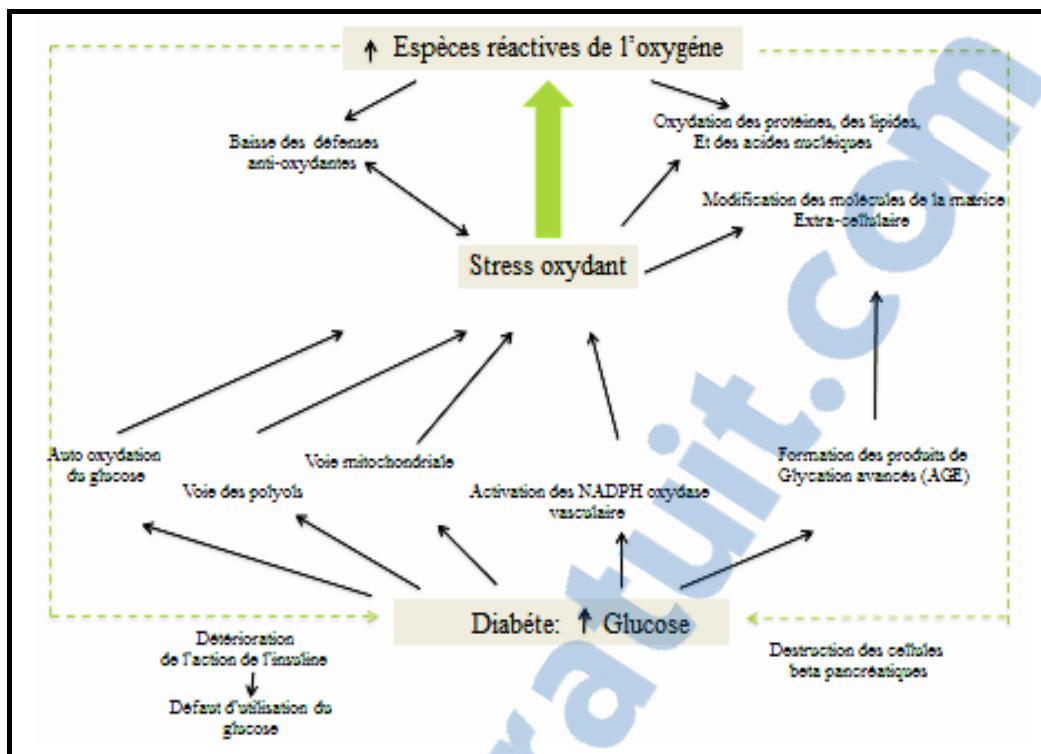


Fig. 4. Relation entre hyperglycémie et stress oxydant (Bonnefont-Rousselot, 2002).

4.2. Hyperglycémie et peroxydation lipidique

Plusieurs études ont montré une augmentation de la peroxydation lipidique au cours du diabète (Jin *et al.*, 2008), due au stress oxydatif résultant de la déplétion des systèmes protecteurs antioxydants. En effet, L'augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) stimule la production de peroxydes lipidiques qui se traduit par une élévation du malondialdéhyde (MDA) (Roy *et al.*, 2008). Cette peroxydation est suivie d'un changement structural des membranes biologiques ou d'autres éléments contenant des lipides (Stark, 2005 ; Al-Mutairi *et al.*, 2007). Par ailleurs, Tweeddale *et al.*, (2007) indiquent que la peroxydation lipidique est un mécanisme en chaîne de dégradation des acides gras membranaires qui conduit à la formation d'hydroperoxydes instables, responsables de la diminution de la fluidité membranaire 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 et le 4-hydroxynonenal (Pekiner *et al.*, 2002).

De plus, le glucose peut induire une lipoperoxydation par activation des lipooxygénases (Bhor *et al.*, 2004).

4.3. Hyperglycémie et potentiel antioxydant

L'hyperglycémie augmente non seulement la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) mais réduit aussi le potentiel antioxydant.

Dans les conditions physiologiques normales, des systèmes de défenses antioxydantes non enzymatiques, tels que le glutathion (GSH), l'albumine, la transferrine, les vitamines C et E et enzymatiques comme la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT), protègent l'organisme contre les effets délétères des radicaux libres (Fig. 5).

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

Endogènes	Les protéines thiols	Réagissent avec les espèces réactives de l'oxygène (cas de l'albumine).
	L'acide urique	Peut interagir avec espèces réactives de l'oxygène, en particulier avec le radical 'OH.
	La vitamine C (ascorbate)	Piégeur des ERO. Peut inhiber l'oxydation des LDL.
	La vitamine E (tocophérols)	Inhibe la propagation de la peroxydation lipidique au niveau des membranes et des lipoprotéines en piégeant les radicaux RO ₂ [·] . Capte les radicaux HO ₂ [·] , 'OH et ¹ O ₂
Exogènes	Les caroténoïdes	Capteurs de radicaux 'OH et RO ₂ [·] et donc inhibiteurs de la peroxydation lipidique. Piégeurs de l'oxygène singulet (¹ O ₂).
	Les polyphénols	Inhibent la peroxydation lipidique en piégeant les radicaux RO ₂ [·] et 'OH. Chélateurs de métaux susceptibles de générer des radicaux libres (Fe, Cu).
Endogènes/ exogènes	Le glutathion	Capteur des radicaux 'OH et du H ₂ O ₂ . Substrat de la GSH-Px.
	Le coenzyme Q10	Capteur des radicaux libres et inhibiteur de la peroxydation lipidique.

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

Supéroxydes dismutases (Cu-ZnSOD) et (MnSOD)	Assure l'élimination de l'anion superoxyde.
Catalase (CAT)	Décompose le H ₂ O ₂ produit par la SOD.
Glutathion peroxydase (GSH-Px)	Réduit le H ₂ O 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 ₂ O ₂ et les hydroperoxydes lipidiques.
Thiorédoxine réductase (TRxRed)	Réduit la TRx oxydée. Dégrade les peroxydes lipidiques et le H ₂ O ₂ .

Le statut antioxydant cellulaire détermine la susceptibilité aux dommages oxydatifs, et est habituellement altéré en réponse à un stress oxydant (**Bhor et al., 2004**). En effet, la production accrue de radicaux libres oxygénés au cours du diabète est due à une diminution de la disponibilité des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (**Kang et al., 2005**).

De nombreuses études ont montré une altération des enzymes antioxydantes durant le diabète (**Genet et al., 2002** ; **Preet et al., 2005**). L'hyperglycémie peut inactiver ces enzymes par le biais des espèces réactives de l'oxygène et/ou par glycation (**Morgan et al., 2002**). De plus, le stress oxydant agit sur les signaux de transcription et *via* le facteur NF-kB affecte l'expression de certains gènes. De ce fait, l'expression des enzymes antioxydantes peut être réduite.

Dans le diabète, la diminution des activités de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (CAT) peut entraîner une accumulation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) capable de générer des radicaux hydroxyles ($\cdot OH$).

La glutathion peroxydase (GSH-Px) a un rôle important dans la réduction du H_2O_2 en présence de glutathion réduit (GSH) et protège ainsi les membranes et les protéines cellulaires contre le stress oxydatif. Cette enzyme a un rôle clé dans les systèmes de défense enzymatiques et réduit les peroxydes organiques en leurs alcools correspondants. Dans le diabète, la diminution de l'activité de la GSH-Px est due à son inactivation par les ERO qui sont augmentées.

La réduction de cette activité enzymatique peut aussi être due à une diminution de son substrat, le glutathion (GSH) (**Jin et al., 2008**). En effet, il est bien admis que l'élévation de la concentration en glucose altère le métabolisme du GSH et réduit les défenses antioxydantes naturelles telle que la vitamine C (**Prakasam et al., 2004**).

Le glutathion est principalement synthétisé par le foie et représente le premier système de défense antioxydant non enzymatique des cellules. Il intervient dans la synthèse d'importantes macromolécules et avec la glutathion peroxydase dans la protection contre les espèces réactives de l'oxygène (**Yue et al., 2003**). La diminution de la concentration en GSH dans le diabète est probablement due à la génération des ERO d'une part, et à son importante utilisation, d'autre part (**Tunali & Yanardag, 2006**). En éliminant ces espèces, le GSH est oxydé en glutathion disulfure (GSSG), lequel est recyclé en GSH en présence de la glutathion réductase (GSSH-Red) et du NADPH.

En effet, les concentrations anormalement élevées en glucose circulant peuvent induire un stress oxydant par le biais de divers mécanismes. L'hyperglycémie a comme traduction

immédiate la production de radicaux libres qui réduisent l'activité d'une des enzymes de la glycolyse, la glycéraldéhyde-3-phosphate-déhydrogénase (GAPDH) (Fig. 5) (Leverve, 2009).

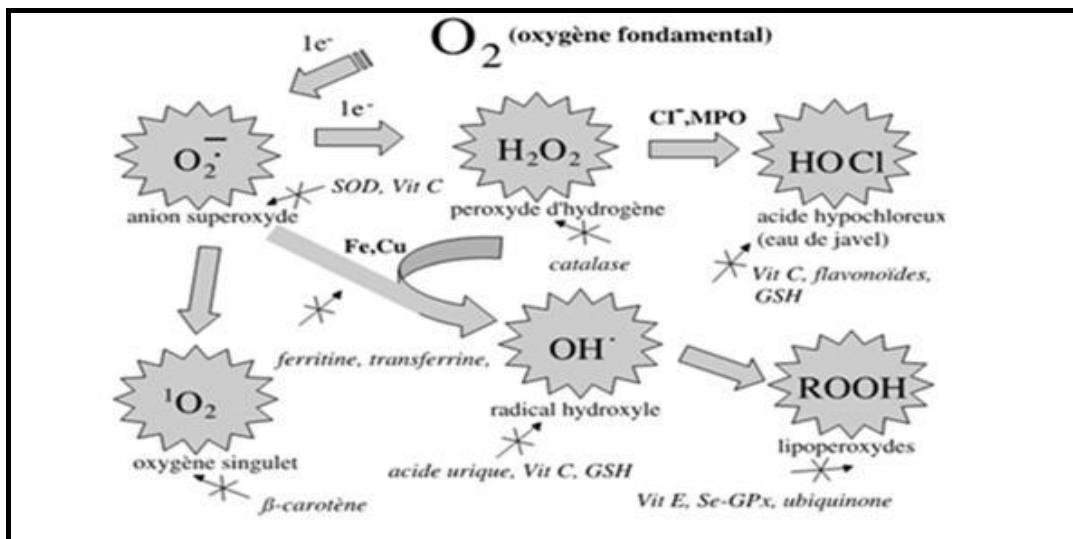


Fig. 5. Régulation des ERO par les les antioxydants (Pincemail *et al.*, 2002).

5. Diabète et inflammation

Le DT1 est une pathologie multifactorielle. En effet, trois principaux facteurs sont impliqués dans l'apparition de la maladie: un facteur immunologique, à une absence de la tolérance naturelle du système immunitaire vis-à-vis des cellules β , qui est responsable du déclenchement d'une réponse auto-immune dirigée contre elle, des facteurs génétiques, et des facteurs environnementaux (Geenen *et al.*, 2005) (Fig. 6).

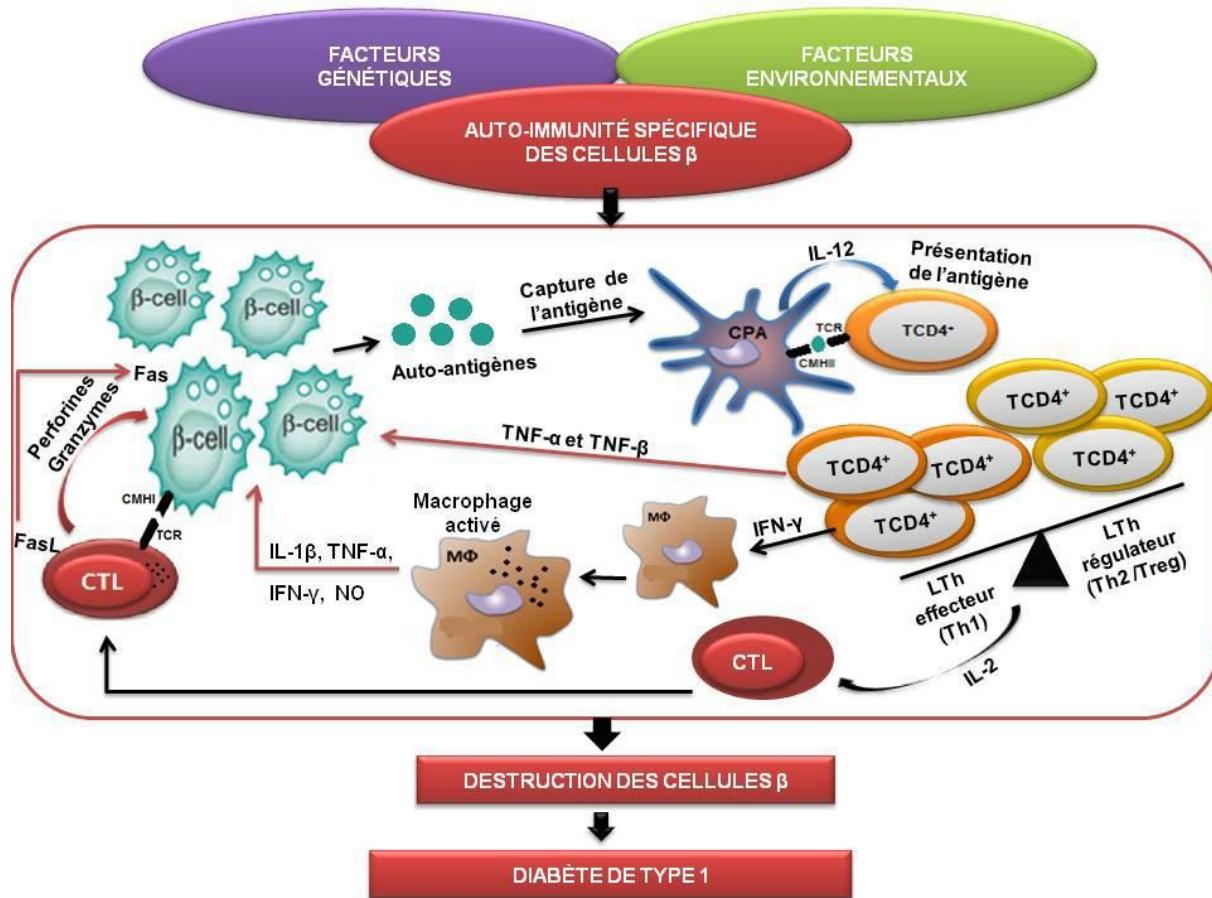


Fig. 6. Etiologie du diabète de type 1 (Yoon & Jun, 2005).

CPA: cellule présentatrice d'antigène, **CTL:** lymphocyte T cytotoxique, **IL:** interleukine, **LTh :** lymphocyte T helper. **NO:** monoxyde d'azote, **TNF:** facteur de nécrose tumorale, **CMH:** complexe majeur d'histocompatibilité, **TCR:** récepteur de la cellule T.

5.1. Implication des cytokines dans le diabète de type 1

L'étape déterminante de la pathogénie du DT1 est la migration des cellules mononucléées vers les îlots pancréatiques. Au cours de cet événement, les molécules d'adhésion (sélectines et intégrines), jouent un rôle important dans l'extravasation des cellules vers les sites inflammatoires. D'après **Yang et al.**, (1996), un traitement des souris NOD (non-obèse diabetic) par des anticorps dirigés contre ces molécules prévient le développement de l'insulite, et par conséquent le DT1.

Une autre étape critique dans le processus pathogénique du DT1 est la reconnaissance des auto-antigènes pancréatiques par le récepteur des cellules T (TCR, *T cell receptor*) (Bach, 2002). Les lymphocytes Th sont activés suite à l'interaction du TCR avec le complexe peptide pancréatique-CMH II exprimé par les DC au niveau des PLNs. D'un autre côté, les CTLs sont

activées suite aux interactions de leurs TCR avec les auto-antigènes pancréatiques, présentés par les molécules du CMH I au niveau des cellules pancréatiques (**Aribi, 2011**).

Le mécanisme destructeur mis en place lors du DT1 semble être initié principalement par une production excessive des cytokines proinflammatoires (**Chatzigeorgiou et al., 2010**). Ces cytokines interviennent essentiellement dans l'expression des molécules d'adhésion, le recrutement et l'activation des cellules inflammatoires (**Dubois-Laforgue, 2007**). En effet, les lymphocytes T CD8+ et les macrophages infiltrés sont activés par certains cytokines notamment l'IL-2, le TNF- β et l'IFN- γ produites par les lymphocytes Th1 activés (**Aribi, 2011**). Les cellules inflammatoires impliquées dans l'insulite produisent l'IL-1 β , l'IFN- γ , le TNF- α et le TNF- β qui peuvent endommager les cellules β (**Campbell et al., 1998**). Ces cytokines semblent être également impliquées dans l'augmentation de la production des radicaux libres par les cellules inflammatoires (**Kolb & Kolb-Bachofen, 1992**).

Les molécules toxiques, telles que le peroxyde d'hydrogène, le monoxyde d'azote, les perforines (**Mukherjee & DiLorenzo, 2010**), et les cytokines proinflammatoires essentiellement l'IL-1 β (**Aribi et al., 2007**), le TNF- α (**Lee et al., 2005**), l'IL-6 (**Kristiansen & Mandrup-Poulsen, 2005**), le TNF- β , l'IFN- γ , l'IL-18 (**Szeszko et al., 2006**), l'IL-12 (**Giulietti et al., 2004**), et l'IL-8 (**Erbagci et al., 2001**), sont fortement impliquées dans le processus destructeur des cellules β pancréatiques.

Les principales cytokines jouant un rôle majeur dans la réaction inflammatoire :

- **Le TNF-alpha**

Est une cytokine pro-inflammatoire produite par de nombreuses cellules et principalement par les macrophages et les lymphocytes. Il est aussi produit par le tissu adipeux mais probablement en faible quantité chez l'homme (**Lacquemant Corinne et al., 2003**). Le TNF-alpha a été largement impliqué comme acteur majeur de la physiopathologie de l'insulinorésistance chez le rongeur (**Hotamisligil et al., 1993**).

Un des principaux mécanismes d'action de cette cytokine passerait par la phosphorylation anormale sur des résidus sérine d'IRS (insulin receptor substrate), empêchant ainsi son interaction avec le récepteur de l'insuline (**Bastard et al., 2004**).

Le TNF-alpha 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'interleukine-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 (**Bastard et al., 2002**).

Il est maintenant bien établi que la quantité d'IL-6 produite par le tissu adipeux, surtout viscéral, est augmentée en cas d'obésité (**Bastard et al., 2002**).

Des études récentes suggèrent que l'IL-6 pourrait être impliquée dans l'insulinorésistance et ses complications. L'IL-6 est une cytokine multifonctionnelle qui agit sur de nombreux tissus et cellules (**Lacquemant Corinne et al., 2003**). Un des effets importants de l'IL-6 est le contrôle de la production hépatique de CRP (**Hillaire & Valla, 1996**).

6. Diabète expérimental induit par la streptozotocine

La streptozotocine ou Izostazin ou Zanosar (STZ) ou estreptozocina, ou, streptozocinium. La streptozotocine est un antibiotique isolé à partir de *Streptomyces achromogenes* de bouillon de fermentation (**Akbarzadeh et al., 2007**). C'est une glucosamine nitrosé, qui entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules β des îlots de Langerhans (**Povoski et al., 1993**). La STZ est un analogue du glucose pour le récepteur GLUT2. Elle pénètre ainsi spécifiquement dans les cellules β où son pouvoir alkylant induit de nombreux dommages. Elle est ainsi utilisée dans le traitement des insulinomes (**Akbarzadeh et al., 2007**).

Le mécanisme d'action de cet agent diabétogène reste encore mal connu. Cependant, les études antérieures ont montré son action sur les îlots de Langerhans, en réduisant la masse des cellules β et par conséquent une insulinopénie caractéristique d'une hyperglycémie chronique ou transitoire (**Aughsteen, 2000**).

Le glucose qui constitue la molécule de la STZ, permet sa pénétration dans les cellules β pancréatiques à travers les transporteurs de glucose GLUT2. A l'intérieur de la cellule, la STZ provoque :

- la libération d'oxyde nitrique (NO).
- la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS).
- l'alkylation de l'ADN.
- l'épuisement de l'ATP des cellules B.
- l'inhibition de l'enzyme N-acétyl glucosamine sélective N-glycosylation des protéines acétyl-BD-glucosaminidase et irréversible (**Szkudelski, 2001**).

La STZ génère également des espèces réactives de l'oxygène, qui contribuent aussi à la fragmentation de l'ADN et d'autres changements délétères dans les cellules (**Szkudelski, 2001**).

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le mécanisme de dommages à l'ADN et la cytotoxicité par la STZ. Tout d'abord, il a été constaté que la STZ améliore la production des radicaux O₂ [•] par le système de la xanthine oxydase du pancréas et stimule la production de H₂O₂ et cause la fragmentation de l'ADN dans les îlots pancréatiques isolés de rat. En outre, Des études ont démontré la génération de radicaux OH par STZ chez les rats diabétiques. Il est généralement admis que la toxicité de streptozotocine est dépendante de l'activité d'alkylation de l'ADN de son groupement méthylnitrosouré, en particulier à la position O6 de guanine. Le transfert du groupe méthyle à partir de streptozotocine de la molécule d'ADN provoque des dommages, qui le long d'une chaîne d'événements définis, entraîne la fragmentation de l'ADN, ce qui active la poly (ADP-ribose) polymérase, enzyme clé de la réparation de l'ADN. Cette réaction consomme le NAD et l'ATP comme cofacteurs enzymatiques conduisant à leur déplétion et à la nécrose de la cellule β .

La glycosylation des protéines peut être un facteur préjudiciable supplémentaire (**Lenzen, 2008**). En plus de son impact sur le métabolisme des hydrocarbures qui est bien étudié, la STZ provoque une altération du métabolisme glucidique, lipidique et protéique due à la défaillance en insuline (**Szkudelski, 2002**).

Plusieurs travaux réalisés en vue de mieux comprendre le mécanisme pathogène de la STZ, ont montré que ce produit diminue la défense antioxydante de la cellule, particulièrement une inhibition de l'activité de la superoxyde dismutase (**Rajasekaran, 2005**). La dose choisie de la STZ est variable selon la voie d'administration à l'animal et surtout selon la pathologie souhaitée. Par exemple, dans les essais préliminaires, il est important de garder la vitalité de l'animal où on injecte de faibles doses de STZ (dose inférieure ou égale à 60 mg/kg). De plus, l'injection de la STZ est à l'origine d'une chute de poids (**Junod *et al.*, 1969**).

Tableau IV. Caractéristiques de la streptozocine (**Bolzán & Bianchi, 2002**)

	Streptozotocine
Nom chimique	2-Deoxy-2-[(methylnitrosoamino)carbonyl]amino)- D-glucopyranose
Structure chimique	Groupement méthylnitrosouré cytotoxique (N-méthyl- N-nitroso-urée) fixé à l'glucose (2désoxyglucose) molécule ; dérivé glucosamine
Les propriétés chimiques	Hydrophile, bêta-glucose cellule toxique analogique Relativement stable à pH 7,4 et 37 ° C (à moins jusqu'à 1 h)
Réactivités chimiques	Agent d'alkylation de l'ADN Agent alkylant en protéines donneur de NO
Mode de toxicité	Alkylation de l'ADN

6.1. Streptozotocine et stress oxydant

La streptozotocine (STZ) est une substance communément utilisée pour induire le diabète de type 1 chez l'animal, par destruction rapide et sélective des cellules β pancréatiques sécrétrices d'insuline (**Tomlinson et al., 1992**). Le principal mécanisme impliqué dans l'action diabétogène de la streptozotocine (STZ) est une génération accrue d'anions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et de radicaux hydroxyles ($\cdot OH$) qui induisent des dommages tissulaires et augmentent la peroxydation des lipides (**Prakasam et al., 2004**). Des concentrations élevées en espèces réactives de l'oxygène ont été notées dans le pancréas, le foie et d'autres tissus d'animaux rendus diabétiques par la STZ.

D'autres mécanismes tels que l'alkylation de l'ADN, la déplétion du NAD^+ et la génération d'espèces réactives de l'azote semblent être impliqués dans la destruction des cellules β (**Roy et al., 2008**). De même, l'inhibition des enzymes responsables de la détoxicification des radicaux libres, serait responsable de l'effet cytotoxique de la STZ (**Coskun et al., 2005**).

Par ailleurs, la streptozotocine agit comme un donneur de monoxyde d'azote (NO) dans les cellules pancréatiques (**Latha et al., 2004**). Le NO est un radical libre fortement oxydant qui peut traverser les membranes par simple diffusion (**Chandra et al., 2000**).

Le NO participe à la toxicité induite par la STZ dans la genèse du diabète (**Murata et al., 1999**). Les cellules β sont particulièrement sensibles aux dommages induits par le NO et les radicaux libres, en raison de leur faible contenu en enzymes antioxydantes (**Spinas, 1999**).

Dans le diabète, les interactions entre les espèces réactives de l'oxygène et le monoxyde d'azote, aboutit à la production de peroxynitrite (ONOO⁻), produit particulièrement toxique (**Brown & Borutaite, 2001**).

D'autre part, le NO est connu comme un médiateur multifonctionnel, produit par et agissant sur presque toutes les cellules de l'organisme (**Kolb & Kolb-Bachofen, 1992**). Ce radical est un facteur relaxant, un neurotransmetteur et une molécule de défense majeure des cellules immunitaires tels que les macrophages et les neutrophiles (**Moncada *et al.*, 1991**). Cependant, le NO est un important destructeur et/ou médiateur de l'insulite durant le développement du diabète de type 1 (**Raza *et al.*, 2000**).

7. Diabète et plantes médicinales

7.1. Dans le monde

Plusieurs enquêtes ethnopharmacologiques et ethnobotaniques ont été menées à travers le monde pour recenser les plantes antidiabétiques utilisées dans les différentes pharmacopées traditionnelles.

Dans ce contexte, plus 1123 espèces de plantes recensées par les ethno pharmacologues, sont expérimentées contre le diabète de type 2. Ces plantes représentent 725 genres et 183 familles (**Bailey & Day, 1989 ; Marles & Farnsworth, 1995**). Ces plantes recensées sont généralement présentées dans des tableaux qui résument le nom scientifique de la plante, la famille, les noms vernaculaires courants utilisés dans la région étudiée, la partie utilisée (plante entière, partie aérienne, tige, racines feuilles, fruits, etc.), parfois le principe actif (alcaloïdes, glycosides, saponosides, flavonoïdes, etc.), les méthodes de préparation traditionnelle (infusion, décoction, macération, etc.), les animaux utilisés pour les tests (rats, souris, lapin, chien, chat, etc.), voie d'administration (orale, intrapéritonéale, intraveineuse, sous cutanée, etc...) type de diabète et agent diabétogène (alloxane, streptozotocine, etc...).

7.2. En Algérie

L'Algérie, de par sa situation géographique, bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif (**Khitri *et al.*, 2016**).

Les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement de plusieurs maladies en Algérie, y compris le diabète. Des enquêtes ethnobotaniques récentes effectuées dans le but de répertorier les plantes médicinales

antidiabétiques dans l'Ouest Algérien et l'Est Algérien (**Allali et al., 2008**), soulignent l'importance qu'occupe ce patrimoine végétal dans la pharmacopée traditionnelle et surtout dans le traitement du diabète.

Dans la région de Tlemcen, les informations confirment l'importante dépendance de la population locale vis-à-vis les plantes médicinales pour traiter le diabète. Plus de 80 espèces de plantes médicinales ont été répertoriées dans cette région et sont utilisées seules ou en combinaison avec des médicaments de synthèses (**Benmehdi, 2008**).

7.3. Modes d'actions des plantes antidiabétiques

Une très grande variété de mécanismes est impliquée dans la baisse du niveau de glucose dans le sang. Ceci est dû à la grande variété de classes chimiques des constituants hypoglycémiants provenant des plantes. Certains de ces composés se révèlent véritablement hypoglycémiants et pourraient avoir un potentiel thérapeutique, alors que d'autres produisent simplement une hypoglycémie comme effet parallèle de leur toxicité, particulièrement hépatique (**Jarald et al., 2008**).

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes (**Jarald et al., 2008 ; Kashikar & Kotkar , 2011 ; Singh et al., 2012**):

- Réduction de la résistance à l'insuline ;
- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules β ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline ;
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules β ;
- Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques β lésées ;
- Effet protecteur de la destruction des cellules β ;
- Augmentation le nombre de cellules β dans les îlots de Langerhans ;
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose ;
- Inhibition de β -galactosidase, α -glucosidase et α -amylase ;
- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules β ;
- Stimulation de la glycogenèse et de la glycolyse hépatique ;
- Diminution des activités du cortisol.

Tableau V. Modes d’actions de quelques plantes antidiabétiques
(Kashikar & Kotkar, 2011 ; Sudha *et al.*, 2011 ; Singh *et al.*, 2012).

Noms scientifiques	Familles	Partie Utilisée	Modes d'action et références
<i>Catharanthus roseus</i>	Apocynacées	Feuilles	Stimule la sécrétion d’insuline à partir des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (Nammi <i>et al.</i> , 2003).
<i>Citrullus colocynthis</i>	Cucurbitacées	Graines	Stimule la sécrétion d’insuline (Nmila <i>et al.</i> , 2002).
<i>Coccinia grandis</i>	Cucurbitacées	Fruits	Stimulation de la glycogenèse hépatique (Shibib <i>et al.</i> , 1993).
<i>Punica granatum</i>	Lythracées	Fleurs	Inhibition α -glucosidase (Li <i>et al.</i> , 2005).
<i>Ervatamia microphylla</i>	Apocynacées	Feuilles	Stimule la différenciation des cellules progénitrices pancréatiques (Kojima & Umezawa, 2006).

Tableau VI. Effets de quelques plantes hypoglycémiantes et/ou de leurs produits chez des animaux rendus diabétiques (Fröde & Medeiros, 2008).

Plante (Famille)	Matériel	Traitement	Modèle animal	Résultats	Références
<i>Aegle marmelos</i> (Rutaceae)	Extrait éthanolique/feuilles	i.p, 14 j	Rat-STZ	↓Glucose, ↓HbA1c, ↑peptide C, ↑tolérance glucose, ↑glycogène, ↑insuline	Narendhirakannan <i>et al.</i> , (2006)
<i>Aloe vera</i> (Liliaceae)	Extrait éthanolique/feuilles	v.o, 21 j	Rat-STZ	↓Glucose, ↓lipides	Rajasekaran <i>et al.</i> , (2006)
<i>Amaranthus esculentus</i> (Amaranthaceae)	Plante entière, fraction lipidique	v.o, 21 j	Rat-STZ	↓Glucose, ↑insuline	Kim <i>et al.</i> , (2006)
<i>Annona squamosa</i> (Annonaceae)	Extrait aqueux, éthanolique/feuilles	v.o, 10-30 j	Rat-STZ	↓Glucose, ↓lipides, ↓peroxydation lipidique, ↑tolérance glucose	Gupta <i>et al.</i> , (2005) ; Kem <i>et al.</i> , (2006)
<i>Averrhoa bilimbi</i> (Oxalidaceae)	Extrait aqueux, BuOH, EtOAc, Hex/feuilles	v.o, 14 j	Rat-STZ	↓Glucose, ↓lipides	Tan <i>et al.</i> , (2005)
<i>Baccharis trimera</i> (Myrtaceae)	Extrait aqueux, EtOH, BuOH/ feuilles	v.o, 7 j	Souris-STZ	↓Glucose	Oliveira <i>et al.</i> , (2005)
<i>Bryophyllum pinnatum</i> (Crassulaceae)	Extrait aqueux/ feuilles	v.o/i.p traitement intensif	Rat-STZ	↓Glucose	Ojewole, (2005)
<i>Canarium schweinfurth</i> (Burseraceae)	Extrait MeOH/CH ₂ Cl ₂ /tiges	v.o, 14 j	Rat-STZ	↓Glucose	Kamtchouing <i>et al.</i> , (2005)
<i>Chamaemelum nobile</i> (Asteraceae)	Extrait aqueux/ feuilles	v.o, 15 j	Rat-STZ	↓Glucose	Eddouks <i>et al.</i> , (2005a)
<i>Coscinium fenestratum</i> (Menispermaceae)	Extrait alcoolique/ tiges	v.o, 12 j	Rat-STZ	↓Glucose, ↓HbA1c, ↓glycogène, ↓lipides, ↓stress oxydant	Shirwaikar <i>et al.</i> , (2005)

BuOH: fraction *n*-buthanolique, **CH₂Cl₂:** extrait chlorure de méthylène, **CH₃Cl:** extrait chloroformique, **EtOAc :** fraction acétate d'éthyle, **EtOH :** extrait éthanolique, **Hex :** fraction hexanique, **i.p :** voie intra péritonéale, **i.v :** voie intra veineuse, **MeOH :** extrait méthanolique, **v.o :** voie orale, **STZ :** streptozotocine.

7.4. Principes actifs à effets antidiabétiques

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites: les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Hartmann, 2007).

Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires, dont plus de 200 présentent une activité hypoglycémiante (Marles & Farnsworth, 1995 ; Lamba *et al.*, 2000 ; Sanjay, 2002). Ainsi un certains nombres de groupes, tels que des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes des glycosides, des polysaccharides, des peptidoglycans, acides aminés et d'autres obtenus à partir de diverses sources végétales, semblent avoir des effets, d'une importance particulière, dans le traitement du diabète (Mukherjee *et al.*, 2006 ; Soumyanath, 2006).

7.4.1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Leur fonction principale semble être la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bêtaïnes), assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets (Harborne, 2000 ; Rajnerayana *et al.*, 2001).

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui-même un dérivé du noyau flavane de base (Harborne, 2000).

Les flavonoïdes sont des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné, cycle C (Harborne, 2000). Les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont les suivantes : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isoflavanones, chalcones, aurones et anthocyanes (Harborne, 2000 ; Kuresh *et al.*, 2002).

Tableau VII. Les flavonoïdes à effet antidiabétique.

Plante	Familles	Partie utilisée	Activité sur	Références
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Fabacées	Racines	Souris diab. obèse	Nakagawa <i>et al.</i> , 2004
<i>Eugenia jambolana</i>	Myrtacées	Graines	Souris diab. STZ	Sharma <i>et al.</i> , 2008
<i>Eriobotryajaponica</i>	Rosacées	Feuilles	Souris diab. STZ	Lü <i>et al.</i> , 2009
<i>Coreopsis tinctoria</i>	Astéracées	Fleurs	Rats diab. STZ	Dias <i>et al.</i> , 2010
<i>Selaginella tamariscina</i>	Selaginellacées	Plante entière	Rats diab. STZ	Zheng <i>et al.</i> , 2011

Diab : diabétiques ; **STZ** : Streptozotocine

7.4.2. Les saponosides

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives. Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes. La plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques. Les saponosides peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine: saponosides à génine stéroïdiques et saponosides à génine triterpéniques (**Harborne, 2000**).

Tableau VIII. Les saponosides à effet antidiabétique.

Plante	Familles	Partie et principe Active	Activité	Références
<i>Beta vulgaris</i>	Chénopodiacées	Racines	Rats diab. Surcharge-en glucose	Murakami <i>et al.</i> , 1999
<i>Anabasis articulata</i>	Chénopodiacées	Feuilles	Souris diab. Alloxane	Kambouche <i>et al.</i> , 2009
<i>Panax notoginseng</i>	Araliacées	Racines	Souris	Yang <i>et al.</i> , 2010
<i>Citrullus colocynthis</i>	Cucurbitacées	Graines	Rats diab. STZ	Benmehdi <i>et al.</i> , 2011
<i>Entada phaseoloides</i>	Légumineuses	Graines	Rats diab. STZ	Zheng <i>et al.</i> , 2012

Diab: diabétiques ; **STZ** : Streptozotocine

7.4.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine naturelle, le plus souvent végétales, azotés, basiques, douées, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées (Paris & Hurabielle, 1981).

Les alcaloïdes sont des composés présents essentiellement chez les Angiospermes (peu nombreux chez les Monocotylédones et très répandus chez les dicotylédones).

Ils sont exceptionnels chez les bactéries, assez rares chez les champignons, existent chez les animaux et se trouvent également chez les organismes marins (les éponges) (Bruneton, 1999).

Tableau IX. Les alcaloïdes à effet antidiabétique.

Plante	Familles	Partie et principe actif	Activité sur	Références
<i>Tecoma stans</i>	Bignoniacées	Feuilles	Lapins diab.	Hammouda & Amer, 1966
<i>Trigonella foenum graecum</i>	Fabacées	Graines	Rats diab. alloxane	Shani <i>et al.</i> , 1974
<i>Lupinus termis</i>	Fabacées	Graines	Rats diab.	Shani <i>et al.</i> , 1974 ; Bobkiewicz <i>et al.</i> , 2007
<i>Ervatamia microphylla</i>	Apocynacées	Feuilles	Cellule pancréatique porcine	Kawakami <i>et al.</i> , 2010
<i>Capparis decidua</i>	Capparidacées	Fruits	Rats diab. STZ	Sharma <i>et al.</i> , 2010
<i>Ziziphus oxyphylla</i>	Rhamnacées	Cyclopeptide	<i>In vitro</i> inhibiteur α -glucosidase	Choudhary <i>et al.</i> , 2011

Diab: diabétiques ; STZ: Streptozotocine ; HGPO: Hyperglycémie provoquée par voie orale

7.4.4. Les glycosides (Hétérosides)

Les glycosides sont des substances organiques complexes qui résultent de l'établissement d'une composante osidique et d'une composante non osidique (aglycone ou la génine) (Bruneton, 1999).

Il existe un très grand nombre d'hétérosides végétaux. Certains sont très répandus tandis que l'existence d'autres est limitée à quelques centaines d'espèces ou même à un seul genre ou à une seule espèce (Guignard *et al.*, 1985).

• **Types et classification des glycosides**

La nature des glycosides est très diverse, tant en raison du mode de liaison entre la génine et le (s) ose(s) :

-O-hétérosides : liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un groupement hydroxyle (alcoolique ou phénolique) de l'aglycone.

-S- hétérosides : liaison entre fonction réductrice de l'ose et un thiol.

-N-hétérosides: liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un groupement aminé.

-C-hétérosides: chez quelques oses, la liaison entre la génine et l'ose se fait de carbone à carbone (Guignard *et al.*, 1985).

• **Les oses des hétérosides**

Les oses qui entrent dans la constitution des glycosides sont divers : fréquemment c'est le D-glucose (d'où le nom de glucosides), mais ils peuvent être un autre hexose (fructose, galactose, mannose), un pentose (arabinose, xylose, ribose) très souvent un méthylpentose (rhamnose) et, chez les hétérosides cardiotoniques, un désoxyose (digitoxine, cymarose, digitalose).

La disposition des sucres peut se faire différemment : les oses sont rattachés isolément à la génine en plusieurs points ou le plus souvent en un seul point (dans ce cas, ils forment une chaîne polyosidique langue de 2 oses (primevérose, rutinose, gentiobiose), 3 oses (strophanthotriose, scillatriose), de 4 oses, parfois même jusqu'à 7 oses disposés les uns des autres (Guignard *et al.*, 1985).

Tableau X. Les glycosides à effet antidiabétique.

Plantes	Familles	Partie et principe actif	Activité	Références
<i>Ficus bengalensis</i>	Moracées	Écorce de tige	Rongeurs sains	Brahmachari & Augusti, 1964
<i>Eriobotrya japonica</i>	Rosacées	Feuilles	Souris diab.	De- Tommasi <i>et al.</i> , 1991
<i>Polygonatum odoratum</i>	Asparagées	Bulbe	Rats pancréatectomie	Choi & Park, 2002
<i>Aralia elata</i>	Araliacées	Écorce des racines	Rats HGPO	Yoshikawa <i>et al.</i> , 1995
<i>Citrullus colocynthis</i>	Cucurbitacées	Graines	Rats diab. STZ	Azzi <i>et al.</i> , 2009

diab: diabétiques ; **STZ** : Streptozotocine ; **HGPO** : Hyperglycémie provoquée par voie orale.

7.5. Toxicité des plantes antidiabétiques

Un toxique, est une substance capable de perturber, immédiatement ou à terme, de façon passagère ou durable, le fonctionnement normal d'un organisme vivant, pouvant aller jusqu'à sa suppression complète et amener la mort (**Viala & Botta, 2007**).

La toxicité des plantes médicinales peut être liée à des mélanges de composés actifs qu'elles contiennent, leurs interactions avec d'autres herbes, les médicaments et les contaminants.

Les plantes contiennent des mélanges complexes de terpènes, alcaloïdes, des saponines et autres substances chimiques. Ce qui augmente le risque de réactions indésirables par leurs effets additifs ou synergiques des interactions chimiques (**Trevoux et al., 2000** ; **Saad et al., 2006**).

Plus de 377 espèces associées au traitement de diabète sucré sont considérées toxiques (**Marles & Farnsworth, 1995**), ces plantes peuvent entraîner une chute trop brutale de la glycémie avec malaise hypoglycémique, voire coma, au même titre que l'insuline ou les autres médicaments hypoglycémiants, surtout si ces plantes sont associées à un traitement déjà existant et qui équilibrerait le diabète. L'hypoglycémie provoquée est accompagnée d'un effet β -bloquant adrénergique et d'une hépatotoxicité (**Marles & Farnsworth, 1995**).

La toxicité est une notion relative et varie en fonction de la partie de la plante extraite ou consommée selon les quantités prises. Cependant, il est essentiel que les composés de l'extrait brut soient testés pour leur toxicité, bien que la plupart des tests ne mesurent actuellement que la toxicité aiguë. Ces tests ne fournissent pas d'informations sur les réactions indésirables qui pourraient résulter de l'exposition à long terme de ces espèces (**Soumyanath, 2006**).

La toxicité d'une substance au niveau de l'organisme dépend de la nature de la substance, de la dose et de la durée d'exposition, des différents facteurs liés à l'individu (sexe, âge, état nutritionnel et hormonal), des facteurs environnementaux et de l'exposition simultanée ou antérieure à d'autres produits chimiques. Les facteurs propres à chaque individu peuvent modifier l'absorption, la distribution, l'excrétion, les transformations métaboliques et la sensibilité du récepteur dans l'organe cible (**Soumyanath, 2006**).

7.6. Effets des plantes médicinales sur la dyslipidémie associée au diabète

Les altérations du métabolisme des lipides et des lipoprotéines plasmatiques représentent l'une des principales complications du diabète, et sont notées chez environ 40%

des diabétiques (**Ravi et al., 2005**). La dyslipidémie induite par l'hyperglycémie constitue un facteur de risque important des MCV (**Rajasekaran et al., 2006**). Ainsi, le traitement idéal du diabète devrait avoir, en plus du contrôle glycémique un effet favorable sur le profil lipidique.

Chez le rat rendu diabétique par la STZ et traité avec un extrait de *Momordica charantia* pendant 10 semaines, **Ahmed et al., (2001)**, ont noté une diminution de la concentration plasmatique en cholestérol total (CT), en cholestérol libre (CL), en triglycérides (TG) et en phospholipides (PL), avec un C-HDL augmenté.

Le traitement avec un extrait aqueux de *Taraxacum officinal* (2,4 g/kg de régime), pendant 4 semaines, entraîne une diminution de la glycémie, des concentrations en cholestérol total et en triglycérides du foie et du sérum et une augmentation du C-HDL. De plus, ces auteurs ont rapporté une réduction du rapport d'athérogénicité C-VLDL-LDL/C-HDL (**Cho et al., 2002**).

Par ailleurs, une diminution des teneurs sériques et hépatiques en CT, TG et PL a été notée avec des extraits aqueux de *Boerhavia diffusa* et de *Helicteres isora* chez le rat rendu diabétique par l'alloxane (**Pari &Satheesh, 2004**) ou par la STZ (**Kumar & Murugesan, 2008**). Les résultats de **Kumar&Murugesan, (2008)** ont également montré une diminution du C-VLDL et du C-LDL et une augmentation du C-HDL.

Chez le rat rendu diabétique par la STZ, l'administration d'un extrait éthanolique de *Zingiber officinale* (200 mg/kg de PC) pendant 20 jours, réduit la glycémie et les teneurs sériques en CT et en TG et augmente le C-HDL (**Bhandari et al., 2005**). Des résultats similaires ont été retrouvés chez le rat rendu diabétique par la STZ et traité avec un extrait de *Trigonella foenum-graecum* (fenugrec) (50 mg/kg de PC) pendant 21 jours (**Abou El-Soud et al., 2007**).

L'étude de **Jothivel et al., (2007)** a rapporté que le traitement avec un extrait méthanolique de *costus pictus* (120 mg/kg), pendant 21 jours induit un effet hypoglycémiant avec une diminution des concentrations sériques en CT, TG, PL, C-VLDL et C-LDL et une augmentation du C-HDL.

Les mécanismes proposés pour expliquer l'effet hypolipémiant des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète impliquent l'insuline puisque cette hormone, en plus de son rôle hypoglycémiant réduit et normalise les concentrations plasmatiques en lipides chez le rat rendu diabétique par la STZ (**Pepato et al., 2005**). De plus, la sensibilisation des récepteurs de l'insuline serait aussi un mécanisme possible.

Par ailleurs, une stimulation de l'activité lipolytique *via l'insuline*, par inhibition de la lipase hormono-sensible (**Al-Shamaony et al., 1994**) ou des enzymes de la lipogenèse (**Pari**

& Venkateswaran, 2004) et/ou l'activation de la lipoprotéine lipase (Ahmed *et al.*, 2001) ont également été suggérées.

7.7. Effets des plantes médicinales sur le stress oxydant associé au diabète

Plusieurs études ont rapporté une association entre le diabète et le stress oxydant, qui est dû à une génération accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et à une diminution des défenses antioxydantes (West, 2000).

Par ailleurs, il a été suggéré que les antioxydants piégeurs des ERO peuvent atténuer l'hyperglycémie et prévenir et/ou ralentir le développement des complications du diabète (Imaeda *et al.*, 2002).

De plus, les antioxydants procurent aux organismes vivants une protection contre les dommages causés par la peroxydation lipidique qui représente l'une des caractéristiques d'un diabète chronique (Gupta *et al.*, 2008).

De nombreuses plantes contiennent des composés antioxydants qui protègent les cellules contre les effets délétères des espèces réactives de l'oxygène (Dasgupta & De, 2004 ; David *et al.*, 2004). De même, de nombreux métabolites secondaires des plantes possèdent des activités antioxydantes, qui atténuent les effets du stress oxydant (Gupta *et al.*, 2008).

Santhakumari *et al.*, (2003) ont montré que l'administration orale d'une suspension aqueuse de *Piper betle* (75 et 150 mg/kg de PC) pendant 30 jours entraîne une diminution significative des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) du plasma, du foie et du rein et une augmentation du glutathion et des activités de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase (CAT) et de la glutathion peroxydase (GSH-Px) dans le foie et le rein, chez des rats rendus diabétiques par la STZ comparés à des rats diabétiques non traités.

D'autre part, chez le rat rendu diabétique par la STZ comparé au non traité, l'administration d'un extrait aqueux de *Scoparias dulcis* (200 mg/kg/PC) induit un effet hypoglycémiant, une diminution des TBARS pancréatiques et une augmentation de l'activité de la SOD et de la CAT du pancréas et de la concentration du glutathion (GSH), après 15 jours de traitement (Latha *et al.*, 2004).

L'évaluation de l'effet d'un extrait éthanolique de *Puerariae radix* sur le stress oxydatif induit par la streptozotocine, a montré chez le rat diabétique traité (500 mg/kg) comparé au non traité, une diminution de la glycémie et de la concentration hépatique du MDA et une augmentation de l'activité de la CAT du foie (Kang *et al.*, 2005).

Par ailleurs, les résultats de Gupta *et al.*, (2008) ont montré que l'extrait aqueux d'*Annona squamosa* à la dose de 350 mg/kg, possède une activité antioxydante chez des rats

rendus diabétiques par la STZ, qui se traduit par une augmentation de l'activité de la SOD, de la CAT, de la glutathion réductase (GSSH-Red) et de la glutathion-S-transférase (GST) dans différents tissus. De plus, le glutathion réduit est augmenté, alors que les teneurs en malondialdéhyde (MDA), marqueur de la peroxydation lipidique sont réduites.

Quine & Raghu, (2005) ont montré que l'administration par voie intrapéritonéale d'un flavonoïde, l'épicatéchine aux doses de 15 et 30 mg/kg pendant 35 jours, à des rats rendus diabétiques par la STZ, entraîne un effet hypoglycémiant ainsi qu'une diminution des TBARS et des hydroperoxydes et une augmentation de la concentration en glutathion et des activités de la catalase, de la superoxyde dismutase et de la glutathion peroxydase du foie, du rein et du cœur.

De même, il a été rapporté que la quercétine (flavonoïde antioxydant) administrée par voie intra-péritonéale (15 mg/kg/jour) pendant 1 mois, réduit la glycémie ainsi que la teneur en MDA dans les érythrocytes et le pancréas d'une part, et augmente l'activité pancréatique de la SOD, de la GSH-Px et de la CAT d'autre part, chez le rat rendu diabétique par la STZ comparé au non traité (**Coskun et al., 2005**).

D'autres auteurs ont montré une diminution de la glycémie et des concentrations sériques en MDA et en fructosamine, chez des rats rendus diabétiques et traités avec un anthocyanine, la pélargonidine (3 mg/kg PC), comparés aux non traités (**Roy et al., 2008**). De plus, une augmentation de l'activité de la SOD et de la CAT sériques a été notée.

L'effet d'un iridoïde, l'aucubine, sur la peroxydation des lipides et l'activité des enzymes antioxydantes a été déterminé chez le rat rendu diabétique par la STZ. Les résultats obtenus ont montré que le traitement par injection intra-péritonéale d'aucubine (5 mg/kg de PC) pendant 15 jours réduit la glycémie et la concentration du malondialdéhyde (MDA) et augmente l'activité de la catalase, de la glutathion peroxydase et de la superoxydodismutase au niveau du foie et du rein (**Jin et al., 2008**). De plus, les rats diabétiques traités comparés aux non traités montrent une régénération des cellules β du pancréas.

8. Choix du matériel végétal et du modèle expérimental

8.1. Matériel végétal

8.1.1. Description

Le lin est une Angiosperme dicotylédone annuelle de la famille des Linaceae du genre *Linum* qui compte environ 200 espèces (**Shim et al., 2014**). Sur la base de critères morphologiques, Linnaeus (1753) a distingué 4 variétés de lin cultivé parmi lesquelles

Linum usitatissimum est la plus cultivée aujourd’hui. L’espèce *usitatissimum* regroupe deux grands types de variétés destinées à la production de graines ou de fibres (Millam et al., 2005). Les variétés de lins graines ont une tige relativement courte à ramifications secondaires nombreuses, tandis que les variétés de lin fibres possèdent une tige plus élevée et moins ramifiée.

8.1.2. Morphologie et anatomie

L’inflorescence est en forme de cyme qui porte plusieurs fleurs bleues ou blanches. Les fleurs sont pour la plupart hermaphrodites, le nombre de fécondation croisée est généralement inférieur à 1%. La pollinisation du lin par les insectes est possible mais rare, le pollen étant collant. Après fécondation, l’ovaire se transforme en un fruit, ou capsule, constitué de cinq loges contenant au maximum 10 graines. Ces graines, de forme ovale, ont une surface lisse colorée du brun rouge au jaune clair et une longueur de 3 à 6,4 mm (Fig. 7).



Fig. 7. Fleurs de lin, capsules à maturité et leur contenu en graines (Nolin, 2009).

8.1.3. Caractéristiques botaniques de *Linum usitatissimum*

Tableau XI. Caractéristiques botaniques de *Linum usitatissimum* (Nolin, 2009).

Nom vernaculaire	El kitten
Nom français	Lin
Nom anglais	Common flax
Nom latin	<i>Linum usitatissimum</i>
Famille	Linacées
Constituants	Mucilages - Oméga (3)- Glucosides cyanogéniques
Parties utilisées	Graines mûres et sèches - Huile des graines

8.1.4. Bienfaits et potentiels du lin sur la santé

Les graines de lin sont une source riche en acide alpha linolénique (ALA), lignanes et fibres alimentaires (**Day et al., 2005**). Les lignanes sont des phytoestrogènes, composés qui agissent comme les œstrogènes chez les animaux et l'homme.

De plus, Le lin abaisse les concentrations en cholestérol total sérique et contribue à réduire le risque des maladies cardio et cérébro-vasculaires, en partie grâce aux actions de l'ALA (**Mozaffarian, 2005**).

Par ailleurs, la consommation quotidienne du lin augmente l'apport en ALA. Les fibres alimentaires du lin exercent un effet laxatif et aident au bon fonctionnement de l'intestin. Le goût de noisette agréable du lin le rend un ajout idéal aux céréales chaudes et froides, aux laits frappés aux fruits, aux biscuits et autres produits de boulangerie, au pain de viande, aux pâtes et à la soupe (**Zhang et al., 2008**).

Tableau XII. Bienfaits potentiels du lin pour la santé (**Zhao, 2004 ; Zhang, 2008**).

Composés des graines de lin	Bienfaits potentiels pour la santé
Graine entière ou broyée	<ul style="list-style-type: none">- Réduction du cholestérol total et du cholestérol-LDL- Réduction de la réponse glycémique postprandiale- Diminution de l'inflammation et du risque du cancer
Fibres solubles	<ul style="list-style-type: none">- Réduction de la cholestérolémie et de la glycémie
Fibres insolubles	<ul style="list-style-type: none">- Régulation de la fonction intestinale
Acide alpha-linolénique (ALA)	<ul style="list-style-type: none">- Réduction de la cholestérolémie et des concentrations de biomarqueurs inflammatoires- Réduction du risque de coronaropathie, d'accident vasculaire cérébral et de cancer
Lignanes (SDG)	<ul style="list-style-type: none">- Traitement de l'hypertrophie de la prostate- Prévention du cancer (cancers du sein, du côlon et du poumon, leucémie)- Maîtrise de la néphropathie lupique (insuffisance rénale)- Réduction des risques liés aux maladies cardiovasculaires, aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, à la polyarthrite rhumatoïde et au diabète- Effet antitumorigène sur certains cancers Effets hypocholestérolémiants

8.2. Modèle expérimental

Le diabète peut être induit chez plusieurs espèces animales, par le biais de manipulations pharmacologiques, chirurgicales ou encore génétiques (**Fröde & Medeiros, 2008**). La grande majorité des études expérimentales est réalisée chez les rongeurs (rat et souris) (**Rees & Alcolado, 2005**).

Dans les études ethnopharmacologiques, l'induction chimique du diabète chez ces animaux, se fait essentiellement par la streptozotocine (STZ, 60%) ou l'alloxane (30%). Ces modèles diabétiques servent de référence pour l'étude et la compréhension de la genèse et des complications de cette pathologie (**Fröde & Medeiros, 2008**).

La STZ et l'alloxane exercent leur action diabétogène lorsqu'elles sont administrées par voie intraveineuse, intrapéritonéale ou sous-cutanée. La dose de ces deux substances, nécessaire pour induire le diabète, dépend de l'espèce animale, du mode d'administration et de l'état nutritionnel. De plus, selon la dose utilisée, des symptômes similaires à ceux du diabète de type 1 ou de type 2 ou d'une intolérance au glucose peuvent être induits (**Mythili et al., 2004**).

