

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT LMD 3^{ème} cycle

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Fondamentale et Appliquée

THEME

L'EFFET PROTECTEUR DES ANTIOXYDANTS NATURELS
(*Crataegus azarolus* et *Avena sativa*) SUR LE DEVELOPPEMENT DE
DIABETE CHEZ LES RATS ALIMENTES PAR UN REGIME
ALIMENTAIRE CARENCE EN ZINC.

Présentée par : M. TRIKI Ramzi

Directeur de thèse : KECHRID Zine

Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba

Membres de Jury:

Président : M. MESSARAH Mahfoud

Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba

Examineurs : M. BOUMENDJEL Mahieddine

Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba

M. KHIARI Mohamed

MCA, Université Med Chérif Messaadia-Souk-Ahras

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Tout d'abord, je souhaite exprimer ma gratitude à **ALLAH**, qui m'a accordé la force et la détermination nécessaires pour entreprendre ce voyage académique.

Je tiens également à remercier chaleureusement mon directeur de thèse, le Professeur **Zine KECHRID**, de l'Université Badji Mokhtar-Annaba, pour sa guidance éclairée, son encouragement constant et sa patience infinie. Votre expertise a été cruciale pour la réussite de ce projet.

Mes remerciements s'étendent également au Professeur **Mahfoud MESSARAH**, de l'Université Badji Mokhtar-Annaba, pour avoir accepté de présider le jury de ma thèse, ainsi qu'aux Professeurs **Mahieddine BOUMENDJEL** de l'Université Badji Mokhtar-Annaba et **Mohamed KHIARI** Maître de conférences A à l'Université Mohamed Chérif Messaadia-Souk-Ahras, d'avoir accepté d'être les examinateurs de ma thèse. Votre évaluation critique a enrichi mon travail de manière significative.

Un grand merci à monsieur **Kamel BOULEZAZ**, responsable du laboratoire-ONAB, El-Harrouche, pour son soutien et ses précieux conseils.

Je tiens à remercier aussi monsieur **Mohamed Lyamine Chelaghmia** du Laboratoire d'Analyses Industrielles et Génie des Matériaux, Département de Génie des Procédés à l'Université 8 mai 1945, pour son aide précieuse dans le dosage du zinc par absorption atomique.

Enfin, je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux membres du Département de Biochimie, aux membres du laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquées, ainsi qu'à tous mes enseignants tout au long de mon parcours.

Dédicaces

À la mémoire de mon frère, **Triki Walid**, dont l'amour et le soutien continuent de m'inspirer chaque jour. Ta présence me manque profondément, mais ton esprit et tes encouragements m'ont accompagné tout au long de cette aventure académique. Cette thèse est dédiée à toi, avec tout mon amour.

À ma famille, pour votre amour inconditionnel, votre soutien indéfectible et vos sacrifices sans fin. Cette thèse est le fruit de nos rêves partagés et de notre persévérance collective.

À ma chère épouse **Boughediri Khaoula**, pour votre patience, votre compréhension et votre amour inébranlable. Vous avez été ma source constante de réconfort et de motivation.

Et à mon petit bébé, **Triki Ouais**, qui apporte une joie immense dans ma vie et me donne la force de persévérer. Puisse-tu grandir en sachant que cette réalisation est aussi pour toi.

À mes amis et collègues, pour les moments de joie, de collaboration et d'encouragement que nous avons partagé. Votre amitié a éclairé ces années d'études.

À tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de cette thèse, je vous exprime ma gratitude sincère. Cette dédicace est un témoignage de l'importance que chacun d'entre vous a eu dans cette réussite.

Avec tout mon respect et ma reconnaissance

Table des matières

Résumé

Abstract

المخلص

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Introduction 1

Chapitre I : Le Diabète

1. Définition et prévalence du diabète sucré 4

2. Classification du diabète sucré 4

 2.1. Diabète de type 1 (DT1)..... 4

 2.2. Diabète de type 2 (DT2)..... 5

 2.3. Le diabète gestationnel..... 5

 2.4. Diabète mitochondrial 6

 2.5. Le diabète expérimental 6

3. Régulation physiologique de la glycémie 7

 3.1. L'homéostasie glucidique..... 7

 3.2. Action et Sécrétion de l'insuline 8

4. Physiopathologie du diabète 11

 4.1. Physiopathologie de DT1 11

 4.1.1. Effets sur le métabolisme du glucose 11

 4.1.2. Effets sur les protéines..... 11

 4.2. Physiopathologie du DT2..... 12

5. Les complications du diabète 12

 5.1. Les complications métaboliques aiguës 12

 5.2. Les complications chroniques 13

6. Traitement du diabète 14

Chapitre II : Le Stress Oxydatif

1. Définition du Stress Oxydatif..... 16

2. Les Espèces Réactives de l'oxygène	16
3. Le stress oxydant et les facteurs le favorisant	17
4. Principales cibles biologiques des ERO	19
4.1. L'Acide désoxyribonucléique (ADN)	19
4.2. Les protéines	19
4.3. Les lipides membranaires	19
4.4. Les lipoprotéines	19
5. Les défenses antioxydantes	20
6. Une pathologie associée au stress oxydant : le diabète	20
6.1. L'activation de la voie des polyols	21
6.2. La Production de produits terminaux de glycation (AGE)	21
6.3. L'auto-Oxydation du Glucose	21
6.4. L'activation de la protéine kinase C (PKC)	22