Dans notre étude, le modèle utilisé est le rat Wistar rendu diabétique par injection intrapéritonéale de STZ, à la dose de 60 mg/kg de poids corporel. Cette dose, la plus utilisée chez le rat adulte, permet d'induire un diabète insulino-dépendant (**Patel et al., 2006**), par destruction des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (**Mythili et al., 2004**).

Matériel

et

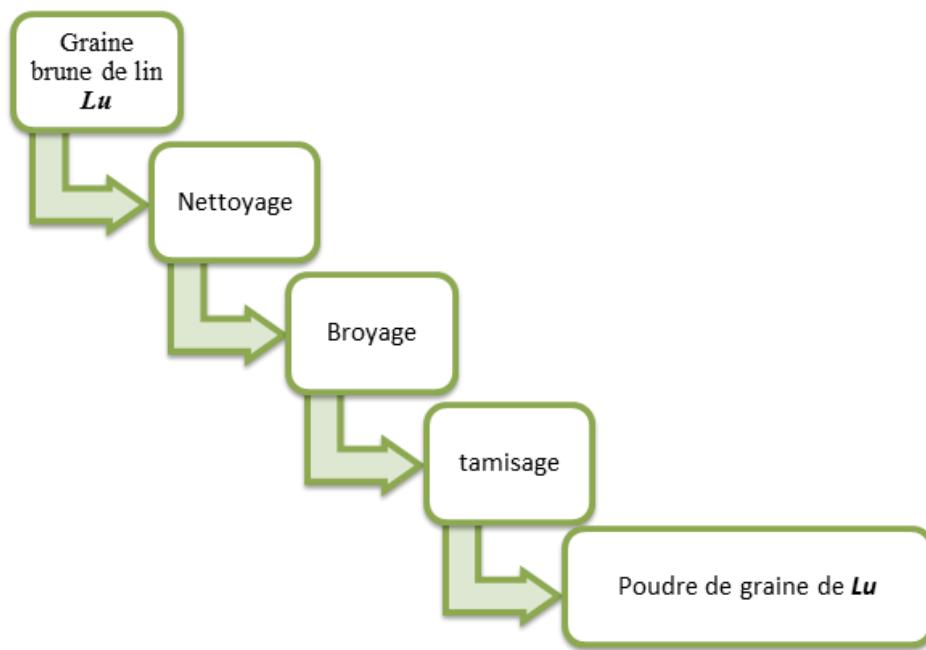
méthodes

1. Matériel végétal

Les graines brunes du lin ont été récoltées à Adrar (Sud algérien) au mois d'avril 2015.

1.1. Préparation de la poudre de lin

Les graines sont nettoyées, broyées puis tamisées. La poudre fine est prête à être utilisée.



1.1.1. Préparation de la poudre pour le dosage

100g de la matière végétale sont mis en contact avec l'éther de pétrole, le benzène, l'acétate d'éthyle, le méthanol et le butanol. 250mL de chaque mélange est placé dans un extracteur de soxhlet pendant 24h (Tiwari *et al.*, 2011). Les extraits sont filtrés, puis concentrés dans un évaporateur rotatif (Büchi Labortechnik AG, Postfash, Suisse). Les extraits concentrés ont été utilisés pour l'estimation des phénols et flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante *in vitro*.

1.1.2. Criblage phytochimique des extraits de la graine de lin

Les techniques analytiques décrites dans les travaux de Tiwari *et al.* (2011) ont été utilisées. Chaque extrait est utilisé pour les phytoconstituants suivants: alcaloïdes, saponines, terpénoïdes, flavonoïdes, glycosides, protéines, glucides et composés phénoliques, selon des réactions colorées spécifiques.

- ***Alcaloïdes***

Les alcaloïdes ont été mis en évidence dans les extraits avec les réactifs de Dragendorff et de Wagner: Dans le premier tube, sont ajoutées 2 gouttes de réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité rouge orangé ou brun-rougeâtre indique un test positif. Dans le deuxième tube, sont ajoutées 2 gouttes de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité brun indique un test positif.

- ***Saponines***

Les saponines ont été révélées par le test de mousse. Le tube à essai est agité vigoureusement. La formation d'une mousse (hauteur supérieure à 1 cm) stable, persistant pendant 1h indique la présence abondante de saponines.

- ***Terpenoïdes***

Les terpenoïdes ont été mis en évidence par la réaction de Mayer. Une aliquote de résidu est dissoute du HCl (50%), puis reprise dans un tube à essai dans lequel est ajouté le réactif de Mayer. L'apparition de précipité blanc traduit la présence des terpenoïdes.

- ***Flavonoïdes***

Les flavonoïdes ont été mis en évidence par la réaction à la cyanidine. À une aliquote de résidu dissout dans 5 ml d'éthanol chlorhydrique (2:1, v/v) sont additionnés deux à trois copeaux de Mg (ou 30–50 mg de poudre de Zn) et quelques gouttes d'isopentanol. L'apparition d'une coloration intense rose-orange ou violacée (rouge ou rouge-orangé avec le Zn) indique une réaction positive.

- ***Glycosides***

Les glycosides ont été mis en évidence par le test de Keller Killiani. À 1 mL de solution aqueuse est ajouté 1 mL d'acide acétique glacial et 1 mL de H₂SO₄ concentré, puis 2 à 3 gouttes de FeCl₃ 2% sont ajoutées au mélange. L'apparition d'une coloration bleu vert indique un test positif.

- ***Protéines***

Les protéines ont été mises en évidence par la réaction du Biuret. À un aliquot de résidu dissout dans 2 ml de NaOH aqueux à 20% dans un tube à essai, sont ajoutées 2 –3 gouttes d'une solution aqueuse de CuSO₄ à 2%. L'apparition d'une coloration violette, quelquefois avec une teinte rougeâtre, indique une réaction positive.

- ***Hydrates de carbone***

Les hydrates de carbone ont été mis en évidence par le test de Molisch. À 2 mL de chacun des échantillons sont ajoutées 3 gouttes du réactif de Molisch. Puis 2 à 3 mL d'acide

sulfurique concentré. La formation d'une coloration violette (anneau violacé) à l'interface des 2 liquides, indique la présence des glucides.

- **Composées phénoliques**

Les composées phénoliques ont été mises en évidence par la réaction au chlorure ferrique (FeCl_3). A 2 mL de chaque extrait, sont ajoutées une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique la présence des composées phénoliques.

1.2. Mesure du potentiel antioxydant

1.2.1. Dosage des composés phénoliques

1.2.1.1. Polyphénols totaux

La concentration en polyphénols totaux des extraits de graines de lin est déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**McDonald et al., 2001**). Cette technique est basée principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif de Folin) dans une solution alcaline. A 0,5mL d'échantillon est ajouté 0.1 mL du réactif de Folin (0.5N) et 2,5mL d'une solution de carbonate de sodium (7,5%). Après agitation, une coloration se développe à l'obscurité. La coloration bleue est mesurée au spectrophotomètre à 760 nm. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent en acide gallique par gramme d'extrait sec ($\mu\text{g/g}$).

1.2.1.2. Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode colorimétrique de chlorite d'aluminium (**Singleton & Rossi, 1965**). 1mL de l'échantillon à analyser est additionné à 0,5mL d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3) (1,2%) et 0.5mL d'acétate de potassium. La coloration jaune de l'échantillon est mesurée à 415 nm. Les teneurs en flavonoïdes sont déterminées à partir de la gamme étalon de quercétine et exprimées en microgramme d'équivalent en quercétine par gramme d'extrait sec ($\mu\text{g/g}$).

1.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante des graines de lin

1.2.2.1. Test au DPPH

L'activité antioxydante des différents extraits des graines de lin est évaluée par le test DPPH, en utilisant l'acide ascorbique comme standard et exprimée en g/L d'acide ascorbique (**Shen et al., 2010**). Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (1,1-

diphényl-2-picrylhydrazil) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine. 3mL de chaque extrait à différentes concentrations (50, 100, 200, 400 et 800 μ g/mL) est homogénéisé avec 3,9 mL de DPPH à 0,1 mM. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées.

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition **I** (%) du radical DPPH, en utilisant la formule suivante:

$$I (\%) = [Absorbance C - Absorbance échantillon/Absorbance C] \times 100$$

AC : absorbance du contrôle négatif (méthanol)

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC₅₀). Une faible valeur de l'IC₅₀ correspondant à une grande efficacité de l'extrait.

1.2.2.2. Piégeage du radical superoxyde (O₂^{•-})

Le système (méthosulfate de phénazine/Nicotinamide Adénine Dinucléotide) (PMS/NADH) utilisé permet la formation, de l'anion superoxyde (O₂^{•-}). Ce dernier réduit le nitro-blue tétrazolium (NBT) en Formazan. L'activité est basée sur la méthode décrite par **Srinivasan et al. (2007)**. Les anions sont générés dans un mélange d'une solution de 0,5mL β -NADH à 0, 936mM, 0,5mL d'une solution de NBT à 0,3mM et 1mL de chaque extrait à différentes concentrations (50, 100, 200, 400 et 800 μ g/mL). La réaction est initiée par l'addition de 0,5mL d'une solution de PMS à 16 μ M au mélange réactionnel et après 5 min d'incubation à 25°C. L'absorbance est mesurée à 560 nm contre un blanc ne contenant pas de PMS. Les résultats permettent de calculer le pourcentage d'inhibition de la formation du formazan et d'exprimer cette activité en IC₅₀ comme décrit précédemment pour le DPPH[•]. L'activité des extraits testés est comparée à celle de l'acide ascorbique.

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition **I** (%) du radical superoxyde (O₂^{•-}), en utilisant la formule suivante:

$$I (\%) = [Absorbance C - Absorbance échantillon/Absorbance C] \times 100$$

AC : absorbance du contrôle négatif (méthanol)

1.2.2.3. Pouvoir réducteur du fer

L'activité réductrice des extraits est évaluée par la réaction d'oxydo-réduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer (FRAP). Le ferricyanure de

potassium $K_3Fe(CN)_6$ fournit des ions Ferriques (Fe^{3+}) qui seront réduits en ions Ferreux (Fe^{2+}) par les antioxydants présents dans les différents extraits végétaux. Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par **Kumar & Hemalatha (2011)**.

Cette méthode consiste à mélanger 1 ml de chaque extrait à différentes concentrations (50, 100, 200, 400 et 800 μ g/mL) avec 5 mL de tampon phosphate 0,2 M à pH 6,6 et 5 mL d'une solution de $K_3Fe(CN)_6$ à 1% (m/v). Le mélange obtenu est incubé pendant 20 minutes à 50°C, puis 5 mL d'acide trichloracétique (CCl_3COOH) à 10% sont ajoutés pour arrêter la réaction. Le mélange est centrifugé à 1000g pendant 10 mn à 5°C et 5mL du surnageant sont additionnés de 5 mL d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure de fer ($FeCl_3$) à 0,1%. La lecture de l'absorbance se fait à 700nm contre un blanc.

L'activité des extraits testés est comparée à celle de l'acide ascorbique.

1.2.2.4. Calcul des IC₅₀

Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur **IC₅₀** qui est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les **IC₅₀** sont calculées à partir de l'équation des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et les standards.

2. Animaux et régimes

Trente rats mâles Wistar (Iffa Credo, l'Arbresle, Lyon, France) (n=30), pesant 267 ± 5 g sont utilisés dans cette étude. Les animaux sont maintenus dans une animalerie dans des conditions environnementales standard (23 ± 1 °C, 60% d'humidité et un cycle de lumière de 12h jour/nuit) et sont soumis à un régime standard (ONAB). Les conseils pour la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire sont suivis (**Council of European Communities, 1987**).

2.1. Induction du diabète

Le diabète est induit par injection intrapéritonéale d'une dose unique de streptozotocine (STZ) (Sigma, St Louis, USA) à raison de 60 mg/kg de poids corporel. La STZ est 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 de la queue en utilisant un glucomètre (Glucotrend, Meylan, Germany). Seuls les animaux dont la glycémie à jeun est supérieure à 2,50 g/L (13,87 mmol/L) sont considérés comme diabétiques.

2.2. Traitement avec la graine de Lin

Les rats diabétiques ($n = 12$) sont répartis en 2 groupes de 6 rats chacun : Un groupe non traité consommant un régime à 20% de caséine (D) et un groupe traité soumis au même régime supplémenté avec la poudre de *Linum usitatissimum* (D-Lu) à raison de 10g/kg de régime, pendant 56 jours. Durant tout le protocole expérimental, un groupe ($n=6$) consommant un régime à 20% de caséine a été utilisé comme témoin (T) (**Tableau XIII**).

La nourriture et l'eau de boisson sont données à volonté. La consommation alimentaire est mesurée quotidiennement et le poids des rats une fois par semaine.

Durant les trois derniers jours de l'expérimentation, six rats de chaque groupe, témoins, traités et non traités sont placés individuellement durant toute l'expérimentation dans des cages à métabolisme. Les animaux et la quantité de nourriture ingérée sont pesés chaque jour. Les urines sont recueillies sur un antiseptique (thymol-isopropanol à 10%) puis filtrées et conservées à 4°C.

Tableau XIII. Composition des régimes (g/kg régime)¹

Ingédients	T	D	D-Lu
Caséine ²	200	200	200
Amidon de maïs ³	590	590	580
Huile de tournesol ⁴	50	50	50
Saccharose ⁵	50	50	50
Cellulose ²	50	50	50
Vitamines ⁶	20	20	20
Sels minéraux ⁷	40	40	40
Poudre <i>Linum usitatissimum</i> ⁸	-	-	10

¹Les régimes sont isoénergétiques (17,80 MJ/Kg de régime), donnés sous forme de poudre et préparés au Laboratoire de Nutrition Clinique et Métabolique (LNCM).

²Prolabo (Paris, France).

³ONAB (Sidi Bel Abbès, Algérie).

⁴CEVITAL (Bejaia, Algérie).

⁵ENASUCRE (Sfisef, Algérie).

⁶UAR 200 (Villemoisson, 91360, Epinay/S/Orge, France), mélange vitaminique (mg.kg⁻¹ 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 (PAB), 180; Biotine, 0,6; cellulose, qsp, 20g.

⁷UAR 205 B (Villemoisson, 1360, 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.

⁸Préparé dans notre laboratoire comme décrit précédemment.

3. Prélèvement des échantillons sanguins et des organes

Après 56 jours d'expérimentation, les 3 groupes de rats sont anesthésiés après 12h de jeûne, par injection intrapéritonéale d'une solution de pentobarbital sodique (60mg/100g de poids corporel). Le sang est prélevé par ponction de l'aorte abdominale dans des tubes contenant 0,1% d'EDTA-Na₂ et centrifugé à 1000 x g pendant 20 min à 4°C. Le plasma et le culot contenant les érythrocytes sont récupérés.

Les organes (foie, reins, cœur, muscle, cerveau et pancréas) sont soigneusement prélevés, rincés avec une solution fraîchement préparée de NaCl froid à 0,9 % et pesés. Le plasma et les organes sont conservés à -70°C.

4. Analyses biochimiques

4.1. Détermination de la glycémie

A J0, J7, J14, J21, J28, J35, J42, J49, et J56 de l'expérimentation, la glycémie est mesurée en utilisant un glucomètre (Accu-Chek® Active).

4.2. Dosage de l'insuline plasmatique

Les teneurs sériques en insuline est déterminée par un dosage immuno-enzymatique, EIA de type compétitif (Grassi & Pradelles, 1991) (kit Spi-Bio, Bertin group, Montigny le Bretonneux, France). Le principe de la méthode est basé sur la compétition entre l'insuline libre de rat et l'insuline conjuguée à l'acétylcholinestérase (AChE) (Fig. 8). L'activité enzymatique est révélée avec le réactif d'Ellman (DTNB [5-5'-dithiobis-2 nitrobenzoate]). L'intensité de cette coloration est déterminée à l'aide d'un lecteur Elisa à $\lambda = 405$ nm, Les résultats sont exprimés en ng/L après estimation de la concentration à l'aide d'une gamme étalon de l'insuline de rat (solution mère à 10 ng/L).

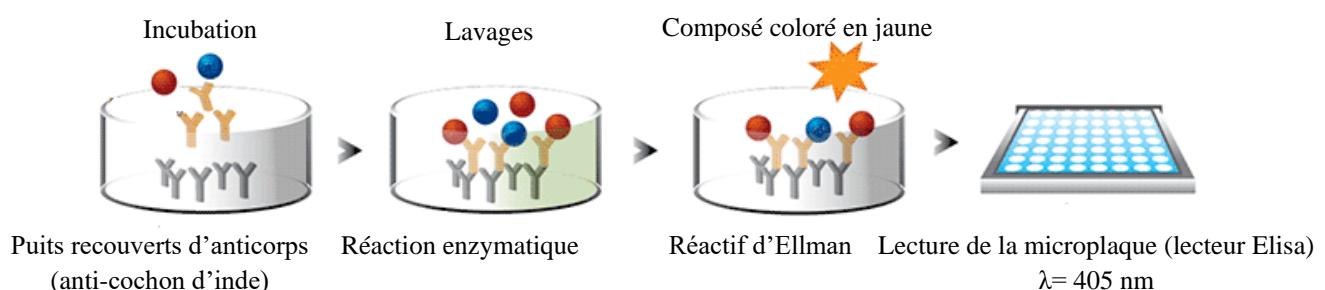


Fig. 8. Principe du dosage de l'insuline par la méthode EIA de type compétitif

● Insuline libre de rat (standard ou échantillon) ● AChE: marqueur de l'insuline de rat ● Antisérum de l'insuline de rat

4.3. Détermination de l'hémoglobine glycosylée

La mesure du degré de glycosylation de l'hémoglobine est réalisée avec l'acide trinitrobenzène sulfonique (TNBS) qui réagit avec la lysine libre et les résidus-NH₂ des acides aminés pour former des dérivés trinitrophényles (Nivoit *et al.*, 2003). Sur une microplaqué, sont déposés 40 µL d'hémolysat (hématies diluées au 1/100) + 40 µL de sérum physiologique ou 80 µL d'hémolysat déconjugué (40 µL d'hémolysat + 40 µL de glucosidase). Après 1h d'incubation à 37°C, 80 µL de tampon bicarbonate (NaHCO₃ à 4%, pH 8,4) et 80 µL de TNBS (0,1%) sont ajoutés. La plaque est recouverte d'un papier adhésif et incubée à 37°C, à l'obscurité pendant 2h. Le nombre de résidus lysine libres sur la molécule d'Hb est déterminé à partir d'une gamme étalon de lysine. La valeur de l'hémoglobine glycosylée est donnée par rapport à la valeur obtenue avec la déconjugaison.

4.4. Détermination des teneurs plasmatiques et urinaires en urée, créatinine et acide urique

La détermination de l'urée plasmatique et urinaire est effectuée par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Biocon, Germany). 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.

La teneur en créatinine plasmatique et urinaire est déterminée par une méthode cinétique colorimétrique (Kit Biocon, Germany). 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.

L'acide urique présent dans l'échantillon donne en présence d'uricase un indophénol coloré quantifiable par spectrophotométrie (Kit Spinreact, Girona Spain). La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 510$ nm.

4.5. Activités des transaminases et de la phosphatase alcaline plasmatiques

L'aspartate amino-transférase (ASAT) connue sous le nom de glutamate-oxalo-acetate transaminase (GOT) est une transaminase qui catalyse le transfert du groupe aminé de 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.

L'alanine amino-transférase (ALAT) est une transaminase connue sous le nom de glutamate-pyruvate-transaminase (GTP). L'ALAT catalyse le transfert du groupe aminé de la L-alanine vers l' α -cétoglutarate pour donner du L-glutamate. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 340$ nm.

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophénlyphosphate libérant du p-nitrophénole et du phosphate (Kit Spinreact, Girona Spain). La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 340$ nm.

4.6. Détermination des teneurs en protéines totales et en lipides du foie et du plasma

4.6.1. Dosage des protéines

Les concentrations en protéines totales du plasma et du foie sont déterminées par la méthode de **Lowry et al., (1951)**. Le sérum albumine bovine (SAB) est utilisée comme standard (Sigma Chemical Company, USA). En milieu alcalin, le complexe Cu^{2+} -protéine est réduit par le réactif de Folin. Il se développe une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=750$ nm. Les résultats tes teneurs en protéines totales dans le foie sont exprimés en mg/g et ceux du plasma en g/L.

4.6.2. Dosage des lipides du foie et du plasma

4.6.2.1. Extraction des lipides du foie

Les lipides totaux du foie sont extraits avec un mélange chloroforme:méthanol (2:1, v:v), selon la technique de **Folch et al., (1957)**. 1 g de foie est homogénéisé à l'ultraturax avec 5 mL de mélange chloroforme:méthanol. Après 2h de contact, 4 mL de HCl (0,05 N) et 1 mL de NaCl (saturé à 35%) sont ajoutés à la suspension. Une centrifugation à 1200 x g pendant 5 min permet de séparer la phase aqueuse de la phase chloroformique qui contient les lipides.

Le solvant (chloroforme) est évaporé sous vide (Rotavapor Büchi) à 48°C. Après séchage du ballon, l'extrait lipidique est pesé plusieurs fois, jusqu'à poids constant. La quantité de lipides totaux de l'échantillon exprimée en % est déterminée par la différence entre le poids final du ballon et le poids initial.

Les lipides sont repris dans 10 mL d'isopropanol pour le dosage des différents composants lipidiques.

4.6.2.2. Teneurs en cholestérol total, libre et esters de cholestérol

Le cholestérol total (CT) plasmatique et hépatique sont déterminés par une méthode enzymatique colorimétrique (Kit Biocon, Germany). Au niveau du plasma et du foie les résultats sont exprimés respectivement en mmol/L et $\mu\text{mol/g}$.

Les teneurs en cholestérol libre (CL) sont dosées par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit CHOP-PAP, Biolabo, France). La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 500$ nm.

Le cholestérol estérifié est obtenue par la différence entre 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).

4.6.2.3. Teneurs en triglycérides

Les concentrations en triglycérides (TG) du plasma et du foie sont dosées par une méthode enzymatique colorimétrique (kit Biocon, Germany). La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 500$ nm. Les résultats sont exprimés respectivement en mmol/L et μ mol/g.

4.6.2.4. Teneurs en phospholipides

Les concentrations en phospholipides (PL) du plasma et du foie sont déterminées par une méthode enzymatique colorimétrique (kit Cypress Diagnostics, Belgium). La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 505$ nm. Les résultats sont exprimés respectivement en mmol/L et μ mol/g.

4.7. Séparation et analyse des différentes fractions de lipoprotéines

4.7.1. Séparation des lipoprotéines plasmatiques

La séparation des différentes fractions de lipoprotéines est réalisée par précipitation, selon la technique de **Burstein et al., (1970 ; 1989)**. Les lipoprotéines de très faible et faible densité (VLDL et LDL-HDL₁) sont précipitées en présence du phosphotungstate (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) et du MgCl₂ (Merck, Germany) alors que les lipoprotéines de haute densité (HDL₂ et HDL₃) sont précipitées avec du sulfate de dextran (Wt 500000) (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA) et du MgCl₂. Toutes les centrifugations sont effectuées à 3000×g pendant 30 min à 20 °C.

La **Fig. 9** résume les principales étapes de la séparation des différentes fractions de lipoprotéines.

4.7.2. Purification des précipités

Afin de minimiser la contamination par les protéines sériques, les différentes fractions de lipoprotéines sont solubilisées dans une solution contenant du citrate trisodique (Na₃C₆H₅O₇) (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) et du NaCl à 0,01M. Elles sont ensuite purifiées par des lavages successifs. Les fractions VLDL et LDL+HDL₁ sont purifiées avec

du sulfate de dextran 0,05% et du MgCl₂ à 0,05M, et les HDL₂ et HDL₃ avec de l'oxalate de potassium à 0,5M et 1M, respectivement (**Fig. 10**).

4.7.3. Analyse des différents constituants des lipoprotéines

Les contenus en apolipoprotéines (apos) et en lipides (cholestérol total et libre, esters de cholestérol, triglycérides et phospholipides) des VLDL, LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃ sont déterminés selon les méthodes décrites précédemment.

La masse de chaque fraction de lipoprotéine correspond à la somme de leurs contenus en apos, CL, EC, TG et PL et est exprimée en g/L.

4.7.4. Détermination des teneurs en apolipoprotéines (Apo A-I et Apo B) plasmatiques et rapport d'athérogénicité

Les teneurs en apolipoprotéines A-I (apo A-I) et B (apo B) sont mesurées dans le plasma par immuno-turbidimétrie (kit Orion Diagnostica, Spain). La variation de turbidité, mesurée par spectrophotométrie à 340 nm est proportionnelle à la quantité d'apo A-I ou d'apo B présente dans le plasma.

Les rapports d'athérogénicité (CT/C-LDL-HDL₁, CT/C-HDL, C-LDL-HDL₁/C-HDL, C-VLDL-LDL-HDL₁/C-HDL, TG/C-HDL et Apo B/A-I sont calculés.

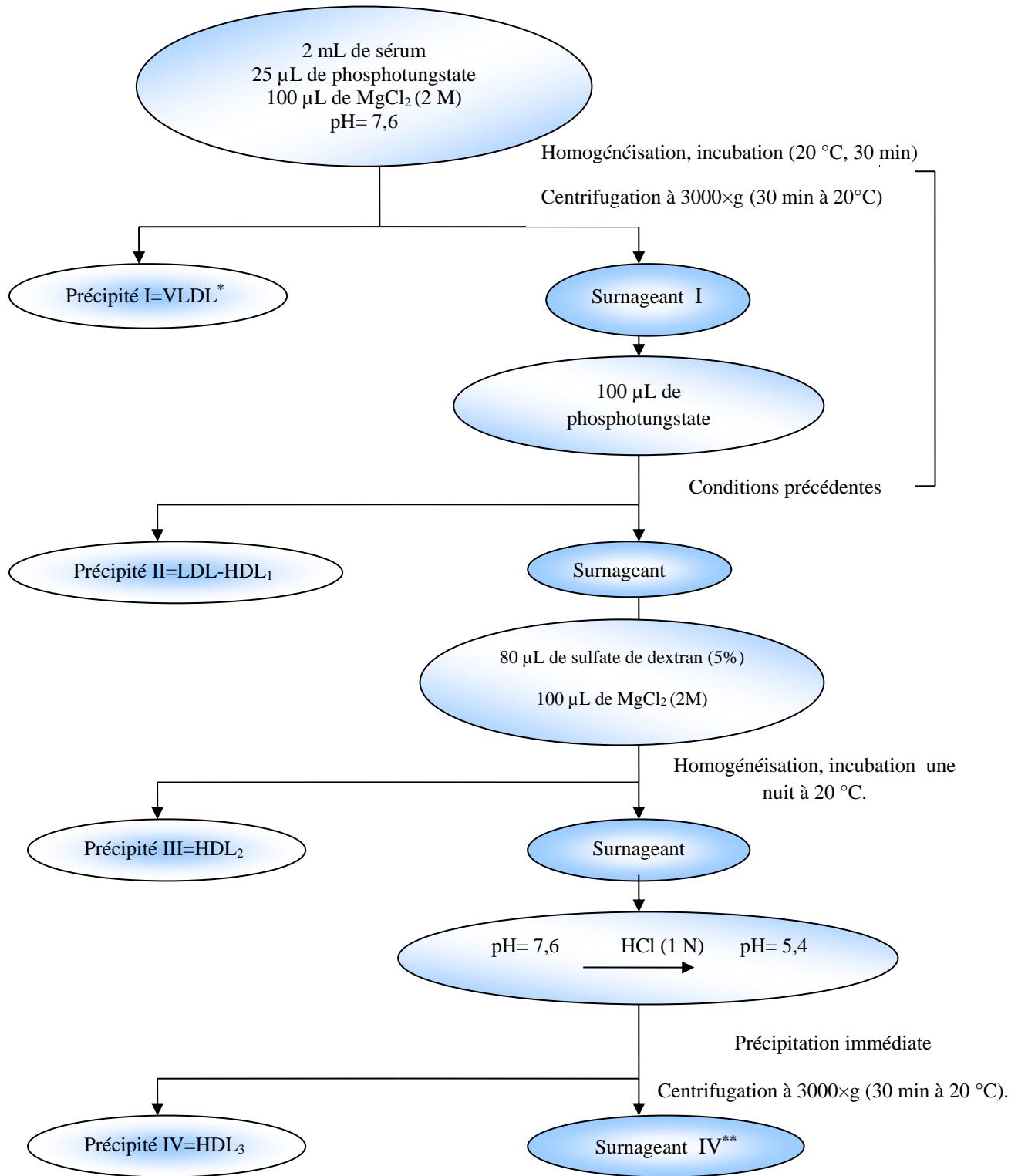


Fig. 9. Séparation des différentes fractions de lipoprotéines selon la méthode de Burstein *et al.*, (1989)

* Fraction de lipoprotéine apparaît sous forme d'un anneau à la surface du tube

** Surnageant correspond aux protéines sériques

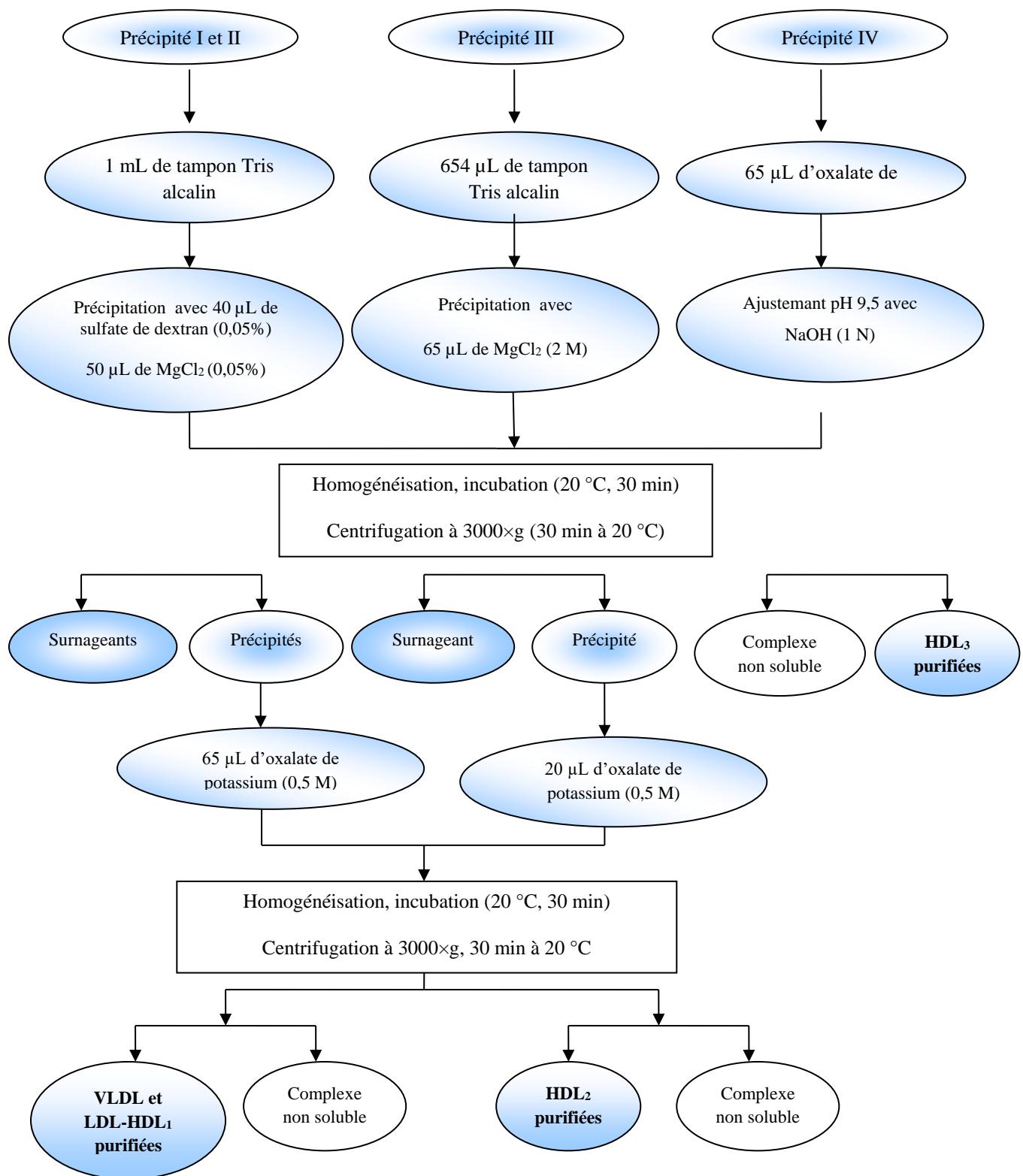


Fig. 10. Purification des différentes fractions de lipoprotéines selon la méthode de Burstein *et al.*, (1989)

4.7.5. Determination de l'activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT)

L'activité de la LCAT (enzyme intervenant dans le transport inverse du cholestérol libre en cholestérol estérifié) est mesurée par une méthode endogène (**Chen & Lacko, 1986**). Après 4h d'incubation à 37°C, à partir d'un acide gras et de la lécithine principalement dans les lipoprotéines de haute densité (HDL). Le CL est dosé par la méthode citée précédemment.

L'activité de la LCAT est exprimée en nanomoles de cholestérol estérifié/h/mL de plasma. Elle est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Activité LCAT} = (\text{CL}_{t0h} - \text{CL}_{t4h})/4h$$

4.8. Evaluation du statut redox

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

4.8.1.1. TBARS du plasma et des érythrocytes

Les teneurs en TBARS sont déterminées par la méthode de **Quintanilha et al., (1982)**. A 1 mL de plasma ou d'érythrocytes dilués avec de l'eau distillée (1:1, v:v) sont ajoutés 2 mL de mélange réactionnel contenant de l'acide thiobarbiturique 0,017 mM et 3,36 µM de butylhydroxy-toluène (BHT). Le mélange est incubé pendant 15 min à 100°C. Après refroidissement dans un bain glacé et centrifugation 10 min à 1000 x g, l'absorbance du surnageant est mesurée à 535 nm. Le malondialdéhyde (MDA) est utilisé comme standard. Les résultats obtenus sont exprimés en nmol de TBARS/mL.

4.8.1.2. TBARS tissulaires

Au niveau tissulaire, la mesure des TBARS est déterminée selon la méthode de **Ohkawa et al., (1979)**. 100 mg de tissu sont homogénéisés à l'ultraturax avec 0,9 mL de tampon KCl (1,15 %). A 0,2 mL d'homogénat sont ajoutés 0,2 mL de sodium dodécyl sulfate (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 (TBA à 0,8 %). Le volume du mélange est ajusté à 4 mL avec de l'eau distillée et chauffé dans un bain-marie à 95°C, pendant 60 min. Après refroidissement, 1 mL d'eau distillée et 5 mL d'un mélange *n*-butanol:pyridine (15:1, v:v) sont ajoutés. Après une agitation vigoureuse et centrifugation à 1000 x g pendant 10 min, l'absorbance de la phase supérieure (butanolique) est mesurée à 532 nm. Le MDA est utilisé comme standard.

Les résultats obtenus sont exprimés en nmol de TBARS/g de tissu.

4.8.2. Détermination de l'activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires et tissulaires

4.8.2.1. Préparation des érythrocytes

Après centrifugation du sang à 1000 x g pendant 20 min à 4°C, le culot contenant les érythrocytes est récupéré et lavé 2 fois. 2 mL d'érythrocytes sont ajoutés à de l'eau distillée glacée (1:4, v:v) et la suspension obtenue est centrifugée à 1000 x g pendant 6 min à 4°C. Sur le lysat est réalisé un dosage de protéines par la méthode à l'acide bicinchoninique (kit Sigma, USA) dont le principe est identique à celui de la technique de **Lowry et al., (1951)**.

4.8.2.2. Préparation des homogénats tissulaires

Les homogénats tissulaires sont obtenus après addition de tampon phosphate 200 mM (pH 7,8) pour la détermination des activités enzymatiques de la superoxyde dismutase (SOD), 0,12 mM (pH 7,2), de la glutathion peroxydase (GSH-Px), de la glutathion réductase (GSSH-Red) et celle de la catalase 50 mM (pH 7).

La teneur en protéines des différents tissus est déterminée selon la méthode décrite précédemment.

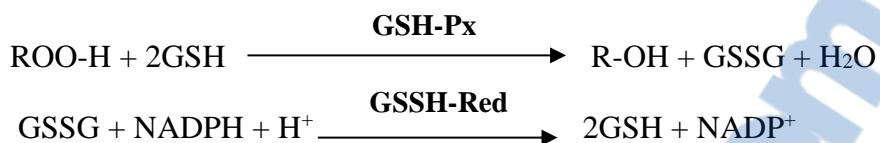
L'activité des enzymes antioxydantes est exprimée en U/g de protéines au niveau des érythrocytes et en U/mg de protéines au niveau des différents tissus.

4.8.2.3. Activité de la superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

L'activité de la SOD est mesurée en utilisant un chromogène, le nitroblue tetrazolium afin de détecter les radicaux libres de la SOD générés, suite à l'action de la xanthine oxydase et l'hypoxanthine (Kit *Cayman*, USA) (**Maier & Chan, 2002**). Cette méthode consiste à déterminer la capacité de l'enzyme à inhiber la réduction de l'anion superoxyde par du nitroblue tetrazolium. Une unité de SOD est définie comme étant la quantité nécessaire à l'inhibition de 50% de la dismutation du radical superoxyde. Cette technique permet de mesurer les trois types de SOD (Cu/Zn, Mn, et Fe). La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 560$ nm.

4.8.2.4. Activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px, EC 1.11.1.9)

L'activité de la GSH-Px est déterminée selon la méthode colorimétrique (Kit *Cayman*, USA) (**Ursini et al., 1985**). L'activité la GSH-Px est mesurée indirectement par une réaction couplée à la glutathion réductase (GRed). Le glutathion oxydé (GSSG), produit après réduction de l'hydroperoxyde par la GSH-Px est recyclé sous sa forme réduite par la GSSH-Red et le NADPH :



L’oxydation du NADPH en NADP⁺ se traduit par une diminution de l’absorbance à $\lambda = 340$ nm. Cette réduction est directement proportionnelle à l’activité de la GSH-Px de l’échantillon.

4.8.2.5. Activité de la glutathion réductase (GSSH-Red, EC 1.6.4.2)

L’activité de la GSSH-Red est déterminée par la mesure du taux d’oxydation du NADPH, en présence de glutathion oxydé par méthode colorimétrique (Kit Cayman, USA) (Calberg & Mannervik, 1985). L’unité d’activité de cette enzyme est définie comme la quantité d’enzyme capable d’oxyder 1 mmole de NADPH par minute. Cette activité est mesurée par rapport à l’activité d’une GSSH-Red de référence.



4.8.2.6. Activité de la catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

L’activité de la catalase est déterminée selon la méthode de Aebi, (1974), par la mesure du taux de décomposition du H₂O₂. Le dosage s’effectue sur 250 µl de surnageant pour les érythrocytes et 250 µl d’homogénat tissulaire (100 mg de tissu broyé dans 0,9 ml de KCl). Deux cent cinquante µl d’H₂O₂ (30 mmol dans du tampon phosphate à 50 mmol.L⁻¹) et 250 µL de tampon phosphate sont rajoutés, la solution est ensuite agitée et incubée pendant 5 min. Après addition du Titanium sulfate (TiOSO₄), la lecture est réalisée par spectrophotométrie à une longueur d’onde $\lambda = 420$ nm.

4.9. Evaluation du statut inflammatoire

4.9.1. Dosage du facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et de l’interleukine-6 (IL-6)

La détermination des teneurs de TNF- α et IL-6 plasmatiques s’effectue selon les techniques immuno-enzymatiques, ELISA (Kit RayBio, Norcross GA, USA) basées sur l’utilisation de 2 anticorps polyclonaux spécifiques à l’antigène présent dans le sérum de rat.

La coloration du milieu est directement proportionnelle à la concentration de l'antigène de l'échantillon et du standard. La réaction est stoppée après addition d'H₂SO₄ et l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 450$ nm.

Les concentrations plasmatiques en TNF- α et IL-6 sont déterminées à l'aide de gammes étalons établies à partir de solutions mères de TNF- α (1000 pg/mL) et d'IL-6 (10ng/mL).

5. Etude histologique des organes

Sur le foie, le pancréas et le rein sont réalisées des coupes histologiques selon la technique de (**Sheehan et al., 1980**). Une portion de 1g de chaque tissu prélevé et immergé dans du paraformaldéhyde à 4% dans du PBS. Les tissus sont ensuite fixés pendant 48h dans du formol à 10%. Après déshydratation dans des bains d'alcools à degrés croissants de 1h chacun, les fragments sont récupérés dans un appareil à inclusion contenant de la paraffine liquéfiée à 56°C pour réaliser le montage des blocs qui sont ensuite congelés à -5°C afin de pouvoir réaliser des coupes séries de 5 μ m d'épaisseur sur microtome. Les lames sont délipidées avec du toluène pendant 30 secondes puis placées dans un bain d'hématoxyline de Harris pendant 5min afin de colorer les noyaux puis rincées à l'eau distillée et ensuite dans un bain d'éosine pour colorer le tissu conjonctif.

6. Analyse statistique

Pour l'analyse du matériel végétal (graine de Lin) *in vitro*, l'analyse statistique est réalisée par le test de comparaisons multiples de Tukey à l'aide du logiciel **STATISTICA** (Version 6.0, Statsoft, USA). Les moyennes portant des lettres (a, b, c, d) sont significativement différentes ($P<0,05$).

Les résultats réalisés chez l'animal sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard ($M\pm ES$) de 6 rats par groupe. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre les trois groupes de rats est réalisée par le test Dunnett, à l'aide du logiciel **STATISTICA** (Version 10.0, Statsoft, USA). Les moyennes portant les indices (*, #) sont significativement différentes ($P<0,05$).

Résultats

1. Analyse phytochimique

1.1. Etude phytochimique

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les extraits de graines de *Linum usitatissimum* (*Lu*) sont représentés dans le tableau XIV.

Le screening phytochimique qualitatif basé sur des réactions colorées ou de précipitations par des réactifs chimiques spécifiques sur les différents extraits de la graine (*Lu*) a montré la présence de flavonoïdes, de composés phénoliques, de glycosides, d'alcaloïdes, de terpénoïdes, de protéines et d'hydrates de carbone. Les saponines n'ont été détectées dans aucun extrait, alors que les tests ont révélé la présence de flavonoïdes uniquement dans les extraits méthanolique et butanolique.

Tableau XIV. Composition phytochimique des différents extraits de la graine de lin (*Lu*) préparés dans différents solvants à polarité différente

Phytoconstituants	Test phytochimique	Extrait méthanolique	Extrait butanolique	Extrait d'éther de pétrole	Extrait d'acétate d'éthyle	Extrait de benzène
Flavonoïdes	Test alkaline	+	+	-	-	-
Composés phénoliques	Test Chlorure ferrique	+	+	+	+	+
Glycosides	Test <i>Keller Kiliani</i>	+	+	+	+	+
Terpénoïdes	Test Salkowski	+	+	+	+	+
	Test de Mayer	+	+	+	+	+
	Test de Wagner	+	+	-	+	-
Alcaloïdes	Test de dragendorff	+	+	+	+	-
Hydrate de carbone	Test de Molisch	+	+	+	+	+
Saponines	Indice de mousse	-	-	-	-	-
Protéines	Test de Millon	+	+	+	+	+

+: détecté ; -: non détecté

1.2. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux

Les résultats d'estimation quantitative des polyphénols et flavonoïdes totaux sont présentés dans le tableau XV.

Comparé au standard (acide gallique), les résultats du dosage des polyphénols totaux des différentes extraits révèlent des quantités importantes de composés phénoliques obtenus après extraction par du méthanol et du butanol ($47,01 \pm 5,40$ et $43,33 \pm 2,77$ μg d'équivalent

d'acide gallique (EAG)/g) respectivement, tandis que des faibles teneurs sont obtenues avec l'extrait de benzène ($14,41 \pm 1,3 \mu\text{g}$ d'équivalent d'acide gallique/g). En outre, nos résultats montrent que les teneurs en flavonoïdes des extraits méthanoliques et butanoliques de *L. usitatissimum* sont de $30,89 \pm 0,09$ et $29,55 \pm 0,15 \mu\text{g}$ d'équivalent de quercétine (EQ)/g, respectivement (**tableau XIV**).

Tableau XV. Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux des différents extraits de la graine de lin (*Lu*)

Extrait de la graine (<i>Lu</i>)	Polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/g}$)	Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g QE/g}$)
Ether de pétrole	$30,22 \pm 1,17^b$	-
Acétate d'éthyle	$23,41 \pm 2,24^c$	-
Butanol	$43,33 \pm 2,77^a$	$29,55 \pm 0,15^a$
Benzène	$14,41 \pm 1,33^d$	-
Méthanol	$47,01 \pm 5,40^a$	$30,89 \pm 0,09^a$

Chaque valeur est exprimée en moyen \pm ES ($n = 3$). La comparaison des moyennes est réalisée par le test Tukey pour les comparaisons multiples.

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

EAG: Exprimé en μg d'équivalents d'acide gallique ; **EQ:** Exprimé en μg d'équivalents de quercétine.

1.3. Evaluation du potentiel antioxydant des extraits de la graine (*Lu*)

1.3.1. Activité anti-radicalaire par le test au DPPH[•]

Les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH[•] pour tous les extraits testés : éther de pétrole, de benzène, d'acétate d'éthyle, de méthanol et de butanol de la graine (*Lu*) à différentes concentrations sont présentés dans la figure 11.

À $800 \mu\text{g/mL}$ d'extrait, l'activité de piégeage du radical libre DPPH[•] de l'extrait butanolique et méthanolique de *L. usitatissimum* est de 96,2% et 93,1%, respectivement. À cette concentration, tous les extraits montrent une grande efficacité antiradicalaire. Si on classe nos extraits selon la capacité de piégeage du radical libre DPPH[•] par rapport à l'acide ascorbique, on obtiendra l'ordre suivant: Butanol>Méthanol> Acétate d'éthyle> Ether de pétrole>Benzène.

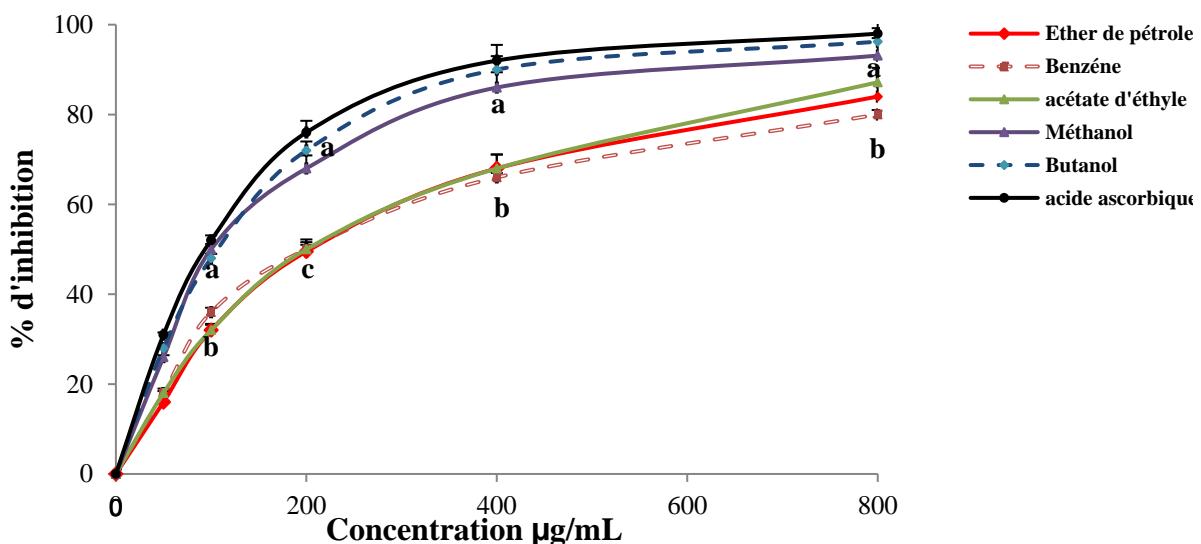


Fig. 11. Pouvoir piégeur du radical DPPH par les différents extraits de *L. usitatissimum* et de l'acide ascorbique

Chaque valeur est exprimée en moyen \pm ES ($n = 3$). La comparaison des moyennes est réalisée par le test Tukey pour les comparaisons multiples.

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

1.3.2. Piégeage du radical superoxyde (O_2^\cdot)

L'activité de piégeage du radical superoxyde (O_2^\cdot) des extraits d'éther de pétrole, de benzène, d'acétate d'éthyle, de méthanol et de butanol de *L. usitatissimum* à différentes concentrations est présentée dans la figure 12.

L'extrait méthanolique, butanolique et éther de pétrole de *L. usitatissimum* à une concentration de 800 µg/mL montrent une augmentation de l'activité de piégeage du radical superoxyde (87,1%, 96,24%, et 93,5%, respectivement) alors que l'extrait d'acétate d'éthyle à différentes concentrations montre une baisse d'activité antiradicalaire. La capacité de piégeage du radical superoxyde par rapport à l'acide ascorbique est présenté selon cet ordre : Butanol > Méthanol > Ether de pétrole > Benzène > Acétate d'éthyle.

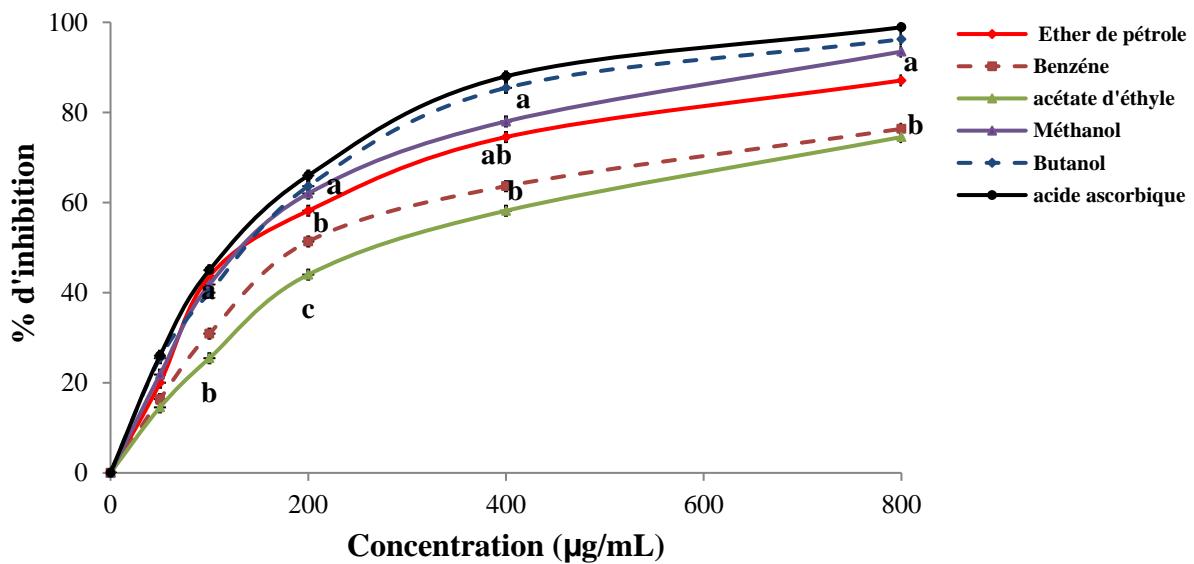


Fig. 12. Pouvoir piégeur du radical superoxyde (O_2^{\bullet}) par les différents extraits de *L. usitatissimum* et de l'acide ascorbique

Chaque valeur est exprimée en moyen \pm ES ($n = 3$). La comparaison des moyennes est réalisée par le test Tukey pour les comparaisons multiples.

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

1.3.3. La capacité de réduction des ions ferriques en ions ferreux

Le pouvoir réducteur des différents extraits de *L. usitatissimum* et le standard acide ascorbique est illustré dans la figure 13.

Les résultats obtenus montrent que la capacité des extraits à réduire le fer est inférieure à celle de l'acide ascorbique. Parmi tous les différents extraits étudiés, l'extrait butanolique montre une capacité réductrice très élevée en comparant avec le standard acide ascorbique.

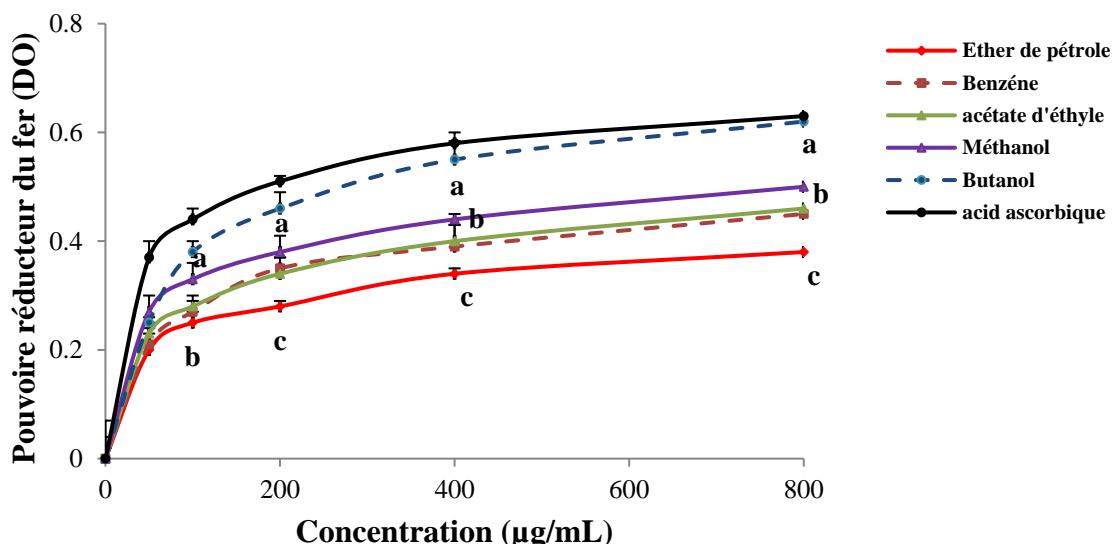


Fig. 13. Pouvoir réducteur du fer des différents extraits de *L. usitatissimum* et de l'acide ascorbique.

Chaque valeur est exprimée en moyen \pm ES ($n = 3$). La comparaison des moyennes est réalisée par le test Tukey pour les comparaisons multiples.

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

1.3.4. Calcul des concentrations inhibitrices (IC) à 50%

Comparée à l'activité du positif de l'acide ascorbique, la capacité antioxydante de nos différents extraits est déterminée à partir des IC₅₀. C'est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH et celui du superoxyde. Les valeurs des IC₅₀ trouvées pour tous les extraits testés sont représentées dans le tableau XVI.

L'évaluation quantitative du pouvoir piégeur des extraits vis-à-vis du DPPH confirme que les extraits butanolique et méthanolique sont les plus actifs, avec des IC₅₀ de l'ordre de 203,73 et 220,05 µg /mL, respectivement. Alors que celle du pouvoir piégeur des extraits vis-à-vis du radical superoxyde est de 241,90 et 262,89 µg/mL, respectivement. Ces résultats se rapprochent de l'activité du contrôle positif, de l'acide ascorbique 179,84 et 222,13 µg /mL. Pour l'extrait d'éther de pétrole, les valeurs des IC₅₀ du DPPH et du piégeage de radical superoxyde sont 345,06 et 287,18 µg/mL, respectivement. Les extraits d'acétate d'éthyle et de benzène présentent des IC₅₀ de 333,20 et 351,69 µg /mL, respectivement pour DPPH et 419,03 à 376,88 µg /mL respectivement pour le radical superoxyde. Ces résultats sont réduits d'environ 50% par rapport à l'extrait butanolique de *L. usitatissimum*.

Tableau XVI. Valeurs des IC₅₀ des différents extraits de la graine de lin (*Lu*)

Extrait de la graine (<i>Lu</i>) ($\mu\text{g/mL}$)	IC ₅₀
Ether de pétrole	DPPH
	345,06 \pm 13,11 ^a
Acétate d'éthyle	Superoxyde
	287,18 \pm 5,11 ^b
Butanol	333,20\pm10,12^a
	419,90 \pm 19,55 ^a
Benzène	203,73\pm14,13^b
	241,90 \pm 19,55 ^c
Méthanol	351,69 \pm12,44^a
	376,88 \pm 25,55 ^a
Acide ascorbique	220,05\pm14,22^b
	262,89 \pm 9,22 ^c
	179,84 \pm24,55^{b,c}
	222,13\pm16,11^c

Chaque valeur est exprimée en moyen \pm ES ($n = 3$). La comparaison des moyennes est réalisée par le test Tukey pour les comparaisons multiples.

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

2. Analyse biologique

2.1. Croissance pondérale des animaux et nourriture ingérée

La croissance pondérale des trois groupes de rats (T, D, D-Lu) est indiquée sur la figure 14. Distinctement, une différence significative est notée entre la croissance des rats diabétiques (D) et celle des rats normaux (T). En effet, une diminution significative du poids corporel est notée chez les rats diabétiques (D) de -23%, -33%, -38%, -37%, -37% et 41% à J21, J28, J35, J42, J49 et J56, respectivement comparé à celui des rats témoin (T). Dès la troisième semaine de traitement des rats diabétiques par la graine de lin (D-Lu), une augmentation significative de poids corporel est notée. En effet, les valeurs sont augmentées de +18%, +28%, +34%, +33,5%, +33% et +40% chez le groupe D-Lu vs D, aux jours J21, J28, J35, J42, J49 et J56, respectivement.

Néanmoins, aucune différence significative n'est observée dans la quantité de nourriture ingérée (exprimée en g/j/rats) chez les trois groupes de rats (Fig. 14).

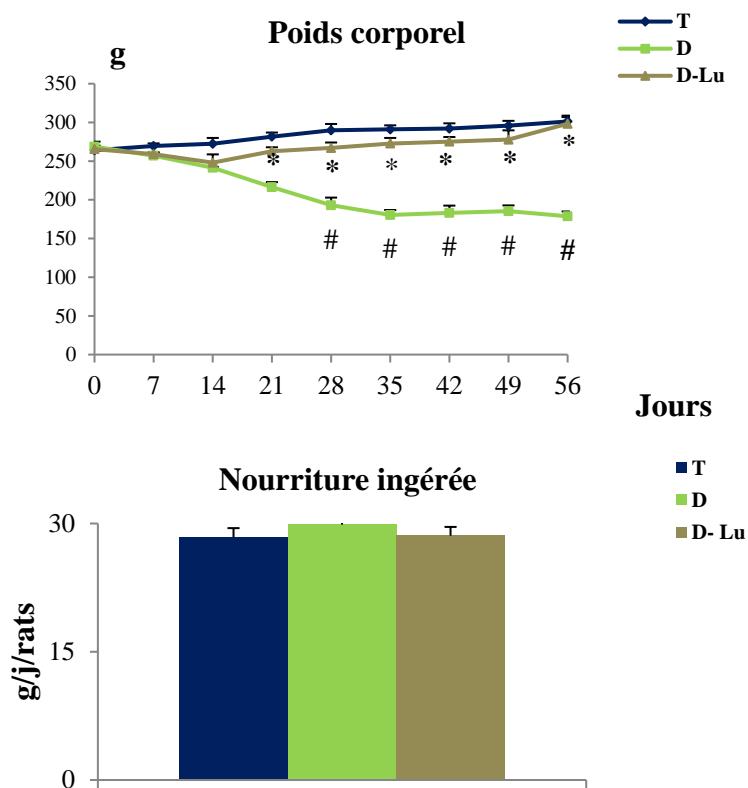


Fig. 14. Croissance pondérale des animaux et nourriture ingérée

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test de *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

2.2. Poids relatif des organes

Les poids relatifs des organes (poids de l'organe/poids corporel du rat $\times 100$) sont présentés dans le tableau XVII. Une augmentation du poids relatif du foie (+18%) est notée chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins. Alors que les poids relatifs des reins, du cœur, du muscle et du cerveau ne présentent aucune différence significative. Le traitement des rats diabétiques avec la graine de lin induit une augmentation significative de +15% et de +34% des poids relatifs du foie et du muscle, respectivement comparés aux rats diabétiques non traités. Par ailleurs, aucune différence significative n'a été notée au niveau des reins, du cœur et du cerveau chez les trois groupes de rats.

Tableau XVII. Poids relatif des organes

Organes	T	D	D-Lu
Foie	3,01±0,25	3,67±0,33 [‡]	4,3±0,27 [*]
Reins	0,72±0,06	0,64±0,12	0,61±0,02
Cœur	0,54±0,19	0,35 ±0,02	0,33± 0,03
Muscle	1,49±0,21	1,02± 0,30	1,54± 0,37 [*]
Cerveau	0,85±0,19	0,81± 0,11	0,78± 0,05

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

[#]**D** vs **T** ; ^{*}**D-Lu** vs **D**

Poids relatif = Poids de l'organe/poids corporel du rat x 100

2.3. Evolution de la glycémie, l'insulinémie et hémoglobine glycosylée

L'évolution de la glycémie au cours du temps est rapportée sur la figure 15.

Après 7, 14, 28 et 56 jours d'expérimentation nous constatons une augmentation respective de +83%, +83,5%, +84% et +85% des concentrations plasmatiques en glucose chez les rats diabétiques non traités comparées à ceux recevant le régime témoin. Le groupe diabétique traité avec la graine de lin entraîne une diminution significative de la glycémie dès le 14^{ème} jour de traitement. En effet, les valeurs sont 2,4-, 1,9-, 3-, 4-, 5-, 5- et 6- fois plus faibles chez le groupe D-Lu vs D à J14, J21, J28, J35, J42, J49 et J56, respectivement.

Cependant, une diminution significative du taux d'insuline plasmatique (-27%) a été observée chez les rats diabétiques non traités par rapport aux rats témoins après 56 jours. En revanche, le traitement par la graine de lin a augmenté le niveau d'insuline plasmatique presque à la normale (+29%), alors que le pourcentage de l'hémoglobine glycosylée augmente de +41% chez le groupe diabétique non traité par rapport au groupe témoin. La supplémentation du régime en graine de lin induit une baisse du pourcentage de l'hémoglobine glycosylée de -55% chez les rats diabétiques traités vs non traités (Tableau XVIII).

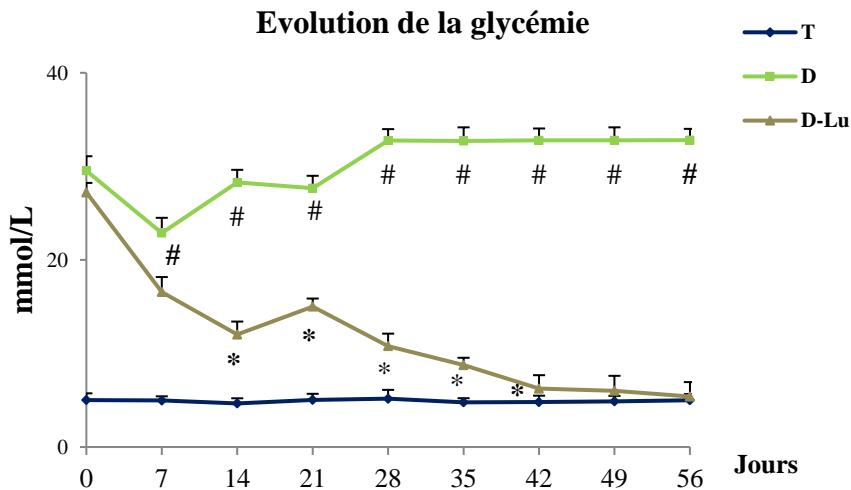


Fig. 15. Evolution de la glycémie

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#D vs T ; *D-Lu vs D

Tableau XVIII. Insulinémie et hémoglobine glycosylée (HbA1c)

	T	D	D-Lu
Insulinémie (pmol/L)	$60,27 \pm 4,11$	$44,13 \pm 4,10^{\#}$	$61,85 \pm 6,22^*$
HbA1c (%)	$7,36 \pm 0,36$	$12,47 \pm 1,07^{\#}$	$5,58 \pm 0,32^*$

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#D vs T ; *D-Lu vs D

2.4. Concentrations plasmatiques et urinaires en urée, créatinine, et acide urique

Les marqueurs de la fonction rénale comme l'urée, la créatinine, et l'acide urique sont significativement élevés au niveau plasmatique chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins. Les taux en urée et créatinine sont réduits de -32% et -36%, respectivement chez les rats diabétiques traités (D-Lu), comparés aux rats diabétiques non traités. Le taux d'acide urique plasmatique est également réduit de -25% chez le groupe D-Lu comparé à celui du groupe D.

Cependant, au niveau urinaire, aucune différence significative n'est notée dans les teneurs en urée et créatinine chez le groupe D comparé au groupe T, alors que les teneurs en urée et en créatinine sont respectivement 1,3- et 1,1-fois plus élevées chez le groupe D-Lu comparé au groupe D (**Tableau XIX**).

Tableau XIX. Concentrations plasmatiques et urinaires en urée, créatinine et acide urique plasmatique

	T	D	D-Lu
Plasma			
Urée (mmol/L)	7,44±0,35	8,69 ± 0,58 [#]	5,88 ± 1,20*
Créatinine (µmol/L)	38,44±2,44	64,53 ± 0,34 [#]	41,57 ± 1,99*
Acide urique (mmol/L)	289,91 ±1,05	376,04 ±0,59 [#]	280,84 ±0,41*
Urine			
Urée (mmol/L)	69,95±4,1	56,47 ± 2,70	73,67 ± 2,82*
Créatinine (mmol/L)	199,84±26,01	192,49 ± 26,36	222,39 ± 50,84*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p<0,05$.

***D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

2.5. Activité des transaminases et de la phosphatase alcaline plasmatiques

Les activités plasmatiques de l'aspartate aminotransférase (ASAT), l'alanine aminotransférase (ALAT) et la phosphatase alcaline (PAL) sont respectivement augmentées de +44%, +46% et +42% chez le groupe diabétique non traité comparé au groupe témoin. Le traitement des rats diabétiques avec la graine de *Linum usitatissimum* induit une réduction significative des activités ASAT (-42%), ALAT (-51%) et PAL (-48%) au niveau plasmatique (**Tableau XX**).

Tableau XX. Activités enzymatiques des transaminases et de la phosphatase alcaline

	T	D	D-Lu
ASAT (UI/L)	51,23±3,27	91,43± 3,09 [#]	52,83±2,63*
ALAT (UI/L)	46,82± 3,24	86,01± 2,47 [#]	42,43±4,12*
PAL (UI/L)	103,35±3,43	178,32±3,25 [#]	92,07±3,68*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

***D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

2.6. Teneurs en protéines et en lipides du foie et du plasma

Les concentrations en protéines totales et en lipides du foie et du plasma chez les trois groupes de rats sont illustrées dans la figure 16.

Au niveau du plasma, les teneurs en protéines totales sont diminuées de -24% chez le groupe des rats diabétiques (D) comparées au groupe des rats témoins (T). Une augmentation des concentrations plasmatiques en esters de cholestérol (EC) (+44%), en triglycérides (TG) (+66%), en cholestérol libre (CL) (+36%) et en phospholipides (PL) (+66%) est constatée chez le groupe diabétique (D) comparé au groupe témoin (T). Chez les rats diabétiques traités (D-Lu) vs non traités (D) les teneurs plasmatiques en esters de cholestérol (EC), en triglycérides (TG), en cholestérol libre (CL) et en phospholipides (PL) sont diminuées de -57%, -49%, -32% et -61%, respectivement. A l'inverse, les teneurs plasmatiques en protéines totales sont augmentées de +30% chez les rats traités (D-Lu) vs non traités (D).

Au niveau du foie, les teneurs en esters de cholestérol, et en phospholipides sont augmentés de +26% et +11% chez le groupe des rats diabétiques comparés au groupe des rats témoins. Alors qu'aucune différence significative n'est notée dans les teneurs en triglycérides.

En revanche, les teneurs en protéines hépatiques sont diminuées de -18% chez le groupe des rats diabétiques (D) comparées aux rats témoins (T).

Cependant, le traitement avec les graines de lin induit une augmentation des teneurs en protéines de +14%. A l'inverse, le traitement a diminué significativement les teneurs en esters de cholestérol (EC) (-34%), en triglycérides (TG) (-33%) et en phospholipides (PL) (-22%) chez les rats diabétiques traités comparés aux non traités. Cependant, aucune différence significative n'est notée dans les teneurs en cholestérol libre (CL) chez les trois groupes de rats (**Fig. 16**).

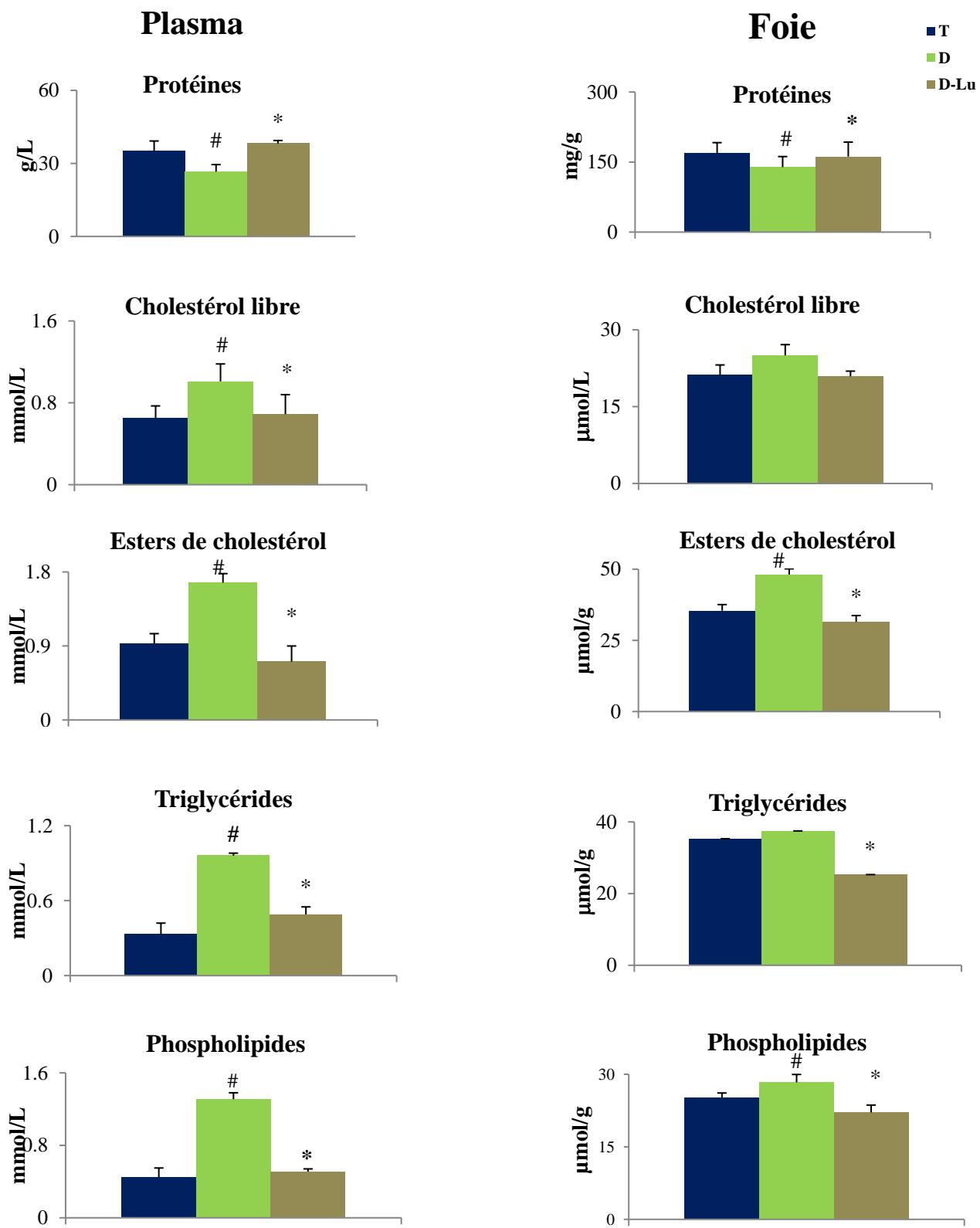


Fig. 16. Teneurs en protéines et en lipides du foie et du plasma

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#**D** vs **T**; ***D-Lu** vs **D**

2.7. Teneurs et composition en apolipoprotéines et en lipides des différentes lipoprotéines plasmatiques (VLDL, LDL-HDL₁ HDL₂ et HDL₃)

2.7.1. Répartition du cholestérol total plasmatique entre les différentes lipoprotéines

Après 56 jours d'expérimentation, les teneurs plasmatiques en cholestérol des VLDL, des LDL-HDL₁ et des HDL₃ sont augmentées de +61%, +63% et +50%, respectivement chez le groupe des rats diabétiques non traités (D) comparé au groupe des rats témoins (T). Inversement, les teneurs en C-HDL₂ sont diminuées de -21%. De plus, chez le groupe diabétique non traité, le transport du CT se fait essentiellement par les LDL-HDL₁ (45%), alors que chez le groupe témoin, le cholestérol est essentiellement porté par les HDL₂ (48%). Cependant, la plus faible part de cholestérol est portée par les VLDL (11% et 7% chez les groupes D et T, respectivement), alors que le cholestérol porté par les HDL₃ est de 20% chez le groupe diabétique non traité vs 17% chez le groupe témoin (**Tableau XXI**).

Le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* entraîne, chez le groupe diabétique traité comparé au groupe non traité une diminution des teneurs en cholestérol des VLDL (-65%), des LDL-HDL₁ (-64%) et des HDL₃ (-55%). Cependant, les teneurs en C-HDL₂ sont augmentées de +17%. De plus, chez le groupe traité, le transport du CT se fait essentiellement par la fraction HDL et plus particulièrement par les HDL₂ (48%), alors que chez le groupe non traité, le cholestérol est essentiellement porté par les LDL-HDL₁ (45%).

Par ailleurs, la plus faible part de cholestérol est portée par les VLDL (7% et 11% chez les groupes D-*Lu* et D, respectivement), alors que le cholestérol porté par les HDL₃ est de 16% chez le groupe traité vs 20% chez le groupe non traité (**Tableau XXI**).

Tableau XXI. Teneurs en cholestérol total plasmatique et répartition au niveau des lipoprotéines (mmol/L)

	T	D	D-Lu
CT plasma	1,21±0,15	2,01±0,21 [#]	1,12±0,25 [*]
C-VLDL	0,09 ±0,35 (7%)	0,23±0,1 [#] (11%)	0,08±0,26 [*] (7%)
C-LDL-HDL₁	0,34±0,31 (28%)	0,92±0,31 [#] (45%)	0,33±0,20 [*] (29%)
C-HDL₂	0,57±0,40 (47%)	0,45±0,45 [#] (23%)	0,54±0,19 [*] (48%)
C-HDL₃	0,20±0,28 (17%)	0,40± 0,28 [#] (20%)	0,18±0,13 [*] (16%)

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

[#]**D** vs **T** ; ^{*}**D-Lu** vs **D**

2.7.2. Répartition des triglycérides plasmatiques entre les différentes lipoprotéines

Au niveau du plasma, les teneurs en triglycérides des VLDL, des LDL-HDL₁ et des HDL₂ sont augmentées significativement (+70%, +78% et +62,5%, respectivement), chez le groupe diabétique non traité (D) comparé au groupe témoin (T). Alors qu'aucune différence significative n'est notée au niveau des HDL₃. Par ailleurs, la répartition des TG entre les différentes fractions montre que la plus grande part est portée par les VLDL, chez les deux groupes de rats. En effet, elle représente 45% chez le groupe diabétique non traité et 40% chez le groupe témoin. Cependant, les TG portés par les LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃ représentent respectivement 28%, 17% et 10% chez le groupe D vs 18%, 18% et 24% chez le groupe T.

Chez le groupe diabétique traité avec la graine de *Linum usitatissimum* comparé au non traité, les teneurs en triglycérides des VLDL, des LDL-HDL₁ et des HDL₂ sont significativement réduites (-65%, -59% et -37,5%, respectivement), alors qu'aucune différence significative n'est notée au niveau des HDL₃.

Cependant, la répartition des TG entre les différentes fractions montre que la plus grande part est portée par les VLDL, chez les deux groupes de rats. En effet, elle représente 27% chez le groupe traité avec la graine de lin et 45% chez le groupe non traité. Cependant,

les TG portés par les LDL-HDL₁, HDL₂ et HDL₃ représentent respectivement 22%, 20% et 31% chez le groupe D-Lu *vs* 28%, 17% et 10% chez le groupe D (**Tableau XXII**).

Tableau XXII. Teneurs en triglycérides plasmatiques et répartition au niveau des lipoprotéines (mmol/L)

	T	D	D-Lu
TG plasma	0,33±0,09	0,96±0,02 [#]	0,49±0,06 [*]
TG-VLDL	0,13 ±0,15 (40%)	0,43±0,07 [#] (45%)	0,15±0,04 [*] (31%)
TG-LDL-HDL₁	0,06±0,03 (18%)	0,27±0,05 [#] (28%)	0,11±0,01 [*] (22%)
TG-HDL₂	0,06±0,02 (18%)	0,16±0,03 [#] (17%)	0,10±0,01 [*] (20%)
TG-HDL₃	0,08±0,03 (24%)	0,10± 0,02 (10%)	0,13±0,02 (27%)

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si *p*<0,05.

[#]**D** *vs* **T** ; ^{*}**D-Lu** *vs* **D**

2.7.3. Teneurs et composition en lipides et apolipoprotéines des VLDL

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) des VLDL est augmentée de +45% chez le groupe diabétique non traité (D) comparé au groupe témoin (T). Les concentrations en CL, EC, TG et PL sont augmentées de +71%, +73%, +83% et +87%, respectivement (**Fig. 17**).

Chez les rats diabétiques traités *vs* non traités, la masse des VLDL est 1,5-fois plus faible en raison d'une diminution des teneurs en lipides. En effet, les valeurs du CL, des EC, des TG et des PL sont respectivement 2,3-, 2,2- ; 3,6- et 3,7- fois plus faibles chez le groupe D-Lu comparé au groupe D.

Cependant, aucune différence significative n'est notée dans les teneurs en apolipoprotéines chez les trois groupes de rats.

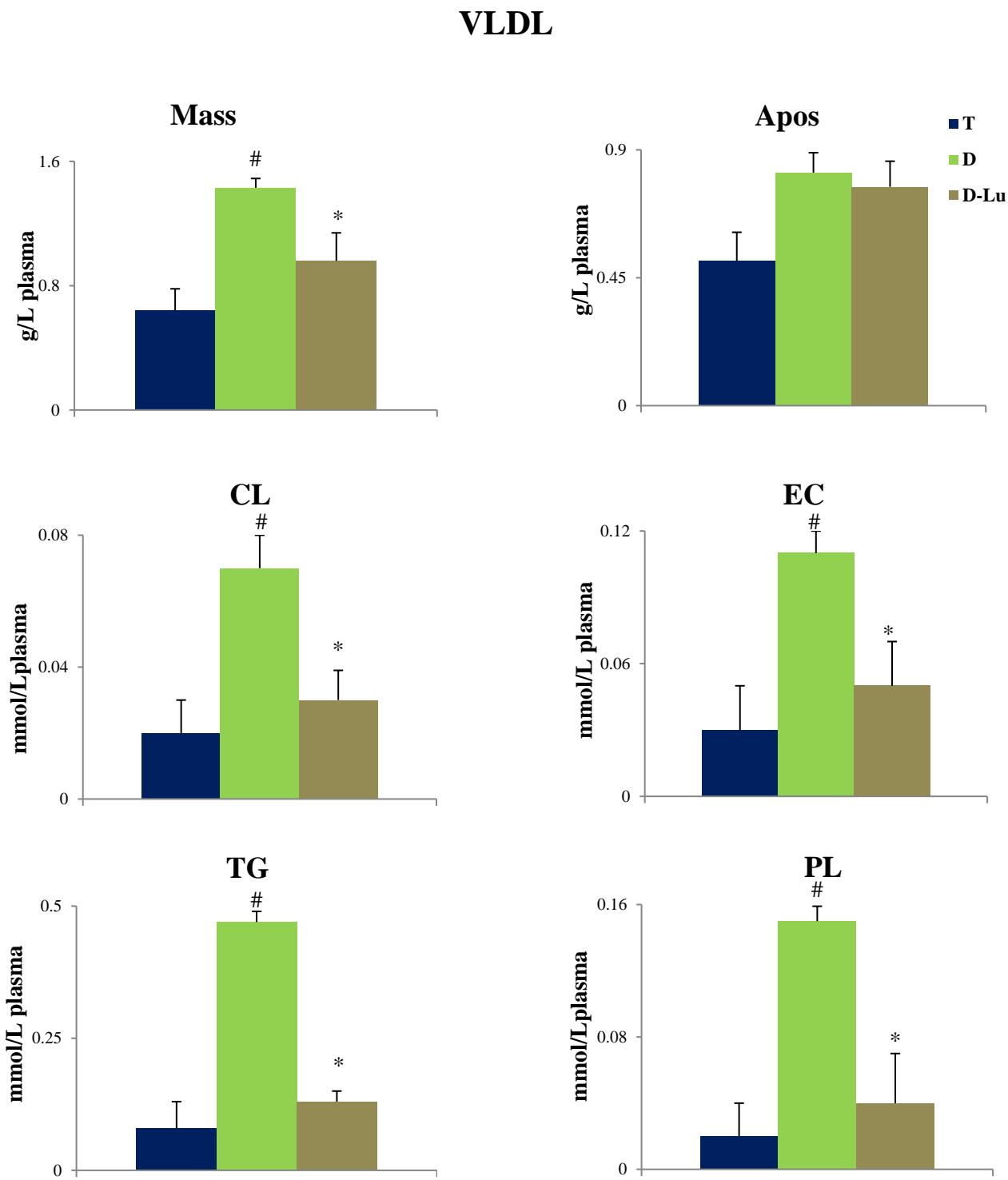


Fig. 17. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#**D** vs **T**; ***D-Lu** vs **D**

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

Après 56jours d’expérimentation, les teneurs en CL, EC et TG sont augmentées de +64%, +67% et +78% chez le groupe diabétique non traité (D) comparé au groupe témoin (T).

Cependant, nous constatons une augmentation de +37% de la masse des LDL-HDL₁ chez le groupe D comparé au groupe T.

Chez le groupe traité *vs* non traité, la masse des LDL-HDL₁ est 1,2-fois plus faible. Cette diminution est concomitante avec celle des contenus en CL (-46%), en EC (-48%) et en TG (-67%), alors qu’aucune différence significative n’est observée dans les teneurs en apos et en PL chez les trois groupes de rats (**Fig.18**).

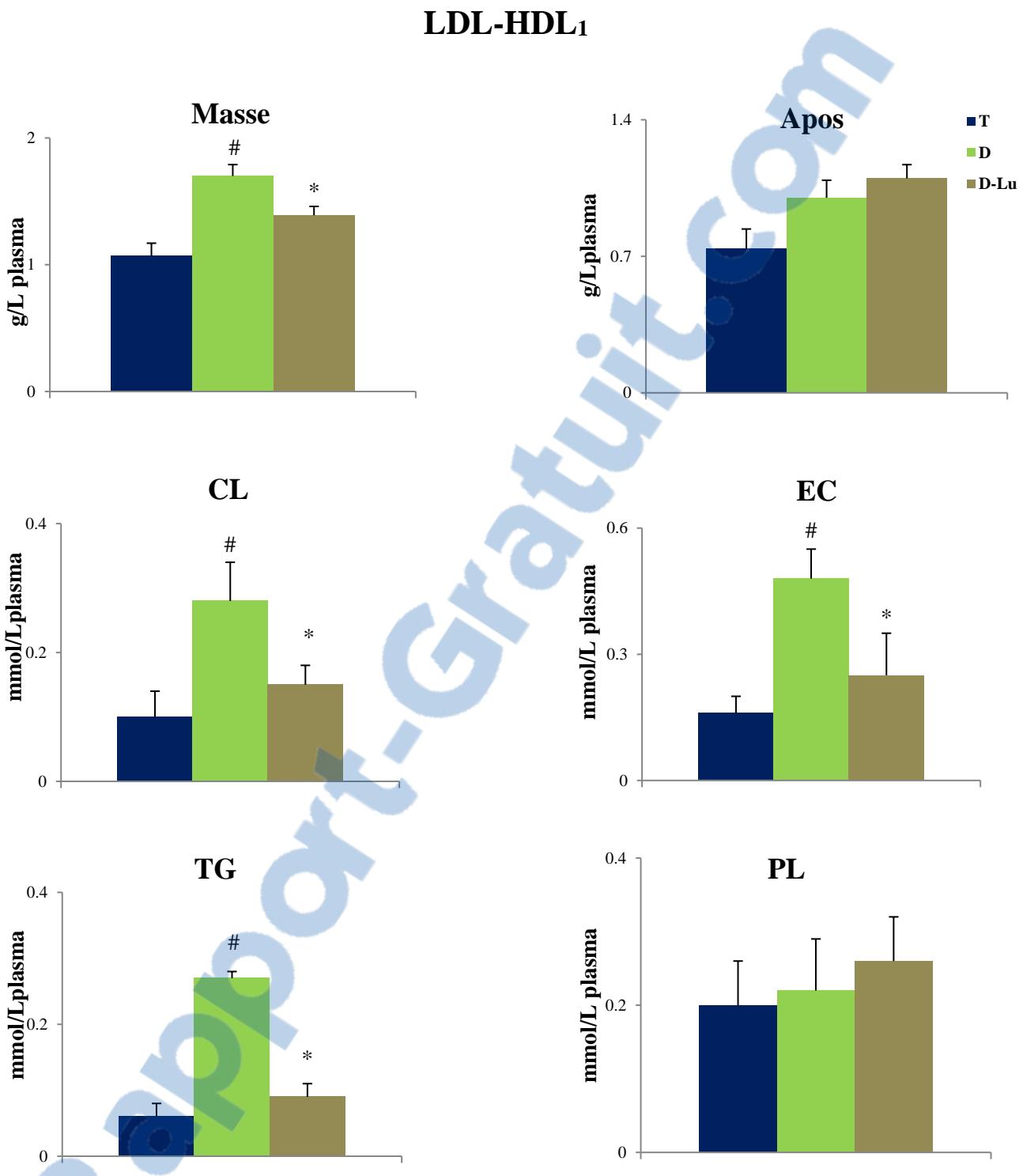


Fig. 18. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL₁

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

2.7.5. Teneurs et composition en lipides et apolipoprotéines des HDL₂

La masse des HDL₂ est similaire chez les trois groupes de rats. Ainsi, les teneurs en EC restent similaires chez le groupe D *vs* groupe T, alors que le contenu en TG est 2,1-fois plus élevé chez le groupe diabétique non traité (D) comparé au groupe témoin (T) (**Fig. 19**).

Cependant, le contenu en EC est 1,7-fois plus élevé et celui en TG est 1,4-fois plus faible chez le groupe diabétique traité (D-Lu) comparé au groupe non traité (D). Qualitativement, les teneurs en apo, en CL et en PL ne montrent aucune différence significative chez les trois groupes de rats.

2.7.6. Teneurs et composition en lipides et apolipoprotéines des HDL₃

La masse des HDL₃ est augmentée de (+34%) chez le groupe D par rapport au groupe T par augmentation de leurs concentrations en apo, en CL, en EC et en PL +27%, +69%, +68% et +77%, respectivement. Le contenu en TG est similaire chez les deux groupes de rats.

En revanche, le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* n'entraîne aucune différence significative dans la masse des HDL₃ (**Fig. 20**). Cependant, chez le groupe traité comparé au non traité, les teneurs en CL, EC et PL sont diminuées de -54%, -50% et -64%, respectivement. Par ailleurs, aucune différence significative n'est retrouvée dans les contenus en apo et en TG chez les deux groupes.

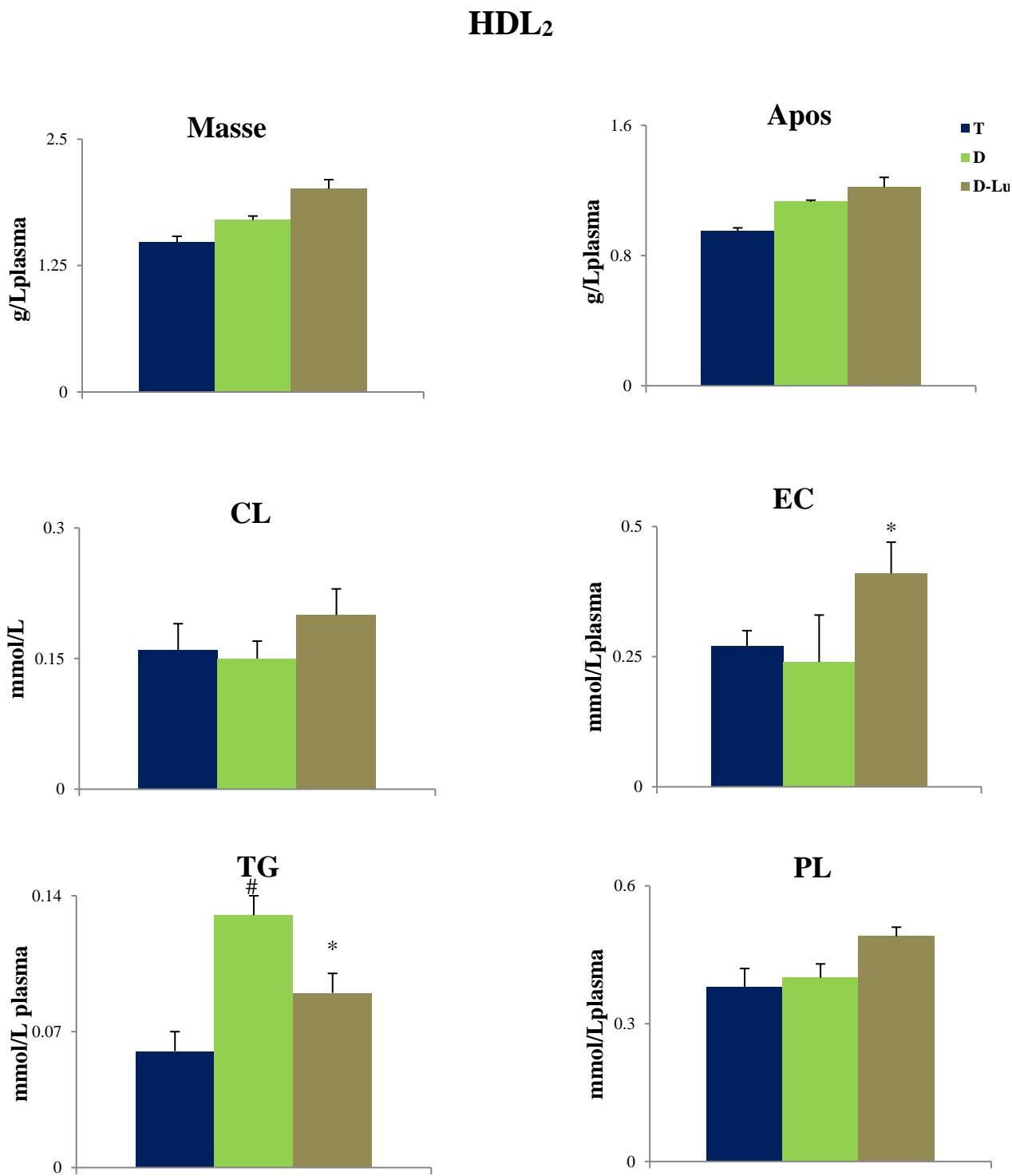


Fig. 19. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₂

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test Dunnett.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

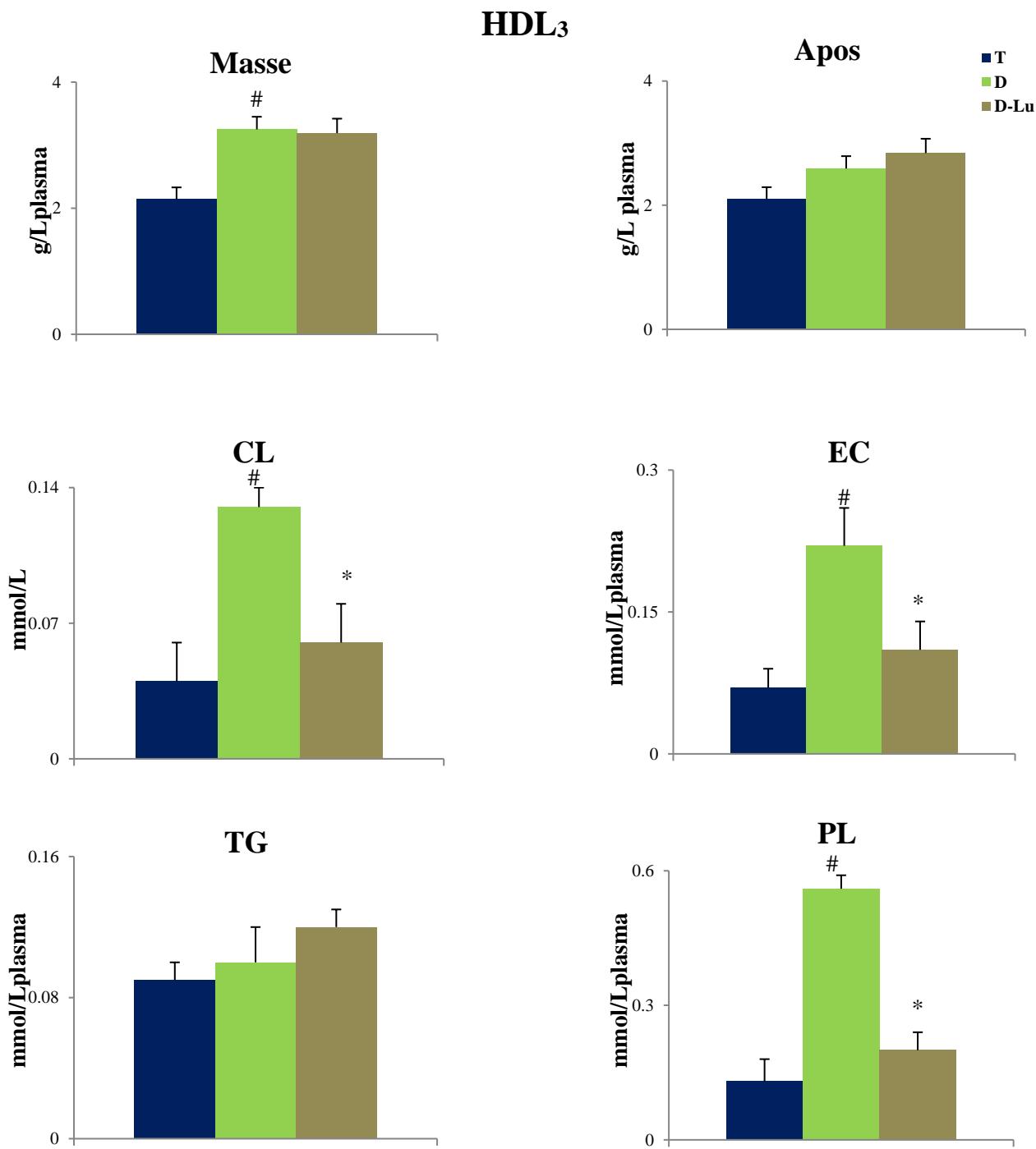


Fig. 20. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₃

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#D vs T ; *D-Lu vs D

2.8. Concentrations en apolipoprotéines A-I et B du plasma

Chez le groupe diabétique comparé au groupe témoin, les concentrations plasmatiques en apo A-I sont 1,8-fois plus faibles, alors que celles de l'apo B sont 2,2-fois plus élevées (**Tableau XXIII**).

Inversement, chez le groupe traité *vs* non traité, les concentrations plasmatiques en apo A-I sont 2,8-fois plus élevées, alors que celles de l'apo B sont 1,7-fois plus faibles.

2.9. Rapports d'athérogénicité

Après 2 mois de consommation des régimes, les rapports CT/C-HDL, C-VLDL+LDL-HDL₁/C-HDL et apo B/apo A-I sont significativement plus élevés de +36%, +61% et +76%, respectivement chez les rats diabétiques non traités comparé aux témoins (**Tableau XXIII**).

Le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* induit une diminution significative des indices d'athérogénicité. En effet, les rapports CT/C-HDL, C-VLDL+LDL-HDL₁/C-HDL et apo B/apo A-I sont réduits de -40%, -62% et -80%, respectivement chez les rats traités *vs* non traités.

Tableau XXIII. Concentrations plasmatiques en Apo A-I et Apo B (g/L) et rapports d'athérogénicité

	T	D	D-Lu
Apo A-I	1,15±0,25	0,61±0,29 [#]	1,71±0,31 [*]
Apo B	0,59±0,31	1,29±0,15 [#]	0,74±0,27 [*]
CT/C-HDL	1,09±0,09	1,69±0,07 [#]	1,01±0,06 [*]
C-VLDL+LDL-HDL₁/C-HDL	0,38±0,06	0,97±0,06 [#]	0,37±0,07 [*]
Apo B/apo A-I	0,51±0,05	2,11±0,02 [#]	0,43±0,04 [*]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si *p*<0,05.

[#]**D** *vs* **T** ; ^{*}**D-Lu** *vs* **D**

2.10. Activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT)

L'activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase, enzyme qui assure l'estérification du cholestérol des HDL₃, est 1,1-fois plus faible chez les rats diabétiques non traités *vs* témoin.

Inversement, l'activité de la LCAT est 1,7-fois plus élevée chez les rats traités avec la graine de *Linum usitatissimum* *vs* non traités (**Tableau XXIV**).

Les concentrations en apo-HDL₃, dont l'apo majeure est l'apo A-I, cofacteur activateur de la LCAT ne montrent aucune différence significative chez les trois groupes de rats. Cependant, le contenu en PL-HDL₃, substrat de l'enzyme et la teneur en CL-HDL₃, accepteur du groupement acyl de la lécithine sont augmentés (+77% et +69%, respectivement), alors que les teneurs en EC-HDL₂ qui sont les produits de la réaction enzymatique ne présente aucune différence significative chez le groupe D comparé au groupe T.

En revanche, le contenu en PL-HDL₃ et la teneur en CL-HDL₃ sont diminués (-64% et -54%, respectivement), alors que les teneurs en EC-HDL₂ sont augmentées de +41% chez le groupe D-Lu comparé au groupe D (**Tableau XXIV**).

Tableau XXIV. Activité de la Lécithine: Cholestérol AcylTransférase (LCAT) et teneurs en apo- HDL₃, PL-HDL₃, CL-HDL₃ et EC-HDL₂

	T	D	D-Lu
LCAT (nmol/h /mL)	7,41±0,92	6,29±0,95 [#]	11,01±0,81 [*]
Apo- HDL₃ (g/L)	2,10±0,22	2,59±0,06	2,84±0,62
PL-HDL₃ (mmol/L)	0,13±0,02	0,56±0,08 [#]	0,20±0,32 [*]
CL-HDL₃ (mmol/L)	0,04±0,02	0,13±0,01 [#]	0,06±0,02 [*]
EC-HDL₂ (mmol/L)	0,27±0,03	0,24±0,09	0,41±0,06 [*]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

[#]D *vs* T ; ^{*}D-Lu *vs* D

2.11. Statut redox

2.11.1. Concentrations en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) du plasma et des érythrocytes

Les concentrations en TBARS des érythrocytes et du plasma sont illustrées dans la figure 21. Nos résultats indiquent que les concentrations en TBARS du plasma et des érythrocytes sont plus élevées chez le groupe diabétique comparé au groupe témoin (**Fig. 21**).

Le traitement avec la graine de lin entraîne une diminution de la concentration en TBARS des érythrocytes (-32%) et du plasma (-54%).

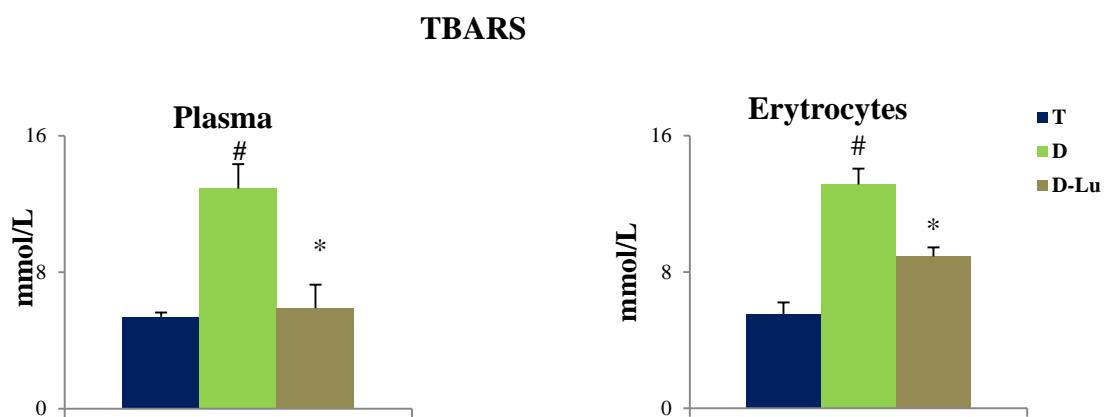


Fig. 21. Concentrations en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) des érythrocytes et du plasma

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

2.11.2. Concentrations en TBARS tissulaires

Les concentrations en TBARS du foie, des reins, du cœur, du muscle et du cerveau sont présentées dans la figure 22.

Les concentrations en TBARS sont significativement élevées de +65%, +31%, +39%, +16% et +37% respectivement au niveau du foie, du rein, du cœur, du muscle et du cerveau chez le groupe diabétique non traité (D) comparé au groupe témoin (T). Inversement, les rats traités avec la graine de *Linum usitatissimum* (D-Lu) comparés aux non traités (D), montrent une réduction significative des teneurs en TBARS au niveau du foie, du rein, du cœur, du muscle et du cerveau. En effet, les valeurs sont 1,9-, 1,6-, 1,5- 1,2- et 1,8-fois plus faibles, respectivement (Fig. 22).

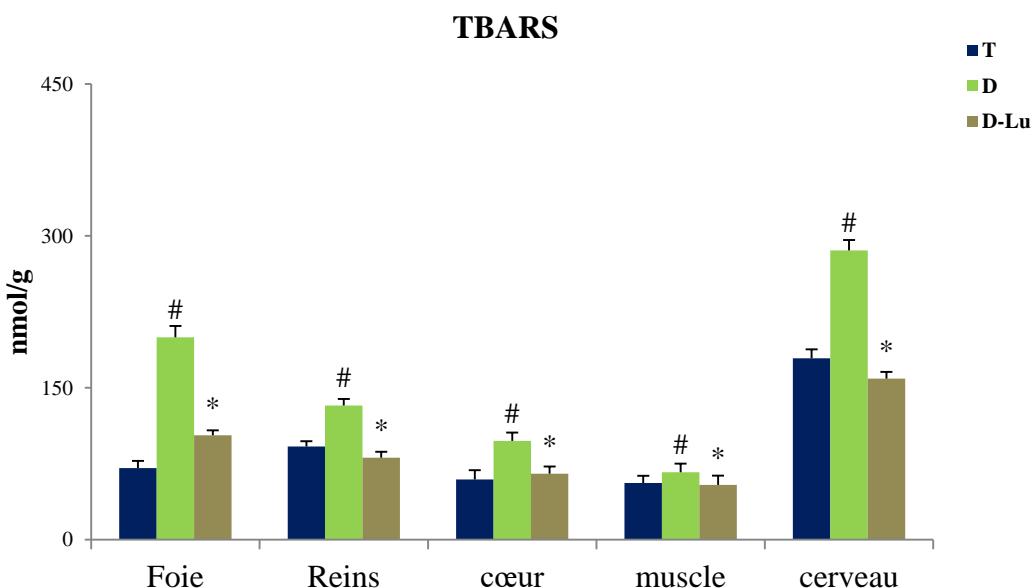


Fig. 22. Concentrations en TBARS tissulaires

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#D vs T ; *D-Lu vs D

2.11.3. Activité des enzymes antioxydantes (SOD, GSH-Px et GSSH-Red) érythrocytaires

L'activité érythrocytaire de la glutathion peroxydase (GSH-Px) et de la glutathion réductase (GSSH-Red) est diminuée de -37%, et -32% respectivement, chez le groupe diabétique non traité comparé au groupe témoin. Cependant, le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* induit une augmentation significative de ces activités enzymatiques. En effet, l'activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px) est améliorée de (+43%) et celle de la glutathion réductase (GSSH-Red) de +28% comparées à celle du groupe non traité (D). Par ailleurs, aucune différence significative n'est retrouvée dans l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) chez les trois groupes de rats (**Fig. 23**).

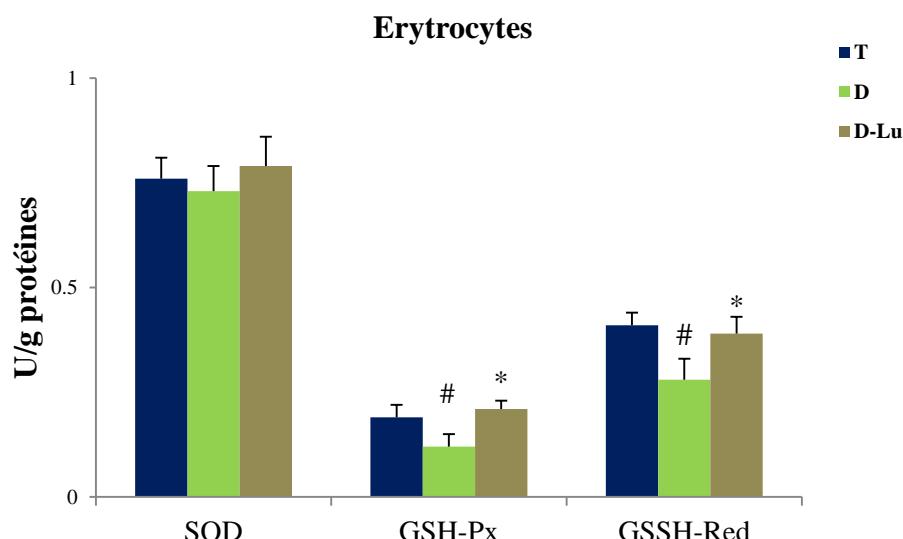


Fig. 23. Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires (SOD, GSH-Px et GSSH Red)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

2.11.4. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires

L'activité des enzymes antioxydantes (SOD, GSH-Px, GSSH-Red, CAT) du foie, rein cœur, muscle et cerveau est présenté dans la figure 24.

Chez les rats diabétiques non traités (D) comparés aux rats témoins (T), nos résultats mettent en évidence une diminution de l'activité de la SOD au niveau du foie (-42%), du rein (-33%), du cœur (-13%), du muscle (-16%) et du cerveau (-19%). De plus, l'activité de la GSH-Px est diminuée au niveau du foie (-36%), du rein (-42%), du cœur (-11%) et du muscle (-11%) mais elle est augmentée au niveau du cerveau (+15%). Par ailleurs, l'activité de la GSSH-Red n'est réduite qu'au niveau du foie (-46%), alors qu'aucune différence significative de cette activité n'est notée au niveau du rein, du cœur, du muscle et du cerveau chez les rats diabétiques non traités comparés aux rats témoins. Chez le groupe (D) comparé au témoin, l'activité de la catalase (CAT) est similaire au niveau du foie et du rein alors qu'elle est significativement diminuée de -35% au niveau du cœur et de -41% au niveau du cerveau alors qu'elle est augmentée de +24% au niveau musculaire (**Fig. 24**).

Chez le groupe diabétique, la consommation du régime supplémenté en graine de lin pendant 56 jours induit une augmentation significative de l'activité de la SOD qu'au niveau du foie (+46%) et du muscle (+17%) alors qu'aucune différence significative de cette activité n'est notée au niveau du rein, du cœur et du cerveau. Par ailleurs, l'activité de la GSH-Px est augmentée uniquement au niveau du foie, du rein, et du cœur +36%, +39%, et +11, respectivement. Alors qu'aucune différence significative n'est notée au niveau des autres organes. La consommation de la graine de *Linum usitatissimum* n'a amélioré l'activité de la GSSH-Red qu'au niveau du rein (+23%) et du muscle (+25) et celle de l'activité de la catalase (CAT) au niveau du rein (+25%), du cœur (+39%) et au niveau du cerveau (+41%).

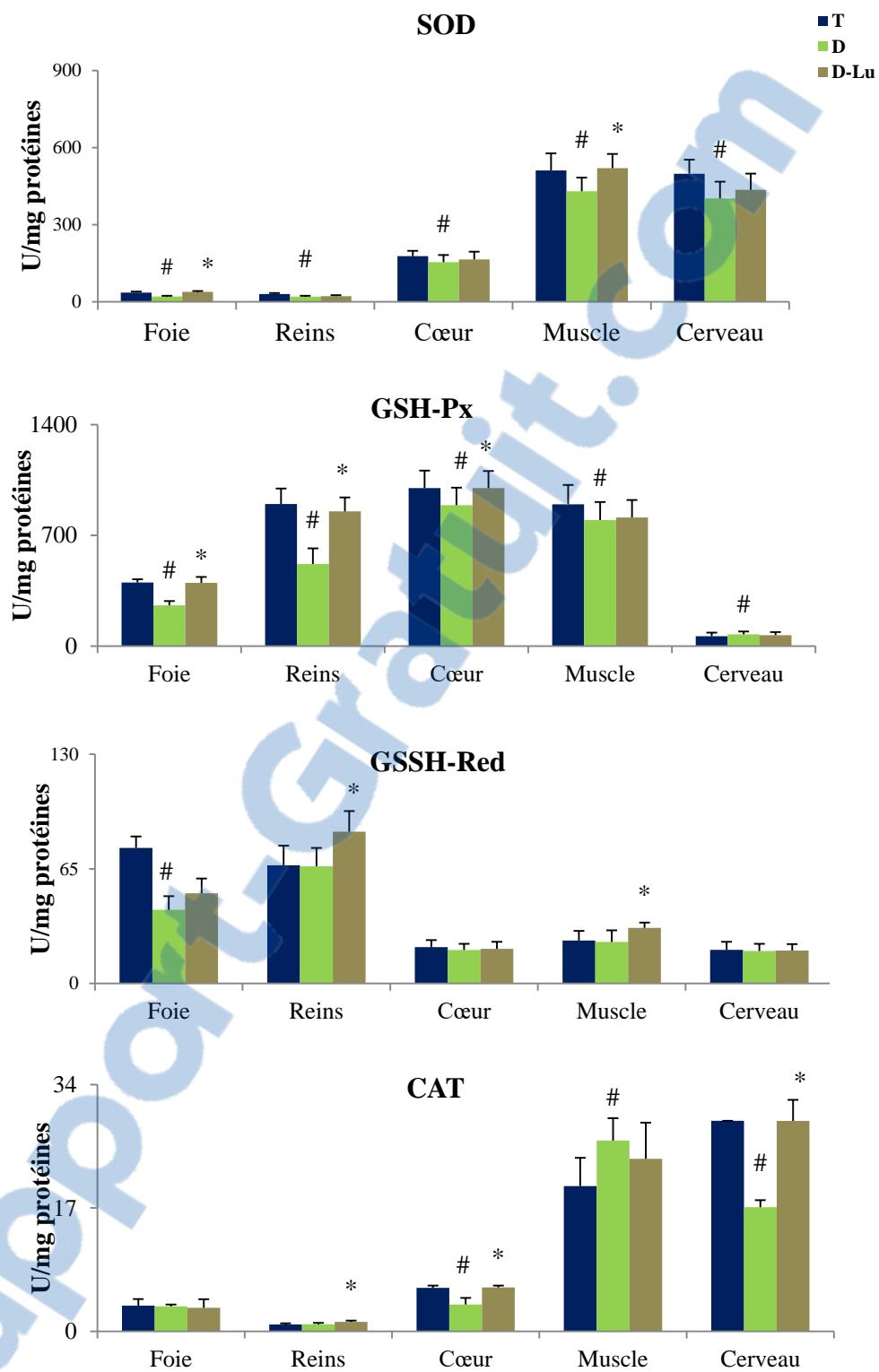


Fig. 24. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires (SOD, GSH-Px, GSSH-Red et CAT)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

2.12. Statut inflammatoire

2.12.1. Concentration plasmatiques en facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et en interleukine-6 (IL-6)

Chez le groupe diabétique (D) comparé au groupe témoin (T), les concentrations plasmatiques en TNF- α sont 1,7-fois plus élevées (**Fig. 25**).