Chapitre III : Le Zinc

1. Généralités	23
2. Sources alimentaires	23
3. Le Métabolisme du zinc	24
3.1. Absorption	24
3.2. Transport	24
3.3. Régulation de l'homéostasie du zinc	25
3.4. Excrétion	26
4. Rôle du zinc	26
4.1. Rôle physiologique du zinc	26
4.2. Zinc et métabolisme glucidique	27
4.3. Zinc et stress oxydatif	28
5. La carence en zinc	30

Chapitre IV : L'azérolier (*Crataegus azarolus*)

1. Généralité	31
1.1. Etymologie	31
1.2. Description de l'espèce	31

1.3. Classification botanique	33
1.4. Origine et répartition	33
2. Propriétés pharmacologiques	34

Chapitre V : L'avoine (*Avena sativa*)

1. Généralité	36
2. Classification botanique	37
3. Phyto-constituants	38
4. Valeur nutritionnelle	39
5. Utilisations	40
5.1. Usages traditionnels	40
5.2. Aliments et santé	41
5.3. Nutraceutiques et pharmaceutiques modernes	41
6. Effets Pharmacologiques et essais Cliniques de l'avoine	42

Chapitre VI : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel Végétal	45
1.1. Description de la région	45
1.2. Récolte de la plante	45
1.3. Analyse phytochimique de la plante	46
1.3.1. Aspect qualitatif	46
1.3.2. Aspect quantitatif	48
1.4. Le pouvoir antioxydant de la plante « test au DPPH° »	49
2. Matériel Biologique et condition d'élevage	51
3. Induction du diabète	51
4. Composition de régimes alimentaires	52
5. Constitution des groupes expérimentaux	53
6. Prélèvement des échantillons	54
6.1. Prélèvement sanguin	54
6.2. Prélèvement des organes	54
7. Techniques de dosage	56
7.1. Dosage Du zinc	56
7.2. Dosage des paramètre Biochimique	56

7.2.1. Test de Tolérance au Glucose Oral (TTGO)	56
7.2.2. Dosage de l'insuline	57
7.2.3. Dosage Du Glucose	57
8. Dosage des paramètres du stress oxydant	58
8.1. Préparation de l'homogénat	58
8.2. Dosage des protéines.....	58
8.3. Détermination du taux de Malondialdéhyde (MDA) au niveau tissulaire	58
8.4. Détermination du taux de glutathion réduit (GSH).....	60
8.5. Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px).....	62
8.6. Détermination de l'activité enzymatique de la catalase (CAT).....	63
8.7. Détermination de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD)	64
8.8. Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion réductase (GR)	65
9. Technique histologique.....	66
10. Présentation des résultats et analyses statistiques	68

Chapitre VII : Résultats & Discussion

Résultats	69
1. Analyse phytochimique et activité antioxydante.....	69
2. Etude pondérale.....	70
2.1. Effet sur la croissance corporelle et la consommation journalière en aliment.....	70
2.2. Effet sur le poids absolu et relatif de certains organes	72
3. Influence du traitement sur le statut du zinc	75
4. Etude biochimique	77
4.1. Bilan glucidique	77
4.1.1. Test de Tolérance au Glucose Oral (TTGO).....	77
4.1.1. Glycémie.....	78
4.1.2. Insulinémie	80
4.2. Bilan Lipidique.....	81
4.2.1. Cholestérol total.....	81
4.2.2. Triglycérides	82
4.3. Bilan Protéique.....	83
4.3.1. Protéines totales	83
4.3.2. Albumine	84

4.4. Bilant hépatique	85
4.4.1. Activité des transaminases SGOT (ASAT), SGPT (ALAT).....	85
4.4.2. Activité des Phosphatases alcalines (PAL).....	86
4.4.3. Activité des lactates déshydrogénases (LDH).....	87
4.4.4. Bilirubine Total et Direct.....	88
4.5. Bilan Rénales	89
4.5.1. Urée et acide urique.....	89
4.5.2. Créatinine sanguine	91
4.6. Bilan pancréatique.....	91
4.6.1. Activité enzymatique de α -Amylase	91
5. Influence du traitement sur la variation de paramètres du stress oxydant	92
5.1. Effet sur le taux du malondialdéhyde (MDA).....	92
5.2. Effet sur les systèmes antioxydants non-enzymatiques	94
5.2.1. Taux du glutathion réduit (GSH).....	94
5.3. Effet sur les systèmes antioxydants enzymatiques.....	95
5.3.1. Activité enzymatique de la Glutathion peroxydase (GSH-Px).....	95
5.3.2. Activité enzymatique de la catalase (CAT)	96
5.3.3. Activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD).....	98
5.3.4. Activité enzymatique de la glutathion réductase (GR).....	100
6. Etude Histologique.....	102
Discussion	103
Conclusion et perspectives.....	114
Références	117
Annexe 1 : Les Courbes D'étalonnages	133
Annexe 2 : Dosage des paramètres Biochimiques selon la fiche technique (<i>ERBA XL-600</i>)	136

Résumé

Le zinc joue un rôle crucial dans la biosynthèse et le stockage de l'insuline, impactant significativement la progression du diabète et ses complications. Cette étude explore l'effet de l'extrait aqueux de l'azérolier "*Crataegus azarolus*" et la supplémentation en avoine "*Avena sativa*" sur les paramètres biochimiques sanguins, le statut en zinc des tissus, et les biomarqueurs du stress oxydatif chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine et nourris avec un régime pauvre en zinc.

Quarante rats mâles albinos de la souche Wistar ont été répartis en cinq groupes (huit chacun), comprenant deux groupes nourris avec un régime adéquat en zinc : non-diabétique (ND) et diabétique (DAZ). Les trois autres groupes de rats diabétiques ont reçu un régime déficient en zinc : un groupe non traité (DCZ), le deuxième et le troisième groupe traités avec l'extrait de *Crataegus azarolus* (150 mg/kg de poids corporel) (DCZ + Ab) ou une supplémentation en avoine dans l'aliment à 10 % (DCZ + Av). Le poids corporel et la consommation alimentaire ont été enregistrés régulièrement, et les animaux ont été sacrifiés après quatre semaines de manipulation diététique.

Le régime alimentaire pauvre en zinc a entraîné une diminution du poids corporel, la concentration de l'insuline, les niveaux de zinc dans les tissus (fémur, foie, rein, et pancréas), ainsi que des concentrations de glutathion (GSH), et les activités de lactate déshydrogénase (LDH), catalase (CAT), superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase (GSH-Px), et l'activité de glutathion réductase (GR). Une ingestion inadéquate de zinc a également augmenté les concentrations de glucose, cholestérol, triglycérides, urée, acide urique, créatinine, niveaux de peroxydation lipidique, et activités de transaminases. Cependant, l'administration orale de l'extrait d'azérolier ou la supplémentation en avoine a restauré la plupart de ces paramètres à des valeurs approximativement normales.

En conclusion, Cette étude démontre que l'administration de l'extrait aqueux de *Crataegus azarolus* ou la supplémentation en avoine, agissant probablement comme des antioxydants, peut constituer une source naturelle pour réduire le développement du diabète au cours de la carence en zinc.

Mots-clés : *Crataegus azarolus* ; *Avena sativa* ; Diabète ; Déficience en zinc ; Stress oxydatif ; Antioxydant

Abstract

Zinc plays a crucial role in the biosynthesis and storage of insulin, significantly impacting the progression of diabetes and its complications. So, this study explores the effect of aqueous extract of hawthorn "*Crataegus azarolus*" and supplementation with oats "*Avena sativa*" on blood biochemical parameters, tissue zinc status, and oxidative stress biomarkers in streptozotocin diabetic rats fed a zinc-deficient diet.

Forty male Wistar albino rats were divided into five groups (eight each), including two groups fed a zinc-adequate diet: non-diabetic (ND) and diabetic (DAZ). The others three diabetic groups were given a zinc-deficient diet: one untreated group (DCZ), the second and the third groups treated with *Crataegus Azarolus* extract (150 mg/kg body weight) (DCZ + Ab) or 10% oat supplementation in diet (DCZ + Av). Body weight and food intake were recorded regularly, and the animals were sacrificed after four weeks of dietary manipulation.

Zinc-deficient diet led to a decrease in body weight, insulin, and zinc levels in tissues (femur, liver, kidney, and pancreas), as well as concentrations of glutathione (GSH), lactate dehydrogenase (LDH), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), and glutathione reductase (GR) activities. Inadequate zinc intake increased also glucose, cholesterol, triglyceride, urea, uric acid, creatinine, lipid peroxidation levels, and transaminase activities. However, oral administration of hawthorn extract or oat supplementation improved most the previous parameters to their approximately normal values.

In conclusion, this study demonstrates that the administration of aqueous extract of *Crataegus azarolus* or oat supplementation, likely acting as antioxidants, may serve as a natural source to reduce the development of diabetes in zinc deficiency.

Keywords: *Crataegus azarolus*, *Avena sativa*, Diabetes, Zinc deficiency, Oxidative stress, Antioxidant

الملخص

يلعب الزنك دورًا هامًا في إفراز وتخزين الأنسولين، مما يؤثر بشكل كبير على تقدم مرض السكري ومضاعفاته. لذلك تهدف هذه الدراسة لتحديد تأثير المستخلص المائي لأوراق الزعرور "*Crataegus azarolus*" وكذلك تأثير إضافة الشوفان "*Avena sativa*" على المعايير الكيميائية في الدم، وحالة الزنك في الأنسجة، ومؤشرات الإجهاد التأكسدي عند الجرذان المصابة بالسكري بفعل الستربتوزوتوسين والتي وضعت تحت نظام غذائي فقير لعنصر الزنك.

تم توزيع أربعين جرثًا ذكرًا من نوع Wistar albinos إلى خمس مجموعات متساوية (ثمانية في كل مجموعة)، بما في ذلك مجموعتان تتغذيان على نظام غذائي غني بالزنك: مجموعة غير مصابة بالسكري (ND) والأخرى مصابة بالسكري (DAZ). بينما تم تغذية المجموعات الثلاث الأخرى من الجرذان المصابة بالسكري بنظام غذائي فقير من عنصر الزنك: مجموعة غير معالجة (DCZ)، وتم علاج مجموعة بمستخلص الزعرور "*Crataegus Azarolus*" (150 ملغ/كغ من وزن الجسم) (DCZ + Ab) ومجموعة تمت معالجتها بإضافة نسبة 10% من الشوفان للغذاء (DCZ + Av). تم تقدير الوزن وكمية الغذاء بانتظام.