Inversement, chez le groupe traité *vs* non traité, les concentrations plasmatiques en TNF- α sont 1,5-fois plus faibles.

De même, les concentrations plasmatiques en IL-6 sont 2-fois plus élevées chez les rats diabétiques non traités comparés aux rats témoins.

Le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* induit une réduction des concentrations plasmatiques en IL-6 (1,6-fois) comparées aux rats diabétiques non traités.

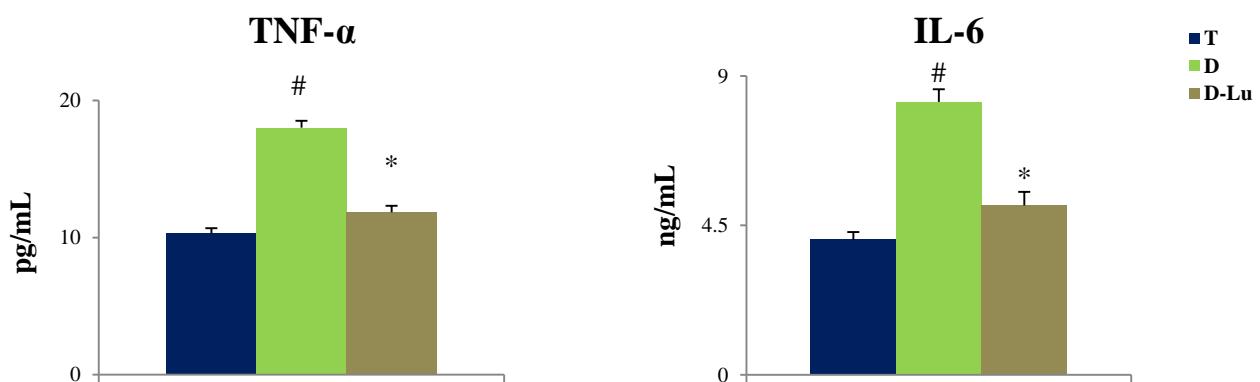


Fig. 25. Concentrations plasmatiques en facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et en interleukine-6 (IL-6)

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec *Lu*. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#**D** *vs* **T** ; ***D-Lu** *vs* **D**

2.13. Examen histologique des organes

L'examen histologique du foie, du pancréas et du rein des trois groupes de rats (T, D, D-Lu) est illustré dans la figure 26.

L'examen histologique du foie révèle une structure compacte, des cellules hépatiques normales avec un cytoplasme, un noyau et une veine centrale bien conservés et aucune fibrose n'est observée chez les rats témoins. Chez le groupe des rats diabétiques (D), la présence des altérations caractérisées par une dilatation des sinusoides, des hépatocytes sont de tailles différentes, certaines sont hypertrophiées, et la veine centrale est congestionnée. Cependant, le foie du groupe D-Lu révèle un aspect histologique normal, la structure des lobules hépatiques est régulière, absence de lésions hépatiques et de stéatose.

L'examen histologique du pancréas souligne des acini et des cellules normales qui sont observés dans les îlots de Langerhans du pancréas du groupe témoin (T). En revanche, des lésions étendues et des dimensions réduites des îlots de Langerhans sont observées chez le groupe diabétique, tandis que la structure cellulaire normale est conservée chez les rats diabétiques traités par la graine *Lu*.

Au niveau du rein, chez le groupe témoin la structure semble normale. En revanche, chez le groupe D une nécrose massive est observée au niveau des glomérules et des tubules. Cependant, l'examen histologique n'indique aucune variation morphologique chez les rats diabétiques traités par la graine de *Linum usitatissimum*. Les glomérules et les tubules ont un aspect et une structure normaux et maintenus. Absence de fibrose et d'infiltrats inflammatoires.

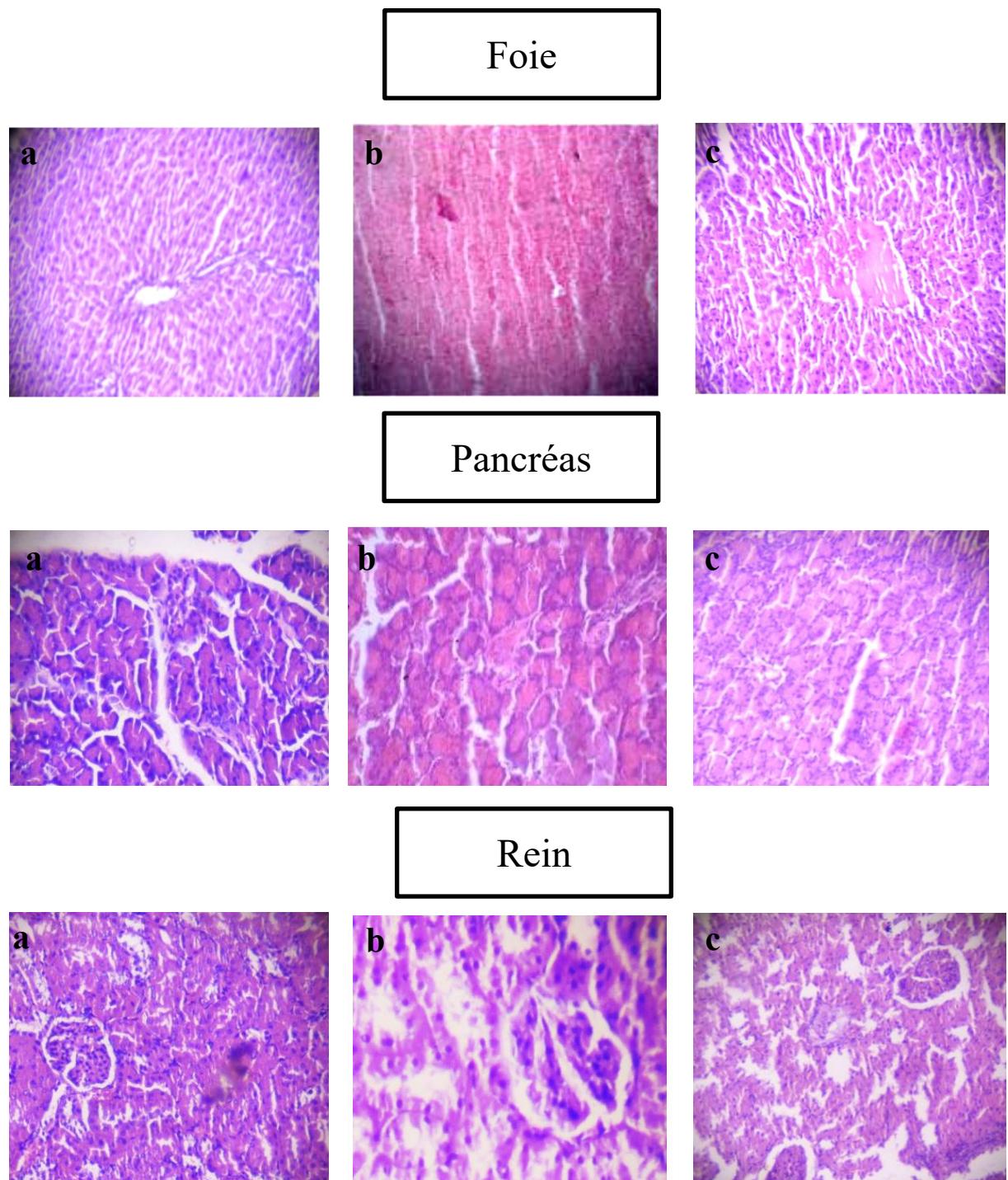


Fig. 26. Etude histologique des organes

a: groupe témoin ; **b:** groupe diabétique non traité ; **c:** groupe diabétique supplémenté avec la graine de *Linum usitatissimum*.

Discussion

Les analyses phytochimiques des extraits des plantes médicinales est une étape préliminaire et d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactives responsables des vertus thérapeutiques.

Les tests phytochimiques effectués sur les différents extraits de *Linum usitatissimum* (*Lu*) révèle la présence de flavonoïdes, des composés phénoliques, des glycosides, d'alcaloïdes, de terpénoïdes, de protéines et d'hydrates de carbone, selon le solvant d'extraction. Cependant, les tests sur les saponines sont négatifs. L'usage de solvants de polarité différente semble influencer sur la qualité du composé extrait. De plus, les terpénoïdes sont présents quelque soit le solvant utilisé, ces composés combinés forment des glycosides (hétérosides).

L'extrait polaire butanolique de *Lu* montre la présence d'une quantité de flavonoïdes plus importante que les extraits apolaires, ceci peut être attribué à la différence du degré de polarité des flavonoïdes dont les flavonoïdes polaires qui représentent la fraction la plus élevée.

L'utilisation de différents solvants à polarité différente permet de séparer les composés selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. Cette méthode d'extraction menée sous agitation continue et à courte durée, permet d'extraire le maximum des composants bioactifs et de prévenir leur dénaturation ou modification probable (**Hagermann et al., 2000**). Nos résultats concordent avec un grand nombre de travaux de recherche qui ont montré que les principaux composés bioactifs de *Portulaqua oleracea* et *Zygophyllum gaetulum* sont les flavonoïdes, les coumarines et les alcaloïdes (**El Hamsas-El Youbi et al., 2010 ; El-Sayed, 2011 ; An Sook et al., 2012**).

Les polyphénols possèdent un effet de rétention du potassium ; ils manifestent donc une activité diurétique (**N'guessan, 2009**). Les flavonoïdes, ont une action vasodilatatrice au niveau du système cardiovasculaire en favorisant la libération du nitroxyde d'azote (NO) à partir des cellules endothéliales, l'inhibition de la cyclooxygénase, de la lipooxygénase et de l'agrégation plaquettaire, la diminution du cholestérol sanguin et la régulation de l'expression de gènes (**Roberfroid, 2008**). Les stérols et polyterpènes ont des propriétés bactéricides (**N'guessan, 2009**).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur les teneurs en composés phénoliques. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques tels que les facteurs géographiques et climatiques, les facteurs génétiques, mais également la méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Lee et al., 2003 ; Khadri et al., 2008 ; Kusznierewicz et al., 2008**).

Des travaux ont montré que plus le contenu en polyphénols dans les aliments était important, plus grande était la capacité antioxydante totale de ces aliments (**Stratil et al., 2006 ; Sies, 2010**). Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études. Une étude récente a révélé l'existence de différents types de polyphénols dans les grains de *L. usitatissimum*, comme les lignanes, l'acide phénolique et les flavonoïdes (**Kasote, 2013**).

Le DPPH (1,1-Diphényl 2-PycrilHydrazil) a été largement utilisé pour l'étude de l'activité antiradicalaire des différents extraits végétaux (**Sanchez-Moreno, 2002**). Ce composé chimique est l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (**Blois, 1958 ; Brand-Williams et al., 1995**). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote.

Dans la présente étude, le pouvoir réducteur du radical DPPH des différents extraits de *Lu* augmente avec l'augmentation des concentrations des extraits de 50-800 µg/mL, cela pourrait être dû à leur pouvoir donneur de l'atome d'hydrogène. De nombreuses études ont montré que les extraits préparés dans des solvants à polarité élevée présentent une importante activité, ce qui indique que les variétés de polyphénols et des flavonoïdes piègent ce radical et peuvent jouer un rôle important dans ces activités. Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Tepen et al., (2005)** et **Battu et al., (2011)** pour *Salviato Mentosa* et *Euphorbia Heyneana*, respectivement.

L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est une espèce réactive de l'oxygène. Il est naturellement produit dans toutes les cellules aérobies et plus particulièrement dans les mitochondries. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ est instable en solution aqueuse : il dismute spontanément en oxygène O_2 et peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (**Gülçin et al., 2011**).

Cependant, dans les conditions physiologiques, la vitesse biomoléculaire de cette réaction est faible et le temps de vie du superoxyde est suffisamment long pour qu'il puisse soit oxyder les constituants des cellules, soit générer d'autres espèces réactives oxygénées (ERO) bien plus toxiques que lui-même. Ces espèces sont toxiques et hautement réactives et capables de traverser les membranes cellulaires (**Korycka-Dahl & Richardson, 1978**).

Nos données révèlent que les différents extraits de *L. usitatissimum* montrent une puissante activité de piégeage du radical superoxyde par rapport à l'acide ascorbique. Cela peut être dû à l'efficacité des flavonoïdes à piéger le radical superoxyde. Des résultats similaires de piégeage du radical superoxyde sont observés dans les espèces suivantes :

Acalypha fruticosa (Thambiraj *et al.*, 2012), *Naregamia alata* (Joseph *et al.*, 2010) et *Leucasciliate* (Qureshi *et al.*, 2010).

La réduction du fer est une méthode de mesure de la capacité des substances de nos extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . C'est une technique rapide, facile et reproductible (Karagözler *et al.*, 2008).

Dans notre travail, nous avons testé les différents extraits de *L. usitatissimum* par la méthode de FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power). On remarque que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons (Ozturk *et al.*, 2007 ; Su *et al.*, 2008).

Tous nos extraits de *L. usitatissimum* présentent des activités antioxydantes nettement inférieures que celles de la référence (acide ascorbique), pour ce dernier, la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 800 μ g/mL.

La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Yang *et al.*, 2008). Des travaux antérieurs ont indiqué qu'il y a une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes (Yildirim *et al.*, 2001).

La capacité antioxydante de nos différents extraits a été déterminée à partir des IC₅₀. C'est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH et l'anion superoxyde. L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Prakash *et al.*, 2007). En comparant les IC₅₀ des différents extraits testés de *L. usitatissimum* par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous remarquons que l'activité antiradicalaire de tous nos extraits est inférieure à la capacité du piégeage du radical DPPH[•] et l'anion superoxyde de la substance de référence (acide ascorbique). Cette capacité est plus importante dans l'extrait butanolique.

Il est évident que la forte activité de l'extrait butanolique est attribuée à sa richesse aux composés phénoliques, qui possède les plus fortes teneurs en molécules dosées (polyphénols et flavonoïdes) qui sont responsables de l'activité antioxydante selon de nombreuses études (Khady *et al.*, 2009). Les autres extraits, présentent une activité inférieure à l'extrait butanolique, malgré que le contenu en composés phénoliques soit plus important. Ceci est dû généralement à la synergie entre les différents composés antioxydants existants (Attou, 2011).

Une étude faite par **Kang et al., (2003)** a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire.

Des extraits méthanoliques de feuilles d'olivier sauvage et cultivé a montré un pouvoir antiradicalaire relativement élevé vis-à-vis de DPPH et proche de celui de la vitamine E avec des IC₅₀ de 0,29 µg/mL, 0,30µg/mL et 0,24µg/mL, respectivement (**Arab et al., 2013**). Par ailleurs, deux autres études ont montré que l'extrait éthanolique des feuilles d'olivier réduit le DPPH avec des IC₅₀ de 231,62 µg/mL et 204,27 µg/mL, respectivement (**Kaeidi et al., 2011 ;Kaskoos et al., 2013**).

Les composés phénoliques peuvent exercer leur effet antioxydant selon différentes voies incluant: le piégeage des espèces oxygénées activées, l'inhibition de l'enzyme responsable de la production des anions superoxyde et de la génération des ERO, la chélation de métaux de transition impliquées dans la formation de ces radicaux et le blocage du processus de la peroxydation par la réduction des radicaux alcoxyl (RO[·]) et peroxyl (RO₂[·]) (**Biesaga, 2011**).

L'activité antioxydante des polyphénols et plus particulièrement celle des flavonoïdes, dépend généralement de leurs structures chimiques, nombre de groupements hydroxyles et leur distribution (**Popovici et al., 2010**). Selon **Turkmen et al., (2007)**, les polyphénols semblent être des donneurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leurs structures chimiques idéales.

De nombreuses études ont rapporté les effets bénéfiques des produits naturels tels que les plantes et/ou leurs extraits sur le diabète et ses complications (**Taleb-Senouci et al., 2009 ; Guenz et al., 2013**).

La présente étude a pour but de voir si le traitement avec les graines de lin. Schreber (Lamiaceae) *Linum usitatissimum* (*Lu*) peut corriger l'hyperglycémie, la dyslipidémie, l'inflammation et le stress oxydatif, chez les rats rendus diabétiques par injection de streptozotocine (STZ).

La grande majorité des études expérimentales sont réalisées chez les rongeurs (rat et souris). Ces modèles rendus diabétiques servent de référence pour l'étude et la compréhension de la genèse et des complications de cette pathologie (**Fröde & Medeiros, 2008**).

La streptozotocine représente l'une des substances chimiques utilisées pour induire le diabète (type 1 ou 2) chez l'animal, en particulier les rats et les souris (**Hayashi et al., 2006**). La STZ engendre une nécrose des cellules β pancréatiques et une carence sévère en insuline avec une hyperglycémie diabétique établie dans les deux jours suivants (**Ruzaidi et al., 2005** ;

Akbarzadeh et al., 2007). Les effets toxiques de cette substance semblent être associés à une production accrue des radicaux libres (**Bedoya et al., 1996**). De plus, l'injection de la STZ est à l'origine d'une chute de poids chez les rats rendus diabétiques (**Junod et al., 1969**).

Cependant, le poids corporel des rats diabétiques non-traités diminue du 14^{ème} au 56^{ème} jour de l'expérimentation par rapport au poids initial. **Shirwaikar et al., (2006)** ont noté une perte de 17,6 % du poids corporel, deux semaines après l'injection intrapéritonéale de 60 mg/kg de STZ. **Nagappa et al., (2003)** ont obtenus une diminution pondérale de l'ordre de 27,5 % du poids corporel trois semaines après l'injection de 150 mg/kg d'alloxane par voie intra-péritonéale aux rats Wistar. Cette perte de poids des animaux diabétiques est probablement due à une carence en insuline, conséquence de l'état diabétique 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 arrêt de la croissance et une fonte musculaire provoquée par la streptozotocine (**Pari & Latha, 2005** ; **Vasudevan & Sreekumari, 2007**).

Par ailleurs, de nombreuses études suggèrent que la perte du poids corporel chez les rats diabétiques peut être expliquée par une augmentation du catabolisme des lipides et des protéines suite à un manque des carbohydrates utilisés comme source d'énergie (**Sathishsekhar & Subramanian, 2005**).

Le traitement des rats diabétiques avec les graines de lin (*Linum usitatissimum*) (10 g/kg de régime) entraîne une prise de poids dès le 14^{ème} jour de l'expérimentation. Ce résultat indique une amélioration du poids corporel chez le groupe traité (D-*Lu*) comparé au groupe non-traité (D) et laisse suggérer que la consommation des graines de lin pourrait protéger contre la baisse de poids en réduisant probablement le catabolisme des lipides et des protéines.

La capacité des graines de lin à protéger les rats diabétiques de la perte massive du poids corporel semble être due premièrement, à sa capacité de réduire le taux des lipides et deuxièmement, à son effet hypoglycémique (**Al-Shamaony et al., 1994** ; **Chen et al., 1998** ; **Tastekin et al., 2006**) et donc, à sa capacité de renverser la néoglucogenèse et de contrôler cette perte protéique (**Rajagopal & Sasikala, 2008**).

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **El-Hilaly et al., (2006)** qui ont rapporté une augmentation du poids corporel (PC) chez le rat rendu diabétique par la STZ et traité par voie orale avec un extrait aqueux d'*Ajuga iva* (10mg/kg de PC), pendant 21jours. Aussi, ces mêmes résultats sont en accord avec ceux publiés par **Tastekin et al., (2006)** qui ont constaté qu'un traitement de 15 jours par un extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* avec une dose journalière de 390 mg/kg provoque une augmentation significative du poids

corporel, chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane. Dans l'étude portant sur les effets des propriétés antioxydantes des espèces de millet sur le statut glycémique et le stress oxydatif chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane, **Prashant et al., (2005)** ont trouvé au 28^{ème} jour, une augmentation de 28 % du poids corporel, chez le groupe des rats diabétiques sous régime millet. En revanche, **Taleb-Senouci et al., (2009)** n'ont trouvé aucune différence significative du PC chez des rats diabétiques traités avec un extrait aqueux d'*Ajuga iva*(5g/kg de régime), pendant 28 jours. Alors que, **Ben Abid et al., (2007)** ont constaté une diminution significative du poids corporel pendant neuf semaines. Cela est peut être dû à la durée du traitement qu'ils ont choisi.

Après 56 jours de traitement avec la poudre de lin (1g/kg de régime), la consommation alimentaire des rats diabétiques (D) est similaire à ceux des rats diabétiques non-traités (D-Lu). Les résultats de la consommation de la nourriture concordent parfaitement avec ceux de **Cho et al., (2002)**. De même, **Taniguchi et al., (2006)** ont montré chez des rats rendus diabétiques par la STZ, que la consommation d'un lyophilisat de *Raphanus sativus* aux doses de 2,5% et 5%, pendant 21 jours n'a aucun effet sur la nourriture ingérée.

Au cours du diabète, les poids relatifs du foie et du muscle diminuent par augmentation des processus cataboliques (glycogénolyse, lipolyse et protéolyse) qui résultent d'une carence en insuline et/ou en glucose dans l'hépatocyte (**Meyer et al., 1998**).

Par ailleurs, chez le rat diabétique traité avec la graine de *Linum usitatissimum* comparé au non-traité, les poids relatifs du foie et du muscle sont augmentés, alors que celui du rein, du cœur et du cerveau sont similaires chez les trois groupes de rats. Ainsi, le traitement avec les graines de lin semble prévenir l'altération du foie et du muscle puisque leurs poids sont augmentés. Nos données concordent avec ceux de **Murata et al., (2004)** et **Hwang et al., (2005)**. Cependant, **Cho et al., (2002)** n'ont rapporté aucune différence significative du poids relatif du foie, du rein et du cœur, chez des rats diabétiques traités ou non avec un extrait aqueux de *Taraxacum officinale*.

De plus, les résultats de la présente étude montrent une diminution de la glycémie qui se manifeste dès le 7^{ème} jour de l'expérimentation chez le groupe traité par la graine de lin par rapport au groupe non-traité. Cet effet hypoglycémiant est constaté jusqu'au 56^{ème} jour, indiquant ainsi l'efficacité des graines de lin 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 Linaceae telle, que la poudre de *Phalaris canariensis*, de *Trigonella foenum graecum* et de *Camellia sinensis* induisent un effet hypoglycémiant (**Charnot & Faure, 1945**

; **Garnier et al., 1961**). Ainsi, nos résultats concordent avec les premières conclusions de **Benmehdi et al., (2011)** qui ont constaté que l'administration des graines de *Citrullus colocynthis* provoque une diminution hautement significative de la glycémie. De même, **Meral et al., (2001)** et **Ali mohammadi et al., (2013)** ont noté que les graines de *Nigella sativa* entraînent une réduction de la glycémie, avec une augmentation significative des niveaux d'insuline. De même, une activité hypoglycémiante de l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea* est constatée chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane (**Fayon et al., 2009**; **Fenglin et al., 2009** ; **Dawei et al., 2010**) ainsi que chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine (**Sharma et al., 2008**).

Plusieurs hypothèses ont été proposées quant à l'effet hypoglycémiant de certains extraits de plantes médicinales chez des rats rendus diabétiques. L'augmentation de la sensibilité des récepteurs de l'insuline expliquerait la diminution de la glycémie (**Pari & Latha, 2004** ; **Megalli et al., 2006**). D'autres auteurs suggèrent une augmentation dans la synthèse du glycogène au niveau du foie (**Hannan et al., 2006** ; **Hannan et al., 2007**), l'inhibition de l'absorption intestinale du glucose et l'amélioration de la motilité (**Hannan et al., 2006**). Cependant, **Pushparaj et al.,(2007)** ont observé que l'extrait éthanolique de *Cichorium intybus* réduit l'activité au niveau du foie, de la glucose-6-phosphatase diminuant ainsi la production de glucose, qui a alternativement comme conséquence la réduction de la glycémie. Ceci laisse suggérer que l'effet hypoglycémiant de *Linum usitatissimum* serait dû à un mécanisme extra-pancréatique. Ces résultats confirment ceux rapportés par **El-Hilaly & Lyoussi, (2002)**, chez le rat rendu diabétique par la STZ et traité par voie orale avec un extrait aqueux d'*Ajuga iva* (10 mg/kg de PC), pendant 21 jours.

D'autre part, l'effet hypoglycémiant noté avec la graine de lin serait probablement directement lié à son activité antioxydante. En effet, l'étude phytochimique des différents extraits de cette graine révèle la présence des flavonoïdes et des triterpènes, composés naturels connus pour leurs propriétés antioxydantes (**Badami et al., 2003** ; **Soto et al., 2003** ; **Pari & Latha, 2004**). De plus, cette graine contient des teneurs très élevées en composés phénoliques, les lignanes qui ne sont pas des polysaccharides mais des polymères phénoliques lipophiles qui peuvent fixer les acides biliaires, et qui permettraient un bon contrôle de la glycémie (**Molena-Fernandes et al., 2010**).

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

al., 2007). Un grand nombre de travaux de recherche ont montré l'effet hypoglycémique de plusieurs plantes contenant des polysaccharides, des terpènes, des flavonoïdes ainsi que plusieurs d'autres composés (**Sarkhail et al., 2007**), selon plusieurs mécanismes.

Alvarez et al., (2004) ont rapporté que les antioxydants permettent la régénération des cellules β et la protection des îlots de Langerhans contre les effets cytotoxiques de la STZ. Ainsi, il peut-être suggéré que la graine de *Linum usitatissimum* par l'intermédiaire de sa capacité antioxydante, protègerait les cellules β du pancréas contre la toxicité induite par la STZ.

D'autre part, la diminution de la sécrétion d'insuline chez le groupe diabétique non traité comparé au groupe témoin pourrait être attribué à l'hyperglycémie qui a entraîné des anomalies dans l'action et la sécrétion d'insuline (**Evans et al., 2003**). L'hyperglycémie est également associée aux conséquences de l'hyperinsulinémie, de la résistance à l'insuline et de l'intolérance au glucose dans le diabète (**Kaur et al., 2002**).

Cependant, nos résultats concordent avec ceux enregistrés par **Karthik et al., (2014)** qui indiquent qu'une dose de 150 mg/kg d'alloxane provoque après 15 jours, une diminution significative des taux d'insuline plasmatique, détruit efficacement la cellule β du pancréas et diminue l'insuline plasmatique. Cela peut être dû à la durée du traitement choisi (15jours). De même, il a été souligné par **Sayed et al., (2011)**, qu'une diminution significative du taux sérique basal d'insuline après l'injection de STZ est peut être dû également à la durée du traitement qui a été de 4 semaines. D'autres travaux de **Kaur et al., (2011) ; Daisy et al., (2013) ; Luke et al., (2013) ; Saini & Sharma, (2013)** montrent que la STZ provoque une réduction massive de la libération d'insuline par la destruction des cellules β des îlots de Langerhans.

Bhaskar et al., (2008) ont étudié l'effet hypoglycémiant d'un extrait aqueux de *Mucuna pruriens* (200 mg/kg) chez des rats rendus diabétique par la STZ et ont rapporté qu'un certain nombre de minéraux essentiels tels que les micronutriments seraient associés à un mécanisme de libération de l'insuline et à une stimulation de son activité. En effet, les graines de lin contiennent les fibres solubles ou insolubles qui sont généralement associées à de grandes quantités de magnésium et de chrome, deux minéraux favorisant l'action de l'insuline (**Zhang, 2008**).

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. C'est le dosage de référence pour juger de l'équilibre du diabète, car l'HbA_{1C} est le témoin du niveau moyen du glucose dans le sang, c'est donc bien plus

intéressant que la glycémie à jeun d'une part et c'est le témoin de la glycation des protéines, d'autre part. Il faut rappeler que l'hémoglobine glycosylée est formée au cours du diabète par fixation non enzymatique d'oses (excès de glucose) sur l'hémoglobine. L'HbA_{1C} ne représente qu'une partie des hémoglobines glyquées, même si elle en constitue la forme majeure, puisque d'autres sites que l'extrémité N-terminale des chaînes β peuvent être glyqués et que d'autres oses peuvent se fixer sur l'hémoglobine (**Goldstein et al., 2004**).

Chez le groupe diabétique traité avec la graine de *Linum usitatissimum* comparé au non traité, une diminution significative de l'hémoglobine glycosylée (HbA_{1C}) est notée. Ce résultat serait dû à la réduction des résidus glucose circulants puisqu'un effet hypoglycémiant est retrouvé chez ce groupe. Ces résultats concordent avec ceux obtenus avec les graines de *Nigella sativa* (**Bamosa et al., 2010**), les extraits méthanoliques de *Globularia alypum* (**Zennaki et al., 2009**) et *Phyllanthus niruri L* (**Okoli et al., 2010**), chez des rats rendus diabétiques par injection de streptozotocine.

De plus, des études ont montré que le traitement avec certains antioxydants peut prévenir la glycosylation de l'hémoglobine causée par l'hyperglycémie (**Jain & Lim, 2000**). Ainsi, il est possible que le faible pourcentage en HbA_{1C} noté chez le groupe diabétique traité avec la graine *Lu* résulte d'une importante capacité antioxydante de la graine. Par ailleurs, une réduction significative de l'HbA_{1C} a été obtenue avec les extraits aqueux de la graine de *Momordica charantia* (**Sekar et al., 2005**) et la feuille de *Piper betle* (**Santhakumari et al., 2006**), chez le rat rendu diabétique par la streptozotocine et avec l'extrait aqueux de la feuille de *Boerhavia diffusa*, chez le rat rendu diabétique par l'alloxane (**Pari & Satheesh, 2004**).

Il est bien établi que le diabète, entraîne à long terme, des altérations de la fonction rénale dues essentiellement à une accumulation des produits de glycation avancée des protéines (AGE) (**Yue et al., 2003**) et en partie, des anomalies du métabolisme des lipides (**Pari & Satheesh, 2004**). L'hyperglycémie induite par le diabète provoque une élévation des teneurs plasmatiques en urée et en créatinine, qui peuvent être considérées comme des marqueurs du dysfonctionnement rénal, résultant de la toxicité de l'alloxane et de la streptozotocine (**Orskov et al., 1965**).

Cependant, chez le groupe diabétique traité avec la graine de *Linum usitatissimum* comparé au non traité, les concentrations plasmatiques en urée et en créatinine sont diminuées. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Protus & Ofogba, (2012)** qui ont montré une réduction des teneurs plasmatiques en urée et en créatinine, chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane et traités avec un extrait aqueux de la feuille de *Momordica charantia* (400 mg/kg de poids) par voie orale, pendant 28 jours. Ainsi, **Prakasam et al.,**

(2004) ont montré une diminution des teneurs plasmatiques en urée et en créatinine, chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine et traités avec un extrait de racines de *Casearia esculenta* (200 et 300 mg/kg de poids) par voie orale, pendant 45 jours. De plus, **Yamabe et al.**, (2007) ont noté que *Corni Fructus*, un constituant de *Hachimi-jio-gan* réduit l'urémie et la créatinémie chez les rats rendus diabétiques.

L'acide urique est l'un des plus importants antioxydants, capable d'éliminer jusqu'à 60% des radicaux libres (Oliver, 2007 ; Madero et al., 2009). Bien que l'acide urique puisse agir comme un antioxydant, l'excès au niveau plasmatique est souvent associé aux maladies cardiovasculaires, et agirait dans ce cas, comme prooxydant (Heinig & Johnson, 2006). Le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum*, entraîne une diminution de l'urée plasmatique qui est concomitante avec son élimination au niveau urinaire, ce qui témoigne d'une amélioration de la fonction rénale.

A J56, nos résultats montrent une réduction des protéines plasmatiques et hépatiques chez les rats diabétiques non traités comparés aux rats témoins. Ces résultats concordent avec ceux **Daisy et al.**, (2009) ; **Sayed et al.**, (2011) et **Luke et al.**, (2013), qui ont constaté une diminution significative de la protéinémie. Ainsi, **Sayed et al.**, (2011) suggèrent que la diminution du taux de protéines totales peut être due à plusieurs raisons, comme une augmentation du taux de conversion des acides aminés en glucose, diminution de l'absorption des acides aminés et une augmentation du taux de conversion des acides aminés glycogènes à CO₂ et H₂O. De même, **Sayed et al.**, (2011) ont expliqué la diminution du taux des protéines totales par la diminution de la quantité, de la disponibilité de ARNm et de la réduction de la synthèse des protéines ribosomales en raison de la carence en insuline.

Chez le groupe diabétique traité vs non traité, nos résultats indiquent une augmentation des protéines plasmatiques et hépatiques. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus avec les graines de *Portulaca oleracea* (El-Sayed, 2011) et l'extrait éthanolique d'*Eryngium carlineae* (Noriega-Cisneros et al., 2012), chez des rats rendus diabétiques par streptozotocine.

L'insuline est un facteur physiologique, qui joue un rôle important dans le maintien de l'équilibre des protéines, car non seulement stimule l'absorption des acides aminés et la synthèse des protéines, mais aussi inhibe la dégradation des protéines (Daisy et al., 2009).

D'autre part, l'augmentation des taux plasmatiques des transaminases après l'administration de la STZ est la preuve d'une atteinte hépatique sévère. L'étendue des dommages est évaluée par le niveau des transaminases cytoplasmiques (ALAT et ASAT) en circulation (Patrick-Iwuanyawu et al., 2007 ; Sangare et al., 2014).

L'aspartate amino-transférase (ASAT), l'alanine amino-transférase (ALAT) et la phosphatase alcaline (ALP) sont des marqueurs importants du fonctionnement hépatique. De plus, l'activité de ces transaminases est altérée au cours du diabète (**Abdollahi et al., 2010**). Dans notre travail, l'activité plasmatique de l'ASAT, l'ALAT et la PAL est diminuée chez le groupe diabétique traité avec la graine *Lu* (D-Lu) comparé au groupe non traité (D). Cette diminution du taux des enzymes hépatiques par les graines de lin est un indicateur des effets hépatotropes. Qui est également le signe des capacités à réduire les effets dommageables ou à préserver les mécanismes du fonctionnement du foie contre les perturbations d'une hépatotoxine (**Sangare et al., 2014**). De même, chez des rats rendus diabétiques par injection de la streptozotocine, il a été noté que les extraits de *Coriolus versicolor* (**Byung-Keun et al., 2008**), de feuilles de *Globularia alypum* (**Zennaki et al., 2009**) et des fruits de *Momordica charantia* (**Abdollahi et al., 2010**), entraînent une diminution significative des activités plasmatiques de l'ALAT et de l'ASAT. De plus, **El-Sayed, (2011)** a constaté que les graines de *Portulaca oleracea* entraînent une réduction de l'activité des transaminases, chez des patients diabétiques. Ainsi, **Al-Ghaiti et al., (2004)**, ont trouvé que l'administration orale de l'extrait aqueux des graines de *Citrullus colocynthis* chez les rats normaux et rendus diabétiques par STZ réduit significativement le taux d'ASAT (Aspartate amino transferase) et provoque une diminution significative du taux des PAL (phosphatase alcaline). En revanche, **Atole et al. (2009)** ont constaté que l'administration de l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis* (50 et 100mg/kg P.C) chez les rats diabétiques ne présente aucune différence significative des paramètres biochimiques sériques (PAL, créatinine, urée, albumine). De plus, **Al-Qarawi & Adam (2000)** ont trouvé que le mélange de *Citrullus colocynthis* (5%) et *Capsicum frutescens* (5%) dans le régime, provoque chez les rats, une lésion des organes vitaux accompagnée par une anémie, une leucémie et une perturbation de l'activité enzymatique des PAL, ASAT, ALAT ainsi qu'une modification de la concentration des protéines totales, albumine, urée et d'autres constituants de sérum.

Le diabète est associé à des désordres du métabolisme des lipides et des lipoprotéines plasmatiques, caractérisés par des concentrations élevées en cholestérol total, C-LDL, triglycérides, et des teneurs réduites en C-HDL (**Ahmed et al., 2001**). Cette dyslipidémie joue un rôle important dans l'apparition et le développement d'une athérosclérose précoce, responsable des maladies cardiovasculaires (MCV), dans le diabète de type 1 et 2. Les MCV sont la cause majeure de mortalité chez les patients diabétiques (**OMS, 2015**).

Le diabète, induit expérimentalement chez le rat par l'alloxane ou la streptozotocine, entraîne une augmentation de la cholestérolémie (**Pari & Satheesh, 2004 ; Bhandari et al.,**

2005 ; **Abou El-Soud et al., 2007** ; **Kumar & Murugesan, 2008**). Le cholestérol plasmatique représente un facteur de risque important des MCV et le degré de l'hypercholestérolémie est directement proportionnel à la sévérité du diabète (**Tunali & Yanardag, 2006**). Cette augmentation peut s'expliquer par la dégradation des composés lipidiques des tissus adipeux. Ce qui est accompagné par une forte activité enzymatique de lipase en présence du glucagon. Ces résultats ont été confirmés dans les travaux de **Sckade et al., (1996)**.

Dans notre étude, une augmentation significative de la concentration plasmatique du cholestérol total est notée chez les rats rendus diabétiques par STZ. Le niveau élevé du cholestérol total dans le sang représente un facteur de risque majeur dans le développement des maladies coronaires (**Brown et al., 1993**). Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par **Eddouks et al., (2005)**, **Ravi et al., (2005)** et **Sharma et al., (2008)** qui suggèrent que la forte concentration des lipides sériques observée chez les sujets diabétiques est essentiellement due à l'augmentation de la mobilisation des acides gras à partir des tissus adipeux (**Ravi et al., 2005**). En effet, **Betteridge et al., (2002)** indique que la carence en insuline ou l'insulino-résistance peuvent être responsables d'une hyperlipidémie, car l'insuline, a une action inhibitrice sur 3-hydroxy-3-méthyle-glutaryl coenzyme A réductase (HMG-COA réductase), une enzyme clé dans la biosynthèse du cholestérol endogène. D'autre part, le glucagon, les catécholamines ainsi que d'autres hormones augmentent la lipolyse. Au cours du diabète, l'hyperlipidémie peut être considérée comme un résultat de la non-inhibition de l'action des hormones lipolytiques du tissu adipeux (**Goodman et al., 1985**).

Le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* chez le rat diabétique comparé au rat diabétique non traité (D) a induit une réduction de la concentration du cholestérol total plasmatique (-44%) en particulier, celui du cholestérol libre (-32%). Cette diminution est concomitante à la réduction de 64% du CT-LDL-HDL₁. Cette effet hypcholestérolémiant de la graine de lin serait du probablement à une augmentation de la concentration de l'ARNm du récepteur LDL du foie qui contribue probablement à l'augmentation du catabolisme des LDL-HDL₁ (**Shukla et al., 2006**). De plus, la diminution des teneurs en cholestérol total du foie pourrait intervenir dans cet effet hypcholestérolémiant. Ces résultats reflètent un profil lipidique anti-athérogène, et laissent suggérer un effet protecteur de la consommation de la graine de Lin vis-à-vis du risque d'hypercholestérolémie induite par le diabète.

En effet, il a été montré que de nombreuses plantes et/ou leurs produits possèdent, en plus de leurs effets hypoglycémants, des propriétés hypcholestérolémiantes, chez le rat rendu diabétique par la STZ (**Herrera-Arellano et al., 2004** ; **Luo et al., 2004** ; **Pari &**

Venkateswaran, 2004 ; **Ruzaidi et al., 2005** ; **Xie et al., 2005**) et traité par *Dodonaea viscosa* (**Veerapur et al., 2010**), *Portulaca oleracea* (**An Sook et al., 2012**) et *Zygophyllum album* (**El Ghoul et al., 2012**). En revanche, **Benlahcene., (2010)** a noté que l'injection intraperitoneale de l'extrait hydro-méthanolique (100mg/kg) de graines broyées et dégraissés de *Citrullus colocynthis*, ne provoque aucune modification de la cholestérolémie et la triglycéridémie chez les rats mâles Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine. Ces résultats rejoignent ceux de l'étude menée par **Zeggwagh et al.,(2006)** sur l'extrait aqueux d'*Inulaviscosa* qui ont noté que le bilan lipidique reste inchangé ; ceci pourrait être due à la dose administrée par cette équipe (20 mg/kg). **Kumar & Murugesan, (2008)** ont montré, chez le rat rendu diabétique par la STZ et traité avec un extrait de *Helicteres isora*, que la diminution du cholestérol total sérique résulte d'une réduction du C-VLDL et du C-LDL, alors que le C-HDL est augmenté. De même, une diminution du CT et une augmentation du C-HDL ont été notées avec des extraits de *Momordica charantia* (**Ahmed et al., 2001**), de *Taraxacum officinale* (**Cho et al., 2002**) et de *Zingiber officinale* (**Bhandari et al., 2005**). Cependant, **Pushparaj et al., (2000)** n'ont noté aucune différence significative des teneurs en CT ou C-LDL avec toutefois, une augmentation du C-HDL et du rapport C-HDL/CT.

Le mécanisme par lequel la graine de lin exerce son effet hypocholestérolémiant pourrait être dû à une diminution de l'absorption intestinale du cholestérol, par liaison avec des acides biliaires dans l'intestin et par augmentation de l'excrétion biliaire de l'excès du cholestérol (**Kelly & Tsai, 1978** ; **Kritchevsky, 1978**). En effet, les travaux de **Zhang et al., (2006)** ont montré que l'activité hypocholestérolémante de *Dittrichia viscosa* est probablement due à certains constituants qui peuvent agir comme inhibiteurs de certaines enzymes telles que l'hydroxy méthyl glutaryl-CoA «HMG CoA» réductase ; enzyme clé de la synthèse du cholestérol. En outre, la graine de lin peut diminuer le cholestérol sérique en modifiant le métabolisme des lipoprotéines: le renforcement de l'absorption des LDL par l'augmentation des récepteurs aux LDLs (**Slater et al., 1980**).

L'effet hypocholestérolémiant obtenu avec la graine de *Linum usitatissimum* est concomitant avec la diminution des teneurs en cholestérol total hépatique chez le groupe diabétique traité. Ces résultats concordent avec ceux de plusieurs travaux réalisés avec d'autres extraits de plantes tels que *Boerhavia diffusa* (**Pari & Satheesh, 2004**) et *Helicteres isora* (**Kumar & Murugesan, 2008**).

Le foie, dont le rôle dans le maintien de l'homéostasie du glucose et des lipides est primordial, est sévèrement altéré au cours du diabète (**Tunali & Yanardag, 2006**). En effet,

une augmentation significative des concentrations en glucose et en lipides du foie a été notée dans le diabète (**Gupta et al., 1999**). Chez le rat rendu diabétique par l'alloxane, **Pari & Satheesh, (2004)** ont suggéré que l'augmentation du cholestérol hépatique est due à une augmentation de sa synthèse. Ainsi, Il a été rapporté qu'au cours du diabète de type 1, l'absorption du cholestérol est augmentée et la synthèse est diminuée (**Miettinen et al., 2004**) et que ces altérations sont dues non seulement au manque d'insuline mais aussi à une hypertrophie de l'intestin (**Young et al., 1988**).

Dans cette présente étude, la graine de Lin diminue le taux de cholestérol du foie par une réduction probable de l'activité de la HMG-CoA réductase, enzyme impliquée dans la biosynthèse du cholestérol et une diminution de l'absorption du cholestérol du fait de l'élimination fécale considérable des lipides et du cholestérol, elle résulterait aussi d'une transformation accrue du cholestérol hépatique en acides biliaires par augmentation de l'activité du cholestérol 7α -hydroxylase, principale voie d'élimination du cholestérol dans l'organisme.

L'association du diabète à 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 (**Tall, 1993**). En effet, **Dirican et al., (2003)** ont rapporté, chez des patients diabétiques de type 1 et 2, une diminution de l'activité de la lécithine:cholestérol acyltransférase (LCAT), enzyme impliquée dans la voie de retour du cholestérol des tissus périphériques vers le foie. De plus, l'hyperglycémie induite par le diabète peut entraîner une glycation des protéines dont l'apolipoprotéine A-I, cofacteur activateur de la LCAT (**Curtiss & Witztum, 1985**).

Chez le groupe diabétique traité avec la graine de lin comparé au non traité, l'activité de la LCAT est augmentée malgré des teneurs similaires en apolipoprotéines des HDL₃, dont l'apo majeur est l'apo A-I. Néanmoins, la stimulation de la LCAT par son activateur, l'apo A-I montre l'intégrité structurale et fonctionnelle de cette apolipoprotéine, et confirme la réduction du phénomène de glycosylation, secondaire à l'effet hypoglycémiant de la graine de lin.

L'efflux du cholestérol à partir des différents tissus fait intervenir les HDL₃, lipoprotéines qui représentent le site majeur d'estérification du cholestérol par la LCAT. Par son action, cette enzyme intervient fortement dans la modification des teneurs en cholestérol des HDL (**Jonas, 1991**) et contribue ainsi dans la régulation des lipides plasmatiques (**Khanna et al., 2002**).

Une augmentation des teneurs en C-HDL₂ et une diminution de celles en C-HDL₃ sont notées chez le groupe traité comparé au non traité. L'importante concentration en C-HDL₂ est essentiellement due aux valeurs élevées en esters de cholestérol (EC). Ce résultat s'explique par l'importante activité LCAT notée avec *Linum usitatissimum*, puisque les EC-HDL₂ sont le produit de cette réaction enzymatique. De plus, la diminution des phospholipides (substrat de l'enzyme) et du cholestérol libre (accepteur du groupement acyl) des HDL₃ indique que le traitement avec la graine de lin stimule la LCAT, et ainsi la conversion des HDL₃ en HDL₂ en vue de leur captation par le foie. En effet, la graine de *Linum usitatissimum* semble améliorer la voie de retour du cholestérol, chez le rat diabétique, et par conséquent réduire le risque cardiovasculaire.

Par ailleurs, il est bien admis que le cholestérol des HDL est un facteur protecteur contre le développement des maladies cardiovasculaires et qu'un C-HDL bas est associé à un risque élevé des MCV (**Laakso et al., 1993**). De plus, les rapports CT/C-HDL et C-LDL/C-HDL sont des prédicteurs du risque coronarien (**National Cholesterol Education Program Expert Panel, 1994**). Les rats diabétiques traités avec la graine de lin présentent des rapports d'athérogénicité CT/C-HDL, C-VLDL+LDL-HDL₁/C-HDL₂+C-HDL₃ et apoB/apoA-I significativement réduits. Ces résultats reflètent un profil lipidique anti-athérogène, et laissent suggérer un effet protecteur de la graine vis-à-vis du risque d'hypercholestérolémie induite par le diabète. En effet, chez le groupe diabétique traité avec la graine de *Linum usitatissimum* comparé au non traité, la diminution de la cholestérolémie est due aux teneurs réduites en C-VLDL, C-LDL-HDL₁ et C-HDL₃.

De plus, chez le groupe traité avec *Lu*, la répartition du cholestérol entre les différentes fractions de lipoprotéines montre que la plus grande part de cholestérol est transportée par les HDL₂ (fraction anti-athérogène), sous forme d'esters de cholestérol essentiellement, alors qu'une part importante est portée par les LDL-HDL₁ (fraction athérogène) chez le groupe non traité.

Kumar & Murugesan, (2008) ont montré, chez le rat rendu diabétique par la STZ et traité avec un extrait de *Helicteres isora*, que la diminution du cholestérol total sérique résulte d'une réduction du C-VLDL et du C-LDL, alors que le C-HDL est augmenté. De même, une diminution du CT et une augmentation du C-HDL ont été notées avec des extraits de *Momordica charantia* (**Ahmed et al., 2001**), de *Taraxacum officinale* (**Cho et al., 2002**) et de *Zingiber officinale* (**Bhandari et al., 2005**). Cependant, **Pushparaj et al., (2000)** n'ont noté aucune différence significative des teneurs en CT ou C-LDL, avec cependant une augmentation du C-HDL et du rapport C-HDL/CT.

Le diabète est toujours associé à une hypertriglycéridémie qui résulte essentiellement d'une surproduction de VLDL par le foie et d'une diminution de leur catabolisme en raison d'une activité réduite de la lipoprotéine lipase (LPL) (Tavangar *et al.*, 1992). L'altération du métabolisme des VLDL représente un facteur de risque des MCV (Iwasaki *et al.*, 2005). Chez le rat rendu diabétique par la STZ ou par l'alloxane, l'augmentation des teneurs en TG sériques serait due à une déficience en insuline, hormone qui stimule la lipoprotéine lipase (Pari & Satheesh, 2004) qui exerce un effet inhibiteur sur la production hépatique de triglycérides par diminution du niveau de traduction de l'ARN messager de l'apo-B qui est la protéine de transport des VLDL et par inhibition de la lipase hormono-sensible au niveau du tissu adipeux limitant ainsi les substrats nécessaire à la formation des triglycérides au niveau du foie (Vergès, 2007 ; Kebièche *et al.*, 2011 ; Saha *et al.*, 2012). Des résultats similaires ont été rapportés par d'autres auteurs, chez le rat rendu diabétique par la STZ (Cho *et al.*, 2002 ; Kumar & Murugesan, 2008) ou par l'alloxane (Pari & Satheesh, 2004).

De plus, dans notre étude, nous avons constaté que l'administration journalière de la graine de lin pendant huit semaines provoque une baisse significative de la concentration plasmatique des triglycérides chez le groupe de rats rendus diabétiques par STZ. Cet effet a été noté auparavant par El-Hilaly *et al.*, (2006 ; 2007). L'hypotriglycéridémie notée chez le groupe diabétique traité avec la graine de lin comparé au non traité est concomitante à la réduction de leur synthèse au niveau du foie. Des résultats similaires ont été rapportés par d'autres auteurs, chez le rat rendu diabétique par la STZ (Cho *et al.*, 2002 ; Kumar & Murugesan, 2008) ou par l'alloxane (Pari & Satheesh, 2004). De même, nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Al-Shamaony *et al.*, (1994), et Ben Abid *et al.*, (2007). La réduction des triglycérides plasmatiques observée chez les rats diabétiques traités avec la graine de lin peut s'expliquer par la diminution de la synthèse des acides gras (Bopanna *et al.*, 1997), la réduction de la masse et des teneurs en triglycérides des VLDL, et des LDL-HDL₁, ceci serait le résultat d'une faible synthèse et sécrétion des VLDL par le foie. En effet, une baisse des constituants lipidiques (cholestérol libre, esters de cholestérol, triglycérides et phospholipides) de cette lipoprotéine et de la concentration plasmatique en apo B, apolipoprotéine nécessaire à la formation des VLDL, est notée chez le groupe traité avec la graine de lin.

Par ailleurs, chez le groupe traité avec la graine de lin, la faible masse des LDL-HDL₁, laisse suggérer un catabolisme réduit des VLDL puisque ces lipoprotéines sont issues de l'hydrolyse des VLDL. Ainsi, il apparaît que l'effet hypotriglycéridémiant, noté avec la graine

de lin, ne soit pas le résultat d'une augmentation du catabolisme des VLDL *via* une stimulation de l'activité de la LPL.

Toutefois, chez le groupe diabétique traité avec *Linum usitatissimum*, l'hypothèse d'une importante captation des VLDL *via* les récepteurs spécifiques pourrait expliquer les faibles concentrations plasmatiques de ces lipoprotéines. **Iwasaki et al., (2005)** ont suggéré que la diminution de l'activité des récepteurs VLDL, concomitante avec celle de la lipoprotéine lipase plasmatique, étaient responsables de l'hyperlipidémie chez le rat rendu diabétique par la STZ.

De plus, chez le rat diabétique traité avec la graine de lin, la diminution des TG plasmatiques pourrait également s'expliquer par l'action hypoglycémiant de *Linum usitatissimum*, tel qu'il a été suggéré par **Cho et al., (2002)**. En effet, il est bien admis que les concentrations en glucose sont des déterminants majeurs des TG du plasma et des VLDL (**Lemhadri et al., 2006**). Nos résultats concordent avec ceux de **Makni et al., (2008)** qui ont démontré que la supplémentation en huile de Lin entraîne une diminution significative des taux sériques en cholestérol et en triglycérides démontrant ainsi, un effet hypolipidémiant de l'huile de Lin. L'un des mécanismes pouvant expliquer la différence au niveau de la synthèse hépatique des triglycérides entre les rats diabétiques et les rats diabétiques traités est que les travaux de **El Ghoul et al., (2011)** ont supposé que l'extrait éthanolique de *Zygophyllum album* augmenterait la sécrétion de l'insuline qui inhiberait la lipolyse au niveau du tissu adipeux et freinerait la production hépatique des triglycérides.

Les phospholipides (PL) constituants primordiaux des biomembranes sont riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) qui sont la cible des radicaux libres, tels que l'anion superoxyde $O_2\cdot^-$ et le radical hydroxyle $\cdot OH$. Des concentrations élevées en PL plasmatique et tissulaires ont été rapportées, chez le rat rendu diabétique par la STZ (**Venkateswaran & Pari, 2002**). **Jain et al., (2000)** ont suggéré que le niveau du contrôle glycémique et les teneurs réduites en TG sériques et élevées en C-HDL sont corrélés avec les concentrations en PL.

Dans notre étude, les concentrations en phospholipides du foie et du plasma sont diminuées, chez le rat diabétique traité avec la graine de lin comparé au non traité. Des résultats similaires ont été rapportés par **Boopathy et al., (2010)** et **Kumar & Murugesan, (2008)**. La diminution des PL plasmatiques avec la graine de lin résulte d'une réduction des concentrations en PL au niveau des VLDL et des HDL₃ probablement due à leur faible synthèse par le foie. De plus, chez le groupe traité, les PL-HDL₃ sont diminués en raison de leur utilisation par la LCAT dont l'activité est élevée.

Dans le diabète, le stress oxydant résulte d'un déséquilibre de la balance redox, dû à l'altération du métabolisme des glucides et des lipides, à l'importante production d'espèces réactives de l'oxygène (EROs) et à la réduction des défenses antioxydantes (**Prakasam et al., 2005**).

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

Chez les rats diabétiques non traités comparés aux rats témoins, une importante peroxydation lipidique a été notée au niveau des érythrocytes, du plasma et des différents tissus tels que le foie, les reins, le cœur, le muscle et le cerveau.

Plusieurs études réalisées chez l'homme utilisant le dosage des TBARS ont constaté une importante augmentation du malondialdéhyde (MDA) dans le sang et les tissus (foie, reins et cerveau) des sujets diabétiques (**Baynes, 1991; Kakkar et al., 1998 ; Gül et al., 2003**). Ces mêmes résultats ont été constatés dans notre étude où une augmentation significative de la concentration des TBARS dans le foie (65%) et les reins (31%) a été notée chez le groupe de rats rendus diabétiques par STZ par rapport au groupe de rats témoins. L'augmentation de la concentration TBARS laisse suggérer une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (**Kakkar et al., 1998**).

L'augmentation du taux de MDA est le résultat de l'augmentation des EROs qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoque la peroxydation lipidique (**Battacharya et al., 1997**). L'augmentation des EROs pourrait être due, soit à l'augmentation de leur production, soit à la réduction de leur élimination suite à l'épuisement des systèmes antioxydants piégeurs telle rapportée par l'étude de **Cho et al., (2002)**. La STZ peut également augmenter le niveau des ERO chez les rats diabétiques, en raison de l'augmentation de la glycémie (**Mazunder et al., 2005**). Lors d'un diabète, l'hypoinsulinémie augmente l'activité de l'enzyme acyl-CoA oxydase, qui initie la β -oxydation lipidique des acides ce qui provoque une augmentation de la peroxydation lipidique (**Sivajothy et al., 2008**). L'augmentation de la peroxydation lipidique affaiblit le fonctionnement des membranes en réduisant la fluidité membranaire et l'activité des enzymes et des récepteurs liés aux membranes (**Pallavi et al., 2003**). Ces produits de la peroxydation lipidique sont nocifs pour les cellules de l'organisme et sont associés à l'installation de l'athérosclérose, à des dommages au niveau des reins ainsi que plusieurs autres dommages tissulaires (**Kakkar et al., 1998**).



Le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* entraîne une diminution de la concentration en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), qui sont les marqueurs les plus utilisés de la peroxydation lipidique (Vadde & Rama, 2008), au niveau des érythrocytes et du plasma. De même, les concentrations en TBARS sont réduites au niveau du foie, du cœur, du muscle et du cerveau, chez le groupe diabétique traité (D-Lu) comparé au non-traité (D). Ces résultats sont probablement dus à une inhibition de la génération des radicaux libres oxygénés, secondaire à la réduction de la glycémie avec la graine de *Linum usitatissimum* d'une part, et à l'importante activité anti-oxydante de cette graine, d'autre part. Une diminution de la peroxydation lipidique érythrocytaire a été notée chez le rat rendu diabétique par la STZ et traité avec un extrait de la graine d'*Azadirachta indica* (Gupta *et al.*, 2004), avec la quercétine (flavonoïde) (Coskun *et al.*, 2005) ou avec la curcumine (Suryanarayana *et al.*, 2007). Par ailleurs, une réduction des TBARS plasmatiques a été retrouvée, chez le rat rendu diabétique par la STZ après traitement par différents extraits de plantes (Santhakumari *et al.*, 2003 ; Jung *et al.*, 2005 ; Singab *et al.*, 2005 ; Abou El-Soud *et al.*, 2007) ou avec la vitamine E et/ou la stobadine, toutes les deux des anti-oxydants (Pekiner *et al.*, 2002).

Ainsi, nos résultats concordent avec ceux de plusieurs autres études comme celles publiées par Pari & Latha, (2005) qui ont constaté chez des rats rendus diabétiques par STZ, qu'un traitement de 21 jours par un l'extrait aqueux de *Scoparia dulcis* provoque une diminution hautement significative des teneurs en MDA hépatique et rénale. Ainsi, El Ghoul *et al.*, (2011) qui ont conclu que le décocté de *Zygophyllum album* réduisait de manière significative le stress oxydant au niveau du foie des rats diabétiques traités. Ces résultats suggèrent que la graine de lin protège les tissus hépatiques et rénaux contre le stress oxydant et contre l'action cytotoxique induite par la STZ, donc elle a pu corriger le stress oxydatif induit par le diabète, notamment en diminuant la peroxydation lipidique.

Le stress oxydatif induit par le diabète est associé à une réduction du statut anti-oxydant, d'où une augmentation des effets délétères dus aux radicaux libres (Ravi *et al.*, 2004). En effet, les systèmes de défense anti-oxydante enzymatiques tels que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GSH-Px) et la glutathion réductase (GSSH-Red), et non enzymatiques (glutathion, vitamines C et E) sont altérés au cours du diabète (West, 2000 ; Abu-Seif & Youseef, 2004 ; Preet *et al.*, 2005).

Dans notre étude, l'activité érythrocytaire de la glutathion peroxydase (GSH-Px) et de la glutathion réductase (GSSH-Red) est diminuée de -37% et -32% respectivement, chez le groupe diabétique non traité comparé au groupe témoin. Par ailleurs, aucune différence

significative n'est notée dans l'activité de la superoxyde dismutase (SOD). Néanmoins, les résultats de la littérature concernant l'effet de l'hyperglycémie sur l'activité des enzymes anti-oxydantes tissulaires sont controversés et montrent soit une augmentation (**Yilmaz et al., 2004 ; Okutan et al., 2005**) soit une diminution (**Ozkaya et al., 2002 ; Sugiura et al., 2006**) ou alors aucune variation de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, GSH-Px et GSSH-Red) (**Ugochukwu et al., 2003 ; Suryanarayana et al., 2007**).

Le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* montre chez le groupe diabétique traité (D-*Lu*) comparé au non-traité (D), une augmentation de l'activité érythrocytaire de la GSH-Px et de la GSSH-Red, alors que celle de la SOD reste similaire.

La GSH-Px est une enzyme qui permet la conversion du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des peroxydes lipidiques en composés non réactifs par oxydation du glutathion réduit (GSH, substrat de l'enzyme) (**Santini et al., 1997**). La GSSH-Red permet la régénération du GSH à partir du glutathion oxydé (GSSG).

Chez le groupe diabétique traité avec la graine de *Linum usitatissimum*, la stimulation de la GSH-Px érythrocytaire laisse suggérer une inhibition de la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO), responsables de l'inactivation des enzymes anti-oxydantes. De plus, l'activité élevée de la GSH-Px indique d'une part, la protection des érythrocytes *vis-à-vis* de l'attaque radicalaire médiée par les ERO et d'autre part, explique la diminution de la concentration érythrocytaire en TBARS. En effet, les globules rouges étant riches en hémoglobine (molécule contenant du fer) sont sensibles à l'oxydation (**Subah et al., 2004**).

Par ailleurs, chez le rat diabétique traité avec la graine de *Linum usitatissimum* comparé au non-traité, l'importante activité de la GSH-Px érythrocytaire laisse supposer une augmentation de la teneur en glutathion (GSH), substrat de cette enzyme. En effet, l'activité de la GSSH-Red, enzyme qui régénère le GSH est augmentée chez ce groupe. Le glutathion représente le premier système de défense anti-oxydante non enzymatique (**Yue et al., 2003**) et joue un rôle protecteur contre les effets toxiques de la peroxydation lipidique (**Garg & Bansal, 1996**). Des concentrations réduites en GSH ont été rapportées au cours du diabète (**Stanely & Menon, 1998 ; Baynes & Thorpe, 1999 ; Ugochukwu et al., 2004**) et sont considérées comme indicateur d'un important stress oxydatif (**McLennan et al., 1991**).

La supplémentation avec la graine de lin réduit le stress oxydatif au niveau des érythrocytes en stimulant l'activité de la SOD, CAT, GSH-Px et GSSH-Red et en augmentant les teneurs en GSH. Cela serait probablement dû à l'influence des composés bioactifs présents dans les graines, tels que les flavonoïdes et leurs pouvoirs antioxydants. D'autre part, les composés phénoliques sont connus par leurs capacités de recycler la vitamine E et de piéger

les radicaux libres, ceci peut donc participer directement à une réduction de l'utilisation du GSH (**Babu et al., 2006**).

L'étude des paramètres du stress oxydant dans les tissus montre une diminution significative des teneurs de la SOD, CAT, GSH-Px et GSSH-Red dans les tissus ; foie, rein, cœur, muscle et cerveau chez les rats diabétiques non traités comparés aux rats témoins, ce résultat a été confirmé par plusieurs travaux (**Venkateswaran & Pari 2002 ; Meral et al., 2004 ; Murat et al., 2004 ; Nahla et al., 2006 ; Vadde & Rama 2008**). Dans les conditions d'hyperglycémie, le glucose est utilisé par la voie des polyols et se transforme en sorbitol, cette réaction consomme le NADPH, ce dernier est indispensable pour la régénération des molécules de glutathion par l'enzyme glutathion réductase ce qui explique la diminution de la glutathion chez les diabétiques (**West, 2000**). De plus, le taux de GSH est diminué en raison d'une concentration élevée en anions superoxyde et des radicaux libres (**Bedwal, 1983 ; Loven et al., 1986**). Le diabète provoque une diminution de GSH dans le tissu cardiaque ce qui conduit à un stress oxydatif (**Murat et al., 2004**). En revanche, chez le groupe diabétique traité avec la graine de *Linum usitatissimum* comparé au non-traité, une augmentation de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) est notée au niveau du foie et du muscle, alors qu'aucune différence significative n'est notée au niveau des autres organes. **Sharma et al., (2009)** montrent une augmentation des activités de la SOD et CAT. De même, les concentrations du GSH au niveau hépatique sont augmentées avec les extraits des feuilles de *Globularia alypum* (**Zennaki et al., 2009**) et *Murraya koenigii* (**Arulselvan & Subramanian, 2007**).

La SOD représente la première ligne de défense contre le stress oxydant. Cette enzyme en catalysant la dismutation du radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ (première espèce toxique formée à partir de l'oxygène) protège les tissus contre les radicaux libres oxygénés responsables de l'altération des membranes et des structures biologiques (**Arivazhagam et al., 2000**).

L'activité élevée de la SOD dans le muscle des rats traités avec la graine de *Linum usitatissimum* laisse suggérer une importante élimination de l'anion $O_2^{\bullet-}$, inhibant ainsi la formation du radical hydroxyle ('OH), ce qui protègerait cet organe de ses effets délétères. Par ailleurs, la SOD convertit l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui est décomposé en H_2O par la GSH-Px et la catalase (CAT). Ce processus peut engendrer une lipoperoxydation si la destruction du H_2O_2 n'est pas immédiate (**Gumsulu et al., 2002**).

Cependant, bien que les activités enzymatiques de la GSH-Px et celle de la CAT du muscle ne présentent aucune différence chez les deux groupes diabétiques, elle paraît

suffisante pour inhiber la peroxydation lipidique chez le groupe traité avec la graine *Lu*, puisque les concentrations en TBARS sont réduites au niveau de cet organe.

De plus, chez le rat traité avec *Lu* comparé au non-traité, l'activité de la GSSH-Red du muscle est augmentée. Ce résultat laisse supposer une régénération du GSH, important inhibiteur de la peroxydation lipidique médiée par les radicaux libres d'une part, et conforte l'hypothèse d'une activité efficace de la GSH-Px d'autre part, puisque ces deux enzymes régulent le métabolisme du glutathion (**Soudani et al., 2010**).

Le traitement avec la graine *Linum usitatissimum* diminue les TBARS du foie et du cœur, ce qui témoigne de sa protection *vis-à-vis* des altérations tissulaires causées par les espèces réactives de l'oxygène. En effet, chez le groupe diabétique traité avec *Lu* comparé au non-traité, une augmentation de l'activité de la GSH-Px est retrouvée au niveau de ces deux organes. Cette enzyme inhibe les réactions de la lipoperoxydation (**Levy et al., 1999**).

Les travaux de **Gupta et al., (2008)** ont rapporté une diminution des TBARS du foie et du cœur associée à une augmentation des activités de la SOD, de la GSSH-Red et de la CAT, chez le rat rendu diabétique par la STZ.

Dans notre étude, l'activation de la GSH-Px du foie avec la graine de *Linum usitatissimum* est concomitante à celle de la GSSH-Red, ce qui laisse suggérer une suractivation du cycle GSH-GSSG et par conséquent, une protection de l'hépatocyte contre les effets toxiques de la peroxydation lipidique.

De même, au niveau du cœur, l'importante activité de la catalase notée chez les rats diabétiques traités avec *Lu*, pourrait indiquer une action complémentaire à celle de la glutathion peroxydase, puisque ces deux enzymes assurent l'élimination du peroxyde d'hydrogène. Ce dernier peut réagir avec l'anion superoxyde et former un radical hydroxyle, entraînant ainsi une augmentation de la peroxydation lipidique et des concentrations élevées en TBARS.

Chez le rat rendu diabétique par la STZ, **Quine & Raghu, (2005)** ont rapporté une augmentation de l'activité de la GSH-Px, concomitante à une diminution des TBARS du foie, des reins et du cœur, après traitement avec un flavonoïde, l'épicatéchine. De même, une activité élevée de la GSH-Px hépatique et rénale associée à une réduction des TBARS a été notée avec un iridoïde, l'aucubine (**Jin et al., 2008**).

La graine de *Linum usitatissimum* possède des composés de la même nature (flavonoïdes) qui seraient, probablement en partie, responsables de la stimulation de la glutathion peroxydase chez le groupe traité.

Au niveau des reins, la graine de Lin entraîne une stimulation des activités CAT, GSH-Px et GSSH-Red, alors que celle de la SOD n'est pas influencée par le traitement. De même, les concentrations du GSH ne sont modifiées qu'après addition de *Lu* dans le régime des rats diabétiques. Ces résultats concordent avec ceux de plusieurs travaux réalisés avec d'autres extraits de plantes tels que l'extrait des feuilles de *Portulaca oleracea* (**Sharma et al., 2009**), *Laportea ovalifolia* (**Theresa & Chinyere, 2010**) et *Tomentosa bauhinia* (**Devaki et al., 2011**).

Gupta et al., (2008) ont montré une augmentation de l'activité de ces trois enzymes au niveau du rein, chez le rat rendu diabétique par la STZ et traité avec un extrait aqueux des feuilles d'*Annona squamosa*, pendant 30 jours.

Les éléments minéraux font partie de certaines enzymes. Par exemple, la catalase contient de fer, la SOD contient du cuivre et du zinc tandis que la glutathion peroxydase est une enzyme contenant du sélénium. *Linum usitatissimum* appartient à la famille *Linacea*, est riche en minéraux qui sont généralement associées à de grandes quantités de magnésium et de chrome. Les résultats obtenus chez les rats diabétiques traités avec la graine de lin peuvent être une indication de la biodisponibilité de ces substances minérales pour la formation de ces enzymes (**Zhang, 2008**).

Le cerveau est un organe sensible au stress oxydatif en raison de son importante consommation d'oxygène et de sa richesse en acides gras insaturés d'une part, et de son faible contenu en antioxydants qui le rendent plus vulnérable aux dommages oxydatifs par rapport aux autres organes de l'organisme, d'autre part (**Hong et al., 2004**). Au cours du diabète, une diminution des activités de la SOD et de la CAT et une augmentation des TBARS ont été notées au niveau du cerveau chez le groupe de rats non traités comparé au groupe de rats témoins. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **El-Missiry et al., (2004)**.

Chez le rat diabétique traité avec la graine de *Linum usitatissimum* (D-*Lu*) comparé au non-traité (D), la réduction des teneurs en TBARS du cerveau est concomitante avec une activité élevée de l'activité de la catalase. Cependant, aucune différence significative de l'activité de la superoxyde dismutase, de la glutathion peroxydase et de la glutathion réductase n'est notée au niveau de cet organe.

Nos résultats ne rejoignent pas ceux retrouvés par **Siddiqui et al., (2005)** qui ont montré une augmentation de l'activité de la SOD et de la CAT et une diminution de la GSH-Px au niveau du cerveau, chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane et traités avec des graines de fenugrec (5% dans le régime), pendant 21 jours. De même, des activités élevées de la SOD, et celles de la GSSH-Red et de la CAT ont été observées au niveau du cerveau, chez

le rat rendu diabétique par la STZ et traité avec un extrait aqueux des feuilles d'*Annona squamosa* (**Gupta et al., 2008**). Par ailleurs, **Hong et al., (2004)** ont rapporté une importante activité de la SOD et de la GSH-Px du cerveau, chez le rat rendu diabétique par la STZ et consommant un régime supplémenté en vitamine E.

Néanmoins, chez le groupe traité avec *Lu*, l'élévation de l'activité de la catalase du cerveau semble assez suffisante pour détruire les radicaux H₂O₂ et inhiber les réactions de la peroxydation lipidique, puisque les teneurs en TBARS sont diminuées. En effet, une réduction des TBARS au niveau du cerveau a été rapportée chez le rat rendu diabétique par l'alloxane (**Siddiqui et al., 2005**) ou par la streptozotocine (**Gupta et al., 2008**).

D'autre part, l'inflammation et les cytokines inflammatoires sont présumées être des facteurs importants de la pathogenèse du diabète (**Haffner, 2003** ; **Crook, 2004**). En effet, chez le groupe diabétique non traité (D) comparé au groupe témoin (T), les concentrations plasmatiques en TNF- α et IL-6 sont augmentées.

Il a été récemment observé que l'immunité innée peut jouer un rôle crucial dans le développement du DT1 et provoque une cascade de réponses cellulaires pro-inflammatoires comme la régulation de la production des cytokines (**Aribi, 2011**).

Les cellules β pancréatiques sont la cible d'une attaque auto-immune dans le diabète de type1 avec l'invasion des îlots par les cellules mononucléaires dans une réaction inflammatoire appelée insulite conduisant à la perte de la plupart des cellules β 80 à 90 % (**Leszek, 2014**).

Les cellules β peuvent également être endommagées par des médiateurs solubles tels que les cytokines pro-inflammatoire INF γ , IL-6, IL-1 β ainsi des radicaux libres d'oxygène sécrétés par le macrophage qui réagissent à des agents pathogènes intracellulaires par la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (TNF α) et IL-1 β ,IL-6, IL-8, IL-12 et IL-23 , en réponse à la phagocytose (**Leszek, 2014** ; **Aribi et al., 2015**).

Le traitement avec la graine de lin entraîne une diminution des concentrations plasmatiques en TNF- α et IL-6. La richesse des graines de *Linum usitatissimum* en acide linolénique peut être la cause de leur pouvoir antioxydant, neutralisant l'effet des radicaux libres et limitant la réaction inflammatoire dans les différents tissus (**Kaithwas et al., 2011**).

Le diabète de type 1 induit des modifications anormales dans la structure des différents organes, en particulier celle du foie, le pancréas et le rein.

Chez le groupe diabétique (D) comparé au groupe témoin (T), l'histologie du foie indique une dilatation des sinusoïdes et des hépatocytes qui sont de tailles différentes, certaines sont hypertrophiées et de petites inclusions lipidiques sont également observées.

Cependant, chez les rats traités avec la graine de lin, les résultats histopathologiques du foie montrent que les hépatocytes présentent un aspect normal, une structure des lobules régulière, une absence de stéatose et des cellules hépatiques de taille moyenne. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Ghosh et al., (2015)**.

Le pancréas des rats rendus diabétiques présente des îlots nécrotiques avec une destruction des populations cellulaires, notamment les cellules β et par conséquent, une diminution voire une disparition du nombre des îlots de Langerhans par champ microscopique. Ceci est dû à l'effet cytotoxique de la streptozotocine qui se comporte comme un agent d'inhibition enzymatique ayant des conséquences négatives sur la sécrétion de l'insuline par le pancréas au cours du diabète (**Douaouya & Bouzerna, 2016**). L'analyse histopathologique du pancréas indique une fibrose et une nécrose des structures épithéliales chez le groupe de rats diabétique (D) mais beaucoup moins importantes que chez les rats traités avec les graines de lin (D-Lu). En effet, ces données laissent supposer que la diminution de la glycémie et celle de la HbA_{1C} avec les graines de lin pourrait résulter d'une amélioration de l'histopathologie du pancréas, probablement par régénération de certaines cellules B des îlots de Langerhans capables de sécréter de l'insuline (**Douaouya & Bouzerna, 2016**).

De plus, l'hyperglycémie chronique associée au diabète induit précocement des modifications hémodynamiques et un dysfonctionnement endothérial entraînant, notamment, une vasodilatation rénale favorisant l'augmentation de débit de filtration glomérulaire (hyper filtration). L'élévation de pression cellulaire capillaire locale qui en découle associée aux effets vasculaires de l'hyperglycémie induit des modifications morphologiques (**Mauer et al., 1984 ; Young et al., 1995**).

Les modifications morphologiques du rein du groupe diabétique non-traité révèlent une nécrose massive au niveau des glomérules et des tubules. Il faut pourtant préciser que les résultats de notre étude ne permettent pas d'exclure que l'atteinte rénale est liée à l'hyperglycémie chronique (**Haffner, 2003 ; Crook, 2004**).

La supplémentation de la graine de lin dans le régime des rats diabétiques montre que la structure du rein n'est pas altérée et confirme la diminution des teneurs en créatinine sérique et urinaire et l'inhibition du processus oxydatif.

Atangwho et al., (2007) ont souligné que les flavonoïdes des plantes peuvent exercer un effet protecteur contre les dommages induits par le stress oxydatif au niveau des organes. Ainsi, Des études menées sur des rats présentant une atrophie et une nécrose du pancréas et une réduction des cellules β accompagnée d'une sclérose glomérulaire induites expérimentalement par l'injection de la streptozotocine ont montré un effet favorable des polyphénols sur ces altérations tissulaires (**Alvarado-vasquez et al., 2003**). En effet, la richesse de la graine de *Linum usitatissimum* en flavonoïdes révélés par l'analyse phytochimique peut être la cause de leur pouvoir antioxydant, exerçant un effet protecteur contre les dommages induits par le stress oxydatif au niveau des organes.

Rapport Gratuito

*Conclusion
et
perspectives*

Ce travail nous a permis de mettre en évidence les effets de la graine de *Linum usitatissimum* (*Lu*) sur certains paramètres glucidiques et lipidiques d'une part, et les statuts redox et inflammatoire d'autre part, chez le rat rendu diabétique par injection de streptozotocine (STZ).

Chez les rats diabétiques, une perte pondérale est notée, alors que le traitement de ces rats diabétiques avec la graine de lin entraîne une prise de poids.

Les résultats concernant les effets de la graine de *Linum usitatissimum* sur les marqueurs du diabète montrent que chez le groupe diabétique comparé au témoin, une augmentation significative de la glycémie et une diminution de l'insulinémie. Le traitement avec la graine de lin diminue l'hyperglycémie induite par la streptozotocine, et ce dès, la première semaine de l'expérimentation. Cette diminution reste plus significative au bout des 56 jours de l'expérimentation, prouvant l'efficacité à long terme du traitement par la graine de lin. De plus, le niveau d'insuline plasmatique est augmenté atteignant une valeur normale vers la fin de l'expérimentation. Ceci laisse suggérer que l'effet hypoglycémiant de la graine de lin serait probablement lié à son activité antioxydante.

De plus, l'hémoglobine glycosylée augmente chez le groupe diabétique par rapport au groupe témoin. La supplémentation du régime à 20% de caséine en graine de lin induit une diminution significative de l'hémoglobine glycosylée (HbA1C), indicateur fiable de l'évolution du diabète, probablement par diminution des résidus glucose circulants, puisqu'un effet hypoglycémiant est observé.

Après 8 semaines d'expérimentation, les concentrations plasmatiques et urinaires en urée, créatinine et acide urique, principaux marqueurs du dysfonctionnement rénal, sont augmentées chez le groupe diabétique non traité par rapport au groupe témoin, ceci témoigne d'une altération de la fonction rénale, évoluant vers une néphropathie. La supplémentation de la graine de *Linum usitatissimum* réduit les concentrations plasmatiques et urinaires en urée, en créatinine et en acide urique, ce qui témoigne d'une amélioration de la fonction rénale.

Dans notre travail, l'activité plasmatique de l'aspartate amino-transférase (ASAT), l'alanine amino-transférase (ALAT) et celle de la phosphatase alcaline (PAL) est augmentée chez le groupe diabétique comparé au groupe témoin, ce qui laisse supposer que l'activité de ces transaminases est altérée au cours du diabète. Le traitement avec la graine de lin entraîne

une diminution du taux de ces enzymes hépatiques, ce qui indique sa capacité à préserver les mécanismes du fonctionnement du foie.

*Ainsi, il apparaît que la graine de *Linum usitatissimum* (Lu) corrige l'hyperglycémie induite par la streptozotocine via des mécanismes indépendants de l'insuline d'une part, et diminue le pourcentage de l'HbA_{1C}, indiquant un bon contrôle de l'équilibre glycémique, d'autre part. De plus, cette graine améliore la fonction rénale et hépatique en réduisant les teneurs de l'urée, de la créatinine et de l'acide urique, d'une part et en diminuant les marqueurs du fonctionnement hépatique ASAT, ALAT et la PAL, d'autre part.*

Dans le but de voir si l'effet hypoglycémiant obtenu avec la graine de *Linum usitatissimum* permet de corriger la dyslipidémie associée au diabète, nous nous sommes intéressés au métabolisme des lipides et des lipoprotéines ainsi qu'à l'activité des enzymes qui y sont impliquées.

Nos résultats montrent chez le groupe diabétique l'apparition d'une hyperlipidémie caractérisée par des niveaux plasmatiques élevés en cholestérol, triglycérides et phospholipides comparés au groupe témoin. Il a été également constaté des modifications défavorables des marqueurs lipidiques caractérisées par une baisse du CT-HDL₂, une augmentation du CT au niveau du plasma, des VLDL, des LDL-HDL₁ et des HDL₃. De plus, une élévation des différents rapports d'athérogénicité (CT/C-HDL et C-VLDL+LDL-HDL₁/CT-HDL), est notée.

L'hypertriglycéridémie chez le groupe diabétique est associée avec l'augmentation de la masse et des TG des VLDL par rapport au groupe témoin. En parallèle, aucune différence significative n'est notée dans la masse des HDL₂ et de leurs contenus en apos, et une élévation de leurs contenus en TG est observée. Par ailleurs, la masse des HDL₃ est augmentée chez le groupe D par rapport au groupe T par augmentation de leurs concentrations en apos et en PL. Le contenu en TG est similaire chez les deux groupes de rats.

Le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* induit un effet hypocholestérolémiant concomitant avec une diminution des concentrations hépatiques en cholestérol total (CT) et plus particulièrement, celles des esters de cholestérol (EC). L'hypocholestérolémie induite par la graine de lin résulte d'une diminution des teneurs en C-VLDL, C-LDL-HDL₁ et C-HDL₃, fractions athérogènes.

Par ailleurs, la diminution des rapports d’athérogénicité CT/C-HDL, C-VLDL-LDL-HDL₁/C-HDL et apo B/apo A-I reflète un profil lipidique anti-athérogène et indique ainsi un effet protecteur de la graine de *Linum usitatissimum* vis-à-vis du risque de l’hypercholestérolémie induite par le diabète.

De plus, la graine de lin stimule l’activité de la lécithine: cholestérol acyltransférase (LCAT), enzyme impliquée dans l’efflux du cholestérol des tissus périphériques vers le foie. Ce résultat est en faveur d’une amélioration du transport inverse du cholestérol, ce qui permet de suggérer une réduction du risque athérogène.

L’hypotriglycéridémie induite avec *Linum usitatissimum* est essentiellement due à des teneurs réduites en TG-VLDL, ce qui laisse supposer une faible synthèse et sécrétion des VLDL par le foie. En effet, les concentrations en TG hépatiques et celles de l’apo B plasmatique sont diminuées.

Chez le rat diabétique, le traitement par la graine de lin montre que l’augmentation de la LCAT peut être considérée comme un mécanisme responsable de l’effet hypocholestérolémiant. Ainsi, l’effet hypotriglycéridémiant de la graine de lin résulte d’une synthèse réduite de VLDL et non d’un catabolisme accru de ces lipoprotéines.

*Notre étude révèle que la graine de *Linum usitatissimum* supplémenté dans le régime des rats rendus diabétiques agit favorablement sur le profil des lipides hépatiques et plasmatiques.*

Dans la troisième partie de cette étude, nous avons essayé d’élucider les effets potentiels de la graine de lin sur le stress oxydatif induit par l’hyperglycémie, source de production d’espèces réactives oxygénées (ERO), et sur la diminution des défenses antioxydantes.

Nos résultats rapportent que chez le groupe diabétique comparé au groupe témoin, un stress oxydant objectivé par l’augmentation des concentrations en TBARS du plasma, des erythrocytes et des tissus (foie, reins, cœur, muscle et cerveau).

Ce phénomène est certainement en relation étroite avec la diminution de la défense antioxydante, en particulier celle de la GSH-Px et de la glutathion réductase (GSSH-Red) au niveau érythrocytaire et l’activité de la SOD au niveau de tous les tissus. Ainsi, une diminution de l’activité de la GSH-Px est notée au niveau du foie, du rein, du cœur et du muscle. Cependant, l’activité de la GSSH-Red n’est réduite qu’au niveau du foie. Par ailleurs, l’activité de la CAT est significativement diminuée au niveau du cœur et du cerveau.

Les résultats de cette présente étude révèlent que la graine de lin possède des propriétés antioxydantes contre le stress oxydant et qu'elle atténue la peroxydation lipidique. Ces effets se manifestent par la réduction des teneurs en TBARS des érythrocytes, du plasma et des tissus. Ces résultats sont probablement dus à une inhibition de la génération des radicaux libres oxygénés, secondaire à la réduction de la glycémie d'une part, et à l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes, d'autre part.

En effet, chez le rat diabétique traité comparé au non traité, l'activité enzymatique de la GSH-Px et celle de la GSSH-Red érythrocytaires est augmentée. De même, au niveau des organes, la graine de *Linum usitatissimum* stimule l'activité de la SOD du foie et du muscle, celle de la GSH-Px du foie, des reins et du cœur, de la GSSH-Red des reins et du muscle et de la CAT au niveau des reins, du cœur et du cerveau.

Ainsi, en stimulant les enzymes antioxydantes la graine de Linum usitatissimum réduit la peroxydation lipidique et par conséquent protège les érythrocytes et les tissus des effets délétères des ERO.

Dans la dernière partie de cette investigation, nous avons mis l'accent sur l'impact de la consommation de la graine de lin sur les modifications histopathologiques des organes induites par la streptozotocine et les propriétés anti-inflammatoires de cette graine.

Les cytokines inflammatoires sont présumées être des facteurs importants de la pathogenèse du diabète. En effet, chez le groupe diabétique comparé au groupe témoin, les concentrations plasmatiques en TNF- α et IL-6 sont augmentées. La supplémentation des graines de lin dans le régime des rats diabétiques comparé au groupe diabétique non traité semble réduire efficacement l'état pro-inflammatoire, en réduisant les concentrations des cytokines plasmatiques.

D'autre part, les résultats de l'examen histologique révèlent qu'au niveau du foie du groupe diabétique comparé au groupe témoin, les cellules hépatiques sont de tailles différentes, certaines sont légèrement hypertrophiées. Cependant, aucune modification de l'aspect morphologique du foie n'est observée chez le groupe diabétique traité avec la graine de lin.

L'examen histologique du pancréas souligne des lésions étendues et des dimensions réduites des îlots de Langerhans chez le groupe diabétique, tandis que la structure cellulaire normale est conservée chez les rats diabétiques traités par la graine de *Lu*.

En effet, ces données laissent supposer que la diminution de la glycémie et celle de la HbA1c avec les graines de lin pourrait résulter d'une amélioration de l'histopathologie du pancréas, probablement par régénération de certaines cellules β des îlots de Langerhans.

D'autre part, les rats diabétiques présentent une nécrose massive au niveau glomérulaire et tubulaire. Ce qui suggère une atteinte rénale importante. En revanche, les résultats ne révèlent aucune modification de l'aspect morphologique du rein chez le groupe diabétique traité avec la graine de lin.

L'ensemble de ces résultats évoque l'existence d'une atténuation des facteurs de risque métabolique incluant les propriétés anti-inflammatoires de la graine de lin, en améliorant le profil des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α et IL-6) et les changements favorables dans l'histopathologie du foie, du rein et du pancréas, ce qui laisse suggérer un effet bénéfique de la graine de lin dans le traitement du diabète de type 1.

En conclusion, la graine de *Linum usitatissimum* corrige l'hyperglycémie, la dyslipidémie, le stress oxydant et l'état inflammatoire, chez le rat diabétique de type 1 induit par la streptozotocine.

En effet, cette graine réduit la glycémie et induit un effet hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant, en modulant l'activité de certaines enzymes impliquées dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines.

La graine de *Linum usitatissimum* améliore le statut antioxydant des érythrocytes, du plasma et des tissus, en réduisant la peroxydation lipidique et en augmentant l'activité de certaines enzymes antioxydantes.

De plus, la richesse de la graine de *Linum usitatissimum* en flavonoïdes révélés par l'analyse phytochimique peut être la cause de leur pouvoir antioxydant, exerçant un effet protecteur contre les dommages induits par le stress oxydatif au niveau des organes et en limitant les réactions inflammatoires.

Ainsi, il apparaît que le traitement avec la graine *Linum usitatissimum* peut prévenir et/ou atténuer les complications associées au diabète.

Il serait intéressant de compléter ces études préliminaires par d'autres études plus poussées afin de pouvoir approfondir la compréhension des mécanismes d'action de cette graine, ce travail pourrait être complété par:

- L'isolement et l'évaluation des effets hypoglycémiants, hypolipémiants et antioxydants des différents composés bioactifs présents dans cette graine.
- La détermination des enzymes tissulaires impliquées dans le métabolisme des lipoprotéines telles que la 7- α hydroxylase, la lipoprotéine lipase (LPL), la triglycéride lipase hépatique (HTGL) et la HMG CoA-réductase.
- La détermination des marqueurs de l'oxydation protéique par le dosage des produits de dégradation protéiques (carbonyls, sulfhydryls).
- La détermination des teneurs tissulaires et plasmatiques en monoxyde d'azote (NO).
- Le dosage des molécules biologiques antioxydantes comme les oligoéléments (zinc, sélénium et le cuivre) et les vitamines (vit E, vit C et les caroténoïdes).

Références bibliographiques

A

Abdollahi M., Zuki A.B.Z., Goh Y.M., Rezaeizadeh A. & Noordin M.M. (2010). The effects of *Momordica charantia* on the liver in streptozotocin-induced diabetes in neonatal rats. *Afr J Biotech.* **9:** 5004-5012.

Abou El-Soud N.H., Khalil M.Y., Hussein J.S., Oraby F.S.H. & Hussein Farrag A.R. (2007). Antidiabetic effects of fenugreek alkaloid extract in streptozotocin induced hyperglycemic rats. *J Appl Sci Res.* **3:** 1073-1083.

Abu-Seif M.A. & Youseef A.A. (2004). Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin Chim Acta.* **346:** 161-170.

ADA (American Diabetes Association). (2008). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* **31:** 55-60.

Adiels M., Olofsson S.O., Taskinen M.R., & Boren J. (2006). Diabetic dyslipidaemia. *Curr Opin Lipidol.* **17:** 238-246.

Aebi H. (1974). Catalase. In: Berg Meyer, H. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, Second ed. Verlag chemie, Weinheim, Germany, pp: 673-684.

Ahmed I., Lakhani M.S., Gillett M., John A. & Raza H. (2001). Hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effects of anti-diabetic *Momordica charantia* (karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract.* **51:** 155-161.

Akbarzadeh A., Norouzian D., Mehrabi M.R., Jamshidi S.H., Farhangi A., Verdi A., Mofidian S.M.A. & Lame Rad B. (2007). Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian J Clin Biochem.* **22:** 60-64.

Al-Ghaithi F., El-Ridi M.R., Adeghate E. & Amiri M.H. (2004). Biochemical effects of *Citrullus colocynthis* in normal and diabetic rats. *Mol Cell Biochem.* **1-7.**

Alimohammadi S., Hobbenaghi R., Javanbakht J., Kheradmand D., Mortezaee R., Tavakoli M., Khadivar F. & Akbari H. (2013). Protective and antidiabetic effects of extract from *Nigella sativa* on blood glucose concentrations against streptozotocin (STZ)-induced diabetic in rats: an experimental study with histopathological evaluation. *Diagn Pathol.* **8:** 137.

Allali H., Benmehdi H., Dib M.A., Tabti B., Ghalem S. & Benabadji N. (2008). Phytotherapy of diabetes in West Algeria. *Asian J chem.* **20**: 2701-2710.

Al-Mutairi D.A., Craik J.D., Batinic-Haberle I. & Benov L.T. (2007). Induction of oxidative cell damage by photo-treatment with zinc meta N-methylpyridylporphyrin. *Free Radic Res.* **41**: 89-96.

AL-Qarawi A.A. & Adam S.E.I. (2000). Effect of combination of *Capsicum frutescens* and *Citrullus colocynthis* on growth, haematological and pathophysiologicalparameters of rats. *Phytother res.* **28**: 385-90.

Al-Shamaony L., Al Khazraji M.S. & Twaij H.A. (1994). Hypoglycemic effects of *Artemisia herba-alba*. II. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabeticanimals. *J Ethnopharmacol.* **43**: 167 - 171.

Alvarado-Vasquez N., Zamudio P., Ceron E., Vanda B., Zenteno E. & Carvajal Sandoval G. (2003). Effect of glycine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comp Biochem Physiol Toxicol Pharmacol.* **134**: 521–527.

Alvarez J.F., Barbera A., Nadal B., Barcelo-Batllori S., Piquer S., Claret M., Guinovart J.J., Guinovart N. & Gomis R. (2004). Stable and functional regeneration of pancreatic beta-cell population in n-STZ rats treated with tungstate. *Diabetologia.* **47**: 470-477.

Amadou A. (2006). Étude d'une recette traditionnelle, des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* hosch et de *Uapaca togoensis* pax utilisées dans le traitement du diabète. Thèse de Doctorat. Université de Bamako.

American Diabetes Association. (2015). Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care.* **38**: 8-16.

An Sook L., Yun Jung L., So Min L., Jung Joo Y., Jin Sook K., Dae Gill K. & Ho S. (2012). *Portulaca oleracea* ameliorates diabetic vascular inflammation and endothelial dysfunction in db/db Mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* 10-1155.

Arab K., Bouchenak O. & Yahiaoui K. (2013). Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afr Sci.* **9**: 159-166.

Ardestani A. & Yazdanparast R. (2006). Plasma protein oxidation in diabetic rats after supplementation of *Teucrium polium* extract. *Pharmacol Online.* **3**: 342-347.

Aribi M. (2011). Autoimmunity and Immunotherapy of Type 1 Diabetes. Type 1 Diabetes-Pathogenesis, Genetics and Immunotherapy. Edited by Prof. David Wagner. **660:** 3-46.

Aribi M., Meziane W., Habi S., Boulatika Y., Marchandin H. & Aymeric J.L. (2015). Macrophage bactericidal activities against staphylococcus aureus are enhanced In vivo by selenium supplementation in a dose-Dependent manner. *PLoS One.* **10:** 0135515.

Aribi M., Moulessehoul S., Kendouci-Tani M., Benabadji A.B., Hichami A. & Khan N.A. (2007). Relationship between interleukin-1beta and lipids in type 1 diabetic patients. *Inter Med J Exper Clin Res.* **13:** 372-378.

Arivazhagam P., Thilagavathy T. & Pannerselvam C. (2000). Antioxidant lipoate and tissue antioxidants in aged rats. *J Nutr Biochem.* **11:** 122-127.

Arulselvan P. & Subramanian S.P. (2007). Beneficial effects of *Murraya koenigii* leaves on antioxidant defense system and ultra structural changes of pancreatic beta-cells in experimental diabetes in rats. *Chem Biol Interact.* **165:** 155-164.

Arumugam G., Manjula P. & Paari N. (2013). Antidiabetic medicinal plants used for diabetes mellitus. *J Acute Dis.* **2:** 196-200.

Asif M. (2014). The prevention and control the type-2 diabetes by changing lifestyle and dietary pattern. *J Educ Health Promot.* **3:** 1.

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

Atangwho I.J., Ebang P.E., Eteng M.U., Eyoung E.U & Obi A.U. (2007). Effects of Vernonia amygdalina Del Leaf on Kidney function of diabetic rats. *Int J Pharmacol.* **3:**193-48.

Atole S.K., Jangde C.R., Preetry Philip., Rekhe D.S., Aghav D.V. & Chougule A.M. (2009). Safety evaluation studies of *Citrullus colocynthis* for diabetes in rats. *Vet World.* **2:** 423-425.

Attou A. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Thèse de magister de l'université de Tlemcen. **pp** 65-66.

Aughsteen A.A. (2000). An ultrastructural study on the effect of streptozotocin on the islets of Langerhans in mice. *J of Electron Microscop.* **49:** 681-690.

Azzi R., Djaziri R. & Lahfa F. (2009). Recherche des effets anti-hyperglycémiant des glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*Cirtrullus colocynthis*) sur des rats Wistar normaux et rendus diabétiques par la Streptozotocine. *Substances Naturelles et innovation thérapeutiques.* **1:** 50-52.

B

Babu P.V., Sabitha K.E. & Shyamaladevi C.S. (2006). Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Chem Biol Interact.* **162:** 114-120.

Bach J.F. (2002). The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med.* **347:** 911-20.

Badami S., Gupta M.K. & Suresh B. (2003). Antioxidant activity of the ethanolic extract of *Striga orobanchioides*. *J Ethnopharmacol.* **85:** 227-230.

Bailey C.J. & Day C. (1989). Traditional plant medicines as treatment for diabetes. *Diabetes Care.* **12:** 553-564.

Bamosa A.O., Kaatabi H., Lebda F.M., Elqb A. & Al-sultan A. (2010). Effect of *Nigella sativa* seeds on the glycemic control of patients with type 2 diabetes mellitus. *Indian j Physiol Pharmacol.* **54:** 344-354.

Baragob A.E.A., Al-malki W.H., Shahid I., Bakhdhar F.A., Bafhaid H.S. & Izz Eldeen O.M. (2014). The hypoglycemic effect of the aqueous extract of the fruits of *Balanites aegypticea* in Alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacognosy Res.* **6:** 1-5.

Barbosa N.B.V., Rocha J.B.T., Wandracek D.C., Perottoni J., Zeni G. & Nogueira W. (2008). Diphenyl diselenide reduces temporarily hyperglycemia: possible relationship with oxidative stress. *Chem Biological Interact.* **163:** 230-238.

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**: 2084-2089.

Battacharya S.K., Satyan K.S. & Ghosal S. (1997). Antioxidant activity of glycowithanolides from *Withania somnifera*. *Ind J Exper Biol.* **35**: 236 - 239.

Battu G.R., Ethadi S.R., Veda Priya G., Swathi Priya K., Chandrika K., Venkateswara Rao A. & Satya O.R. (2011). Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of *Euphorbia heyneana* Spreng. *Asian Pac J Tropical Biomed.* 191-194.

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

Bedoya F.J., Solano F. & Lucas M. (1996). N-monomethyl-arginine and nicotinamide prevent streptozotocin-induced double strand DNA break formation in pancreatic rat islets. *Experientia.* **52**: 344-347.

Bedwal R.S., Nair N., Sharma M.P. & Mather R.S. (1983). Selenium its biological perspectives. *Med Hypothesis.* **41**: 150-159.

Ben Abid Z., Feki M., Hédhili A. & Hédi Hamdaoui M. (2007). *Artemisia herba-alba* Asso (Asteraceae) Has Equivalent Effects to Green and Black Tea Decoctions on Antioxidant Processes and Some Metabolic Parameters in Rats. *Ann Nutr Metab.* **51**: 216-222.

Benlahcene Y. (2010). Contribution à l'étude de l'effet de l'extrait eau-méthanol des graines de *Citrullus colocynthis* sur l'hyperglycémie des rats mâles Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine. Mémoire de master en biologie moléculaire et cellulaire. Université de Tlemcen.

Benmehdi H., Allali H., Tabti B., Djabou N., Bendiabdelah A., Lahfa F. & Djaziri R. (2008). Hypo and Antihyperglycaemic Effect of *Citrullus colocinthis* L. Seeds in Normal and Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Asian J Chem.* **20**: 2711-2718.

Benmehdi H., Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., Benariba N. & Tabti B. (2011). Effect of saponosides crude extract isolated from *Citrullus colocynthis* (L.) seeds on blood glucose level in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *J Med Plants Res.* **5**: 6864-6868.

Bergman R.N. (2000). Non-esterified fatty acids and the liver: why is insulin secreted into the portal vein?. *Diabetologia.* **43**:946-52.

Betteridge J. (2002). Lipid disorders in diabetes mellitus. In: Pickup J and Williams G. (eds.) *Textbook of Diabetes*. Blackwell Science, London: 551 - 553.

Bhandari U., Kanojia R. & Pillai K.K. (2005). Effect of ethanolic extract of *Zingiber officinale* on dyslipidaemia in diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **97**: 227-230.

Bhaskar A., Vidhya V.G. & Ramya M. (2008). Hypoglycemic effect of *Mucuna pruriens* seed extract on normal and streptozotocin-diabetic rats. *Fitoterapia*. **79**: 539 - 543.

Bhor V.M., Raghuram S. & Sivakami S. (2004). Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin-induced diabetic rats. *Intern J Biochem Cell Biol.* **36**: 89-97.

Biesaga M. (2011). Influence of extraction methods on stability of flavonoids. *J Chromatogr A*. **1218**: 2505-2512.

Blois M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*. **181**: 1199:1200.

Bobkiewicz-Kozłowska T., Dworacka M., Kuczynski S., Abramczyk M., Kolanos R., Wysocka W., Garcia Lopez P.M. & Winiarska H. (2007). Hypoglycemic effect of quinolizidine alkaloids luponine and 2-thionosparteine on non-diabetic and streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* **565**: 240-244.

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**: 229-235.

Bolzán A.D. & Bianchi M.S. (2002). Genotoxicity of Streptozotocin. *Mutat Res.* **512**: 121-134.

Bonnard C., Durand A., Peyrol S., Chanseaume E., Chauvin M.A., Morio B., Vidal H. & Rieusset J. (2008). Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletalmuscle of diet-induced insulin-resistant mice. *J Clin Invest.* **118**: 789-800.

Bonnefont-Rousselot D., & Beaudeux J.L. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutr Clin Metab.* **16**: 260-267.

Boopathy R., Elanchezhiyan C. & Sethupathy S. (2010). Antihyperlipidemic activity of *Helicteres Isora* fruit extract on streptozotocin induced diabetic male wistar rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. **14**: 191-196.

Bopanna K.N., Kannan J., Gadgil S., Balaraman E.R. & Rathore S.P (1997). Antidiabetic and antihyperglycaemic effects of neem seed kernel powder on alloxan diabetic rabbits. *Ind J Pharmacol*. **29**: 162 – 167.

Brahmachari H.D. & Augusti K.T. (1964). Isolation of orally effective hypoglycaemic compounds from *Ficus bengalensis*. *Ind J Physiol Pharmacol*. **8**: 60-64.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E. & Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebenson Wiss Technol*. **28**: 25-30.

Brissova, M., Fowler M.J., Nicholson W.E., Chu A., Hirshberg B., Harlan D.M. & Powers A.C.(2005). Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy. *J Histochem Cytochem*. **53**: 1087-1097.

Broedl U.C., Maugeais C., Millar J.S., Jin W., Moore R.E., Fuki I.V., Marchadier D., Glick J. M. & Rader D.J. (2004). Endothelial lipase promotes the catabolism of apo B48-containing lipoproteins. *Circ Res*. **94**:1554-1561.

Brown G.B., Xue Q., Sacco D.E. & Alberts J.J. (1993). Lipid lowering and plaque regression. New insights into prevention of plaque disruption and clinical events in coronary disease. *Circulation*. **87**: 1781-1791.

Brown G.C. & Borutaite V. (2001). Nitric oxide, mitochondria and cell death. *IUBMB Life*. **52**: 189-195.

Brownlee M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. **414**: 813-820.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. Lavoisier 2^{ème} édition: 535- 545.

Bruno V. (2007). Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nut Clin Métab*. **21**: 9-16.

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:** 741-746.

Burstein M., Scholnick HR. & Morfin R. (1970). Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res.* **11:** 583-595.

Byung-Keun Y., Guk-Nam K., Yong-Tae J., Hun J., Pradeep M. & Chi-Hyun S. (2008). Hypoglycemic Effects of Exo-biopolymers Produced by Five Different Medicinal Mushrooms in STZ- induced diabetic rats. *Mycrobio.* **36:** 45-49.

C

Cabrera O., Berman D.M., Kenyon N.S., Ricordi C., Berggren P.O. & Caicedo A. (2006). The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proc Natl Acad Sc.* **103:** 2334-2339.

Calberg I. & Mannervik B. (1985). *Meth Enzymol.* **113:** 484-490

Campbell I.L., Iscaro A. & Harrison L.C. (1988). IFN-gamma and tumor necrosis factor-alpha. Cytotoxicity to murine islets of Langerhans. *J Immunol.* **141:** 2325-2329.

Carr M.C., Ayyobi A.F., Murdoch S.J., Deeb S.S. & Brunzell J.D. (2002). Contribution of hepatic lipase, lipoprotein lipase, and cholesterol ester transfer protein to LDL and HDL heterogeneity in healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **22:** 667-673.

Chandra J., Samali A. & Orrenius S. (2000). Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* **29:** 323-333.

Chappey O., Dosquet C., Wautier M.P. & Wautier J.L. (1997). Advanced Glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *Eur J Clin Invest.* **27:** 97-108.

Charnot A. & Faure L. (1945). La toxicologie au Maroc. Mémoire de la Soc Sci Nat du Maroc XLVII. p 826.

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:** 426-38.

Chen Y.Q. (1998). Spsites mediate activation of the plasminogen activator inhibitor-1 promoter by glucose in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* **273:** 8225 - 8231.

Chilelli N.C., Burlina S. & Lapolla A. (2013). AGEs, rather than hyperglycemia, are responsible for microvascular complications in diabetes: a 'glycoxidation-centric' point of view. *Nutr Metab Cardiovas Dis.* **23:** 913–919.

Cho S.Y., Park J.Y., Park E.M., Choi M.S., Lee M.K., Jeon S.M., Jang M.K., Kim M.J. & Park Y.B. (2002). Alteration of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clin Chim Acta.* **317:** 109-117.

Choi S.B. & Park S. (2002). A steroidal glycoside from *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce. Improves insulin resistance but does not alter insulin secretion in 90% pancreatectomized rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* **66:** 2036-2043.

Choudhary M.I., Adhikari A., Rasheed S., Marasini B.P., Hussain N., Kaleem W.A. & Rahman A. (2011). Cyclopeptide alkaloids of *Ziziphus oxyphylla* Edgw as novel inhibitors of α -glucosidase enzyme and protein glycation. *Phytochem Letters.* **4:** 404-406.

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.* **3:** 1673-90.

Ciocoiu M., Mirón A., Tutunaru D., Pohaci C., Groza M. & Bdescu M. (2009). The effects of *Sambucus nigra* polyphenols on oxidative stress and metabolic disorders in experimental diabetes mellitus. *J Physiol Biochem.* **65:** 297–304.

Coskun O., Kanter M., Korkmaz A. & Oter S. (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res.* **51:** 117-123.

Council of European Communities. (1987). Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. Official J. L358 of 18-12-1986; Corrigendum Official J. L117 of 05-05-1987.

Crook M. (2004). Type 2 diabetes mellitus: a disease of the innate immune system? An update. *Diabet Med.* **21:** 203-207.

Curtiss L.K. & Witztum J.L. (1985). Plasma apolipoproteins AI, AII, B, CI and E are glucosylated in hyperglycemic diabetic subjects. *Diabetes*. **34**: 452-461.

D

Daisy P., Feril G. & Jeeva K. (2013). Hypolipidemic and hepatoprotective effects of *Cassia auriculata* linn barck extracts on streptozotocin induced diabetics in male Wister albinos rats. *Asian J Pharm Clin Res.* **6**: 43-48.

Dasgupta N. & De B. (2004). Antioxidant activity of *Piper betle* L. leaf extract *in vitro*. *Food Chem.* **88**: 219-224.

Dawei G., Qinwang L. & Yusheng F. (2010). Hypoglycemic effects and mechanisms of *Portulaca oleracea* L. in alloxan-induced diabetic rats. *J Med Plant Res.* **4**: 1996-2003.

Day A., Ruel K., Neutelings G., Cronier D., David H., Hawkins S. & Chabbert B. (2005). Lignification in the flax stem: evidence for unusuallignin in bast fibers. *Planta*. **222**: 234-245.

Delattre J., Gardes M. & Jore D. (2001). Stress oxydant et diabète sucré. *J Soc Biol.* **195**: 375-376.

De-Tommasi N., Desimone F., Cirino G., Cicala C. & Pizza C. (1991). Hypoglycemic effects of sesquiterpene glycosides and polyhydroxylated triterpenoids of *Eriobotrya japonica*. *Planta Med.* **57**: 414-416.

Devaki K., Beulah U., Akila G., Sunitha M., Narmadha R. & Gopalakrishnan V.K. (2011). Effect of aqueous leaf extract of *B.Tomentosa* on GTT of normal and diabetic rats. **3**:195-202.

Dias T., Bronzea M.R., Houghton P.J., Mota-Filipea H. & Paulo A. (2010). The flavonoid-rich fraction of *Coreopsis tinctoria* promotes glucose tolerance regain through pancreatic function recovery in streptozotocin-induced glucose-intolerant rats. *J Ethnopharmacol.* **132**: 483-490.

Dirican M., Serdar Z., Sarandöl E. & Sürmen-Gür E. (2003). Lecithin: cholesterol acyltransferase activity and cholestryl ester transfer rate in patients with diabetes mellitus. *Turk J Med Sci.* **33**: 95-101.

Douaouya L. & Bouzerna N. (2016). Effect of garlic (*Allium sativum*) on biochemical parameters and histopathology of pancreas of alloxan-induced diabetic rats. *Int J Pharm PharmaceutSci.* **8:** 6.

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

Durackova Z., Djrolo F., Houngbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N. & Avimadj M. (2008). Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine.* pp: 19-43.

Durmus M., Yilmaz H.R., Uz E. & Özçelik N. (2008). The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) treatment on levels of MDA, NO and antioxidant enzymes activities in retinas of streptozotocin-induced diabetic rats. *Turk J Med Sci.* **38:** 1-6.

E

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

Eddouks M., Lemhadri A., Zeggwagh N.A. & Michel J.B. (2005a). Potent hypoglycaemic activity of the aqueous extract of *Chamaemelum nobile* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract.* **67:** 189-195.

El Ghoul J., Ghanem-Boughanmi N. & Ben Attia M. (2011). Biochemical study on the protective effect of ethanolic extract of *Zygophyllum album* on streptozotocin-induced oxidative stress and toxicity in mice. *Biomed Prevent Nutr.* **1:** 79-83.

El Ghoul J., Smiri M., Ghrab S., Boughattas N. & Ben-Attia M. (2012). Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant activities of traditional aqueous extract of *Zygophyllum album* in streptozotocin diabetic mice. *Pathophysiol.* **19:** 35-42.

El Hamsas El Youbi A., Boustab D., Ouahidi I. & Aarab L. (2010). Criblage pharmacologique primaire d'une plante endémique originaire du Sud Marocain (*Tetraena gaetula*). *C R Biol.* **333:** 736-743.

El-Hilaly J. & Lyoussi B. (2002). Hypoglycaemic effect of the lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **80:** 109-113.

El-Hilaly J., Tahraoui A., Israili Z.H. & Lyoussi B. (2006). Hypolipidemic effects of acute and sub-chronic administration of an aqueous extract of *Ajuga iva* L. whole plant in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **105**: 441-448.

El-Hilaly J., Tahraoui A., Israili Z.H. & Lyoussi B. (2007). Acute hypoglycemic, hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects of continuous intravenous infusion of a lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* L. Schreber whole plant in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pak J Pharm Sci.* **20**: 261-268.