أدى نقص الزنك في النظام الغذائي إلى انخفاض في الوزن وتركيز الأنسولين، ومستويات الزنك في الأنسجة (الفخذ، الكبد، الكلية، والبنكرياس)، بالإضافة إلى انخفاض في تراكيز الجلوتاثيون (GSH)، ونشاطات لاكتات ديهيدروجيناز (LDH)، والكاتالاز (CAT)، والسوبر أكسيد ديسموتاز (SOD)، وجلوتاثيون بيروكسيداز (GSH-Px)، ونشاط جلوتاثيون ريدوكتاز (GR). كما لوحظ ان نقص الزنك في النظام الغذائي أدى إلى زيادة تراكيز الجلوكوز والكوليسترول والتريجليسيريدات واليوريا وحمض اليوريك والكرياتينين، ومستويات التأكسد الدهني. ولكن، أدت المعالجة بمستخلص أوراق الزعرور وإضافة الشوفان، إلى تحسين جميع هذه المعايير، وإعادتها تقريبًا إلى مستوياتها وقيمها الطبيعية.

خلاصة، أظهرت هذه الدراسة أن إعطاء المستخلص المائي لأوراق الزعرور وإضافة الشوفان للغذاء، على الأرجح بوصفهما مضادات الأكسدة، قد يكون مصدرًا طبيعيًا لتقليل تطور مرض السكري الناجم عن نقص الزنك.

مفتاح الكلمات: الزعرور، الشوفان، السكري، نقص الزنك، الإجهاد التأكسدي، مضاد للأكسدة.

LISTE DES ABREVIATIONS

A

ADO:	Les Antidiabétiques Oraux.
ADP:	Adénosine Diphosphate.
AGEs:	Les Produits Finaux de Glycation Avancée.
AGPI:	Les acides gras poly-insaturés.
ATP:	Adénosine Triphosphate.
AVC:	Les accidents vasculaires cérébraux.

C

CAT:	La Catalase.
CDNB:	Le 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène.
CML:	Le résidu Carboxy-Méthyl-Lysine.

D

DAZ:	Le groupe des rats Diabétiques sous un régime alimentaire Adéquat en Zinc.
DCZ:	Le groupe des rats Diabétiques sous un régime alimentaire Carrencé en Zinc.
DCZ + Ab:	Le groupe des rats diabétiques traités par un extrait aqueux de l'Azérolier.
DM:	Le Diabète Sucré (Diabetes Mellitus).
DPPH:	Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle.
DT1:	Le diabète de type 1.
DT2:	Le Diabète de Type 2.
DTNB:	L'Acide 5,5' Di-Thiodis-2-Nitro-Benzoïque.

E

ERO:	Les Espèces Réactives de l'Oxygène.
-------------	-------------------------------------

F

Fe Cl₃:	Le Chlorure de Fer (III).
---------------------------	---------------------------

G

GAD:	La Glutamate Décarboxylase.
GLUT2:	Glucose Transporter
GR:	La Glutathion Réductase.
GSH:	Le glutathion réduit.
GSH-Px:	Le Glutathion Peroxydase.
GST:	Le glutathion-S-transférase.

H

H₂O₂: Le peroxyde d'hydrogène.
HLA: Human Leucocyte Antigen.

8-OH-dG: La 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine

HMG CoA: La 3-Hydroxy-3 Méthyl-Glutaryl-Co A.

L

LDH: Lactate Déshydrogénase.

M

MDA: Le Malondialdéhyde.
MIDD: Maternally Inherited Diabetes and Deafness.
MNU: La 1-Méthyl-N-Nitroso.
MODY: Maturity Onset Diabetes of the Young.

N

NADPH: Le Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
NaNO₂: Le Nitrite de Sodium.
ND: Le groupe témoin Non-Diabétique.
NF-κB: Nuclear Factor kappa-B.

P

PAL: La Phosphatase Alcaline.

R

RDA: Apport Journalier Recommandé (Recommended Daily Allowance)

S

SOD: La Superoxyde Dismutase.
STZ: La Streptozotocine.

T

T1DM: Le Diabète Sucré de Type 1.
T2DM: Le Diabète Sucré de Type 2.
TBARS: Thio-Barbituric Reactive Species.
TG: Triglycérides.
TGO: La Transaminase-Glutamo-Oxaloacétique.
TGP: La Transaminase-Glutamo-Pyruvique.
TNB: La Thio-Nitro-Benzoïque.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Le mécanisme d'action de la streptozotocine dans les cellules bêta pancréatiques.	7
Figure 2: Régulation de l'homéostasie glucidique.....	8
Figure 3: Structure de l'insuline	9
Figure 4: Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique.....	10
Figure 5 : Quelques angiopathies associées au diabète	14
Figure 6: Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (ERO) et des antioxydants régulateurs de leur production.	20
Figure 7: Schéma illustrant les deux principales familles de transporteurs transmembranaires (ZnT ; Zip) impliquées dans la régulation de l'homéostasie cellulaire du zinc.	26
Figure 8: Représente l'implication du zinc dans la sécrétion de l'insuline.....	28
Figure 9: Implication du zinc dans les mécanismes antioxydants.....	29
Figure 10: Morphologie détaillée du <i>Crataegus azarolus</i>	32
Figure 11: Représente la répartition du <i>Crataegus</i> en Algérie.	34
Figure 12: La commune de Aïn-Berda wilaya d'Annaba.....	45
Figure 13: Forme libre et réduite du DPPH°	50
Figure 14: Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	55
Figure 15: Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide Thiobarbiturique.....	59
Figure 16: Principe de dosage du glutathion.	61
Figure 17: Oxydation de l'adrénaline en adrénochrome via l'anion superoxyde.....	64
Figure 18: Réaction d'oxydoréduction catalysée par GR.....	65
Figure 19: Variation du poids corporel chez les groupes expérimentaux pendant 28 jours de traitement.	71
Figure 20: Variation de la consommation alimentaire chez les groupes expérimentaux.....	72
Figure 21: La concentration du zinc dans le fémur des groupes expérimentaux.	75
Figure 22: La concentration du zinc dans le foie des groupes expérimentaux.....	76
Figure 23: La concentration du zinc dans le pancréas des groupes expérimentaux.	76
Figure 24: La concentration du zinc dans les reins des groupes expérimentaux.....	76

Figure 25: Evolution de la glycémie à jeun chez les groupes expérimentaux pendant 28 jours de traitement.....	79
Figure 26: Pourcentage de variation de la glycémie chez les groupes expérimentaux.	79
Figure 27: Concentration sérique de l'insuline chez les groupes expérimentaux.	81
Figure 28: Variation de la concentration plasmatique de cholestérol total (mg/dl) chez les groupes expérimentaux.	82
Figure 29: Variation de la concentration plasmatique de triglycérides (g/l) chez les groupes expérimentaux.	83
Figure 30: Variation de la concentration plasmatique de protéines totales chez les groupes expérimentaux.	84
Figure 31: Variation de la concentration plasmatique d'albumine chez les groupes expérimentaux. ..	84
Figure 32: Variation de l'activité enzymatique de l'ASAT chez les groupes expérimentaux.	85
Figure 33: Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT chez les groupes expérimentaux.	86
Figure 34: Variation de l'activité enzymatique de la PAL (UI/l) chez les groupes expérimentaux.....	87
Figure 35: Variation de l'activité enzymatique de LDH (UI/l) chez les groupes expérimentaux.	88
Figure 36: Variation de la concentration plasmatique de la Bilirubine totale (mg/L) chez les groupes expérimentaux.	89
Figure 37: Variation de la concentration plasmatique de la Bilirubine direct (mg/L) chez les groupes expérimentaux.	89
Figure 38: Variation de la concentration plasmatique d'urée (g/l) chez les groupes expérimentaux. ..	90
Figure 39: Variation de la concentration plasmatique d'acide urique (mg/dl) chez les groupes expérimentaux.	90
Figure 40: Variation de la concentration plasmatique de la créatinine (mg/L) chez les groupes expérimentaux.	91
Figure 41: Variation de l'activité enzymatique d'alfa Amylase (UI/L) chez les groupes expérimentaux.	92
Figure 42: Variation de la teneur hépatique en MDA (nMol /mg de protéines) chez les groupes expérimentaux.	93
Figure 43: Variation de la teneur Rénale en MDA (nMol /mg de protéines) chez les groupes expérimentaux.	93

Figure 44: Variation de la teneur hépatique en GSH (nMol /mg de protéines) chez les groupes expérimentaux.	94
Figure 45: Variation de la teneur rénale en GSH (nMol /mg de protéines) chez les groupes expérimentaux.	95
Figure 46: Variation de l'activité enzymatique hépatique du GSH-Px (nMol-GSH/min/mg de protéine) chez les groupes expérimentaux.	96
Figure 47: Variation de l'activité enzymatique rénale du GSH-Px (nMol-GSH/min/mg de protéine) chez les groupes expérimentaux.	96
Figure 48: Variation de l'activité enzymatique hépatique du CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/mg}$ protéine) chez les groupes expérimentaux.	97
Figure 49: Variation de l'activité enzymatique rénale du CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/mg}$ protéine) chez les groupes expérimentaux.	98
Figure 50: Variation de l'activité enzymatique hépatique du SOD (UI/ mg protéine) chez les groupes expérimentaux.	99
Figure 51: Variation de l'activité enzymatique rénale du SOD (UI/ mg protéine) chez les groupes expérimentaux.	99
Figure 52: Variation de l'activité enzymatique hépatique du G-R (UI/ mg protéine) chez les groupes expérimentaux.	100
Figure 53: Variation de l'activité enzymatique rénale du G-R (UI/ mg protéine) chez les groupes expérimentaux.	101
Figure 54: Effet de l'azérolier (<i>Crataegus Azarolus</i>) ou l'avoine (<i>Avena sativa</i>) sur les changements histopathologiques dans le pancréas après quatre semaines de traitement.	102