El-Missiry M.A., Othman A.I. & Amer M.A. (2004). L-arginine ameliorates oxidative stress in alloxan-induced experimental diabetes mellitus. *J Appl Toxicol.* **24**: 93-97.

El-Sayed M.I. (2011). Effects of *Portulaca oleracea* L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *J Ethnopharmacol.* **137**: 643-651.

Erbagci A.B., Tarakçıoğlu M., Coşkun Y., Sivasli E. & Namiduru E.S. (2001). Mediators of inflammation in children with type 1 diabetes mellitus: cytokines in type 1 diabetic children. *Clin Biochem.* **34**: 645-650.

Evans J.L., Golfine I.D., Maddux B.A. & Grodsky G.M. (2003). Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction?. *Diabetes.* **52**: 1-8.

\mathcal{F}

Fayon G., Fenglin L., Lili Z., Jing L., Zhong Z. & Guangyao W. (2009). Hypoglycemic Effects of Crude Polysaccharide from *Purslane*. *Int J Mol Sci.* **10**: 880-888.

Feher M.D. (2004). Diabetes: preventing coronary heart disease in a high risk group. *HeartBrit Car Soc.* **90**: 18-21.

Fenglin L., Qingwang L., Dawei G., Yong P. & Caining F. (2009). Preparation and antidiabetic activity of polysaccharide from *Portulaca oleracea* L. *Afr J Biotech.* **8**: 569-573.

Fisman E.Z., Tenenbaum A., Motro M. & Adler Y. (2004). Oral antidiabetic therapy in patients with heart disease. A cardiologic standpoint. *Herz.* **29**: 290-298.

Folch J., Lee M. & Sloane-Stanley G.H. (1957). A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* **226**: 497-509.

Fonovich de Schroeder T.M., Carattino M.D., Frontera M. & Catanzaro O.L. (1998). Constitutive nitric oxide synthase (cNOS) activity in Langerhans islets from streptozotocin diabetic rats. *Braz J Med Biol Res.* **31:** 625-632.

Forouhi N.G. & Wareham N.J. (2014). Epidemiology of diabetes. *Med.* **42:** 698-702.

Fried SK. & Rao S.P. (2003). Sugars, hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* **78:** 873-880.

Fröde T.S. & Medeiros Y.S. (2008). Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity. *J Ethnopharmacol.* **115:** 173-183.

G

Garcia, M., Hernández-Lorenzo P., San Román J.I. & Calvo J.J. (2008). Pancreatic duct secretion: experimental methods, ion transport mechanisms and regulation. *J Physiol Biochem.* **64:** 243-57.

Garg M.C. & Bansal D.D. (1996). Antioxidant status of streptozotocin diabetic rats. *Ind J Exp Biol.* **34:** 264-266.

Garnier G., Bezanger-Beauquesne L. & Debraux G.(1961). Ressources médicinales de la flore française 2 tomes. Vigot frères. Paris. 1511.

Geenen V., Brilot F., Louis C., Hansenne I., Renard C.h. & Martens H. (2005). Importance of a thymus dysfunction in the pathophysiology of type 1 diabetes. *Rev Med Liege.* **60:** 291-296.

Genet S., Kale R.K. & Baquer N.Z. (2002). Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (*Trigonellafoenum graecum*). *Mol Cell Biochem.* **236:** 7-12.

Ghosh S., Bhattacharyya S., Rashid K. & Sil P.C. (2015). Curcumin protects rat liver from streptozotocin-induced diabetic pathophysiology by counteracting reactive oxygen species and inhibiting the activation of p53 and MAPKs mediated stress response pathways. *Toxicol rep.* **2:** 365-376.

Giugliano D., Ceriello A. & Paolisso G. (1996). Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care.* **19:** 257-267.

Giulietti A., Stoffels K., Decallonne B., Overbergh L. & Mathieu C. (2004). Monocytic expression behavior of cytokines in diabetic patients upon inflammatory stimulation. *NY Acad Sci.* **1037**:74-78.

Goldstein S., Meyerstein D. & Czapski G. (1993). The Fenton reagents. *Free Rad Biol Med.* **15**: 435 - 445.

Goodman L.S. & Gilman A (1985). The Pharmacological Basis of Therapeutics. *Macmillan.* **75**: 829.

Grassi J. & Pradelles P. (1991). Compouds labelled by the acetylcholinesterase of *Electrophorus Electricus*. Its preparation process and its use as tracer of marquer in enzyme-immunological determinations. United States Patent, N°1,047,330.

Guenzen A., Djellouli F. & Krouf D. (2013). Favorable effects of *Portulaca oleracea* lyophilized aqueous extract on hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Fundam Clin Pharmacol.* **27**: 128-140.

Guignard J.L., Cosson L. & Henry M. (1985). Abrégé de phytochimie. Edition Masson: 175-203.

Gül M., Atalay M. & Hänninen O. (2003). Endurance training and glutathione-dependent antioxidant defense mechanism in heart of the diabetic rats. *J Sport Sci Med.* **2**: 52-61.

Gülçin I., Alici H.A. & Cesur M. (2005). Determination of *in vitro* antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chem Pharm Bull.* **53**: 281-285.

Gumsulu S., Sarikcioglu S.A., Sahin E., Yargicoglu P. & Agar A. (2002). Influence of different stress models on the antioxidant status and lipid peroxidation in rats erythrocytes. *Free Radic Res.* **36**: 1277-1282.

Gupta D., Raju J., Prakash J.R. & Baquer N.Z. (1999). Change in the lipid profile, lipogenic and related enzymes in the livers of experimental diabetic rats: Effect of insulin and vanadate. *Diabet Res Clin Pract.* **46**: 1-7.

Gupta R.K., Kesari A.N., Diwakar S., Tyagi A., Tandon V., Chandra R. & Watal G. (2008). *In vivo* evaluation of anti-oxidant and anti-lipidemic potential of *Annona squamosa* aqueous extract in type 2 diabetic models. *J Ethnopharmacol.* **118**: 21-25.

Gupta R.K., Kesari A.N., Murthy P.S., Chandra R., Tandon V. & Watal G. (2005). Hypoglycemic and antidiabetic effect of ethanolic extract of leaves of *Annona squamosa* L. in experimental animals. *J Ethnopharmacol.* **99**: 75-81.

Gupta S., Kataria M., Gupta P.K., Murganandan R.C. & Yashroy R.C. (2004). Protective role of extracts of neem seeds in diabetes caused by streptozotocin in rats. *J Ethnopharmacol.* **90**: 185-189.

3

Haffner S.M. (1998). Epidemiology of type 2 diabetes: risk factors. *Diabetes Care.* **21**: 3.

Hagerman A.E., Muller-Harvey I. & Makkar H.P.S. (2000). Quantification of tannins in tree foliage. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Vienna 26 P.

Halimi S. (2000). Dyslipidémies des diabètes et des états d'insulino-résistance. *Néphrologie.* **21**: 345-346.

Hammouda Y. & Amers M.S. (1966). Antidiabetic effect of Tecomine and Tecostanine. *J Phar Sci.* **55**: 1452-54.

Hannan J.M., Ali L., Khaleque J., Akhter M., Flatt PR. & Abdel-Wahab Y.H. (2006). Aqueous extracts of husks of *Plantago ovata* reduce hyperglycaemia in type 1 and type 2 diabetes by inhibition of intestinal glucose absorption. *Br J Nutr.* **96**: 131-137.

Hannan J.M., Ali L., Rokeya B., Khaleque J., Akhter M., Flatt PR. & Abdel-Wahab Y.H. (2007). Soluble dietary fibre fraction of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed improves glucose homeostasis in animal models of type 1 and type 2 diabetes by delaying carbohydrate digestion and absorption, and enhancing insulin action. *Br J Nutr.* **97**: 514-521.

Harborne J.B. Williams C.A. (2000). Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry.* **55**: 481-504.

Hartmann T. (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry.* **68**: 2831-2846.

Haskins K., Bradley B., Powers K., Fadok V., Flores S., Ling X., Pugazhenthi S., Reusch J. & Kench J. (2003). Oxidative stress in type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci.* **1005**: 43-54.

Hayashi K., Kojima R. & Ito M. (2006). Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice. *Biol Pharmaceut Bull.* **29**: 1110-1119.

Hedrick C.C., Thorpe S.R., Fu M.X., Harper C.M., Yoo J., Kim S.M., Wong H. & Peters A.L. (2000). Glycation impairs high-density lipoprotein function. *Diabetologia.* **43**: 312-320.

Heinig M. & Johnson R.J (2006). Role of uric acid in hypertension, renal disease, and metabolic syndrome. *Clin J Med.* **73**: 1059–64.

Herrera-Arellano A., Aguilar-Santamaria L., Garcia-Hernandez B., Nicasio-Torres P. & Tortoriello J. (2004). Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. *Phytomedicine.* **11**: 561-566.

Hillaire S & Valla D. (1996). Effets des cytokines sur le foie au cours de la réaction inflammatoire. *Hépato-Gastro.* **3**: 377-383.

Hong J.H., Kim M.J., Park M.R., Kwag O.G., Lee I.S., Byun B.H., Lee S.C., Lee K.B. & Rhee S.J. (2004). Effect of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin Chim Acta.* **340**: 107-115.

Hotamisligil G.S., Shargill N.S. & Spiegelman B.M. (1993). Adipose expression of tumor necrosis factoralpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Sci.* **259**: 87-91.

Huang S. & Czech M.P. (2007). The GLUT4 Glucose Transporter. *Cell Metab.* **5**: 237-252.

Hwang H.J., Kim S.W., Lim J.M., Joo J.H., Kim H.O., Kim H.M. & Yun J.W. (2005). Hypoglycemic effect of crude exopolysaccharides produced by a medicinal mushroom *Phellinus baumii* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci.* **76**: 3069–3080.

I

Idelman S. & Verdetti J. (2000). Endocrinologie et communications cellulaires. Collection Grenoble Sciences.

Imaeda A., Kaneko T., Aoki T., Kondo Y. & Nagase H. (2002). DNA damage and the effect of antioxidants in streptozotocin-treated mice. *Food Chem Toxicol.* **40**: 979-987.

Inoguchi T., Li P., Umeda F., Yu HY., Kakimoto M. & Imamura M. (2000). High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependant activation of NADPH oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes*. **49**: 1939-1945.

International Diabetes Federation. (2017). Diabetes Atlas, eighth edition.

Ishiki M. & Klip A. (2005). Recent developments in the regulation of glucose transporter-4 traffic: new signals, locations, and partners. *Endocrinol.* **146**:5071-5078.

Iwasaki T., Takahashi S., Takahashi M., Zenimaru Y., Kujiraoka T., Ishihara M., Nagano M., Suzuki J., Miyamori I., Naiki H., Sakai J., Fujino T., Miller N.E., Yamamoto T.T. & Hattori H. (2005). Deficiency of the very low-density lipoprotein (VLDL) receptors in streptozotocin-induced diabetic rats: insulin dependency of the VLDL receptor. *Endocrinol.* **146**: 3286-3294.

J

Jain S.K. & Lim G. (2000). Lipoic acid decreases lipid peroxidation and protein glycation and increases $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ and Ca^{++} ATPase activities in high glucose-treated human erythrocytes. *Free Radic Biol Med.* **29**: 1122-1128.

Jain S.K. McVie R. & Smith T. (2000). Vitamin E supplementation restores glutathione and malondialdehyde to normal concentrations in erythrocyte of type-1 diabetic children. *DiabetesCare.* **23**: 1389-1394.

James R.W. (2002). Particularités de la dyslipidémie du diabète. *Med Hyg.* **60**: 545-552.

Jarald E., Joshi S.B. & Jain D.C. (2008). Diabetes and herbal medicine. *Int J Pharmacol Ther.* **7**: 97-106.

Jasmine R. & Daisy P. (2007). Hypoglycemic and hypolipidemic activity of *Eugenia jambolana* in streptozotocin-diabetic rats. *Asian J Biochem.* **2**: 269-273.

Jayawardena M.H.S., Alwis N.M.W., HettigodaV. & Fernando D.J.S. (2005). A double blind randomised placebo controlled cross over study of a herbal preparation containing *Salacia reticulata* in the treatment of type 2 diabetes. *J Ethnopharmacol.* **96**: 215-218.

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.* **582:** 162-167.

Jonas A. (1991). Lecithin:cholesterol acyltransferase in the metabolism of high-density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta.* **1084:** 205-220.

Joseph, J.M., Sowndhararajan K., Loganayaki N. & Manian S. (2010). *In vitro* antioxidant potential of different solvent extracts of *Naregamia alata*. *Am J Pharm.* **29:** 1463-1467.

Jothivel N., Ponnusmy S.P., Appachi M., Singaravel S., Rasilingam D., Deivasigamani K. & Thangavel S. (2007). Anti-diabetic activity of methanol leaf extract of *Costus pictus* D. Don in alloxan-induced diabetic rats. *J Health Sci.* **53:**655-663.

Julies A. & Christin M. (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects and safety. *Ann Rev Nutr.* **22:** 19-44.

Jung C.H., Seog H.M., Choi I.W., Choi H.D. & Cho H.Y. (2005). Effects of wild ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) leaves on lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **98:** 245-250.

Junod A., Lambert A.E., Stauffacher. & Renold A.E. (1969). Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest.* **48:** 21219-2139.

K

Kaeidi A., Esmaeili-Mahani S., Sheibani V., Abbasnejad M., Rasoulian B., Hajializadeh Z. & Afrazi S.(2011). Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract attenuates early diabetic neuropathic pain through prevention of high glucose-induced apoptosis: *in vitro* and *in vivo* studies. *J Ethnopharmacol.* **136:** 188-196.

Kaithwas G., Mukherjee A., Chaurasia A.K. & Majumdar D.K. (2011). Anti inflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Linum usitatissimum* L. (flaxseed/linseed) fixed oil. *Indian J Exp Biol.* **49:** 932-938.

Kakkar R., Mantha S.V., Radhi J., Prasad K. & Kalra J. (1998). Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *J Clin Sci.* **94:** 623-32.

Kaleem M., Asif M., Ahmed Q.U. & Bano B. (2006). Antidiabetic and antioxidant activity of *Annona squamosa* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Sing Med J.* **47**: 670-675.

Kambouche N., Merah B., Derdour A., Bellahouel S., Benziane M.M., Younos C., Firkioui M., Bedouhene S. & Soulmani R. (2009). Etude de l'effet antidiabétique des saponines extraites d'*Anabasis articulata*, plante utilisée traditionnellement en Algérie. *Phytother.* **7**: 197-201.

Kammoun H., Hainault I., Chabanon H., Luquet S., Magnan C., Ferré P. & Foufelle F. (2009). L'inhibition hépatique de la voie du stress du réticulum endoplasmique améliore la sensibilité à l'insuline des souris ob/ob. *Diabetes Metab.* **35**: 12-13.

Kamtchouing P., Kahpui S.M., Dzeufiet P.D., Tedong L., Asongalem E.A. & Dimo T. (2005). Anti-diabetic activity of methanol/methylene chloride stem bark extracts of *Terminalia superba* and *Canarium schweinfurthii* on streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **104**: 306-309.

Kang D.G., Yun C.K. & Lee H.S. (2003). Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicines used in Korea. *J Ethnopharmacol.* **87**: 231-236.

Kang K., Chae S., Koh Y.S., Kim J.S., Lee J.H., You H.J. & Hyun J.W. (2005). Protective effect of *Puerariae radix* on oxidative stress induced by hydrogen peroxide and streptozotocin. *BiolPharm Bull.* **28**: 1154-1160.

Karagözler A., Erdag C.S. & Çalmaz Emek Y. (2008). Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chem.* **111**: 400-407.

Karthik D., Vijayakumar R., Pazhanichamy K. & Ravikumar S. (2014). *Asian J Pharm Clin Res.* A proteomics approach to identify the differential protein level in cardiac muscle of diabetic rat. **61**: 1-9.

Kashikar V.S. & Kotkar T. (2011). Indigenous remedies for diabetes mellitus. *Int J Pharm Pharm Sci.* **3**: 22-29.

Kaskoos R.A. (2014). Pharmacognostic Specifications of Leaves of *Olea europaea* Collected from Iraq. *Am J Phytomed Clin Ther.* **2**: 153-160.

Kasote D.M. (2013). Flaxseed phenolics as natural antioxidants. *Int Food Res Journal.* **20**: 27-34.

Kaur G., Kamboj P. & Kalia A.N. (2011). Antidiabetic and anti-hypercholesterolemic effects of aerial parts of *Sida cordifolia* Linn. on streptozotocin-induced diabetic rats. *Indian J Nat Prod Resour.* **2:** 428-434.

Kaur J., Singh P. & Sowers J.R. (2002). Diabetes and cardiovascular diseases. *Am J Ther.* **9:** 510-5155.

Kautzky-Willer A., Harreiter J. & Pacini G. (2016). Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of type 2 diabetes mellitus. *Endocr Rev.* **37:** 278–316.

Kawakami M., Hirayama A., Tsuchiya K., Ohgawara H., Nakamura M. & Umezawa K. (2010). Promotion of β -cell differentiation by the alkaloid conophylline in porcine pancreatic endocrine cells. *Biomed Pharmacother.* **64:** 226-231.

Kazemian M., Abad M., Haeri M.R., Ebrahimi M. & Heidari R. (2015). Anti-diabetic effect of *Capparis spinosa* L. root extract in diabetic rats. *Avicenna J Phytomed.* **5:** 325–332.

Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z. & Soulimani R. (2011). Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytother.* **9:** 274-282.

Kelly J.J. & Tsai A.C. (1978). Effect of pectin, gum Arabic and agar on cholesterol absorption, synthesis and turnover in rats. *J Nutr.* **108:** 630 - 639.

Kennedy A.L. & Lyons T.J. (1997). Glycation, oxidation and lipoxidation in the development of diabetic complications. *Metabolism.* **46:** 14-21.

Khadri A., Serralheiro M.L., Nogueira J.M., Neffati M., Smiti S. & Araujo M.E. (2008). Antioxidant and antiacetylcholinesterases activities of essential oils from *Cymbogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC mass spectrometry and ^{13}C NMR. *Food Chem.* **109:** 630-637.

Khady B., Emmanuel T., Jacqueline D., Ndiaga C. & Philippe T. (2009). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol Agron Soc Environ.* **14:** 131-139.

Khanna K., Rizvi F. & Chander R. (2002). Lipid lowering activity of *Phyllanthus niruri* in hyperlipidemic rats. *J Ethnopharmacol.* **82:** 19-22.

Khitri W., Lachgueur N., Tasfaout A., Lardjam A. & Khalfa A. (2016). Plantes antithiasiques utilisées en medecine traditionnelle dans la ville d'Oran, Algérie. *Ethnoecolog J.* **9**.

Kim H.K., Kim M.J., Cho H.Y., Kim E.K. & Shin D.H. (2006). Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem Func.* **24**: 195-199.

Kojima I. & Umezawa K. (2006). Conophylline: A novel differentiation inducer for pancreatic β cells. *Int J Biochem Cell Biol.* **38**: 923-930.

Kolb H. & Kolb-Bachofen V. (1992). Nitric oxide: a pathogenetic factor in autoimmunity. *Immunol.* **13**: 157-160.

Korycka-Dahl M. & Richardson T. (1978). Photogeneration of superoxide anion in serum of bovine milk and in model systems containing riboflavin and amino acids. *J Dairy Sci.* **61**: 400-407.

Kristiansen O.P. & Mandrup-Poulsen T. (2005). Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or the indifferent?. *Diabetes.* **54**: 114- 124.

Kritchevsky D. (1978). Fiber, lipids and atherosclerosis. *Am J Clinical Nutr.* **31**: 65 - 74.

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 streptozotocininduced diabetes. *Proc Nutri Soc.* **67**: 192.

Kumar G. & Murugesan A.G. (2008). Hypolipidaemic activity of *Helicteres isora* L. bark extracts in streptozotocin induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **116**: 161-166.

Kumar R., Arora V., Ram V., Bhandari A. & Vyas P. (2015). Hypoglycemic and hypolipidemic effect of Allopolyherbal formulations in streptozotocin induced diabetes mellitus in rats. *Int J Diabetes Mell.* **3**: 45-50.

Kumar R.S. & Hemalatha S. (2011). *In vitro* antioxidant activity of alcoholic leaf extract and subfractions of *Alangium lamarckiiThwaites*. *J Chem Pharm Res.* **3**: 259-267.

Kuresh A., Youdim A., Jeremy P.E., Spencer., Hangen S. & Rice-Evans C. (2002). Dietary flavonoids as potential neuroprotectants. *Biol Chem.* **383**: 503-519.

Kusznierewicz B., Bartoszek A., Wolska L., Drzewiecki J., Gorinstein S. & Namiesnik J. (2008). Partial characterization of white cabbages from different regions by glucosinolates, bioactive compounds, total antioxidant activities and proteins. *Food Sci Tech.* **41:** 1-9.

L

Laakso M., Lehto S., Penttila I. & Pyorala K. (1993). Lipids and lipoproteins predicting coronary heart disease mortality and morbidity in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation.* **88:** 1421-1430.

Lacquemant C., Francis V., Frederic L. & Philippe F. (2003). Cytokines d'origine adipocytaire, obésité et développement du diabète. *Med Sci.* **19:** 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:** 199-211.

Lamba S.S., Buch K.Y., Lewis H. & Lamba H.J. (2000). Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. *Studies in Natural Products Chemistry.* **21:** 457- 496.

Latha M., Pari L., Sitasawad S. & Bhone R. (2004). *Scoparia dulcis*, a traditional antidiabetic plant, protects against streptozotocin induced oxidative stress and apoptosis *in vitro* and *in vivo*. *J Biochem Mol Toxicol.* **18:** 261-272.

Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. & Lee C.Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chem.* **51:** 7292-7295.

Lemhadri A., Hajji L., Michel J.B. & Eddouks M. (2006). Cholesterol and triglycerides lowering activities of caraway fruits in normal and streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **19:** 321-326.

Lenzen S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* **51:** 216–226.

Leszek S. (2014). Role of immune system in type 1 diabetes mellitus pathogenesis. *Int Immuno Pharmacol.* **22:** 182–191.

Leverve X. (2009). Stress oxydant et antioxydants. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* **44:** 219-224.

Levy U., Zaltzber H., Ben-Amotz A., Kanter Y. & Aviram M. (1999). β -Carotene affects antioxidant status in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Pathophysiol.* **6:** 157-161.

Lewis G.F., Naples M., Uffelman K., Leung N., Szeto L. & Adeli K. (2004). Intestinal lipoprotein production is stimulated by an acute elevation of plasma free fatty acids in the fasting state: studies in insulin-resistant and insulin-sensitized Syrian golden hamsters. *J Endocrinol.* **145:** 5006-5012.

Li W.L., Zheng H.C., Bukuru J. & De Kimpe N. (2004). Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol.* **92:** 1-21.

Li Y., Wen S., Kota B.P., Peng G., Li G.Q., Yamahara J. & Roufogalis B.D. (2005). *Punica granatum* flower extract, a potent alphaglucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zuckerdiabetic fatty rats. *J Ethnopharmacol.* **99:** 239-244.

Limaye P.V., Raghuram N. & Sivakami S. (2003). Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem.* **243:** 147-152.

Loven D., Schedl H., Wilson H., Daabees T.T., Stegink L.D., Diekus M. & Oberley L. (1986). Effect of insulin and oral glutathione on glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin induced diabetes. *Diabetes.* **35:** 503-507.

Lowry O.H., Rosebrough N. J., Farr A.L. & Randall R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem.* **193:** 265-75.

Lü H., Chen J., Li W.L., Ren B.R., Wu J.L. & Zhang H.Q. (2009). Hypoglycemic effect of the total flavonoid fraction from *Folium Eriobotryae*. *Phytomedicine.* **16:** 967-971.

Ludvik B., Waldhausl W., Prager R., Kautzky-Willer A. & Pacini G. (2003). Mode of action of *Ipomoea batatas* (Caiapo) in type 2 diabetic patients. *Metabolism.* **52:** 875-880.

Luke U.O., Ebong P.E., Eyong E.U., Robert A.E., Ufot S.U. & Egbung G.E. (2013). Effect of ethanolic root and twig extracts of vernonia amygdalina (ETIDOT) on liver function parameters of streptozotocin induced hyperglycaemic and normal wistar rats. *Eur Sci J.* **9:** 199-211.

Luo Q., Cai Y., Yan J., Sun M. & Corke H. (2004). Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sci.* **76:** 137-149.

M

Madero M, Sarnak MJ, Wang X, Greene T., Beck GJ., Kusek JW., Collins AJ., Levey AS. & Menon V. (2009). Uric acid and long-term outcomes in CKD. *Am J Kidney Dis.* **53:** 796-803.

Maier C.M. & Chan P.H. (2002). Role of superoxide dismutase in oxidative damage and neurodegenerative disorders. *Neuro Sci.* **8:** 323-334.

Makni M., Fetoui H., Gargouri N.K., Garoui E.M., Jaber H., Makni J., Boudawara T. & Zeghal N. (2008). Hypolipidemic and hepatoprotective effects of flax and pumpkin seed mixture rich in x-3 and x-6 fatty acids in hypercholesterolemic rats. *Food Chem Toxicol.* **46:** 3714–3720.

Marles R.J. & Farnsworth N.R. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine.* **2:** 13-189.

Mauer S.M., STeffes M.W., Ellis E.N., Sutherland D.E., Brown D.M. & Goetz F.C. (1984). Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J Clin Invest.* **74:** 1143-1155.

Mazunder U.K., Gupta M. & Rajeshwar Y. (2005). Antihyperglycemic effect and antioxidant potential of *phyllanthus niruri* (euphorbiaceae) in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur Bull Drug Res.* **13:** 13 - 23.

McCarty M.F. (2002). Insulin's stimulation of endothelial superoxide generation may reflect up-regulation of isoprenyl transferase activity that promotes rac translocation. *Med Hypotheses.* **58:** 472-475.

McDonald S., Prenzler P. & Robards K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chem.* **73:**73-84.

McLennan S.V., Heffernan S., Wright L., Rae C., Fisher E., Yue D.K. & Turtle J.R. (1991). Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. *Diabetes.* **40:** 344-348.

Megalli S., Davies N.M. & Roufogalis B.D. (2006). Anti-hyperlipidemic and hypoglycemic mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *J Ethnopharmacol.* **137:** 643-651.

Meral, I., Yener Z., Kahraman T. & Mert N. (2001). Effect of Nigella sativa on glucose concentration, lipid peroxidation, antioxidant defence system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* **48:** 593-599.

Meyer C., Stumvoll M., Nadkarni V., Dostou J., Mitrakou A. & Gerich J. (1998). Abnormal renal and hepatic glucose metabolism in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest.* **102:** 619-624.

Michelle M. & Sapana S. (2017). A plant-based diet for the prevention and treatment of type 2 diabetes. *J Geriatr Cardiol.* **14:** 342–354.

Miettinen T.A., Gylling H., Tuominen J., Simonen P. & Koivisto V. (2004). Low synthesis and high absorption of cholesterol characterize type1 diabetes. *Diabetes Care.* **27:** 53-56.

Milburn J.L., Ohneda M., Johnson J.H. & Unger R.H. (1993). Beta-cell GLUT-2 loss and non-insulin-dependent diabetes mellitus: current status of the hypothesis. *Diabetes Metab Rev.* **9:** 231-236.

Millam S., Obert B. & Pret'OVÁ A. (2005). Plant cell and biotechnology studies in *Linum Usitatissimum*. *Plant Cell Tiss Org.* **82:** 93-103

Mishra N. & Singh N. (2013). Blood viscosity, lipid profile, and lipid peroxidation in type 1 diabetic patients with good and poor glycemic control. *N A M J Med Sci.* **5:** 562-566.

Mittelman S.D. & Bergman R.N. (2000). Inhibition of lipolysis causes suppression of endogenous glucose production independent of changes in insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **279:** 630-637.

Molena-Fernandes C.A., Schimidt G., Neto-Oliveira E.R., Berzani-Amado C.A. & Cuman R.K.N. (2010). Evaluation of the effects of supplementation with brown and golden flax (*Linum usitatissimum L.*) flour on lipid profile and weight gain in wistar rats. *Rev Bras Plantas Med.* **12:** 201–207.

Moncada S., Palmer R.M.J. & Higgs E.A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* **43:** 109-142.

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.* **403:** 259-269.

Mosnier-Pudar H. (2000). Analogues de l'insuline. *Med Ther Endocrinol Repr.* **2:** 540-545.

Mousavi L., Salleh R.M., Murugaiyah V. & Asmawi M.Z. (2016). Hypoglycemic and anti-hyperglycemic study of *Ocimum tenuiflorum* L. leaves extract in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Biomed.* **6:** 1029-1036.

Mozaffararian D., Ascherio A., Hu F.B., Stampfer M.J., Willett W.C., Siscovick D.S. & Rimm E.B. (2005). Interplay between different polyunsaturated fatty acids and risk of coronary heart disease in men. *Circulation.* **18:**157-164.

Mukherjee G. & Dilorenzo T.P. (2010). The immunotherapeutic potential of dendritic cells in type 1 diabetes. *Clin Exper Immunol.* **161:** 197-207.

Mukherjee P.K., Maiti K., Mukherjee K. & Houghton P.J. (2006). Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *J of Ethnopharmacol.* **106:** 1-28.

Murakami T., Matsuda H., Inadzuki M., Hirano K. & Yoshikawa M. (1999). Hypoglycemic saponins having a unique substituent, from the roots of *Beta vulgaris* L. *Chem Pharm Bull.* **47:** 1717-1724.

Murata M., Takahashi A., Saito I. & Kawanishi S. (1999). Site specific DNA methylation and apoptosis: Induction by diabetogenic streptozotocin. *Biochem Pharmacol.* **57:** 881-887.

Murat A., Semir O., Mehmt U., Guy V. & Belma T. (2004). Effects of selenium on altered mechanical and electrical cardiac activities of diabetic rat. *Arch Biochem Biophys.* **426:** 84-86.

Mythili M.D., Vyas R., Akila G. & Gunasekaran S. (2004). Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets. *Micr Res Tech.* **63:** 274-28.

N

Nagappa A.N., Thakurdesai PA., Venkat Rao N. & Singh J. (2003). Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. *J Ethnopharmacol.* **88:** 45-50.

Nahla S., Elshenaw Y. & Ismail M.A. (2006). Hypoglycemic effect of cleome droserifolia ahanolic leaf extract in experimental diabetes, and on non enzymatic antioxidant, glycogen,thyroid hormone and insulin levels. *Diabetol Croat.* **35-41.**

Nakagawa K., Kishida H., Arai N., Nishiyami T. & Mae T. (2004). Licorice flavonoids suppress abdominal fat accumulation and increase in blood glucose level in obese diabetic mice. *Biol Pharm Bull.* **27:** 1775-1778.

Nammi S., Boini M.K., Lodagala S. & Behara R.B.S. (2003). The juice of fresh leaves of *Catharanthus roseus* Linn. reduces blood glucose in normal and alloxan diabetic rabbits. *BMC Compl Altern Med.* **3:**1-4.

Narendhirakannan R.T., Subramanian S. & Kandaswamy M. (2006). Biochemical evaluation of antidiabetogenic properties of some commonly used Indian plants on streptozotocin-induced diabetes in experimental rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **33:** 1150-1157.

National Cholesterol Education Program Expert Panel. (1994). *Circulation.* **89:** 1329.

Naylor C.D., Sermer M., Chen E., & Farine D. (1997). Selective screening for gestational diabetes mellitus. *N Engl J Med.* **337:** 1591-1596.
New York, 1490 – 1510.

N'guessan K., Kouassi K.É. & Kouadio K. (2009). Ethnobotanical Study of Plants Used to Treat Diabetes, in Traditional Medicine, by Abbey and Krobou People of Agboville (Côte-d'Ivoire). *Am J Sci Res.* **4:** 45-58.

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. *JLipid Res.* **32:** 1741-1753.

Nivoit P., Wiernsperger N., Moulin P., Lagarde M. & Renaudin C. (2003). Effect of glycated LDL on microvascular tone in mice: a comparative study with LDL modified in vitro or isolated from diabetic patients. *Diabetologia.* **46:** 1550-1558.

Nmila R., Gross R., Rchid H., Roye M., Manteghetti M., Petit P., Tijane M., Ribes G. & Sauvaire Y. (2000). Insulinotropic effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *Planta Med.* **66:** 418-423.

Nolin F. (2009). Hétérogénéité et spécifité de la lignification chez le lin (*Linum usitatissimum L*): Etudes microscopiques et biochimiques de la polymérisation des lignines. Thèse de doctorat. Lille 1.

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 carlineae* on Streptozotocin-Induced DiabeticRats. *Biochem Res Int.* **5**: 10-1155.

Notkins A.L. & Lernmark A. (2001). Autoimmune type 1 diabetes: resolved and unresolved issues. *J Clin Invest.* **108**: 1247-1252.

Nourooz-Zadeh J., Tajaddini-Sarmadi J., McCarthy S., Betteridge D.J. & Wolff S.P. (1995). Elevated levels of authentic plasma hydroperoxides in NIDDM. *Diabetes.* **44**: 1054-1058.

O

Ohkawa H., Ohishi N. & Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* **95**: 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**: 1081-1087.

Ojewole J.A. (2005). Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiabetic effects of *Bryophyllum pinnatum* (Crassulaceae) leaf aqueous extract. *J Ethnopharmacol.* **99**: 13-19.

Okoli C.O., Ibiam A.F., Ezike A.C., Akah P.A. & Okoye T.C. (2010). Evaluation of antidiabetic potentials of *Phyllanthus niruri* in alloxan diabetic rats. *Afr J Biotech.* **9**: 248-259.

Okutan H., Ozcelik N., Yilmaz H.R. & Uz E. (2005). Effects of phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. *Clin Biochem.* **38**: 191-196.

Oliveira A.C., Endringer D.C., Amorim L.A., Das Graças L., Brandao M. & Coelho M.M. (2005). Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. *J Ethnopharmacol.* **102**: 465-469.

Oliver J. (2007). Uric acid and the development of hypertension. *Kidney Int.* **71**: 193-4.

Organisation mondiale de santé (OMS). (2015). Maladies cardiovasculaires. Aide-mémoire. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/fr/>.

Organisation mondiale de la santé (OMS). (2016). Obésité et surpoids. Aide-mémoire n°311. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/fr/>.

Orskov H., Olsen T.S., wielsen K., Rafael O.J. & Lundbeak K.K. (1965). Kidney lesions in rats with severe long term alloxane. *Diabetologia*. **1**: 172-179.

Ozkaya Y.G., Agar A., Yargicoglu P., Hacioglu G., Bilmen-Sarikcioglu S., Ozen I. & Aliciguzel Y. (2002). The effect of exercise on brain antioxidant status of diabetic rats. *Diabetes Metab.* **28**: 377-384.

Ozturk M., Aydogmus-ozturk F., Duru M.E. & Topcu G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (Rheum ribes): an edible medicinal plant. *Food Chem.* **106**: 1264-1270.

P

Papin J. (2009). Bases moléculaires des défauts sécrétoirs des cellules β -pancréatiques lors de la glucotoxicité . Thèse de Doctorat. Université bordeaux 1.

Pari L. & Latha M. (2004). Effect of *scoparia dulcis* (Sweet Broomweed) plant extract on plasma,antioxidants in streptozotocin-induced experimental diabetes in male albino Wistar rats. *Pharmazie*. **59**: 557-560.

Pari L. & Satheesh M.A. (2004). Antidiabetic effect of *Boerhavia diffusa*: Effect on serum and tissue lipids in experimental diabetes. *J Med Food*. **7**: 472-476.

Pari L. & Venkateswaran S. (2004). Protective role of *Phaseolus vulgaris* on changes in the fatty acid composition in experimental diabetes. *J Med Food*. **7**: 204-209.

Pari L. & Latha M. (2005). Antidiabetic effect of *Scoparia dulcis*: effect on lipid peroxidation in streptozotocin diabetes. *General Physiol Biophys*. **24**: 13-26.

Paris M. & Hurabielle M. (1981). Abrégé de Matière médicale (Pharmacognosie). Tome1. Ed. Masson, Paris. pp 256-266.

Patel R., Shervington A., Pariente J.A., Martinez-Burgos M.A., Salido G.M., Adeghate E. & Singh J. (2006). Mechanism of exocrine pancreatic insufficiency in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus. *Ann NY Acad Sci*. **1084**: 71-88.

Patrick-Iwuanyawu K.C., Wegwu M.O. & Ayalogu E.O. (2007). Prevention of CCl₄-induced liver damage by ginger, garlic and vitmin E. *Pak J Biol Sci.* 617-621.

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 Ca²⁺-ATPase activity in heart and liver of streptozotocin-diabetic rats: comparison with vitamin E. *Biochem Biophys Acta.* **1588:** 71-78.

Pepato M.T., Mori D.M., Baviera J.B., Harami RC., Vendramini I.L. & Brunetti I.L. (2005). Fruit of the jambolan tree (*Eugenia jambolana* Lam.) and experimental diabetes. *J Ethnopharmacol.* **96:** 43-48.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., & Defraigne J. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutr Clin Metab.* **16:**233-239.

Popovici C., Saykova I. & Tylkowski B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel.* **4:** 131-887.

Porcher C. (2014). Physiologie des régulations. <http://biologie.univ-mrs.fr>.

Povoski S.P., McCullough P.J., Zhou W. & Bell R.H. (1993). Induction of diabetes mellitus in Syrian Golden Hamster using stored equilibrium solutions of streptozotocin. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* **43:** 310-314.

Prakasam A., Sethupathy S. & Pugalendi K.V. (2004). Influence of *Casearia esculenta* root extract on protein metabolism and marker enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pol J Pharmacol.* **56:** 587-593.

Prakash D., Upadhyay G., Brahma N. & Single H.B. (2007). Single antioxidant and free radicals scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of Soybean (glycine max). *Food Chem.* **104:**783-790.

Prashant S. Hegde N.S. Rajasekaran T.S. & Chandra T. (2005). Effects of the antioxidant properties of millet species on oxidative stress and glycemic status in alloxan-induced rats. *Nutr Res.* **25:** 1109–1120.

Pratico D. (2005). Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis.* **181:** 215-224.

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:** 221-230.

Protus C.J. & Ofogba L. (2012). Evaluation of the Hypoglycemic Activity and Safety of *Momordica charantia* (Cucurbitaceae). *Afr J Pharm Sci Pharm.* **3:** 2152-7849.

Pushparaj P., Tan C.H. & Tan B.K.H. (2000). Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **72:** 69-76.

Pushparaj P.N., Low H.K., Manikandan J., Tan B.K. & Tan C.H. (2007). Anti-diabetic effects of *Cichorium intybus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **111:** 430-434.

Q

Quine S.D. & Raghu P.S. (2005). Effects of epicatechin, a flavonoid on lipid peroxidation and antioxidants in streptozotocin induced diabetic liver, kidney and heart. *Pharm Rep.* **57:** 610-615.

Quintanilha A.T., Packer L., Szyszlo J.M., Racanelly T.L. & Davies K.J. (1982). Membrane effects of vitamine E deficiency bioenergetic and surface charge density studies of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann NY Acad Sci.* **393:** 32-47.

Qureshi M.N., Kuchekar S.B., Logade N.A. & Haleem M.A. (2010). *In vitro* Antioxidant and *In vivo* Hepatoprotective activity of *Leuca ciliata* leaves. *Rec Nat Prod.* **4:** 124-130.

R

Rai P.K., Rai N.K. & Watal G. (2007). Role of LIBS in elemental analysis of *Psidium guajava* responsible for glycemic potential. *Inst Sci Technol.* **35:** 507-522.

Rajagopa I.K. & Sasikala K. (2008). Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of *Nymphaea stellata* in alloxan-induced diabetic rats. *Singapore Med J.* **49:** 137 - 142.

Rajasekaran S., Sivagnanam K. & Subramaniam S. (2005). Antioxidant effect of *Aloe vera* gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep.* **57:** 90-96.

Rajasekaran S., Ravi K., Sivagnanam K. & Subramanian S. (2006). Beneficial effects of *aloevera* leaf gel extract on lipid profile status in rats with streptozotocin diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **33:** 232-237.

Rajnerayana K., Reddy M., Charluvadi M.R. & Krishna D.R. (2001). Bioflavonoids: Classification, pharmacological, biochemical effect and therapeutic potential. *Indian Pharmacol.* **33:** 2-16.

Ramana K.V., Chandra D., Srivastava S., Bhatnagar A. & Srivastava S.K. (2003). Nitric oxide regulates the polyol pathway of glucose metabolism in vascular smooth muscle cells. *FASEB J.* **17:** 417-425.

Ramesh R., Petchi S., Parasuraman S. & Vijaya C. (2013). Antidiabetic and antihyperlipidemic effects of an ethanolic extract of the whole plant of *Tridax procumbens* (Linn.) in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Basic Clin Pharm.* **4:** 88–92.

Ravi K., Rajasekaran S. & Subramanian S. (2005). Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Food Chem Toxicol.* **43:** 1433-1439.

Raza H., Ahmed I., John A. & Sharma A.K. (2000). Modulation of xenobiotic metabolism and oxidative stress in chronic streptozotocin induced diabetic rats fed with *Momordica charantia* fruit extract. *J Biochem Mol Toxicol.* **3:** 131-139.

Rees D.A. & Alcolado J.C. (2005). Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med.* **22:** 359-370.

Reichert M. & Rustgi A.K. (2011). Pancreatic ductal cells in development, regeneration, and neoplasia. *J Clin Invest.* **121:** 4572-4578.

Roberfroid M.B. (2008). L'aliment fonctionnel 2^{eme} édition. Edition TEC & DOC. Lavoisier. **1042:** 211-212.

Rodier M. (2001). Définition et classification du diabète. Endocrinologie - CHU – Nîmes. **25:** 91-93.

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.* **82:** 1102-1110.

Ruzaidi A., Amin I., Nawalyah A.G., Hamid M. & Faizul H.A. (2005). The effect of *malaysian cocoa* extract on glucose levels and lipid profiles in diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **98:** 55-60.

S

Saad B., Azaizeh H., Abu-Hijleh G. & Said O. (2006). Safety of traditional Arab herbal medicine. Evidence-Based Complement. *Alternat Med.* **3:** 433-439.

Saha S.k., Haque E., Islam D., Matiar R., Islam R., Parvin A. & Rahman S. (2012). Comparative study between the effect of *Momordica charantia* (wild and hybrid variety) on hypoglycemic and hypolipidemic activity of alloxan induced type 2 diabetic long-evans rats. *Sci Res.* **2:** 131-137.

Saini S. & Sharma S. (2013). Antidiabetic effect of *helianthus annuus* L seeds ethanolic extract in streptozotocin-nicotinamides induced type 2 diabetes mellitus. *Int J Pharm Pharm Sci.* **5:** 382-387.

Sambo M.H. (2005). Etude du traitement traditionnel du diabète par une recette et les écorces de tronc de *Manilkara multinervis* Dub (Sapotaceae). Thèse de Doctorat. Université de Bamako.

Sanchez-Moreno C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Tech Int.* **8:** 121-137.

Sangare M.M., Sina H., Bayala B., Baba-Moussa L.S., Ategbo J.M., Senou M. & Dramane K.L. (2014). Évaluation de la dose efficace de l'extrait aqueux de *Gomphrena celosioides* face à une hépatopathie induite par le tétrachlorure de carbone. *J Ethnopharmacol.* **1-6.**

Sanjay M.J. (2002). Herbal Drugs as Antidiabetics: An Overview. CRIPS. **13:** 9-13.

Santhakumari P., Prakasam A. & Pugalendi K.V. (2003). Modulation of oxidative stress parameters by treatment with *Piper betle* L. leaf in streptozotocin induced diabetic rats. *Ind J Pharmacol.* **35:** 373-378.

Santhakumari P., Prakasam A. & Pugalendi K.V. (2006). Antihyperglycemic activity of *Piper betle* leaf on streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med. Food.* **9:** 108-112.

Santini S.A., Marra G., Giardina B., Cotroneo P., Mordente A., Martorana G.E., Manto A. & Ghirlanda G. (1997). Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. *Diabetes*. **46**: 1853-1858.

Sarkhail P., Rahmanipour S., Fadyevatan S., Mohammadirad A., Dehghan G., Amin G., Shafiee A. & Abdollahi M. (2007). Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: Effects onhepatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Pharmacol Res.* **56**: 261 - 266.

Sathishsekhar D. & Subramanian S. (2005). Beneficial effects of *Momordica charantia* seeds in the treatment of STZ-induced diabetes in experimental rats. *Biol Pharm Bull.* **28**: 978-983.

Sayed M., Rawi I.M., Dawlat M. & Sayed A. (2011). Biochemical changes in experimental diabetes before and after treatment with *mangifera indica* and *psidium guava* extracts. *Int J Pharm Biomed Sci.* **2**: 29-41.

Scheepers A., Joost H.G. & Schürmann A. (2004). The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. *J Parenter Enteral Nutr.* **28**: 364-371.

Scheffer P.G., Bos G., Volwater H.G., Dekker J.M., Heine R.J. & Teerlink T. (2003). Associations of LDL size with *in vitro* oxidizability and plasma levels of *in vivo* oxidized LDL in type 2 diabetic patients. *Diabet Med.* **20**: 563-567.

Sckade, P.A. & Routes J.M. (1996). Hypersensitivity pneumonitis in a patient with hypogammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol.* **98**: 710-712.

Sekar D.S., Sivagnanam K. & Subramanian S. (2005). Antidiabetic activity of *Momordicacharantia* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Pharmazie*. **60**: 383-387.

Shani J., Goldschimied A., Joseph B., Ahronson Z. & Sulman F.G. (1974). Hypoglycemic effect of *Trigonella foenum graecum* and *Lupinus termis* (Leguminosae) and their major alkaloids in alloxaninduced diabetic and normal rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* **210**: 27-37.

Sharma A., Vijayakumar M., Rao C., Unnikrishnan M.K. & Reddy G.D. (2009). Action of *Portulaca oleracea* against Streptozotocin-Induced Oxidative Stress in Experimental Diabetic Rats. *J Complement Integr Med.* **6**: 1553-3840.

Sharma B., Salunke R., Balomajumder C., Daniel S. & Roy P. (2010). Anti-diabetic potential of alkaloid rich fraction from *Capparis decidua* on diabetic mice. *J Ethnopharmacol.* **127**: 457–462.

Sharma S.B., Balomajumder C. & Roy P. (2008). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food Chemical Toxicol.* **46**: 2376-2383.

Sharma S.B., Nasir A., Prabhu K.M. & Murthy P.S. (2006). Antihyperglycemic effect of the fruit-pulp of *Eugenia jambolana* in experimental diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol.* **104**: 367-373.

Sheehan D., Hrapchak B. (1980). Theory and Practice of Histotechnology. 2nd edition. Columbus, OH, Battelle Press. pp 481.

Shen G.X. (2010). Oxidative stress and diabetic cardiovascular disorders: roles of mitochondria and NADPH oxidase. *Can J Physiol Pharmacol.* **88**: 241-248.

Shen Q., Zhang B., Xu R., Wang Y., Ding X. & Li P. (2010). Antioxidant activity *in vitro* of selenium-contained protein from the Se-enriched. *Bifidobacterium animalis* 01. *Anaerobe* **16**:380-386.

Shibib B.A., Khan L.A. & Rahman R. (1993). Hypoglycemic activity of *Coccinia indica* and *Momordica charantia* in diabetic rats: depression of the hepatic gluconeogenic enzymes glucose-6- phosphatase and fructose-1,6- bisphosphatase and elevation of both liver and red-cell shunt enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochem J.* **292**: 267-270.

Shim Y.Y., Gui B., Arnison P.G., Wang Y. & Reaney M.J.T. (2014). Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) bioactive compounds and peptide nomenclature. *Trends Food Sci Technol.* **38**: 5-20.

Shimizu M., Kobayashi Y., Suzuki M., Satsu H. & Miyamoto Y. (2000). Regulation of intestinal glucose transport by tea catechins. *Biofactors.* **13**: 61 - 65.

Shirwaikar A., Rajendran K. & Punitha I.S. (2005). Antidiabetic activity of alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **97**: 369-374.

Shukla A., Bettzieche A., Hirche F., Brandsch C., Stangl G.I. & Eder K. (2006). Dietary fish protein alters blood lipid concentrations and hepatic genes involved in cholesterol homeostasis in the rat model. *Br J Nutr.* **96:** 674-682.

Siddiqui M.R., Taha A., Moorthy K., Hussain M.E., Basir S.F. & Baquer N.Z. (2005). Amelioration of altered antioxidant status and membrane linked functions by vanadium and *Trigonella* in alloxan diabetic rat brains. *J Biosci.* **30:** 483-490.

Sies H. (2010). Polyphenols and health: Update and perspectives. *Arch Biochem Biophys.* **501:** 2-5.

Singab A.N., El-Beshbishi H.A., Yonekawa M., Nomura T. & Fukai T. (2005). Hypoglycemic effect of *Egyptian Morus alba* root bark extract: effect on diabetes and lipid peroxidation of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* **100:** 333-338.

Singh U., Singh S. & Kochhar A. (2012). Therapeutic potential of antidiabetic nutraceuticals. *Phytopharmacology.* **2:** 144-169.

Singleton V.L. & Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. *Am J of Enol Vitic.* **16:** 144-158.

Sivajothy V., Dey A., Jayakar B. & Rajkapoor B. (2008). Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effect of *Phyllanthus rheedii* on streptozotocin induced diabetic rats. *Iran J Pharm Res.* **7:** 53 - 59.

Sivitz W.I. & Yorek M.A. (2010). Mitochondrial Dysfunction in Diabetes: From Molecular Mechanisms to Functional Significance and Therapeutic Opportunities. *Antioxid Redox Signal.* **12:** 537-577.

Slater H.R., Packard C.J., Bicker S. & Shepered. (1980). Effects of cholestyramine on receptor mediated plasma clearance and tissue uptake of human low density lipoprotein in the rabbit. *J Biol Chem.* **255:** 10210 - 10213.

Smith M.J., Simmons K.M. & Cambier J.C. (2017). β cells in type 1 diabetes mellitus and diabetic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* **13:** 712-720.

Soman V. & Felig P. (1977). Glucagon and insulin binding to liver membranes in a partially nephrectomized uremic rat model. *B J Clin Invest.* **60:** 224-32.

Soto C., Recoba R., Barron H., Alvarez C. & Favari L. (2003). Sylimarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* **136:** 205-212.

Soudani N., Sefi M. Ben Amara I. Boudawara T. Zeghal N. (2010). Protective effects of selenium (Se) on chromium (VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicol Environ Saf.* **73:** 671-678.

Soumyanath A. (2006). Traditional Herbal Medicines for Modern Times: Antidiabetic plants. *CRC Press (Taylor Francis Group).* **6:** 19-82.

Spinas G.A. (1999). The dual role of nitric oxide in islet β -cells. *News Phy Sci.* **14:** 49-54.

Srinivasan R., Chandrasekar M.N.J., Nanjan M.J. & Suresh B. (2007). Antioxidant activity of *Caesalpinia digyna* root. *J Ethnopharmacol.* **113:** 284-291.

Stanely P.P.P. & Menon V.P. (1998). Effect of *Syzygium cumini* in plasma antioxidants on alloxan induced diabetes in rats. *J Clin Biochem Nutr.* **25:** 81-86.

Stark G. (2005). Functional consequences of oxidative membrane damage. *J Membrane Biol.* **205:** 1-16.

Steinberg D. (1997). Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem.* **272:** 20963-20966.

Stratil P., Klejdus B. & Kuban V. (2006). Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. *J Agric Food Chem.* **54:** 607–16.

Su J., Fu P., Shen Y.H. & Zhang C. (2008). Simultaneous analysis of flavonoids from *Hypericum japonicum* Thunb, Ex Murray (Hypericaceae) by HPLC-DAD-ESI/MS. *J Pharm Biomed Anal.* **46:** 342-348.

Subah S.M., Bilta Y.Y. & Aburjai TA. (2004). Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytother Res.* **18:** 280-284.

Sudha P., Zinjarde S.S., Bhargava S.Y. & Kumar A.R. (2011). Potent α -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *Complement Alter Med.* **11:** 1-10.

Sugiura M., Ohshima M., Ogawa K. & Yano M. (2006). Chronic administration of Satsuma mandarin fruit (*Citrus unshiu* Marc.) improves oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat liver. *Biol Pharm Bull.* **29:** 588-591.

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:**286-292.

Szeszko J.S., Howson J.M., Cooper J.D., Walker N.M. Twells, R.C. Stevens H.E., Nutland S.L. & Todd. J.A. (2006). Analysis of polymorphisms of the interleukin-18 gene in type 1 diabetes and Hardy-Weinberg equilibrium testing. *Diabetes.* **55:** 559-562.

Szkudelski T., Kandulska k. & Okulicz M. (1998). Alloxan in vivo does not only exert deleterious effects on pancreatic β cells. *Physiol Res.* **47:** 343-346.

T

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 induceddiabetic rats. *Int J phytother Phytopharmacol.* **16:** 623-31.

Tall A.R. (1993). Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res.* **34:** 1255-1274.

Tan B.K., Tan C.H. & Pushparaj P.N. (2005). Anti-diabetic activity of the semi-purified fractions of *Averrhoa bilimbi* in high fat diet fed streptozotocin-induced diabetic rats. *J Life Sci.* **76:** 2827-2839.

Taniguchi H., Kobayashi-Hattori K., Tenmyo C., Kamei T., Uda Y., Sugita-Konishi Y., Oishi Y. & Takita T. (2006). Effect of Japanese radish (*Raphanus sativus*) sprout (Kaiware-dai kon) on carbohydrate and lipid metabolism in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother Res.* **20:** 274-278.

Tastekin D., Atasever M., Adigüzel G., Keles M. & Tastekin A. (2006). Hypoglycaemic effect of Artemisia herba-alba in experimental hyperglycaemic rats. *Bull Vet Inst Pulawy.* **50:** 235-238.

Tavangar K., Murata Y., Patel S., Kalinyak J.E., Pederson M.E., Goers J.F., Hoffman A. & Kraemer F.B. (1992). Developmental regulation of lipoprotein lipase in rats. *Am JPhysiol.* **262:** 330-337.

Tepen B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M. & Polissiou M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*. **90**: 333-340.

Thambiraj J., Paulsamy S. & Sevugaperumal R. (2012). Evaluation of *in vitro* antioxidant activity in the traditional medicinal shrub of western districts of Tamilnadu, India, *Acalypha fruticosa* Forssk. (Euphorbiaceae). *Asian Pac J Trop Biomed*. **2**: 127–30.

Theresa S.I. & Chinyere A.O.U. (2010). The Effect of Ethanolic Extract of *Larpotea ovalifolia* Plants Growing in Calabar on Antioxidants Status of Streptozocin Induced Diabetic. *Global J Pharmacol*. **4**: 1-5.

Timmerman K.L. & Volpi E. (2008). Amino acid metabolism and regulatory effects in aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. **11**: 45-9.

Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G. & Kaur H. (2011). Phytochemical screening and extraction. *Int J Pharm Sci*. **1**: 98-106.

Tjeck O.P., Souza A., Mickala P., Lepengue A.N. & M'Batchi B. (2017). Bio-efficacy of medicinal plants used for the management of diabetes mellitus in Gabon: An ethnopharmacological approach. *J Intercult Ethnopharmacol*. **6**: 206–217.

Tomlinson K.C., Gardiner S.M., Hebden R.A. & Bennett T. (1992). Functional consequences of streptozotocin-induced diabetes mellitus, with particular reference to the cardiovascular system. *Pharm Rev*. **44**: 103-150.

Trevoux R., Arnal-Schnebelen B. & Schnebelen J. (2000). Interactions médicamenteuses Interactions entre les plantes médicinales et la médication traditionnelle. *Actualités reproduction humaine*. **8**: 28-32.