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: sources de stress oxydant endogènes et exogènes	18
Tableau 2: Apport et besoin en zinc	23
Tableau 3: Teneur en zinc de certains aliments	24
Tableau 4: La position taxonomique de l'Azerolier D'après	33
Tableau 5 : Tableau récapitulatif des phyto-constituants de l'avoine	38
Tableau 6 : Valeur nutritionnelle de l'avoine.	39
Tableau 7 : Composants Nutraceutiques et Pharmaceutiques Modernes de l'Avoine.	41
Tableau 8 : Teneur en minéraux des fruits et parties vertes d'A. sativa (mg/100 g).	42
Tableau 9 : les effets pharmacologiques et des essais cliniques de l'avoine.	43
Tableau 12: La composition de la nourriture.....	52
Tableau 13: La quantité des métaux dans la nourriture	53
Tableau 12 : Résultats des tests de dépistage phytochimique.	69
Tableau 13 : Contenu en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, tanins condensés et activité antioxydante déterminée par le test du DPPH dans les extraits aqueux de l'azérolier et l'avoine.	70
Tableau 14: Effet du traitement sur la croissance corporelle chez les groupes expérimentaux.....	71
Tableau 15: Variation de poids absolu du foie, reins, pancréas et fémur au cours de l'expérience.	74
Tableau 16: Variation du poids relatif du foie, reins, pancréas et fémur au cours de l'expérience.	74
Tableau 17: Variation de la glycémie à jeun (g/l) pendant 28 jours de traitement chez les groupes	78



Introduction

Introduction

Le diabète sucré (DM) est un groupe complexe de maladies chroniques d'étiologie différente, dans lequel l'hyperglycémie est le critère commun, déclenchant des défauts dans la sécrétion de l'insuline et/ou son mécanisme d'action provoquant des troubles dans différents organes et systèmes (**Jiménez *et al.*, 2020**). Dans le monde entier, 537 millions d'adultes (âgés de 20 à 79 ans) vivaient avec le diabète en 2021. On prévoit que ce chiffre augmentera à plus de 643 millions d'ici 2030 et à 784 millions d'ici 2045 selon la Fédération internationale du diabète (**IDF, 2021**). Le diabète sucré de type 2 (T2DM) est le type le plus répandu de diabète sucré, représentant plus de 90 % de l'ensemble des cas de morbidité et de mortalité (**Ojuade *et al.*, 2021**). La maladie du diabète est associée à des déficiences dans les composants de la voie de transduction du signal de l'insuline (**Rahmati *et al.*, 2021**). Dans le diabète, la présence constante d'un taux élevé de glucose contribue principalement au processus de surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par divers mécanismes, en particulier l'auto-oxydation du glucose, l'activation des voies polyol et hexamine, la protéine kinase C et la formation accélérée de produits finaux de glycation avancée (AGEs), ce qui contribue à l'augmentation du stress oxydatif (**Abdulmalek *et al.*, 2021**). Si la production de ROS n'est pas régulée par les défenses antioxydantes cellulaires, elle peut entraîner des dommages oxydatifs (peroxydation des lipides, dégradation des protéines, perturbation de l'ADN) et éventuellement la mort cellulaire (**Vélez-Alavez *et al.*, 2013**). Le stress oxydatif peut survenir lorsque les mécanismes antioxydants ne fonctionnent pas correctement, comme dans le cas de carences alimentaires en vitamines telles que la vitamine C et la vitamine E, ou en oligo-éléments essentiels tels que le zinc, le sélénium et le manganèse (**Hamdiken *et al.*, 2018b**).

Le zinc joue de nombreuses fonctions biologiques dans divers aspects. Tout d'abord, il est indispensable à plus de 300 enzymes pour leur activation catalytique, participant ainsi à plusieurs processus cellulaires enzymatiques et métaboliques dans le corps humain. Deuxièmement, le zinc se lie à plus de 2500 protéines, soit l'équivalent de 10 % du protéome humain total, et maintient leur intégrité structurale pour bon nombre d'entre elles (**Choi *et al.*, 2018**). Cet oligo-élément joue un rôle crucial dans la stabilisation de l'hexamère de l'insuline et le stockage de l'insuline dans le pancréas, favorisant ainsi la condensation de l'insuline. Le zinc favorise également la phosphorylation des récepteurs de l'insuline en améliorant le transport du glucose dans les cellules. Néanmoins, la carence en zinc augmente la destruction des cellules des îlots dans le diabète sucré de type 1 (T1DM) par le biais de l'attaque auto-immune par les

cytokines (Li, 2014). L'élément joue un rôle significatif dans la défense antioxydante en tant que cofacteur de l'enzyme superoxyde dismutase, en modulant le métabolisme du glutathion et l'expression de la métallothionéine, en rivalisant avec le fer et le cuivre dans la membrane cellulaire et en inhibant l'enzyme nicotinamide adénine dinucléotide phosphate-oxydase (Gholamhoseinian *et al.*, 2020). Par conséquent, une prise insuffisante, une absorption réduite et une perte accrue de zinc entraînent une carence en zinc.

Les plantes médicinales représentent la forme la plus ancienne de médication, utilisée depuis des milliers d'années dans la médecine traditionnelle de nombreux pays à travers le monde. Les connaissances empiriques sur leurs effets bénéfiques ont été transmises au fil des siècles au sein des communautés humaines (Khan, 2014). Les produits naturels jouent un rôle central en tant que source de composés médicamenteux, et actuellement, plusieurs médicaments modernes dérivés de la médecine traditionnelle à base de plantes sont utilisés en pharmacothérapie moderne (Patwardhan *et al.*, 2008). D'autre part, les propriétés biologiques de nombreuses espèces végétales traditionnellement utilisées, ainsi que de leurs composants bioactifs, ont été élucidées jusqu'à présent. Le processus de découverte de médicaments naturels guidé par des essais biologiques classiques, ainsi que les processus modernes, comprenant le criblage à haut débit (Harvey *et al.*, 2010), et même la nouvelle approche de pharmacognosie inversée (Takenaka, 2001), ont permis l'identification d'un grand nombre de phytochimiques bioactifs. Cependant, les plantes médicinales ont toujours un avenir prometteur, car la composition phytochimique et les bienfaits potentiels pour la santé de nombreuses espèces n'ont pas encore été étudiés ou nécessitent une investigation plus approfondie (Marrelli, 2021).

Dans ce contexte, l'avoine (*Avena sativa*) émerge comme un exemple remarquable parmi les plantes médicinales. Cultivée depuis plus de 2000 ans, cette céréale revêt une importance particulière en raison de ses qualités nutritionnelles et de ses bénéfices pour la santé (Sang *et al.*, 2017). L'avoine, en plus de son rôle dans l'alimentation humaine et animale, a attiré l'attention en tant que composant clé dans diverses préparations médicinales (Paudel *et al.*, 2021). Cette céréale, avec son bêta-glucane d'avoine (BGA) et d'autres composés bioactifs, offre un potentiel considérable dans le domaine de la santé (Paudel, 2018). Alors que l'utilisation traditionnelle de l'avoine est bien établie, des recherches plus poussées pourraient encore révéler de nouveaux aspects de ses bienfaits pour la santé. La consommation d'avoine, riche en bêta-glucane et autres composés bioactifs tels que les acides phénoliques et les avénanthramides, a démontré des effets avérés dans la réduction du cholestérol et du diabète,

tout en contribuant à la prévention de maladies telles que l'athérosclérose, la dermatite, et certains types de cancer (**Paudel et al., 2021**).

Des études récentes montrent également que la plupart des espèces de *Crataegus* ont des effets bénéfiques sur la santé humaine. Les extraits de parties aériennes présentent plusieurs activités biologiques telles qu'anti-inflammatoires (**Wang et al., 2019**), Anti-hyperglycémiques (**Aierken et al., 2017**), Vasodilatatrices (**Yang et al., 2012**) et Hypolipidémiques (**Hao et al., 2011**). De plus, les chercheurs ont constaté que les feuilles de *Crataegus azarolus* sont riches en composés phénoliques et présentent des activités antioxydantes et antimicrobiennes substantielles (**Yahyaoui et al., 2019**).

Il a également été démontré que les extraits des fruits et des feuilles de *Crataegus* sont sûrs pour la consommation humaine (**Daniele et al., 2006**). Ainsi, cette étude a été réalisée afin d'explorer les effets modulateurs de l'administration d'azérolier (*Crataegus azarolus*) et de la supplémentation en avoine (*Avena sativa*) dans la prévention du développement de la pathologie du diabète chez des rats soumis à un régime alimentaire pauvre en zinc. L'évaluation a porté sur la prise de poids, le statut du zinc, le métabolisme des glucides, des protéines, des lipides, et le système antioxydant chez des rats alimentés avec un régime pauvre en zinc.

LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I



Le Diabète

Chapitre I : Le Diabète

1. Définition et prévalence du diabète sucré

Le diabète sucré représente une maladie de longue durée caractérisée par un taux de sucre sanguin élevé, résultant soit d'une insuffisance de production d'insuline par le pancréas, soit de l'incapacité de l'organisme à utiliser l'insuline de manière efficace (**Acharya *et al.*, 2010**). Le terme 'diabète' est appliqué si le niveau de glucose dans le sang est supérieur à 1,28 g/L après un examen de dépistage effectué en prélevant un échantillon sanguin veineux à jeun (**American-Diabetes-Association, 2015**). L'élévation du taux de glucose dans le sang due au diabète entraîne de multiples perturbations métaboliques et peut potentiellement donner lieu à des complications graves à long terme qui affectent le cœur, les reins, le système nerveux, les vaisseaux sanguins et la vision (**Attia *et al.*, 2019**).

La prévalence mondiale du diabète est en constante augmentation depuis de nombreuses années. Selon les données de 2021 de la Fédération Internationale du Diabète (**IDF**), environ 537 millions de personnes âgées de 20 à 79 ans ont été diagnostiquées avec le diabète, et ce chiffre devrait atteindre environ 783 millions d'ici 2045. Au Moyen-Orient et en Afrique du Nord, la fréquence est estimée à 11,87 % du nombre total mondial de personnes atteintes de diabète, sans tenir compte des cas non diagnostiqués, qui semblent être plus nombreux. (**Ogurtsova *et al.*, 2022**).

2. Classification du diabète sucré

La prédominance des deux principales formes de diabète : types 1 et 2, avec d'autres variations comme le diabète gestationnel et les types moins courants, dont le diabète MODY (**Maturity Onset Diabetes of the Young**).