Tunali S. & Yanardag R. (2006). Effect of vanadyl sulfate on the status of lipid parameters and on stomach and spleen tissues of streptozotocin-induced diabetic rats. *PharmacolRes*. **53**: 271-277.

Turkmen N., Velioglu Y. S., Sari F. & Polat G. (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*. **12**: 484-496.

Tweeddale H.J., Kondo M. & Gebicki J.M. (2007). Proteins protect lipid membranes from oxidation by thiyl radicals. *Archives Biochem Biophys.* **459**: 151-158.

U

Ugochukwu N.H., Bagayoko N.D. & Antwi M.E. (2004). The effects of dietary caloric restriction on antioxidant status and lipid peroxidation in mild and severe streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin Chim Acta.* **348**: 121-129.

Ursini F., Maiorino M. & Gregolin C. (1985). The selenoenzyme phospholipid hydroperoxyde glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta.* **839**: 62-70.

V

Vadde R. & Rama J. (2008). Oxidative stress in non insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) patient. *Acta Diabetol.* **45**: 41-46.

Van Kempen A.A., van der Crabben S.N., Ackermans M.T., Endert E., Kok J.H. & Sauerwein H.P. (2006). Stimulation of gluconeogenesis by intravenous lipids in preterm infants: response depends on fatty acid profile. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **290**: 723-730.

Vasudevan D.M. & Sreekumari S. (2007). Text Book of biochemistry for medical students. New Delhi. *Japee Brothers Medical Publishers.* 151-160.

Veerapur V.P., Prabhakar K. R., Vipan K.P., Punit B., Srinivasan K.K., Priyadarsini K.I. & Unnikrishnan M.K. (2010). Antidiabetic, hypolipidaemic and antioxidant activity of *Dodonaea viscosa* aerial parts in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Phytomed.* **2**: 59-70.

Venkateswaran S. & Pari L. (2002). Antioxidant effect of *Phaseolus vulgaris* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr.* **11**: 206-209.

Vergés B. (2007). Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nutr Clin Met.* **21**: 9-16.

Verne J. & Hebert S. (1964). Neoglucogenesis in hepatocytes cultivated in vitro. *CR Seances Soc Biol Fil.* **158**: 1804-1807.

Viala A. & Botta A. (2007). Toxicologie, Lavoisier, 2ème édition. pp 03.

W

Waltner-Law ME, Wang XL, Law BK, Hall RK, Nawano M, Granner DK (2002). Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *J Biol Chem.* **277:** 34933 - 34940.

Wautier M.P., Chappey O., Corda S., Stern D.M., Schmidt A.M. & Wautier J.L. (2001). Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **280:** 685-694.

West I.C. (2000). Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med.* **17:** 171-180.

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:** 311-321.

Wiernsperger N.F. (2005). Is non-insulin dependent glucose uptake a therapeutic alternative? Part 2: Do such mechanisms fulfil the required combination of power and tolerability? *Diabetes Metab.* **31:**521-525.

Wilbert S.A. (2014). Treatment of Dyslipidemia in Diabetics. *Int J Clin Cardiol.* **1:**1.

Winer N. & Sowers J.R. (2004). Epidemiology of diabetes. *J Clin Pharmacol.* **44:** 397-405.

Wolff S.P., Bascal Z.A. & Hunt JV. (1989). Autoxidative glycosylation: free radicals and glycation theory. *Prog Clin Biol Res.* **304:** 259-275.

Wu H., Guo H. & Zhao R. (2006). Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on the improvement of antioxidant ability and DNA damage in NIDDM rats. *J Pharm Soc Jan.* **126:** 365-367.

X

Xie W., Xing D., Sun H., Wang W., Ding Y. & Du L. (2005). The effects of *Ananas comosus* L. leaves on diabetic-dyslipidemic rats induced by alloxan and a high-fat/high-cholesterol diet. *Am J Chin Med.* **33:** 95-105.

y

Yamabe N., Kang K.S., Goto E., Tanaka T. & Yokozawa T. (2007). Beneficial effect of *Corni Fructus*, a constituent of hachimi-jio-gan on advanced glycation end product-mediated renal injury in streptozotocin-treated diabetic rats. *Biol Pharm Bull.* **30**: 520-526.

Yamagishi S.I., Edelstein D., Du S.L., Kaneda Y., Guzman M. & Brownlee M. (2001). Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A *J Biol Chem.* **276**: 25096-25100.

Yang N., Zhao M., Zhu B., Yang B., Chen C., Cui C. & Jiang Y (2008). Anti-diabetic effects of polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladode in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *Innov Food Sci Emerg Tech.* **9**: 570 -574.

Yang X.D., Michie S.A., Mebius R.E., Tisch R., Weissman I. & McDevitt H.O. (1996). The role of cell adhesion molecules in the development of IDDM: implications for pathogenesis and therapy. *Diabetes.* **45**: 705-710.

Yazdanparast R., Ardestani A. & Jamshidi S. (2007). Experimental diabetes treated with *Achillea santolina*: effect on pancreatic oxidative parameters. *J Ethnopharmacol.* **112**: 13-18.

Yildirim A., Mavi A. & Kara A.A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus L* extracts. *J Agric Food Chem.* **49**: 4083–4089.

Yilmaz H.R., Uz E., Yucel N., Altuntas I. & Ozcelik N. (2004). Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Mol Toxicol.* **18**: 234-238.

Yim M.B., Yim H.S., Lee C., Kang S.O. & Chock P.B. (2001). Protein Glycation. Creation of catalytic sites for free radical generation. *Ann NY Acad Sci.* **928**: 48-53.

Yoon J.W & Jun H.S. (2005). Autoimmune destruction of pancreatic beta cells, *Am J Ther.* **12**: 580–591.

Yoshikawa M., Morikawa T., Kobayashi H., Nakamura A., Matsuhira K., Nakamura S. & Matsuda H. (2007). Structures of new cucurbitan-type triterpene glycosides and antiallergic constituents from *Citrullus colocynthis*. *Chem pharm Bull.* **55**: 428-434.

Young B.A., Johnson R.J., Alpers C.E., Eng E., Gordon K., Floege J., Couser W.G. & Seidel K. (1995). Cellular events in the evolution of experimental diabetic nephropathy. *Kidney Int.* **47**: 935-944.

Young N.L., Lopez D.R. & McNamara D.J. (1988). Contributions of absorbed dietary taurine enhances cholesterol degradation and reduces serum and liver cholesterol concentrations in rats fed a high-cholesterol diet. *J Nutr.* **129**: 1705-1712.

Yue K.K.M., Chung W.S., Leung A.W.N. & Cheng C.H.K. (2003). Redox changes precede the occurrence of oxidative stress in eyes and aorta, but not in kidneys of diabetic rats. *Life Sci.* **73**: 2557-2570.

Z

Zaoui S., Biemont C., & Meguenni K. (2007). Epidemiology of diabetes in urban and rural regions of Tlemcen. *Santé.* **17**:15-21.

Zeggwagh. N.A. Ouahidi M.L., Lemhadri A. & Eddouks M. (2006). Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of *Inula viscosa* L aqueous extract in normal and diabetic rats. *J ethnopharmacol.* **108**: 23-227.

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. *J Complement Integr Med.* **6**: 34.

Zhang J., Huang Y., Hou T. & Wang Y. (2006). Hypoglycaemic effect of *Artemisia sphaerocephala* Krasch seed polysaccharide in alloxan-induced diabetic rats. *Swiss Med Wkly* **136**: 529-532.

Zhang W., Wang X., Liu Y., Tian H., Flickinger B., Empie M.W. & Sun S.Z. (2008). Dietary flaxseed lignin extract lowers plasma cholesterol and glucose concentrations in hypercholesterolaemic subjects. *Br J Nutr.* **99**: 1301-1309.

Zhao G., Etherton T.D., Martin K.R., West S.G., Gillies P.J. & Kris-Etherton P.M. (2004). Dietary α -linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic men and women. *J Nutr.* **134**: 2991–2997.

Zheng T., Shu G., Yang Z., Mo S., Zhao Y. & Mei Z. (2012). Antidiabetic effect of total saponins from *Entada phaseoloides* (L.) Merr. in type 2 diabetic rats. *J of Ethnopharmacol.* **139**: 814-821.

Zheng X., Zhang L., Wang W., Wu Y., Zhang Q. & Feng W. (2011). Anti-diabetic activity and potential mechanism of total flavonoids of *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring in rats induced by high fat diet and low dose STZ. *J Ethnopharmacol.* **137**: 662– 668.

Annexes

Tableau XXV. Pouvoir piégeur du radical DPPH par les différents extraits de *L. usitatissimum* et de l'acide ascorbique

Concentrations µg/mL	50	100	200	400	800
Extraits					
Ether de pétrole	16±0,3	32±1,2 ^b	49±2,1 ^c	68±3,1 ^b	84±3,0 ^b
Benzène	18±0,4	36±1,0 ^b	50±3,0 ^c	66±3,2 ^b	80±3,4 ^b
Acétate d'éthyle	18±0,4	32±1,4 ^b	50±2,2 ^c	68±3,1 ^b	87±3,2 ^b
Méthanol	26±0,4	50±1,2 ^a	68±2,9 ^a	86±3,4 ^a	93±3,9 ^a
Butanol	28±0,3	48±1,0 ^a	72±2,0 ^a	90±3,0 ^a	96±3,0 ^a
Acide ascorbique	31±0,5	52±1,1 ^a	76±2,6 ^a	92±3,5 ^a	98±4,0 ^a

Chaque valeur est exprimée en moyen ± ES (n = 3). La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Tukey* pour les comparaisons multiples.

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

Tableau XXVI. Pouvoir piégeur du radical superoxyde (O₂[•]) par les différents extraits de *L. usitatissimum* et de l'acide ascorbique

Concentrations µg/mL	50	100	200	400	800
Extraits					
Ether de pétrole	20±0,004	43±0,002 ^a	58±0,001 ^a	74±0,002 ^{ab}	87±0,001 ^a
Benzène	16±0,002	30±0,003 ^b	51±0,001 ^b	63±0,001 ^b	76±0,004 ^b
Acétate d'éthyle	14±0,007	25±0,002 ^b	44±0,001 ^c	58,1±0,003 ^b	74±0,003 ^b
Méthanol	21±0,002	41±0,007 ^a	62±0,003 ^a	78±0,003 ^a	93±0,002 ^a
Butanol	25±0,002	40±0,001 ^a	63±0,002 ^a	85±0,003 ^a	96±0,009 ^a
Acide ascorbique	26±0,002	45±0,007 ^a	66±0,002 ^a	88±0,007 ^a	98±0,009 ^a

Chaque valeur est exprimée en moyen ± ES (n = 3). La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Tukey* pour les comparaisons multiples.

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

Tableau XXVII. Pouvoir réducteur du fer des différents extraits de *L. usitatissimum* et de l'acide ascorbique

Concentrations µg/mL					
	50	100	200	400	800
Extrasits					
Ether de pétrole	0,20±0,04	0,25±0,03 ^b	0,28±0,02 ^c	0,34±0,01 ^c	0,38±0,01 ^c
Benzène	0,21±0,02	0,27±0,03 ^b	0,35±0,03 ^c	0,39±0,02 ^b	0,45±0,04 ^b
Acétate d'éthyle	0,23±0,07	0,28±0,02 ^b	0,34±0,01 ^c	0,40±0,03 ^b	0,46±0,03 ^b
Méthanol	0,27±0,02	0,33±0,03 ^a	0,38±0,03 ^a	0,44±0,03 ^b	0,50±0,01 ^b
Butanol	0,25±0,02	0,38±0,01 ^a	0,46±0,02 ^a	0,55±0,03 ^a	0,62±0,05 ^a
Acide ascorbique	0,37±0,02	0,44±0,03 ^a	0,51±0,02 ^a	0,58±0,01 ^a	0,63±0,004 ^a

Chaque valeur est exprimée en moyen ± ES (n = 3). La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Tukey* pour les comparaisons multiples.

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

Tableau XXVIII. Croissance pondérale des animaux (g) et la nourriture ingérée (g/rat/jour)

Poids corporel (g)	T	D	D-Lu
J0	264,02± 5,12	268,67±6,43	265,51±4,51
J7	269,45 ±3,4	257,01±4,36	259,01±0,71
J14	272,35±7,56	241,33±1,15	248,22±10,7
J21	281,55±5,32	216,33±6,51	262,75±5,12*
J28	289,78±8,21	193,01±9,85 [#]	267,11±7,04*
J35	290,99±5,21	180,31±6,51 [#]	272,70±7,22*
J42	292,01±6,80	182,99±9,52 [#]	275,21±5,93*
J49	295,78±6,24	185,33±7,40 [#]	277,75±12,01*
J56	301,20±5,70	178,67±6,23 [#]	298,25±10,5*
Nourriture ingérée (g/rat/jour)	28,39±6,07	29,88±0,33	28,58±2,02

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, D: groupe diabétique non traité, D-Lu: groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si p<0,05.

[#]D vs T ; *D-Lu vs D

Tableau XXIX. Evolution de la glycémie (mmol/L)

	T	D	D-Lu
J0	5,02±0,72	29,53±1,55	27,22±1,01
J7	4,98±0,44	22,87±1,63 [#]	16,57±1,60
J14	4,66±0,55	28,29±1,34 [#]	12,03±1,38 [*]
J21	5,04±0,65	27,66±1,33 [#]	15,01±0,86 [*]
J28	5,17±0,94	32,76±1,22 [#]	10,79±1,33 [*]
J35	4,78±0,44	32,71±1,45 [#]	8,76±0,78 [*]
J42	4,81±0,68	32,72±1,27 [#]	6,24±1,44 [*]
J49	4,88±0,59	32,78±1,39 [#]	6,01±1,60 [*]
J56	5,01±0,66	32,80±1,21 [#]	5,41±1,54 [*]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

[#]**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

Tableau XXX. Teneurs en protéines et en lipides du foie et du plasma

	T	D	D-Lu
Foie			
Protéines (mg/g)	169,12±22,44	139,11 ± 22,62 [#]	161,70 ± 30,9 [*]
CT (μmol/g)	42,32± 2,55	53,84±1,29 [#]	39,82±1,49 [*]
CL (μmol/g)	21,11±2,03	25,01 ± 2,1 [#]	20,93 ± 1,01
EC (μmol/g)	35,42±2,16	48,14±2,00 [#]	31,54±2,18
TG (μmol/g)	35,22±2,21	37,46± 1,82	25,24±1,09 [*]
PL (μmol/g)	25,11±1,02	28,33±1,63 [#]	22,11±1,52 [*]
Plasma			
Protéines (g/L)	35,11±4,1	26,62±2,89 [#]	38,21±1,2 [*]
CT (mmol/L)	1,21±0,15	2,01±0,21 [#]	1,12±0,25 [*]
CL (mmol/L)	0,65±0,12	1,01 ± 0,17 [#]	0,69 ± 0,19 [*]
EC (mmol/L)	0,93±0,12	1,67±0,11	0,71±0,19 [*]
TG (mmol/L)	0,33± 0,09	0,96±0,02 [#]	0,49±0,06 [*]
PL (mmol/L)	0,45± 0,10	1,31±0,07 [#]	0,51±0,03 [*]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

[#]**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

Tableau XXXI. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des VLDL

	T	D	D-Lu
Masse (g/L)	0,64±0,14	1,43 ± 0,06 [#]	0,96 ± 0,18 [*]
Apolipoprotéines (g/L)	0,51± 0,1	0,82±0,07	0,77±0,09
Cholestérol libre (mmol/L)	0,02±0,01	0,07± 0,01 [#]	0,03 ± 0,09 [*]
Esters de cholestérol (mmol/L)	0,03±0,02	0,11±0,01 [#]	0,05±0,02 [*]
Triglycérides (mmol/L)	0,08±0,05	0,47± 0,02 [#]	0,13±0,02 [*]
Phospholipides (mmol/L)	0,02±0,1	0,15±0,03 [#]	0,04±0,03 [*]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T : groupe témoin, **D**: groupe diabétique non traité, **D-Lu**: groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p<0,05$.

[#]**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

Tableau XXXII. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des LDL-HDL₁

	T	D	D-Lu
Masse (g/L)	1,07±0,31	1,70±0,09 [#]	1,39 ± 0,07 [*]
Apolipoprotéines (g/L)	0,74± 0,06	1,00±0,09 [#]	1,10±0,04 [*]
Cholestérol libre (mmol/L)	0,10±0,04	0,28± 0,06 [#]	0,15 ± 0,03
Esters de cholestérol (mmol/L)	0,16±0,04	0,48±0,07 [#]	0,25±0,10
Triglycérides (mmol/L)	0,06±0,02	0,27± 0,01	0,09±0,02 [*]
Phospholipides (mmol/L)	0,20±0,06	0,22±0,07 [#]	0,26±0,06 [*]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D**: groupe diabétique non traité, **D-Lu**: groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p<0,05$.

[#]**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

Tableau XXXIII. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₂

	T	D	D-Lu
Masse (g/L)	1,48±0,06	1,70±0,04	2,01 ± 0,09
Apolipoprotéines (g/L)	0,95± 0,02	1,13±0,01	1,22±0,06
Cholestérol libre (mmol/L)	0,16±0,03	0,15± 0,02	0,20 ± 0,03
Esters de cholestérol (mmol/L)	0,27±0,03	0,24±0,09	0,41±0,06*
Triglycérides (mmol/L)	0,06±0,01	0,13± 0,01 [#]	0,09±0,01*
Phospholipides (mmol/L)	0,38±0,04	0,40±0,03	0,49±0,02

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T : groupe témoin, **D**: groupe diabétique non traité, **D-Lu**: groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

***D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

Tableau XXXIV. Teneurs et composition en lipides et en apolipoprotéines des HDL₃

	T	D	D-Lu
Masse (g/L)	2,14±0,19	3,25±0,20 [#]	3,19 ±0,23
Apolipoprotéines (g/L)	1,9±0,22	2,59±0,26 [#]	2,84±0,30*
Cholestérol libre (mmol/L)	0,04±0,02	0,13± 0,01 [#]	0,06±0,02*
Esters de cholestérol (mmol/L)	0,07±0,02	0,22±0,04 [#]	0,11±0,03*
Triglycérides (mmol/L)	0,09±0,01	0,10± 0,02	0,12±0,01
Phospholipides (mmol.L)	0,13±0,05	0,56±0,03 [#]	0,20±0,04*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T : groupe témoin, **D**: groupe diabétique non traité, **D-Lu**: groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

***D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

Tableau XXXV. Concentrations en TBARS (nmol/mL) des érythrocytes et du plasma

	T	D	D-Lu
Erythrocytes	5,52 ±0,69	13,14±0,93	8,91±0,53*
Plasma	5,38 ±0,26	12,91±1,43 [#]	5,89±1,38*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D**: groupe diabétique non traité, **D-Lu**: groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

***D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

Tableau XXXVI. Concentrations en TBARS tissulaires (nmol/g)

	T	D	D-Lu
Foie	70,64±7,21	199,79±11,29 [#]	103,12±4,91 [*]
Reins	92,01±5,32	132,54±6,45 [#]	81,05±5,71 [*]
Coeur	59,50±9,11	97,6±8,2 [#]	65,23±7,01 [*]
Muscle	56,07±7,10	66,61±8,48 [#]	54,10 ±9,17 [*]
Cerveau	179,12±8,9	285,67±10,25 [#]	159,1±6,59 [*]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

[#]**D** vs **T** ; ^{*}**D-Lu** vs **D**

Tableau XXXVII. Activité des enzymes antioxydantes érythrocytaires (SOD, GSH-Px et GSSH-Red) (U/g protéines)

	T	D	D-Lu
SOD	0,76±0,05	0,73 ± 0,03	0,79 ± 0,03
GSH-Px	0,19±0,03	0,12 ± 0,03 [#]	0,21 ± 0,02 [*]
GSSH-Red	0,41±0,03	0,28 ± 0,05 [#]	0,39 ± 0,04 [*]

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

[#]**D** vs **T** ; ^{*}**D-Lu** vs **D**

Tableau XXXVIII. Activité des enzymes antioxydantes tissulaires

	T	D	D-Lu
SOD (U/mg protéines)			
<i>Foie</i>	36,20±3,81	20,85±3,11 [#]	38,71±3,18*
<i>Reins</i>	30,29±4,02	20,14±3,56 [#]	22,05±4,08
<i>Cœur</i>	177,72±20,60	154,50±28,00 [#]	165,10±30,11
<i>Muscle</i>	511,50±66,01	430,11±53,52 [#]	520,24±55,06*
<i>Cerveau</i>	498,69±54,70	402,64±65,31 [#]	435,74±63,03
GSH-Px(U/mg protéines)			
<i>Foie</i>	401,89±21,00	257,14±27,74 [#]	399,94±36,73*
<i>Reins</i>	898,01±98,22	518,96±99,13 [#]	851,88±87,98*
<i>Cœur</i>	999,01±111,01	890,57±110,62 [#]	998,63±108,44*
<i>Muscle</i>	896,54±122	796,07±114,61 [#]	812,9±110,7
<i>Cerveau</i>	62,55±22,01	73,65±18,61 [#]	68,86±20,01
GSSH-Red (U/mg protéines)			
<i>Foie</i>	76,85±6,50	41,81±7,71 [#]	51,16±8,32
<i>Reins</i>	66,98±11,22	66,47±10,35	86,02±11,74*
<i>Cœur</i>	20,58±4,01	19,01±3,45	19,66±3,98
<i>Muscle</i>	24,32±5,51	23,56±6,58	31,49±3,01*
<i>Cerveau</i>	19,09±4,50	18,40±4,10	18,63±3,65
CAT (U/mg protéines)			
<i>Foie</i>	3,54±0,90	3,43±0,27	3,24±1,19
<i>Reins</i>	0,94±0,17	0,97±0,19	1,30±0,17*
<i>Cœur</i>	5,99±0,31	3,71±0,9 [#]	6,04±0,27*
<i>Muscle</i>	20,02±3,89	26,29±3,09 [#]	23,78±4,98
<i>Cerveau</i>	29,02±0,99	17,10±0,98 [#]	28,99±2,91*

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

#**D** vs **T** ; ***D-Lu** vs **D**

Tableau XXXIX. Concentration plasmatiques en facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et en interleukine-6 (IL-6)

	T	D	D-Lu
TNF- α (pg/mL)	10,31 \pm 0,37	18,01 \pm 0,51 [#]	11,84 \pm 0,48 [*]
IL-6 (ng/mL)	4,07 \pm 0,23	8,22 \pm 0,38 [#]	5,11 \pm 0,41 [*]

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de 6 rats par groupe. La comparaison des moyennes est réalisée par le test *Dunnett*.

T: groupe témoin, **D:** groupe diabétique non traité, **D-Lu:** groupe diabétique supplémenté avec Lu. Les moyennes sont significativement différentes si $p < 0,05$.

[#]**D** vs **T** ; ^{*}**D-Lu** vs **D**

Comparison of phytochemical and antioxidant properties of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum*) using different solvents

Alachaher, F. Z., Dali, S., Dida, N. and *Krouf, D.

Laboratory of Clinical and Metabolic Nutrition, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Oran1 Ahmed Benbella, BP 1524 EL M'Naouer 31000, Oran, Algeria

Article history

Received: 30 June 2016
 Received in revised form:
 31 October 2016
 Accepted: 25 November 2016

Abstract

The aim of the present study was to evaluate the phytochemical constituents and free radicals scavenging activities of flaxseed (*Linum usitatissimum*) solvents extract. For phytochemical analysis of extracts, preliminary screening methods of phytoconstituents were followed in different solvents. In addition, total phenolic and flavonoids compounds were measured. *In vitro* antioxidant activity was determined by 2,2-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), superoxide radical scavenging activity and ferric reducing power tests. Phytochemical analysis provides evidence that both solvents extract of *Linum usitatissimum* contains an important amounts of bioactive compounds. Furthermore, using methanolic and butanolic were able to extract a higher amounts of total phenolic compounds (47.01 ± 5.40 and 43.33 ± 2.77 μg gallic acid equivalents/g of extract, respectively) and flavonoids (30.89 ± 0.09 and 29.55 ± 0.15 μg Quercetin equivalents/g of extract, respectively). *In vitro* antioxidant activities of petroleum ether, benzene, ethyl acetate, methanolic and butanolic extracts of flaxseed were evaluated. Butanolic extract exhibited a higher DPPH radical scavenging activity, whereas petroleum ether and ethyl acetate extracts showed an important hydrogen peroxides scavenging activity. Also, an increase of ferric reducing antioxidant power (FRAP) was noted with methanolic extract. The results of the current study showed that flaxseed contain important amount of phenolic compounds and higher antioxidant activities rendering them as a potential source for development of nutraceuticals.

© All Rights Reserved

Introduction

Oxidative stress occurs when redox homoeostasis within the cell is altered. This imbalance may be due to either an overproduction of reactive oxygen species (ROS) or deficiency of an antioxidant system (Rosenfeldt *et al.*, 2013). ROS have been implicated in more than 100 degenerative diseases including cardiovascular, diabetes, cancer, atherosclerosis, neurodegenerative disorders and arthritis (Saminathan *et al.*, 2013; Adebayo *et al.*, 2014). Therefore, antioxidants with free radical scavenging activities may have great relevance in the prevention and therapeutics of diseases in which oxidants or free radicals are implicated (Yamuna *et al.*, 2013). In this respect, polyphenolic compounds, like flavonoids and phenolic acids, commonly found in plants have been reported to have multiple biological effects, including antioxidant activity (Faller and Fialho, 2010; Burgos *et al.*, 2013; Chiang *et al.*, 2013).

Presently, the possible toxicity of synthetic antioxidants has been criticized. It is generally assumed that frequent consumption of plant-derived phytochemicals from vegetables, fruit,

tea and herbs may contribute to shift the balance toward an adequate antioxidant status (Shen *et al.*, 2012). Consequently, interest in natural antioxidant, especially of plant origin, has greatly increased in recent years (Jayaprakash *et al.*, 2000).

Linum usitatissimum (Linn.), commonly known as flaxseed or linseed, belongs to the family Linaceae. It has been consumed as a food ingredient and presently has a high demand in food industries (Arvindkumar *et al.*, 2012). Flaxseed plays a major role in the field of diet and disease research due to its potential health benefits associated with linolenic acid (57%) and a major lignan, namely ecoisolariciresinol diglucoside (SDG) (Milder *et al.*, 2005).

There are numbers of studies indicating the potential of flaxseed as antidiabetic (Prasad *et al.*, 2000) and cardioprotective activity (Zanwar *et al.*, 2011), but very few studies evaluating antioxidant potential of *L. usitatissimum* and its association with ROS production. Hence, present study is carried out to compare the phytochemical and antioxidant properties of extracts from flaxseed using different solvents.

*Corresponding author.
 Email:lncmkrouf@gmail.com

Materials and Methods

Chemicals and reagents

All the chemicals, reagents and standards including Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ascorbic acid, gallic acid were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo, USA), whereas, potassium dihydrogen phosphate, ferrous chloride, sulphuric acid and all other chemicals/reagents and solvents used in this study were of analytical reagent grade and purchased from Merck (Darmstadt, Germany).

Plant material and sample preparation

Linum usitatissimum was collected in Southern of Algeria (Adrar), between February and March 2015, identified taxonomically and authenticated by the Botanical Research Institute of Oran 1 University. For the present study purpose, the dried plant material was made into fine powder of 40 mesh size using the pulverizer. The coarse powder (100 g) of linseed was extracted successively with petroleum ether, benzene, ethyl acetate, methanol and butanol, each 250 mL in a Soxhlet apparatus for 24 hours (Tiwari *et al.*, 2011). All the extracts were filtered through Whatman No.41 filter paper. Then the extracts were concentrated in a rotavapor (Buchi Labortechnik AG, Postfach, Switzerland). The concentrated extracts were used for the estimation of total phenolics and flavonoids and *in vitro* antioxidant activity.

Phytochemical screening

Phytochemical screening was done using standard procedures as previously described by (Tiwari *et al.*, 2011). Each extract was screened for the following phytoconstituents: alkaloids, saponins, terpenoids, flavonoids, glycosides, proteins, carbohydrate, and phenolic compounds.

Determination of total phenolics

The total phenol content was determined by Folin-Ciocalteu reagent method (McDonald *et al.*, 2001). 0.5 mL of extract (1mg/mL) and 0.1 mL of Folin-Ciocalteu reagent (0.5N) were mixed and incubated at room temperature for 15 min. 2.5 mL of 20%(w/v) saturated sodium carbonate was added, incubated for 30 min at room temperature and absorbance was measured at 760 nm. The total phenol content was expressed in terms of Gallic acid equivalent (μg/g) (Chanda and Dave, 2009).

Determination of total flavonoids

The total flavonoid content was determined by Aluminum chloride method. 1mL of sample (1mg/

mL) was mixed with 0.5mL of 1.2% aluminium chloride and 0.5mL of potassium acetate (120 mol/L). In this mixture, 1mL of methanol was added to make 3mL volume. This mixture was vortexed, incubated at room temperature for 30min and absorbance was measured spectrophotometrically at 415nm. The total flavonoid content was expressed in terms of quercetin equivalent (μg/g) (Singleton and Rossi, 1965).

DPPH free radical scavenging activity

The free radical scavenging activity of all the extracts was evaluated by 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) according to Shenet *et al.* (2010). Briefly, 0.1 mmol/L solution of DPPH in methanol was prepared, and 1 mL of this solution was added to 3 mL of extracts at different concentration (50,100, 200, 400 and 800 μg/mL). The mixtures were shaken vigorously and allowed to stand at room temperature for 30 minutes. Then the absorbance was measured at 517 nm using spectrophotometer (Genesys 10S UV-VIS Thermo Electron Corporation, USA). Ascorbic acid was used as standard. Lower absorbance values of reaction mixture indicate higher free radical scavenging activity.

The capability to scavenging the DPPH radical was calculated by using the following formula:

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

Where, AControl indicates the absorbance of solution containing only the DPPH reagent whereas, ASample is the absorbance of the sample reaction.

Superoxide radical scavenging activity

The superoxide anion scavenging activity was measured as described by Srinivasan *et al.* (2007). The superoxide anion radicals were generated in 3.0 mL of Tris, hydrochloride buffer (16 mmol/L, PH8.0), containing 0.5 mL of nitroblue-tetrazolium chloride (0.3 mmol/L), 0.5 mL nicotinamide adenine dinucleotide (0.936 m mmol/L) solution, 1.0 mL extract of different concentration (50,100, 200, 400 and 800 μg/mL), and 0.5 mL Tris, hydrochloride buffer (16 mmol/L, PH8.0). The reaction was started by adding 0.5 mL phenazine methosulfate solution (0.12 mmol/L) to the mixture, incubated at 25°C for 5 min and the absorbance was measured at 560 nm against a blank sample, ascorbic acid.

The percentage inhibition was calculated by using the following equation:

$$\text{Superoxide radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

Where, AControl is the absorbance of the control reaction, and ASample is the absorbance of the sample reaction.

Reducing power assay

The reducing power of the extracts was determined by the method of Kumar and Hemalatha (2011). 1 mL of solution containing 50,100, 200, 400 and 800 μ g/mL of the extracts was mixed with sodium phosphate buffer (5.0 mL, 0.2 M, pH 6.6) and potassium ferricyanide (5.0 mL, 1.0%). The mixture was incubated at 50°C for 20 minutes. Then 5 mL of 10% trichloroacetic acid was added and centrifuged at 1000xg (10 min at 5°C) in a refrigerated centrifuge. The upper layer of the solution (5.0 mL) was diluted with 5.0 mL of distilled water and ferric chloride and absorbance is measured at 700 nm. The experiment was performed thrice and results were averaged.

Statistical analysis

All the experiments were carried out in triplicate. The results are expressed as mean values and standard error of the mean. The one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey multiple comparisons were carried out to test any significant difference between the means. All statistical tests were performed using STATISTICA (Version 6.0, Statsoft, USA) at a 5% significance level.

Results and Discussion

Phytochemical constituents

Plants extracts for medicinal usage contain a variety of types of bioactive compounds. These compounds consist of multi-component mixtures, their separation and determination still creates problems. The selection of solvent system largely depends on the specific nature of the bioactive compound being targeted. Furthermore, different solvent systems are available to extract the bioactive compound from natural products. Extraction efficiency is affected by the chemical nature of phytochemicals, the extraction method used, sample particle size, the solvent used,

as well as the presence of interfering substances. Under the same extraction time and temperature, solvent and composition of sample are known as the most important parameters.

The amounts of the crude extracts obtained from flaxseeds using different extraction solvents are presented in Table 1. The preliminary phytochemical screening of different extract of *L. usitatissimum* revealed several polar and non-polar chemical constituents. The phytochemical analysis of *L. usitatissimum* extracts showed the presence of flavonoids, phenolic compounds, glycosides, alkaloids, terpenoids, proteins and carbohydrate by simple qualitative phytochemical screening methods.

All the extracts produced negative results for saponins and the methanolic and butanolic extracts show positive results for flavonoids. Plant food contains a variety of biological activities, non-nutritive compounds known as phytochemicals, which impart health benefits such as antioxidant activity, antimicrobial effect, modulation of detoxification enzymes, stimulation of the immune system, decrease of platelet aggregation and modulation of hormone metabolism and anticancer property (Narasinga, 2003).

In our investigation, the total phenolic compound content and antioxidant activity of flaxseed were studied since this plant is widely consumed by the native population (either as food or/and as medicine) (Chirinos *et al.*, 2013). Furthermore, the health benefits of flaxseed are mainly attributed to biologically active components such as α -linolenic acid, lignans, unique proteins, phenolic acids and flavonoids (Kitts *et al.*, 1999; Tarpila *et al.*, 2005; Hosseiniyan *et al.*, 2006). Phytochemical analysis of flaxseed by Tawheed and Monika (2014) showed the presence of flavonoids, terpenoids, tannins and phenols.

Table 1. Phytochemical analysis of *L. usitatissimum* (linn) extracts

	Chemical constituents	Phytochemical Test	Methanol extract	Butanol extract	Petroleum ether extract	Ethyl acetate extract	Benzene extract
1	Flavonoids	Alkaline test	+	+	-	-	-
2	Phenolic compounds	Ferric chloride test	+	+	+	+	+
3	Glycosides	Keller-Kiliani test	+	+	+	+	+
4	Terpenoids	Salkowski test	+	+	+	+	+
		Mayer's test	+	+	+	+	+
5	Alkaloids	Wagner's test	+	+	-	+	-
		Dragendorff's test	+	+	+	+	-
6	Carbohydrate	Molish test	+	+	+	+	+
7	Saponins	Frothing test	-	-	-	-	-
8	Proteins	Millon's test	+	+	+	+	+

(+) implies presence; (-) implies absence

Table 2. Total phenolic and total flavonoid contents of *L. usitatissimum* extracts

<i>L. usitatissimum</i> extracts	TPC(µg GAE/g) ^a	TFC µg QE/g) ^b	DPPH	Superoxide
			IC ₅₀ (µg/mL)	
Petroleum ether	30.22±1.17 ^b	-	345.06±13.11 ^a	287.18±5.11 ^b
Ethyl acetate	23.41±2.24 ^c	-	333.20±10.12 ^a	419.03±20.15 ^a
Butanol	43.33±2.77 ^a	29.55±0.15 ^a	203.73±14.13 ^b	241.90±19.55 ^c
Benzene	14.41±1.33d	-	351.69±12.44 ^a	376.88±25.55 ^a
Methanol	47.01±5.40 ^a	30.89±0.09 ^a	220.05±14.22 ^b	262.89±9.22 ^c
Ascorbic acid	-	-	179.84±24.55 ^{b,c}	222.13±16.11 ^c

Each value is expressed as the means±SE (n=3). For each treatment the means within the column by different letters are significantly different at $P<0.05$.

^aExpressed as µg of gallic acid equivalents (GAE); ^bexpressed as µg of quercetin equivalents (QE).

TPC: Total phenolics

TFC: Total flavonoids

Total phenolic and total flavonoid compounds

The flaxseed extracts obtained with methanol and butanol contained a higher amount of total phenolic compounds 47.01±5.40 and 43.33±2.77 µg gallic acid equivalents/g of extract respectively, while the lower level were observed with the benzene extract (14.41±1.33 µg gallic acid equivalents/g of extract).

Our results are in agreement with other reports demonstrated that methanolic solvent was more effective isolating phenolic compounds from different plant materials (Shabbir *et al.*, 2011). In addition, our data shows that flavonoid content of *L. usitatissimum* methanolic and butanolic extracts were 30.89±0.09 and 29.55±0.15 µg Quercetin equivalents/g of extract, respectively (Table 2).

Phenolic compounds are omnipresent secondary metabolites in plants and have wide range of therapeutic uses. The scavenging ability of phenolics is mainly due to the presence of hydroxyl groups. Flavonoids are a group of polyphenolic compounds which exhibit several biological effects such as anti-inflammatory, hepatoprotective, anti-ulcer, anti-allergic, anti-viral, anti-cancer activities. They also exhibit enzymes such as aldose reductase and xanthine oxidase. They are able to scavenge the reactive oxygen species because of their phenolic hydroxyl groups and are potent antioxidants (Bhaduria *et al.*, 2012).

DPPH radical scavenging activity

Petroleum ether, benzene, ethyl acetate, methanol and butanol extracts of *L. usitatissimum* exhibited a concentration dependent DPPH radical scavenging activity (Figure 1). At 800 µg/mL, DPPH radical scavenging activity of butanol and methanol extracts of *L. usitatissimum* were 96.2% and 93.1%, respectively. At this concentration, all the extracts exhibited a higher scavenging activity. The scavenging ability was in the order: butanol>

methanol>ethyl acetate>petroleum ether>benzene.

DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) analysis is one of the best-known, accurate, and frequently employed methods for evaluating antioxidant activity. It is a stable free radical which determines the ability of pure substances or crude extracts for trapping the unpaired electron species by donating hydrogen atoms or electrons, and producing in consequence the radical disappearance and the formation of less reactive species derived from the antioxidant (Parekh *et al.*, 2007).

In the present study the effect of different extracts of *L. usitatissimum* on DPPH scavenging was increasing with the increase in the concentration of the extracts from 50-800 µg/mL and it is thought to be due to their hydrogen donating ability. It has been observed that the extracts prepared in high polar solvents exhibited strong activities which indicates that varieties of polyphenols, and flavonoids trapped may play important role in these activities. The present findings are in agreement with the report of Tepen *et al.*, 2005; Battu *et al.*, 2011 for *Salvia tomentosa* and *Euphorbia heyneana*, respectively.

Superoxide radical scavenging activity

As shown in Figure 1, it points out that, at 800 µg/mL petroleum ether, butanol and methanol extracts showed a higher superoxide radical scavenging activities (87.1, 96.24 and 93.5%, respectively). All the concentrations of ethyl acetate showed a lower activity. The superoxide radical scavenging activity decreased in these order: butanol> methanol > petroleum ether > benzene > ethyl acetate.

Superoxide dismutase catalyses the dismutation of the highly reactive superoxide anion to oxygen and hydrogen peroxide. These species are produced by a number of enzyme systems in auto-oxidation reactions and by non-enzymatic electron transfers that reduce molecular oxygen. It can also decrease

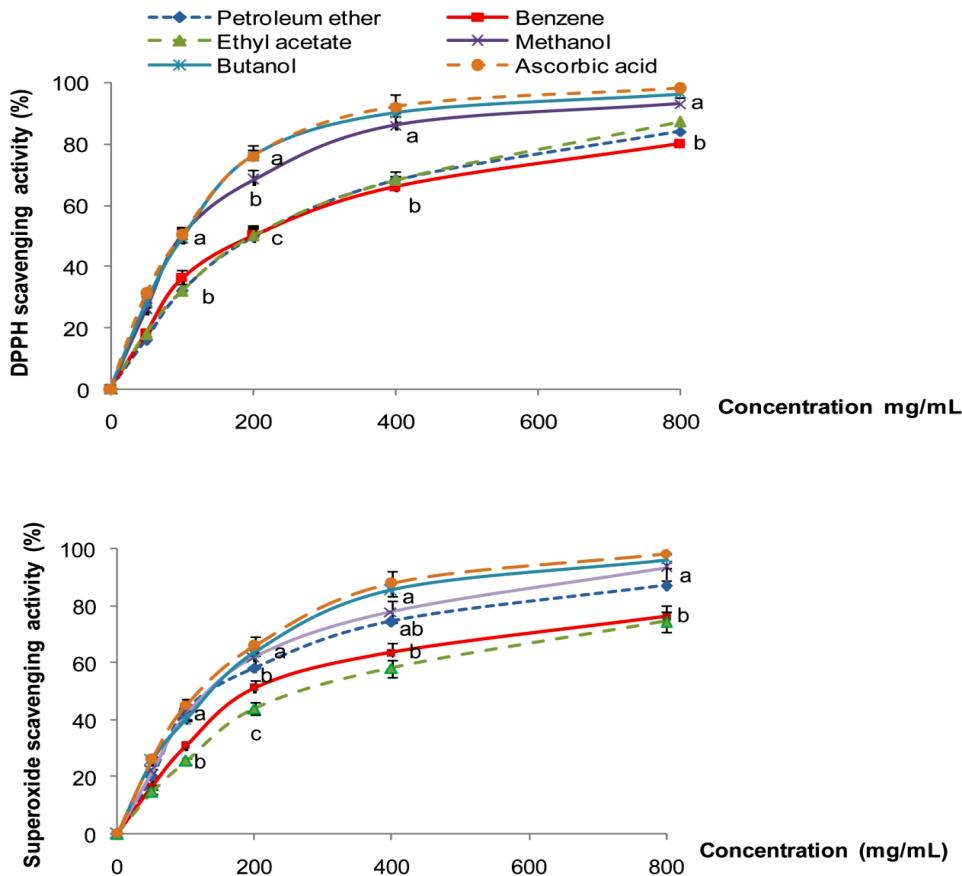


Figure 1. DPPH and superoxide scavenging activities of different extracts of *Linum usitatissimum* and standard ascorbic acid. Plots with different alphabets indicated on top are statistically different ($P < 0.05$)

certain iron complexes such as cytochromes (Sena *et al.*, 2009; Gulcin *et al.*, 2011). Superoxide anion is very harmful to cellular components (Korycka-Dahl and Richardson, 1978). They are effectively scavenged by flavonoids. Our data reveals that the different extracts of *L. usitatissimum* showed a potent superoxide scavenging activity when compared to ascorbic acid. Accordingly, it is suggested that the low to moderate ferrous ions chelating effects of these fractions would be rather beneficial to protect the cell against oxidative damage (Rajesh *et al.*, 2008). Similar trend of metal ion scavenging activity was observed in the species, *Acalypha fruticosa* (Thambiraj *et al.*, 2012), *Naregamiaalata* (Joseph *et al.*, 2010) and *Leucas ciliata* (Qureshi *et al.*, 2010).

IC_{50} values

The IC_{50} was utilized to classify antioxidant activity of a sample in comparison with the standard. The effective dose of 50% inhibition (IC_{50}) was also obtained from a plot of percentage inhibition beside extract concentration. All the experiments were run in triplicate and mean values therefore, were calculated against ascorbic acid as positive control

(Table 2). IC_{50} values of butanol and methanol extracts of *L. usitatissimum* for DPPH were found to be respectively 203.73 ± 14.13 and $220.05 \pm 14.22 \mu\text{g/mL}$. Moreover, for superoxide radical scavenging IC_{50} values were 241.90 ± 19.55 and $262.89 \pm 9.22 \mu\text{g/mL}$; these results were similar to the activity of the positive control, ascorbic acid 179.84 ± 24.55 and $222.13 \pm 16.11 \mu\text{g/mL}$.

For petroleum ether flaxseed extract, IC_{50} values of DPPH and superoxide radical scavenging were 345.06 ± 13.11 and $287.18 \pm 5.11 \mu\text{g/mL}$, respectively. A higher DPPH IC_{50} values were noted with ethyl acetate ($333.20 \pm 10.12 \mu\text{g/mL}$) and benzene ($351.69 \pm 12.44 \mu\text{g/mL}$) extracts. For superoxide radical scavenging, the values were 419.03 ± 20.15 and $376.88 \pm 25.55 \mu\text{g/mL}$, respectively; these results were increased approximately by 50% as compared to the butanol extract. Moreover, a highly relationships between the results of both DPPH• and superoxide scavenging activities and total phenolic compounds (TPC) (estimated with Folin-Ciocalteu reagent) ($r = +0.89$ and $+0.92$; $p < 0.01$). Our findings are in agreement with the report of Anwar, F and Przybysliski R (2012). Numerous investigations of the

antioxidant activity of plant extracts have confirmed a high correlation between the values of phenol concentration and antioxidant activity (Katalinić *et al.*, 2004; Borneo *et al.*, 2008), while other reports do not (Dasgupta and De, 2007). So, the extracts prepared in high polar solvents exhibited a strong activity which indicates that varieties of polyphenols, and flavonoids trapped may play important role in these activities.

Reducing power

The reducing power of different extracts of *L. usitatissimum* and standard ascorbic acid is illustrated in Figure 2. The extracts of *L. usitatissimum* exhibited a concentrated dependent increase in reducing power. Among all the different extracts studied, butanolic extract showed higher reducing power which is comparable to standard ascorbic acid. Our results are in agreement with those reported by Sangeetha *et al.* (2010) using *Sphaeranthus indicus* Linn. (Asteraceae).

Antioxidants may act as free radical scavengers, reducing agents, chelating agents for the transition of metals, quenchers of singlet oxygen molecules and or activators of antioxidative defense enzyme system to suppress the radical damages in biological systems (Prasad *et al.*, 2000; Zanwar *et al.*, 2011).

The reducing capacity of a compound may serve as an important indicator of its potential antioxidant activity (Ho *et al.*, 2012). The reducing properties are generally associated with the presence of reductones (Krishnamoorthy *et al.*, 2011). According to Gordan (1990), antioxidant action of reductones is based on the breaking of the free radical chain by donating

a hydrogen atom. Our results showed that butanol extract exhibited the highest reducing power than all other extracts in the higher concentration of 800 µg/mL and the value was comparable to that of the standard (Figure 2). The marked antioxidant activity of *L. usitatissimum* may be due to the presence of polyphenols which may act as reductones to convert free radicals into more stable products and terminate free radical chain reaction. Similar trend of observation on polyphenolic constituents' dose dependent reducing power activity has been reported for several other plant extracts (Zhu *et al.*, 2002; Amarowicz *et al.*, 2004).

Conclusion

The medicinal properties of plants have been the centre of attraction for researchers in recent scientific developments throughout the world, due to their potent antioxidant properties and economic viability. Based upon the results of the present investigation it can be concluded that butanol and methanol are the most effective solvents for recovering antioxidant components from flaxseed. It is further recommended to optimize the antioxidant extraction efficacy of these solvents using different extraction techniques. The medicinal properties of flaxseed extract may be due to the presence of above mentioned phytochemicals rendering them as a potential source for the isolation of compounds for development of nutraceuticals. Based on the previous results, pharmacognostical studies are suggested to confirm the antioxidant ability before going for commercialization.

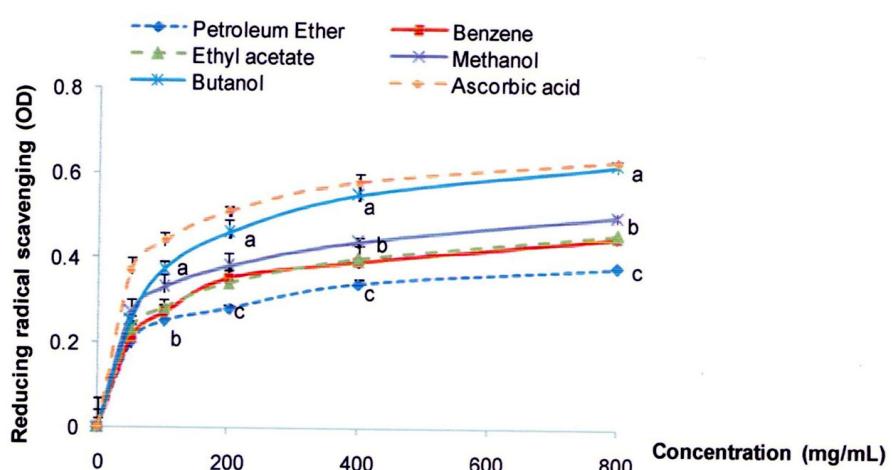


Figure 2. Reducing power of different extracts of *L. usitatissimum* and standard ascorbic acid. Plots with different alphabets indicated on top are statistically different ($P < 0.05$)

Acknowledgment

This work was supported by the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research.

References

Adebayo, A.H., Song, F.H., Liu, X.T., Dai, H., Huang, P., Zhang, J. and Zhang, L.X. 2014. *Citrillus lanatus* extract reverses oxidative and haematological dysfunction in carbon tetrachloride induced liver damaged rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 10: 218-224.

Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Mohaddam, P., Barl, B. and Weil, J.A. 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairie. *Food Chemistry* 84: 551-562.

Anwar, F and Przybylski R. 2012. Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 11(3): 293-301.

Arvindkumar, E., Suresh, S., Jadhav, A., Subhash, L. and Bodhankar, E. 2012. Effect of ethanolic extract of seeds of *Linum usitatissimum* (Linn.) in hyperglycaemia associated ROS production in PBMNCs and pancreatic tissue of alloxan induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 405-410.

Battu, G.R., Ethadi, S.R., Veda Priya, G., Swathi Priya, K., Chandrika, K., Venkateswara Rao, A. and Satya, O.R. 2011. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of *Euphorbia heyneana* Spreng. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*: 191-194.

Bhaduria, P., Arora, B., Vimal, B. and Kulshrestha, A. 2012. *In vitro* antioxidant activity of *Coccinia grandis* root extracts. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences* 2(3): 230-238.

Borneo, R., león, E.A., Aguirre, A., Ribotta, P. and Cantero, J.J. 2008. Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Cordoba (Argentina) and their *in vitro* testing in model food system. *Food Chemistry* 112:664-670.

Burgos, G., Amoros, W., Muñoa, L., Sosa, P., Cayhualla, E., Sanchez, C., Díaz, C. and Bonierbale, M. 2013. Total phenolic, total anthocyanin and phenolic acid concentrations and antioxidant activity of purple-fleshed potatoes as affected by boiling. *Journal of Food Composition and Analysis* 30(1): 6-12.

Chanda, S. and Dave, R. 2009. *In vitro* models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research* 3(13): 981-996.

Chiang, C.J., Kadouh, H. and Zhou, K. 2013. Phenolic compounds and antioxidant properties of gooseberry as affected *in vitro* digestion. *Food Science and Technology* 51(2): 417-422.

Chirinos, R., Pedreschi, R., Rogez, H., Larondelle, Y. and Campos, D. 2013. Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. *Industrial Crops and Products* 47: 145-152.

Dasgupta, N. and De, B. 2007. Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study. *Food Chemistry* 101: 471-474.

Faller, A.L.K. and Fialho, E. 2010. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 23(6): 561-568.

Gordan, M.H. 1990. Food antioxidants. London/New York: Elsevier.

Gülçin, I., Alici, H.A. and Cesur, M. 2005. Determination of *in vitro* antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 53(3): 281-285.

Ho, Y.L., Huang, S.S., Deng, J.S., Lin, Y.H., Chang, Y.S. and Huang, G.H. 2012. *In vitro* antioxidant properties and total phenolic contents of wetland medicinal plants in Taiwan. *Botanical Studies* 53: 55-66.

Hosseini, F.S., Muir, A.D., Westcott, N.D. and Krol E.S. 2006. Antioxidant capacity of flaxseed lignans in two model systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 83: 835-840.

Jayaprakasha, G.K. and Rao, L.J.M. 2000. Phenolic constituents from the Lichen *Parmotrema stipuppeum* (Nyl.) Hale and their antioxidant activity. *Journal of Biosciences* 55(11-12): 1018-1022.

Joseph, J.M., Sowndhararajan, K., Loganayaki, N. and Manian, S. 2010. *In vitro* antioxidant potential of different solvent extracts of *Naregami alata*. *American Journal of Pharmacy* 29(8): 1463-1467.

Katalinić, V., Miloš, M., Kulišić, T. and Jukić, M. 2004. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry* 94:550-557.

Kitts, D.D., Yuan, Y.V., Wijewickreme, A.N. and Thompson, L.U. 1999. Antioxidant activity of the flaxseed lignan Secoisolariciresinol diglycoside and its mammalian lignin metabolites enteroliod and enterolactone. *Molecular and Cellular Biochemistry* 202: 91-100.

Korycka-Dahl, M. and Richardson, T. 1978. Photogeneration of superoxide anion in serum of bovine milk and in model systems containing riboflavin and amino acids. *Journal of Dairy Science* 61: 400-407.

Krishnamoorthy, M., Sasikumar, J.M., Shamna, R., Pandiarajan, C., Sofia, P. and Nagarajan, B. 2011. Antioxidant activities of bark extract from mangroves, *Bruguiera cylindrica* (L.) Blume and *Ceriops decandra* Per. *Indian Journal Pharmacology* 43(5): 557-562.

Kumar, R.S. and Hemalatha, S. 2011. *In vitro* antioxidant activity of alcoholic leaf extract and subfractions of *Alangium lamarckii* Thwaites. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 3: 259-267.

McDonald, S., Prenzler, P. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry* 73: 73-84.

Milder, I.E.J., Arts, I.C.W., Van de Putte, B., Venema, D.P. and Hollman, P.C.H. 2005. Lignan contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *British Journal of Nutrition* 93: 393-402.

Narasinga, R. 2003. Bioactive phytochemicals in Indian foods and their potential in health promotion and disease prevention. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 12 (1): 9-22.

Parekh, J., Darsharna, J. and Chanda, S. 2007. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antimicrobial activity. *Turkish Journal of Biology* 29: 203-210.

Prasad, K., Mantha, S.V., Muir, A.D. and Westcott, N.D. 2000. Protective effect of secoisolariciresinol diglucoside against streptozotocin induced diabetes and its mechanism. *Molecular and cellular Biochemistry* 206: 141-150.

Qureshi, M.N., Kuchekar, S.B., Logade, N.A. and Haleem, M.A. 2010. *In vitro* Antioxidant and *In vivo* Hepatoprotective activity of Leucasciliata leaves. *Records of Natural Products* 4(2): 124-130.

Rajesh, M., Nagarajan, A., Perumal, S. and Sellamuthu, M. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of Camellia sinensis, Ficus bengalensis and Ficusracemosa. *Food Chemistry* 107: 1000-1007.

Rosenfeldt, F., Wilson, M., Lee, G., Kure, C., Braun, L. and Haan, J. 2013. Oxidative stress in surgery in an ageing population: Pathophysiology and therapy. *Experimental Gerontology* 48(1): 45-54.

Saminathan, M., Rai, R.B., Dhama, K., Tiwari, R. and Chakraborty, S. 2013. Systematic review on anticancer potential and other health beneficial pharmacological activities of novel medicinal plant Morinda citrifolia (Noni). *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 9: 462-492.

Sangeetha, S., Marimuthu, P., Doraisamy, P. and Sarada, D.V.L. 2010. Evaluation of antioxidant activity of the antimicrobial fraction from Sphaeranthus indicus. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 1(2): 431-436.

Sena, L.M., Zucolotto, S.M., Schenkel, E.P. and De lima, T.C. 2009. Neuropharmacological activity of the pericarp of Passiflora edulis flavicarpa degener: putative involvement of C-glycosyl flavonoids. *Experimental Biology and Medicine* 234: 967-975.

Shabbir, G., Anwar, F., Khalid, Z.M., Afzal, M., Khan, M.Q. and Ashrafuzzaman, M. 2011. Antioxidant and antimicrobial attributes and phenolics of different solvent extracts from leaves, flowers and bark of Gold Mohar. *Molecules* 16: 7302-7319.

Shen, Q., Zhang, B., Xu, R., Wang, Y., Ding, X. and Li, P. 2010. Antioxidant activity *in vitro* of selenium-contained protein from the Se-enriched. *Bifidobacterium animalis* 01. *Anaerobe* 16: 380-386.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.

Sreeramulu, D. and Raghunath, M. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food Research International* 43: 1017-1020.

Srinivasan, R., Chandrasekar, M.N.J., Nanjan, M.J. and Suresh, B. 2007. Antioxidant activity of Caesalpinia digyna root. *Journal of Ethnopharmacology* 113: 284-291.

Tarpila, A., Wennberg, T. and Tarpila, S. 2005. Flaxseed as a functional food. *Current Topics in Nutraceutical Research* 3: 167-188.

Tawheed, A. and Monika, T.A. 2014. Comparative study on proximate composition, phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of Linum usitatissimum L. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(4): 465-481.

Tepen, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. and Polissiou, M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry* 90(3): 333-340.

Thambiraj, J., Paulsamy, S. and Sevugaperumal, R. 2012. Evaluation of *in vitro* antioxidant activity in the traditional medicinal shrub of western districts of Tamilnadu, India, *Acalypha fruticosa* Forssk. (Euphorbiaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2(1): S127-30.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. and Kaur, H. 2011. Phytochemical screening and extraction. *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 1(1): 98-106.

Yamuna, S.T. and Padma, P.R. 2013. Antioxidant potential of the flowers of Caesalpinia pulcherrima, Swartz in an *in vitro* system subjected to oxidative stress. *Journal of Pharmacy Research* 7(7): 661-665.

Zanwar, A.A., Hegde, M.H. and Bodhankar, S.L. 2011. Cardioprotective activity of flax lignin concentrate extracted from seeds of *L. usitatissimum* in isoprenalin induced myocardial necrosis in rats. *Interdisciplinary Toxicology* 4: 90-97.

Zhu, Q.Y., Hackman, R.M., Ensunsa, J.L., Holt, R.R. and Keen, C.L. 2002. Antioxidative activities of oolong tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(23): 6929-6934.

Abstract

The aim of this study was to determine the effects of *Linum usitatissimum* (Linn.), commonly known as flaxseed, on hyperglycemia, dyslipidemia, oxidative stress and inflammation in streptozotocin (STZ)-induced diabetic Wistar rats.

For phytochemical analysis of flaxseed solvents extract, preliminary screening methods of phytoconstituents were followed in different solvents. In addition, total phenolic and flavonoids compounds were measured. *In vitro* antioxidant activity was determined by 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), superoxide radical scavenging activity (O_2^-) and ferric reducing power (FRAP) tests.

Phytochemical analysis provides evidence that methanolic, butanolic, petroleum ether, ethyl acetate and benzene extracts of flaxseed contains an important amounts of bioactive compounds. Furthermore, using methanolic and butanolic solvents were able to extract a higher amounts of total phenolic compounds (47.01 ± 5.40 and 43.33 ± 2.77 μ g gallic acid equivalents/g of extract, respectively) and flavonoids (30.89 ± 0.09 and 29.55 ± 0.15 μ g Quercetin equivalents/g of extract, respectively). The antiradical activity of the various extracts of *Lu* increases with the increase in the concentrations of the extracts of 50-800 μ g/ mL. The extracts prepared in high polar solvents exhibited strong activities which indicate that varieties of polyphenols, and flavonoids trapped may play important role in these activities.

Hyperglycemia was induced in male Wistar rats (n=12) weighing 267 ± 5 g, by intraperitoneal injection of STZ (60mg/kg body weight). All type 1 Diabetic rats were divided into two groups. During 56 days, the untreated group (D) (n=6) received a 20% casein diet (D) and the treated group (n=6) received the same diet supplemented with 10g/kg of *Lu* seed powder (D-Lu). The 3rdcontrol group (C) (n=6) was fed 20% casein.

There was no significant difference in food intake between the three groups. While, a significant reduction in the body weight was noted in **D vs T**, whereas in the **D-Lu vs D** group an increase in weight is noted from the third week of the experiment. At d56, In **D vs T**, glycemia and glycosylated hemoglobin were increased by +85% and +41%, respectively. While, insulinemia was decreased by -27% in group **D vs T**. In contrast, treatment with flaxseed induced a decrease in blood glucose and glycosylated hemoglobin by -84% and -55%. Whereas, insulinemia was increased by +40%. Moreover, plasma urea, creatinine, and uric acid values were increased in the **D vs T** group, respectively. While, normal values of these parameters were noted in both groups in the urinary values. However, treatment of diabetic rats (D-Lu) with flaxseed reduced plasma urea, creatinine and uric acid values by -32, -36%, and -25%, although urine urea and creatinine was increased by +23% and +13%, respectively in the **D-Lu vs D** group. In addition, aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), and alkaline phosphatase (ALP) activities were increased in the **D vs T** group. Treatment of diabetic rats with *Lu* induced a significant reduction in liver AST, ALT and ALP activities by -42%, -51% and -48%, respectively in the **D-Lu vs D** groups.

Furthermore, in the **D vs T** group, the appearance of hyperlipidemia characterized by higher plasma levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG) and phospholipids (PL). Thus, a decrease in CT-HDL₂, an increase in plasma C-VLDL, -LDL-HDL₁, -HDL₃ and CT/C-HDL and C-VLDL + LDL-HDL₁ / CT-HDL ratios was noted. Hypertriglyceridemia was associated with an increase in VLDL mass and their TG contents, in the **D vs T** group. Moreover, no significant difference was noted in HDL₂ mass and apoB and an increase in their TG contents was noted. In addition, the HDL₃ mass was increased in the **D vs T** group by the increase of their contents in apoB and PL concentrations. On the other hand, TC, TG and PL concentrations were respectively reduced by -26%, -33% and -22% in liver and by -44%, -49% and -61% at the plasma level in the **D-Lu vs D** group. The hypcholesterolemia induced by *Lu* seed was due to a decrease in C-VLDL (-65%), C-LDL-HDL₁ (-64%), and C-HDL₃ (-55%) concentrations. The CT/CT-HDL and C-VLDL-LDL-HDL₁/C-HDL ratios were lower by -40% and -62% respectively, in *Lu* fed rats. Whereas, the hypotriglyceridemic effect was concomitant with a reduction in TG-VLDL (-65%), -LDL-HDL₁ (-59%) and -HDL₂ (-37%) in the **D-Lu vs D** group. Quantitatively, VLDL and LDL-HDL₁ mass was respectively 1.5- and 1.2-fold lower. No significant difference was noted in HDL₂ and HDL₃ mass. However, HDL₂-TG was 1.6- fold lower in the **D-Lu vs D** group. Lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) activity was 1.8-fold higher, in spite of similar HDL₃-apo concentrations, which apo A-I, the major apo is the cofactor- activator of LCAT. Moreover, in the **D vs T** group, oxidative stress objectified by an elevated in plasma, red blood cells (RBC) and tissues TBARS concentrations. Thus, a decrease in antioxidant defense, in particular a decrease in enzymatic activity of glutathione peroxidase (GSH-Px) and that of glutathione reductase (GSSH-Red) in the RBC and superoxide dismutase (SOD) activity in all tissues. However, a decrease in GSH-Px activity in liver, kidney, heart and muscle ($p < 0.05$) was noted. In addition, catalase (CAT) activity was significantly decreased in heart and brain. The Evaluation of the redox status in the **D-Lu vs D** group showed a decrease in TBARS concentrations in RBC (-32%) and plasma (-54%) respectively. TBARS concentrations were lower 1.9- fold in liver, 1.6-fold in kidney, 1.5-fold in heart, 1.2-fold in muscle and 1.8-fold in brain. In RBC, GSH-Px and GSSH-Red activities were increased by +43% and +28% in the **D-Lu vs D** group respectively. In contrast, no significant difference was found in SOD activity in the three groups of rats. Increased SOD activity was noted in liver (+44%) and muscle (+17%), While, GSH-Px activity was significantly higher in kidney (+39%), and GSSH-Red activity was 1.2-and 1.3-fold higher in kidney and muscle, respectively. In **D-Lu vs D**, catalase activity was increased in kidney (+25%), heart (+39%) and brain (+41%). In the **D vs T** group, evaluation of plasma inflammatory status showed an increase in plasma concentrations of TNF- α and IL-6. However, the treatment of diabetic group with *Linum usitatissimum* seed showed respectively 1.5- and 1.6-fold lower levels. Histopathological observations of liver, pancreas and kidney tissues demonstrated that treatment with *Linum usitatissimum* seed can exert a protective effect against oxidative stress damage induced by diabetes in these organs.

In conclusion, in streptozotocin-induced diabetic rat, it appears that treatment with flaxseed induced hypoglycemic and hypolipidemic effects. Indeed it improves antioxidant status in type 1 diabetic rats by reducing lipid peroxidation and enhancing the antioxidant enzymes activities in plasma, red blood cells and tissues in type 1 diabetic rats. It improves liver, kidney and pancreas histology, as well as the cytokines profile (TNF- α and IL-6). In fact, Linseed could be used for the prevention/attenuation of diabetic complications.

Key words: Rat - Streptozotocin - *Linum usitatissimum* - Glycemia- HbA1c- Cholesterol – Triacylglycerols- Lipid peroxidation- TBARS - SOD - GSH-Px - GSSH-red – CAT

Résumé

Le but de cette étude est de voir si le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* (*Lu*) peut corriger l'hyperglycémie, la dyslipidémie, le stress oxydatif et l'inflammation induits chez le rat Wistar rendu diabétique par injection de streptozotocine (STZ).

Dans ce contexte nous avons tenté de déterminer les constituants phytochimiques des différents extraits de *Lu* selon des méthodes de criblage préliminaire. De plus, les teneurs en polyphénols et flavonoïdes des différents extraits ont été mesurés. L'activité antiradicalaire des différents extraits a été évaluée en utilisant des tests chimiques tels que les tests du piégeage du radical 1,1-diphénol-2-pycrilhydrazil (DPPH), de l'anion superoxyde (O_2^-) et le test de réduction du fer (FRAP).

Les analyses phytochimiques des extraits méthanolique, butanolique, d'éther de pétrole, d'acétate d'éthyle et de benzène de *Linum usitatissimum* révèlent la présence des constituants bioactifs responsables des vertus thérapeutiques. Le dosage des polyphénols totaux des différentes extraits montre des quantités importantes de composés phénoliques obtenus après extraction par du méthanol et du butanol ($47,01 \pm 5,40$ et $43,33 \pm 2,77$ µg d'équivalent d'acide gallique/g) et flavonoïdes ($30,89 \pm 0,09$ et $29,55 \pm 0,15$ µg d'équivalent de quercétine /g), respectivement. L'activité anti-radicalaire des différents extraits de *Lu* augmente avec l'augmentation des concentrations des extraits de 50-800 µg/mL. Les extraits préparés dans des solvants à polarité élevée ont montré des activités plus importantes, ce qui témoigne que les variétés de polyphénols et des flavonoïdes piégés peuvent jouer un rôle important dans ces activités.

Des rats mâles Wistar (n=12) pesant 267 ± 5 g sont rendus diabétiques de type1 par injection intrapéritonéale de STZ (60 mg/kg poids corporel) et divisés en deux groupes: Un groupe diabétique non traité (n=6) consommant un régime à 20% de caséine (D) et un groupe traité (n=6) soumis au même régime supplémenté avec 10g/kg de poudre de *Lu* (D-*Lu*). Le groupe témoin (T) (n=6) consommant un régime à 20% de caséine, pendant 56 jours.

Aucune différence significative de la consommation alimentaire n'est notée entre les trois groupes de rats. Cependant, une diminution du poids corporel des rats diabétiques (D) comparé à celui des rats témoins (T), est notée, alors que chez le groupe **D-*Lu* vs D**, une augmentation du poids est observée à partir de la troisième semaine de l'expérimentation. La glycémie et l'hémoglobine glycosylée sont augmentées de +85% et +41% respectivement chez le groupe **D vs T**. Alors que l'insulinémie est diminuée de -27%. En revanche, le traitement avec la graine de lin induit une baisse de la glycémie et de l'hémoglobine glycosylée de -84% et -55%. Alors que l'insulinémie est augmenté de +29%. Cependant, les concentrations en urée, créatinine et acide urique plasmatiques sont augmentées chez le groupe **D vs T**. Alors qu'aucune différence significative n'est notée au niveau urinaire, chez les deux groupes de rats. En outre, la supplémentation en graines de lin induit une diminution des teneurs en urée, créatinine et acide urique plasmatiques de -32%, -36% et -25%, alors que les valeurs urinaires en urée et créatinine augmentent respectivement de +23 et +13%, chez le groupe **D-*Lu* vs D**. Les activités enzymatiques de l'aspartate amino-transférase (ASAT), de l'alanine amino-transférase (ALAT) et celle de la phosphatase alcaline (PAL) plasmatiques sont augmentées chez le groupe **D vs T**. Le traitement avec les graines de lin entraîne une diminution de ces activités de -42%, -51% et -48%, respectivement, chez le groupe **D-*Lu*** comparé à **D**. Chez le groupe **D vs T**, nos résultats indiquent l'apparition d'une hyperlipidémie caractérisée par une élévation des niveaux plasmatiques du cholestérol total (CT), des triglycérides (TG) et des phospholipides (PL). Par ailleurs, une baisse des teneurs en CT-HDL₂ et inversement, une augmentation du CT du plasma, des VLDL, des LDL-HDL₁, des HDL₃, des rapports d'athérogénicité CT/C-HDL, C-VLDL+LDL-HDL₁/CT-HDL, est notée. L'hypertriglycéridémie est associée à l'augmentation de la masse et des TG des VLDL, chez le groupe **D vs T**. En parallèle, aucune différence significative n'est notée dans la masse des HDL₂ et dans leurs contenus en apolipoprotéine, alors qu'une élévation de leurs contenus en TG, est observée. La masse des HDL₃ est augmentée chez le groupe **D vs T** par augmentation de leurs concentrations en apolipoprotéine et en PL. En revanche, les teneurs hépatiques en CT, TG et PL sont diminuées de -26%, -33% et -22%, respectivement et de -44%, -49% et -61% au niveau plasmatique chez le groupe **D-*Lu* vs D**. L'hypocholestérolémie induite par la graine de lin résulte d'une diminution des concentrations en C-VLDL (-65%), C-LDL-HDL₁ (-64%), C-HDL₃ (-55%) et des rapports d'athérogénicité CT/C-HDL (-40%) et C-VLDL+LDL-HDL₁/C-HDL (-62%). Alors que l'effet hypotriglycéridémiant est concomitant avec la réduction des TG des VLDL (-65%), LDL-HDL₁ (-59%) et HDL₂ (-37%). Quantitativement, la masse des VLDL et des LDL-HDL₁ est 1,5- et 1,2-fois, respectivement plus faible. En revanche, la masse des HDL₂ et HDL₃ est similaire. Cependant, les teneurs en TG-HDL₂ sont 1,6-fois plus faibles. L'activité de la léchithine: cholestérol acyltransférase (LCAT) est 1,8-fois plus importante malgré des concentrations similaires en apo-HDL₃, dont l'apolipoprotéine majeur est l'apo A-I, cofacteur-activateur de la LCAT. Parallèlement, chez le groupe **D vs T**, le stress oxydant est objectivé par une augmentation des concentrations en TBARS du plasma, des érythrocytes et des tissus. Ainsi, une diminution des défenses antioxydantes est notée, en particulier la baisse des activités enzymatiques de la glutathion peroxydase (GSH-Px) et de la glutathion réductase (GSSH-Red) des érythrocytes et celle de la superoxyde dismutase (SOD), au niveau de tous les tissus. Cependant, une diminution significative de l'activité de la GSH-Px est observée au niveau du foie, du rein, du cœur et du muscle est notée. De plus, l'activité de la catalase (CAT) est significativement diminuée au niveau du cœur et du cerveau. Chez le groupe **D-*Lu* vs D**, l'évaluation du statut redox, montre une diminution des concentrations en TBARS des érythrocytes (-32%) et du plasma (-54%). De plus, les teneurs des TBARS sont 1,9-, 1,6-, 1,5-, 1,2 et 1,8-fois plus faibles au niveau du foie, du rein, du cœur, du muscle et du cerveau. Par ailleurs, au niveau des érythrocytes, les activités enzymatiques de la GSH-Px et de la GSSH-Red sont augmentées de +43% et +28%, respectivement. En revanche, l'activité de la SOD est similaire chez les trois groupes de rats. Une élévation de l'activité de la SOD est notée au niveau du foie (+44%) et du muscle (+17%). Chez le groupe **D-*Lu* vs D**, l'activité de la GSH-Px est plus importante au niveau rénal (+39%), alors que celle de la GSSH-Red est respectivement 1,2- et 1,3-fois plus élevée au niveau du rein et du muscle. De plus, une augmentation de l'activité CAT est notée au niveau du rein (+25%), du cœur (+39%) et du cerveau (+41%), respectivement. Chez le groupe **D vs T**, l'évaluation du statut inflammatoire plasmatique montre une augmentation des concentrations plasmatiques en TNF- α et IL-6. Cependant, le traitement du groupe diabétique avec la graine de *Linum usitatissimum* montre des teneurs respectivement 1,5- et 1,6-fois plus faibles. L'analyse histopathologique du foie, du pancréas et du rein montre que le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* peut exercer un effet protecteur contre les dommages induits par le stress oxydant induit par le diabète au niveau de ces organes.

*En conclusion, il apparaît que chez le rat rendu diabétique par injection de la streptozotocine, le traitement avec la graine de *Linum usitatissimum* induit des effets hypoglycémiant et hypolipémiants. De plus, cette graine réduit le stress oxydant en réduisant la peroxydation lipidique et en augmentant l'activité de certaines enzymes antioxydantes au niveau des érythrocytes, du plasma et des tissus. De plus elle agit favorablement sur les teneurs des cytokines proinflammatoires (TNF- α , IL-1 et IL-6) et améliore les aspects histologiques du foie, du rein et du pancréas. En effet, la graine de Lin pourrait être utilisée pour prévenir et/ou atténuer les complications associées au diabète.*

Mots Clés : Rat - Streptozotocine - *Linum usitatissimum* - Glycémie - HbA₁C - Cholestérol – Triglycérides - Peroxydation lipidique - TBARS - SOD - GSH-Px - GSSH-red - CAT.

Comparison of phytochemical and antioxidant properties of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum*) using different solvents

Alachaher, F. Z., Dali, S., Dida, N. and *Krouf, D.

Laboratory of Clinical and Metabolic Nutrition, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Oran1 Ahmed Benbella, BP 1524 EL M'Naouer 31000, Oran, Algeria

Article history

Received: 30 June 2016
 Received in revised form:
 31 October 2016
 Accepted: 25 November 2016

Abstract

The aim of the present study was to evaluate the phytochemical constituents and free radicals scavenging activities of flaxseed (*Linum usitatissimum*) solvents extract. For phytochemical analysis of extracts, preliminary screening methods of phytoconstituents were followed in different solvents. In addition, total phenolic and flavonoids compounds were measured. *In vitro* antioxidant activity was determined by 2,2-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), superoxide radical scavenging activity and ferric reducing power tests. Phytochemical analysis provides evidence that both solvents extract of *Linum usitatissimum* contains an important amounts of bioactive compounds. Furthermore, using methanolic and butanolic were able to extract a higher amounts of total phenolic compounds (47.01 ± 5.40 and 43.33 ± 2.77 μ g gallic acid equivalents/g of extract, respectively) and flavonoids (30.89 ± 0.09 and 29.55 ± 0.15 μ g Quercetin equivalents/g of extract, respectively). *In vitro* antioxidant activities of petroleum ether, benzene, ethyl acetate, methanolic and butanolic extracts of flaxseed were evaluated. Butanolic extract exhibited a higher DPPH radical scavenging activity, whereas petroleum ether and ethyl acetate extracts showed an important hydrogen peroxides scavenging activity. Also, an increase of ferric reducing antioxidant power (FRAP) was noted with methanolic extract. The results of the current study showed that flaxseed contain important amount of phenolic compounds and higher antioxidant activities rendering them as a potential source for development of nutraceuticals.

© All Rights Reserved

Introduction

Oxidative stress occurs when redox homoeostasis within the cell is altered. This imbalance may be due to either an overproduction of reactive oxygen species (ROS) or deficiency of an antioxidant system (Rosenfeldt *et al.*, 2013). ROS have been implicated in more than 100 degenerative diseases including cardiovascular, diabetes, cancer, atherosclerosis, neurodegenerative disorders and arthritis (Saminathan *et al.*, 2013; Adebayo *et al.*, 2014). Therefore, antioxidants with free radical scavenging activities may have great relevance in the prevention and therapeutics of diseases in which oxidants or free radicals are implicated (Yamuna *et al.*, 2013). In this respect, polyphenolic compounds, like flavonoids and phenolic acids, commonly found in plants have been reported to have multiple biological effects, including antioxidant activity (Faller and Fialho, 2010; Burgos *et al.*, 2013; Chiang *et al.*, 2013).

Presently, the possible toxicity of synthetic antioxidants has been criticized. It is generally assumed that frequent consumption of plant-derived phytochemicals from vegetables, fruit,

tea and herbs may contribute to shift the balance toward an adequate antioxidant status (Shen *et al.*, 2012). Consequently, interest in natural antioxidant, especially of plant origin, has greatly increased in recent years (Jayaprakash *et al.*, 2000).

Linum usitatissimum (Linn.), commonly known as flaxseed or linseed, belongs to the family Linaceae. It has been consumed as a food ingredient and presently has a high demand in food industries (Arvindkumar *et al.*, 2012). Flaxseed plays a major role in the field of diet and disease research due to its potential health benefits associated with linolenic acid (57%) and a major lignan, namely ecoisolariciresinol diglucoside (SDG) (Milder *et al.*, 2005).

There are numbers of studies indicating the potential of flaxseed as antidiabetic (Prasad *et al.*, 2000) and cardioprotective activity (Zanwar *et al.*, 2011), but very few studies evaluating antioxidant potential of *L. usitatissimum* and its association with ROS production. Hence, present study is carried out to compare the phytochemical and antioxidant properties of extracts from flaxseed using different solvents.

*Corresponding author.
 Email:lncmkrouf@gmail.com

Materials and Methods

Chemicals and reagents

All the chemicals, reagents and standards including Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ascorbic acid, gallic acid were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo, USA), whereas, potassium dihydrogen phosphate, ferrous chloride, sulphuric acid and all other chemicals/reagents and solvents used in this study were of analytical reagent grade and purchased from Merck (Darmstadt, Germany).

Plant material and sample preparation

Linum usitatissimum was collected in Southern of Algeria (Adrar), between February and March 2015, identified taxonomically and authenticated by the Botanical Research Institute of Oran 1 University. For the present study purpose, the dried plant material was made into fine powder of 40 mesh size using the pulverizer. The coarse powder (100 g) of linseed was extracted successively with petroleum ether, benzene, ethyl acetate, methanol and butanol, each 250 mL in a Soxhlet apparatus for 24 hours (Tiwari *et al.*, 2011). All the extracts were filtered through Whatman No.41 filter paper. Then the extracts were concentrated in a rotavapor (Buchi Labortechnik AG, Postfach, Switzerland). The concentrated extracts were used for the estimation of total phenolics and flavonoids and *in vitro* antioxidant activity.

Phytochemical screening

Phytochemical screening was done using standard procedures as previously described by (Tiwari *et al.*, 2011). Each extract was screened for the following phytoconstituents: alkaloids, saponins, terpenoids, flavonoids, glycosides, proteins, carbohydrate, and phenolic compounds.

Determination of total phenolics

The total phenol content was determined by Folin-Ciocalteu reagent method (McDonald *et al.*, 2001). 0.5 mL of extract (1mg/mL) and 0.1 mL of Folin-Ciocalteu reagent (0.5N) were mixed and incubated at room temperature for 15 min. 2.5 mL of 20%(w/v) saturated sodium carbonate was added, incubated for 30 min at room temperature and absorbance was measured at 760 nm. The total phenol content was expressed in terms of Gallic acid equivalent (μg/g) (Chanda and Dave, 2009).

Determination of total flavonoids

The total flavonoid content was determined by Aluminum chloride method. 1mL of sample (1mg/

mL) was mixed with 0.5mL of 1.2% aluminium chloride and 0.5mL of potassium acetate (120 mol/L). In this mixture, 1mL of methanol was added to make 3mL volume. This mixture was vortexed, incubated at room temperature for 30min and absorbance was measured spectrophotometrically at 415nm. The total flavonoid content was expressed in terms of quercetin equivalent (μg/g) (Singleton and Rossi, 1965).

DPPH free radical scavenging activity

The free radical scavenging activity of all the extracts was evaluated by 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) according to Shenet *et al.* (2010). Briefly, 0.1 mmol/L solution of DPPH in methanol was prepared, and 1 mL of this solution was added to 3 mL of extracts at different concentration (50,100, 200, 400 and 800 μg/mL). The mixtures were shaken vigorously and allowed to stand at room temperature for 30 minutes. Then the absorbance was measured at 517 nm using spectrophotometer (Genesys 10S UV-VIS Thermo Electron Corporation, USA). Ascorbic acid was used as standard. Lower absorbance values of reaction mixture indicate higher free radical scavenging activity.

The capability to scavenging the DPPH radical was calculated by using the following formula:

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

Where, AControl indicates the absorbance of solution containing only the DPPH reagent whereas, ASample is the absorbance of the sample reaction.

Superoxide radical scavenging activity

The superoxide anion scavenging activity was measured as described by Srinivasan *et al.* (2007). The superoxide anion radicals were generated in 3.0 mL of Tris, hydrochloride buffer (16 mmol/L, PH8.0), containing 0.5 mL of nitroblue-tetrazolium chloride (0.3 mmol/L), 0.5 mL nicotinamide adenine dinucleotide (0.936 m mmol/L) solution, 1.0 mL extract of different concentration (50,100, 200, 400 and 800 μg/mL), and 0.5 mL Tris, hydrochloride buffer (16 mmol/L, PH8.0). The reaction was started by adding 0.5 mL phenazine methosulfate solution (0.12 mmol/L) to the mixture, incubated at 25°C for 5 min and the absorbance was measured at 560 nm against a blank sample, ascorbic acid.

The percentage inhibition was calculated by using the following equation:

$$\text{Superoxide radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

Where, AControl is the absorbance of the control reaction, and ASample is the absorbance of the sample reaction.

Reducing power assay

The reducing power of the extracts was determined by the method of Kumar and Hemalatha (2011). 1 mL of solution containing 50,100, 200, 400 and 800 μ g/mL of the extracts was mixed with sodium phosphate buffer (5.0 mL, 0.2 M, pH 6.6) and potassium ferricyanide (5.0 mL, 1.0%). The mixture was incubated at 50°C for 20 minutes. Then 5 mL of 10% trichloroacetic acid was added and centrifuged at 1000xg (10 min at 5°C) in a refrigerated centrifuge. The upper layer of the solution (5.0 mL) was diluted with 5.0 mL of distilled water and ferric chloride and absorbance is measured at 700 nm. The experiment was performed thrice and results were averaged.

Statistical analysis

All the experiments were carried out in triplicate. The results are expressed as mean values and standard error of the mean. The one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey multiple comparisons were carried out to test any significant difference between the means. All statistical tests were performed using STATISTICA (Version 6.0, Statsoft, USA) at a 5% significance level.

Results and Discussion

Phytochemical constituents

Plants extracts for medicinal usage contain a variety of types of bioactive compounds. These compounds consist of multi-component mixtures, their separation and determination still creates problems. The selection of solvent system largely depends on the specific nature of the bioactive compound being targeted. Furthermore, different solvent systems are available to extract the bioactive compound from natural products. Extraction efficiency is affected by the chemical nature of phytochemicals, the extraction method used, sample particle size, the solvent used,

as well as the presence of interfering substances. Under the same extraction time and temperature, solvent and composition of sample are known as the most important parameters.

The amounts of the crude extracts obtained from flaxseeds using different extraction solvents are presented in Table 1. The preliminary phytochemical screening of different extract of *L. usitatissimum* revealed several polar and non-polar chemical constituents. The phytochemical analysis of *L. usitatissimum* extracts showed the presence of flavonoids, phenolic compounds, glycosides, alkaloids, terpenoids, proteins and carbohydrate by simple qualitative phytochemical screening methods.

All the extracts produced negative results for saponins and the methanolic and butanolic extracts show positive results for flavonoids. Plant food contains a variety of biological activities, non-nutritive compounds known as phytochemicals, which impart health benefits such as antioxidant activity, antimicrobial effect, modulation of detoxification enzymes, stimulation of the immune system, decrease of platelet aggregation and modulation of hormone metabolism and anticancer property (Narasinga, 2003).

In our investigation, the total phenolic compound content and antioxidant activity of flaxseed were studied since this plant is widely consumed by the native population (either as food or/and as medicine) (Chirinos *et al.*, 2013). Furthermore, the health benefits of flaxseed are mainly attributed to biologically active components such as α -linolenic acid, lignans, unique proteins, phenolic acids and flavonoids (Kitts *et al.*, 1999; Tarpila *et al.*, 2005; Hosseiniyan *et al.*, 2006). Phytochemical analysis of flaxseed by Tawheed and Monika (2014) showed the presence of flavonoids, terpenoids, tannins and phenols.

Table 1. Phytochemical analysis of *L. usitatissimum* (linn) extracts

	Chemical constituents	Phytochemical Test	Methanol extract	Butanol extract	Petroleum ether extract	Ethyl acetate extract	Benzene extract
1	Flavonoids	Alkaline test	+	+	-	-	-
2	Phenolic compounds	Ferric chloride test	+	+	+	+	+
3	Glycosides	Keller-Kiliani test	+	+	+	+	+
4	Terpenoids	Salkowski test	+	+	+	+	+
		Mayer's test	+	+	+	+	+
5	Alkaloids	Wagner's test	+	+	-	+	-
		Dragendorff's test	+	+	+	+	-
6	Carbohydrate	Molish test	+	+	+	+	+
7	Saponins	Frothing test	-	-	-	-	-
8	Proteins	Millon's test	+	+	+	+	+

(+) implies presence; (-) implies absence

Table 2. Total phenolic and total flavonoid contents of *L. usitatissimum* extracts

<i>L. usitatissimum</i> extracts	TPC(µg GAE/g) ^a	TFC µg QE/g) ^b	DPPH	Superoxide
			IC ₅₀ (µg/mL)	
Petroleum ether	30.22±1.17 ^b	-	345.06±13.11 ^a	287.18±5.11 ^b
Ethyl acetate	23.41±2.24 ^c	-	333.20±10.12 ^a	419.03±20.15 ^a
Butanol	43.33±2.77 ^a	29.55±0.15 ^a	203.73±14.13 ^b	241.90±19.55 ^c
Benzene	14.41±1.33d	-	351.69±12.44 ^a	376.88±25.55 ^a
Methanol	47.01±5.40 ^a	30.89±0.09 ^a	220.05±14.22 ^b	262.89±9.22 ^c
Ascorbic acid	-	-	179.84±24.55 ^{b,c}	222.13±16.11 ^c

Each value is expressed as the means±SE (n=3). For each treatment the means within the column by different letters are significantly different at $P<0.05$.

^aExpressed as µg of gallic acid equivalents (GAE); ^bexpressed as µg of quercetin equivalents (QE).

TPC: Total phenolics

TFC: Total flavonoids

Total phenolic and total flavonoid compounds

The flaxseed extracts obtained with methanol and butanol contained a higher amount of total phenolic compounds 47.01±5.40 and 43.33±2.77 µg gallic acid equivalents/g of extract respectively, while the lower level were observed with the benzene extract (14.41±1.33 µg gallic acid equivalents/g of extract).

Our results are in agreement with other reports demonstrated that methanolic solvent was more effective isolating phenolic compounds from different plant materials (Shabbir *et al.*, 2011). In addition, our data shows that flavonoid content of *L. usitatissimum* methanolic and butanolic extracts were 30.89±0.09 and 29.55±0.15 µg Quercetin equivalents/g of extract, respectively (Table 2).

Phenolic compounds are omnipresent secondary metabolites in plants and have wide range of therapeutic uses. The scavenging ability of phenolics is mainly due to the presence of hydroxyl groups. Flavonoids are a group of polyphenolic compounds which exhibit several biological effects such as anti-inflammatory, hepatoprotective, anti-ulcer, anti-allergic, anti-viral, anti-cancer activities. They also exhibit enzymes such as aldose reductase and xanthine oxidase. They are able to scavenge the reactive oxygen species because of their phenolic hydroxyl groups and are potent antioxidants (Bhaduria *et al.*, 2012).

DPPH radical scavenging activity

Petroleum ether, benzene, ethyl acetate, methanol and butanol extracts of *L. usitatissimum* exhibited a concentration dependent DPPH radical scavenging activity (Figure 1). At 800 µg/mL, DPPH radical scavenging activity of butanol and methanol extracts of *L. usitatissimum* were 96.2% and 93.1%, respectively. At this concentration, all the extracts exhibited a higher scavenging activity. The scavenging ability was in the order: butanol>

methanol>ethyl acetate>petroleum ether>benzene.

DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) analysis is one of the best-known, accurate, and frequently employed methods for evaluating antioxidant activity. It is a stable free radical which determines the ability of pure substances or crude extracts for trapping the unpaired electron species by donating hydrogen atoms or electrons, and producing in consequence the radical disappearance and the formation of less reactive species derived from the antioxidant (Parekh *et al.*, 2007).

In the present study the effect of different extracts of *L. usitatissimum* on DPPH scavenging was increasing with the increase in the concentration of the extracts from 50-800 µg/mL and it is thought to be due to their hydrogen donating ability. It has been observed that the extracts prepared in high polar solvents exhibited strong activities which indicates that varieties of polyphenols, and flavanoids trapped may play important role in these activities. The present findings are in agreement with the report of Tepen *et al.*, 2005; Battu *et al.*, 2011 for *Salvia tomentosa* and *Euphorbia heyneana*, respectively.

Superoxide radical scavenging activity

As shown in Figure 1, it points out that, at 800 µg/mL petroleum ether, butanol and methanol extracts showed a higher superoxide radical scavenging activities (87.1, 96.24 and 93.5%, respectively). All the concentrations of ethyl acetate showed a lower activity. The superoxide radical scavenging activity decreased in these order: butanol> methanol > petroleum ether > benzene > ethyl acetate.

Superoxide dismutase catalyses the dismutation of the highly reactive superoxide anion to oxygen and hydrogen peroxide. These species are produced by a number of enzyme systems in auto-oxidation reactions and by non-enzymatic electron transfers that reduce molecular oxygen. It can also decrease

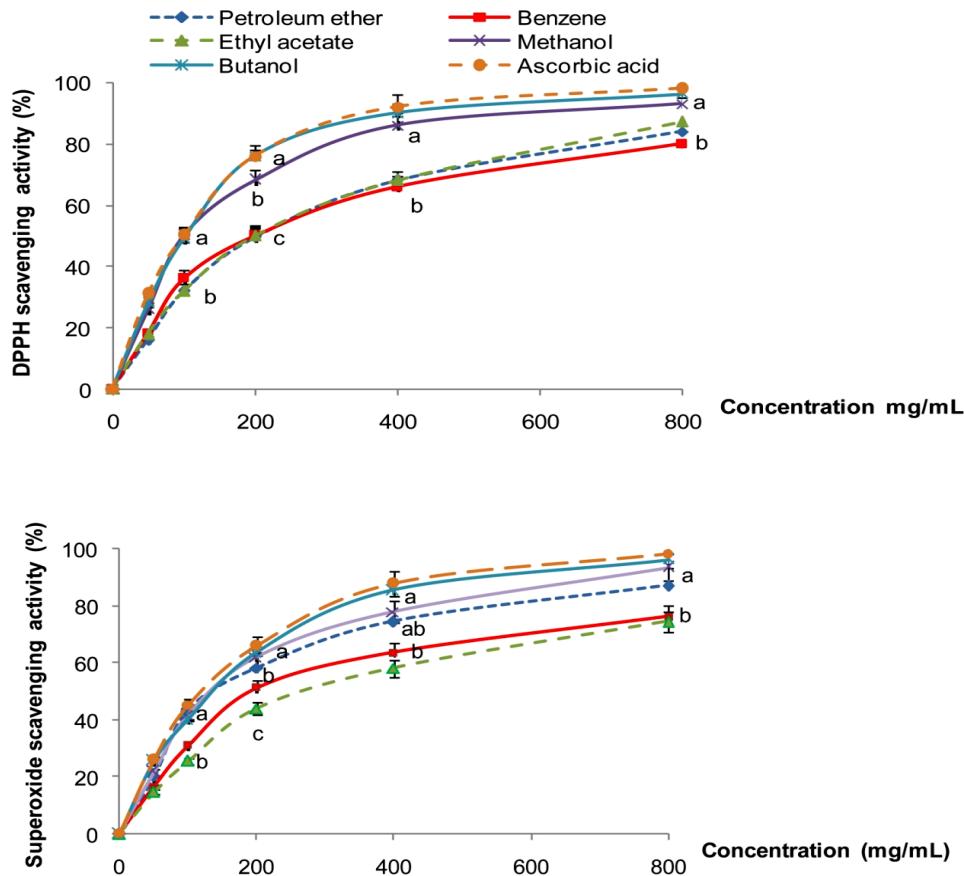


Figure 1. DPPH and superoxide scavenging activities of different extracts of *Linum usitatissimum* and standard ascorbic acid. Plots with different alphabets indicated on top are statistically different ($P < 0.05$)

certain iron complexes such as cytochromes (Sena *et al.*, 2009; Gulcin *et al.*, 2011). Superoxide anion is very harmful to cellular components (Korycka-Dahl and Richardson, 1978). They are effectively scavenged by flavonoids. Our data reveals that the different extracts of *L. usitatissimum* showed a potent superoxide scavenging activity when compared to ascorbic acid. Accordingly, it is suggested that the low to moderate ferrous ions chelating effects of these fractions would be rather beneficial to protect the cell against oxidative damage (Rajesh *et al.*, 2008). Similar trend of metal ion scavenging activity was observed in the species, *Acalypha fruticosa* (Thambiraj *et al.*, 2012), *Naregamiaalata* (Joseph *et al.*, 2010) and *Leucas ciliata* (Qureshi *et al.*, 2010).

IC_{50} values

The IC_{50} was utilized to classify antioxidant activity of a sample in comparison with the standard. The effective dose of 50% inhibition (IC_{50}) was also obtained from a plot of percentage inhibition beside extract concentration. All the experiments were run in triplicate and mean values therefore, were calculated against ascorbic acid as positive control

(Table 2). IC_{50} values of butanol and methanol extracts of *L. usitatissimum* for DPPH were found to be respectively 203.73 ± 14.13 and $220.05 \pm 14.22 \mu\text{g/mL}$. Moreover, for superoxide radical scavenging IC_{50} values were 241.90 ± 19.55 and $262.89 \pm 9.22 \mu\text{g/mL}$; these results were similar to the activity of the positive control, ascorbic acid 179.84 ± 24.55 and $222.13 \pm 16.11 \mu\text{g/mL}$.

For petroleum ether flaxseed extract, IC_{50} values of DPPH and superoxide radical scavenging were 345.06 ± 13.11 and $287.18 \pm 5.11 \mu\text{g/mL}$, respectively. A higher DPPH IC_{50} values were noted with ethyl acetate ($333.20 \pm 10.12 \mu\text{g/mL}$) and benzene ($351.69 \pm 12.44 \mu\text{g/mL}$) extracts. For superoxide radical scavenging, the values were 419.03 ± 20.15 and $376.88 \pm 25.55 \mu\text{g/mL}$, respectively; these results were increased approximately by 50% as compared to the butanol extract. Moreover, a highly relationships between the results of both DPPH• and superoxide scavenging activities and total phenolic compounds (TPC) (estimated with Folin-Ciocalteu reagent) ($r = +0.89$ and $+0.92$; $p < 0.01$). Our findings are in agreement with the report of Anwar, F and Przybysliski R (2012). Numerous investigations of the

antioxidant activity of plant extracts have confirmed a high correlation between the values of phenol concentration and antioxidant activity (Katalinić *et al.*, 2004; Borneo *et al.*, 2008), while other reports do not (Dasgupta and De, 2007). So, the extracts prepared in high polar solvents exhibited a strong activity which indicates that varieties of polyphenols, and flavonoids trapped may play important role in these activities.

Reducing power

The reducing power of different extracts of *L. usitatissimum* and standard ascorbic acid is illustrated in Figure 2. The extracts of *L. usitatissimum* exhibited a concentrated dependent increase in reducing power. Among all the different extracts studied, butanolic extract showed higher reducing power which is comparable to standard ascorbic acid. Our results are in agreement with those reported by Sangeetha *et al.* (2010) using *Sphaeranthus indicus* Linn. (Asteraceae).

Antioxidants may act as free radical scavengers, reducing agents, chelating agents for the transition of metals, quenchers of singlet oxygen molecules and or activators of antioxidative defense enzyme system to suppress the radical damages in biological systems (Prasad *et al.*, 2000; Zanwar *et al.*, 2011).

The reducing capacity of a compound may serve as an important indicator of its potential antioxidant activity (Ho *et al.*, 2012). The reducing properties are generally associated with the presence of reductones (Krishnamoorthy *et al.*, 2011). According to Gordan (1990), antioxidant action of reductones is based on the breaking of the free radical chain by donating

a hydrogen atom. Our results showed that butanol extract exhibited the highest reducing power than all other extracts in the higher concentration of 800 µg/mL and the value was comparable to that of the standard (Figure 2). The marked antioxidant activity of *L. usitatissimum* may be due to the presence of polyphenols which may act as reductones to convert free radicals into more stable products and terminate free radical chain reaction. Similar trend of observation on polyphenolic constituents' dose dependent reducing power activity has been reported for several other plant extracts (Zhu *et al.*, 2002; Amarowicz *et al.*, 2004).

Conclusion

The medicinal properties of plants have been the centre of attraction for researchers in recent scientific developments throughout the world, due to their potent antioxidant properties and economic viability. Based upon the results of the present investigation it can be concluded that butanol and methanol are the most effective solvents for recovering antioxidant components from flaxseed. It is further recommended to optimize the antioxidant extraction efficacy of these solvents using different extraction techniques. The medicinal properties of flaxseed extract may be due to the presence of above mentioned phytochemicals rendering them as a potential source for the isolation of compounds for development of nutraceuticals. Based on the previous results, pharmacognostical studies are suggested to confirm the antioxidant ability before going for commercialization.

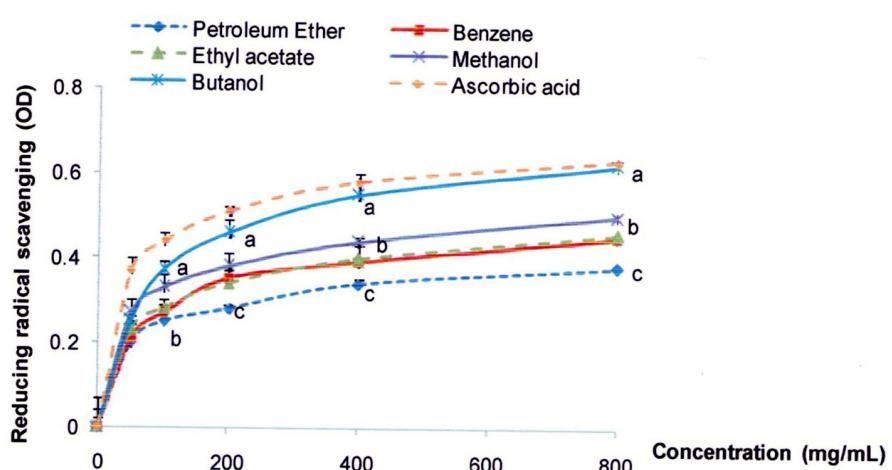


Figure 2. Reducing power of different extracts of *L. usitatissimum* and standard ascorbic acid. Plots with different alphabets indicated on top are statistically different ($P < 0.05$)

Acknowledgment

This work was supported by the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research.

References

Adebayo, A.H., Song, F.H., Liu, X.T., Dai, H., Huang, P., Zhang, J. and Zhang, L.X. 2014. *Citrillus lanatus* extract reverses oxidative and haematological dysfunction in carbon tetrachloride induced liver damaged rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 10: 218-224.

Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Mohaddam, P., Barl, B. and Weil, J.A. 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairie. *Food Chemistry* 84: 551-562.

Anwar, F and Przybylski R. 2012. Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 11(3): 293-301.

Arvindkumar, E., Suresh, S., Jadhav, A., Subhash, L. and Bodhankar, E. 2012. Effect of ethanolic extract of seeds of *Linum usitatissimum* (Linn.) in hyperglycaemia associated ROS production in PBMNCs and pancreatic tissue of alloxan induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 405-410.

Battu, G.R., Ethadi, S.R., Veda Priya, G., Swathi Priya, K., Chandrika, K., Venkateswara Rao, A. and Satya, O.R. 2011. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of *Euphorbia heyneana* Spreng. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*: 191-194.

Bhaduria, P., Arora, B., Vimal, B. and Kulshrestha, A. 2012. *In vitro* antioxidant activity of *Coccinia grandis* root extracts. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences* 2(3): 230-238.

Borneo, R., león, E.A., Aguirre, A., Ribotta, P. and Cantero, J.J. 2008. Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Cordoba (Argentina) and their *in vitro* testing in model food system. *Food Chemistry* 112:664-670.

Burgos, G., Amoros, W., Muñoa, L., Sosa, P., Cayhualla, E., Sanchez, C., Díaz, C. and Bonierbale, M. 2013. Total phenolic, total anthocyanin and phenolic acid concentrations and antioxidant activity of purple-fleshed potatoes as affected by boiling. *Journal of Food Composition and Analysis* 30(1): 6-12.

Chanda, S. and Dave, R. 2009. *In vitro* models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research* 3(13): 981-996.

Chiang, C.J., Kadouh, H. and Zhou, K. 2013. Phenolic compounds and antioxidant properties of gooseberry as affected *in vitro* digestion. *Food Science and Technology* 51(2): 417-422.

Chirinos, R., Pedreschi, R., Rogez, H., Larondelle, Y. and Campos, D. 2013. Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. *Industrial Crops and Products* 47: 145-152.

Dasgupta, N. and De, B. 2007. Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study. *Food Chemistry* 101: 471-474.

Faller, A.L.K. and Fialho, E. 2010. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 23(6): 561-568.

Gordan, M.H. 1990. Food antioxidants. London/New York: Elsevier.

Gülçin, I., Alici, H.A. and Cesur, M. 2005. Determination of *in vitro* antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 53(3): 281-285.

Ho, Y.L., Huang, S.S., Deng, J.S., Lin, Y.H., Chang, Y.S. and Huang, G.H. 2012. *In vitro* antioxidant properties and total phenolic contents of wetland medicinal plants in Taiwan. *Botanical Studies* 53: 55-66.

Hosseini, F.S., Muir, A.D., Westcott, N.D. and Krol E.S. 2006. Antioxidant capacity of flaxseed lignans in two model systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 83: 835-840.

Jayaprakasha, G.K. and Rao, L.J.M. 2000. Phenolic constituents from the Lichen *Parmotrema stipuppeum* (Nyl.) Hale and their antioxidant activity. *Journal of Biosciences* 55(11-12): 1018-1022.

Joseph, J.M., Sowndhararajan, K., Loganayaki, N. and Manian, S. 2010. *In vitro* antioxidant potential of different solvent extracts of *Naregamia alata*. *American Journal of Pharmacy* 29(8): 1463-1467.

Katalinić, V., Miloš, M., Kulišić, T. and Jukić, M. 2004. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry* 94:550-557.

Kitts, D.D., Yuan, Y.V., Wijewickreme, A.N. and Thompson, L.U. 1999. Antioxidant activity of the flaxseed lignan Secoisolariciresinol diglycoside and its mammalian lignin metabolites enteroliod and enterolactone. *Molecular and Cellular Biochemistry* 202: 91-100.

Korycka-Dahl, M. and Richardson, T. 1978. Photogeneration of superoxide anion in serum of bovine milk and in model systems containing riboflavin and amino acids. *Journal of Dairy Science* 61: 400-407.

Krishnamoorthy, M., Sasikumar, J.M., Shamna, R., Pandiarajan, C., Sofia, P. and Nagarajan, B. 2011. Antioxidant activities of bark extract from mangroves, *Bruguiera cylindrica* (L.) Blume and *Ceriops decandra* Per. *Indian Journal Pharmacology* 43(5): 557-562.

Kumar, R.S. and Hemalatha, S. 2011. *In vitro* antioxidant activity of alcoholic leaf extract and subfractions of *Alangium lamarckii* Thwaites. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 3: 259-267.

McDonald, S., Prenzler, P. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry* 73: 73-84.

Milder, I.E.J., Arts, I.C.W., Van de Putte, B., Venema, D.P. and Hollman, P.C.H. 2005. Lignan contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *British Journal of Nutrition* 93: 393-402.

Narasinga, R. 2003. Bioactive phytochemicals in Indian foods and their potential in health promotion and disease prevention. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 12 (1): 9-22.

Parekh, J., Darsharna, J. and Chanda, S. 2007. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antimicrobial activity. *Turkish Journal of Biology* 29: 203-210.

Prasad, K., Mantha, S.V., Muir, A.D. and Westcott, N.D. 2000. Protective effect of secoisolariciresinol diglucoside against streptozotocin induced diabetes and its mechanism. *Molecular and cellular Biochemistry* 206: 141-150.

Qureshi, M.N., Kuchekar, S.B., Logade, N.A. and Haleem, M.A. 2010. *In vitro* Antioxidant and *In vivo* Hepatoprotective activity of Leucasciliata leaves. *Records of Natural Products* 4(2): 124-130.

Rajesh, M., Nagarajan, A., Perumal, S. and Sellamuthu, M. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of Camellia sinensis, Ficus bengalensis and Ficusracemosa. *Food Chemistry* 107: 1000-1007.

Rosenfeldt, F., Wilson, M., Lee, G., Kure, C., Braun, L. and Haan, J. 2013. Oxidative stress in surgery in an ageing population: Pathophysiology and therapy. *Experimental Gerontology* 48(1): 45-54.

Saminathan, M., Rai, R.B., Dhama, K., Tiwari, R. and Chakraborty, S. 2013. Systematic review on anticancer potential and other health beneficial pharmacological activities of novel medicinal plant Morinda citrifolia (Noni). *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 9: 462-492.

Sangeetha, S., Marimuthu, P., Doraisamy, P. and Sarada, D.V.L. 2010. Evaluation of antioxidant activity of the antimicrobial fraction from Sphaeranthus indicus. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 1(2): 431-436.

Sena, L.M., Zucolotto, S.M., Schenkel, E.P. and De lima, T.C. 2009. Neuropharmacological activity of the pericarp of Passiflora edulis flavicarpa degener: putative involvement of C-glycosyl flavonoids. *Experimental Biology and Medicine* 234: 967-975.

Shabbir, G., Anwar, F., Khalid, Z.M., Afzal, M., Khan, M.Q. and Ashrafuzzaman, M. 2011. Antioxidant and antimicrobial attributes and phenolics of different solvent extracts from leaves, flowers and bark of Gold Mohar. *Molecules* 16: 7302-7319.

Shen, Q., Zhang, B., Xu, R., Wang, Y., Ding, X. and Li, P. 2010. Antioxidant activity *in vitro* of selenium-contained protein from the Se-enriched. *Bifidobacterium animalis* 01. *Anaerobe* 16: 380-386.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.

Sreeramulu, D. and Raghunath, M. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food Research International* 43: 1017-1020.

Srinivasan, R., Chandrasekar, M.N.J., Nanjan, M.J. and Suresh, B. 2007. Antioxidant activity of Caesalpinia digyna root. *Journal of Ethnopharmacology* 113: 284-291.

Tarpila, A., Wennberg, T. and Tarpila, S. 2005. Flaxseed as a functional food. *Current Topics in Nutraceutical Research* 3: 167-188.

Tawheed, A. and Monika, T.A. 2014. Comparative study on proximate composition, phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of Linum usitatissimum L. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(4): 465-481.

Tepen, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. and Polissiou, M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry* 90(3): 333-340.

Thambiraj, J., Paulsamy, S. and Sevugaperumal, R. 2012. Evaluation of *in vitro* antioxidant activity in the traditional medicinal shrub of western districts of Tamilnadu, India, *Acalypha fruticosa* Forssk. (Euphorbiaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2(1): S127-30.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. and Kaur, H. 2011. Phytochemical screening and extraction. *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 1(1): 98-106.

Yamuna, S.T. and Padma, P.R. 2013. Antioxidant potential of the flowers of Caesalpinia pulcherrima, Swartz in an *in vitro* system subjected to oxidative stress. *Journal of Pharmacy Research* 7(7): 661-665.

Zanwar, A.A., Hegde, M.H. and Bodhankar, S.L. 2011. Cardioprotective activity of flax lignin concentrate extracted from seeds of *L. usitatissimum* in isoprenalin induced myocardial necrosis in rats. *Interdisciplinary Toxicology* 4: 90-97.

Zhu, Q.Y., Hackman, R.M., Ensunsa, J.L., Holt, R.R. and Keen, C.L. 2002. Antioxidative activities of oolong tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(23): 6929-6934.

RESUME

Le but de cette étude est de voir si le traitement avec la graine de *Linumusitatissimum(Lu)* peut corriger l'hyperglycémie, la dyslipidémie, le stress oxydatif et l'inflammation induits chez le rat Wistar rendu diabétique par injection de streptozotocine (STZ). Les constituants phytochimiques des différents extraits de *Lu* sont déterminés selon des méthodes de criblage préliminaire. De plus, les teneurs en polyphénols et flavonoïdes des différents extraits ont été mesurés. L'activité antiradicalaire des différents extraits a été évaluée en utilisant des tests chimiques tels que les tests du piégeage du radical 1,1-diphénol-2-pycrilhydrazil (DPPH), de l'anion superoxyde (O_2^-) et le test de réduction du fer (FRAP). Les extraits préparés dans des solvants à polarité élevée ont montré des activités plus importantes, ce qui témoigne que les variétés de polyphénols et des flavonoïdes piégés peuvent jouer un rôle important dans ces activités. Des rats mâles Wistar (n=12) pesant 267 ± 5 g sont rendus diabétiques de type 1 par injection intrapéritonéale de STZ (60 mg/kg poids corporel) et divisés en deux groupes: Un groupe diabétique non traité (n=6) consommant un régime à 20% de caséine (D) et un groupe traité (n=6) soumis au même régime supplémenté avec 10g/kg de poudre de *Lu* (D-*Lu*). Le groupe témoin (T) (n=6) consommant un régime à 20% de caséine, pendant 56 jours. En conclusion, il apparaît que chez le rat rendu diabétique par injection de la streptozotocine, le traitement avec la graine de *Linumusitatissimum* induit des effets hypoglycémiant et hypolipémiants. De plus, cette graine réduit le stress oxydant en réduisant la peroxydation lipidique et en augmentant l'activité de certaines enzymes antioxydantes au niveau des érythrocytes, du plasma et des tissus. De plus elle agit favorablement sur les teneurs des cytokines proinflammatoires (TNF- α , IL-1 et IL-6) et améliore les aspects histologiques du foie, du rein et du pancréas. En effet, la graine de Lin pourrait être utilisée pour prévenir et/ou atténuer les complications associées au diabète.

Mots Clés :

Rat; Streptozotocine; *Linumusitatissimum*; Glycémie; HbA₁C; Cholestérol; Triglycérides; Peroxydation lipidique; TBARS; SOD; GSH-Px; GSSH-red; CAT.