2.1. Diabète de type 1 (DT1)

Connu également sous le nom de diabète insulino-dépendant, cette variante constitue 10 à 20 % des cas de diabète et se manifeste généralement de manière aiguë durant l'enfance ou l'adolescence. Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune caractérisée par une diminution ou une absence de production d'insuline due à la destruction sélective et totale des cellules β de Langerhans. Cette destruction initiale est provoquée par l'infiltration de ces cellules par des macrophages et des lymphocytes (**Efrat, 2008**).

Cette catégorie de diabète se subdivise en deux types principaux. Le diabète de type 1 auto-immun représente environ 90 % des cas, caractérisé par la destruction des cellules bêta pancréatiques due à une réaction auto-immune. Cette destruction entraîne une inflammation progressive conduisant à la production d'auto-anticorps. Le diabète de type 1 d'idiopathiques (Environ 10 % des cas) , où l'étiologie demeure inconnue, en particulier en l'absence de signes d'auto-immunité (**Turcotte *et al.*, 2004**).

Les individus souffrant de cette variante de diabète nécessitent une administration quotidienne d'insuline pour maintenir leur taux de glucose sanguin sous contrôle.

2.2. Diabète de type 2 (DT2)

Le diabète de type 2, autrefois appelé diabète non insulino-dépendant, représente la forme la plus courante de diabète, touchant 80 à 90 % des cas. Il se caractérise par une hyperglycémie chronique, résultant d'une résistance à l'insuline due à des anomalies dans la liaison de l'insuline à son récepteur, ainsi qu'à une diminution de l'efficacité de la transmission du signal après la liaison (**Turcotte *et al.*, 2004**).

Dans la plupart des cas de diabète de type 2, en particulier chez les individus en surpoids, l'insulino-résistance des organes cibles tels que le foie, les muscles, les tissus adipeux et le cœur joue un rôle central dans le mécanisme sous-jacent de la maladie (**Golden *et al.*, 2002**).

Typiquement, ce genre de diabète est associé à des individus d'âge avancé, soit 40 ans et plus. Toutefois, il est de plus en plus fréquemment diagnostiqué chez des adultes plus jeunes et même chez des adolescents (**IDF, 2021**).

La cause exacte du diabète de type 2 n'est pas entièrement élucidée, mais elle est fortement liée à des facteurs génétiques, notamment les antécédents familiaux, ainsi qu'à des facteurs tels que l'obésité, l'âge et l'appartenance ethnique (**Malik *et al.*, 2010**).

2.3. Le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est une variante du diabète qui se manifeste habituellement chez les femmes enceintes au cours du deuxième et du troisième trimestre de leur grossesse (**IDF, 2021**). Le diabète gestationnel se développe en raison d'un dysfonctionnement de la sécrétion d'insuline, accompagné d'une résistance à l'insuline due à des changements hormonaux, ce qui

entraîne une hyperglycémie d'intensité variable (**López Stewart, 2014**). D'autres facteurs peuvent contribuer à l'aggravation de cette forme de diabète, notamment l'âge avancé, les antécédents familiaux, un gain de poids excessif pendant la grossesse (**Feig et al., 2018**).

Le diabète gestationnel peut être considéré comme une étape précoce du diabète de type 2 en raison de la similitude des facteurs de risque entre ces deux formes de diabète. Cela pourrait expliquer pourquoi les femmes atteintes de diabète gestationnel sont plus susceptibles de développer un diabète de type 2 (DT2) ultérieurement (**Regnault et al., 2016**).

2.4. Diabète mitochondrial

Le diabète mitochondrial, également connu sous le nom de MIDD (*Maternally Inherited Diabetes and Deafness*), est la variante la plus courante du diabète résultant de mutations ou de délétions de l'ADN mitochondrial. La mutation en position 3243 est en grande partie responsable de ce type de diabète. Cette mutation entraîne une réduction de la production d'ATP. Sur le plan clinique, le diabète mitochondrial peut se manifester soit sous la forme d'un diabète de type 1, soit d'un diabète de type 2, et est associé à un dysfonctionnement primaire de la sécrétion d'insuline en raison de perturbations dans la chaîne respiratoire mitochondriale (**Buyschaert, 2006**).

2.5. Le diabète expérimental

Il existe plusieurs méthodes pour induire le diabète expérimental : chirurgicale (pancréatectomie), génétique (modèles transgéniques), par un régime alimentaire hypercalorique, ou chimique, cette dernière étant la plus courante et la plus simple (**Al zaben, 2009**). Parmi les méthodes chimiques, la Streptozotocine (STZ) et l'Alloxane sont fréquemment utilisées.

La STZ est un antibiotique isolé à partir de *Streptomyces Achromogenes*. Elle agit en tant qu'analogue du glucose en se liant au récepteur GLUT2, grâce à une fraction cytotoxique, la 1-méthyl-n-nitroso (MNU), fixée au carbone en position 2 du glucose (**Anderson et al., 1974**).

Son accès aux cellules bêta pancréatiques se réalise grâce au transporteur de glucose GLUT2, et une fois à l'intérieur, elle déploie son pouvoir alkylant, engendrant ainsi de multiples dommages à l'ADN. De plus, elle provoque l'activation de la ribosylation de l'adénosine diphosphate polyadénosine et la libération d'oxyde nitrique, ce qui aboutit à la destruction des cellules pancréatiques par un processus de nécrose (figure 5) (**Krisanapun et al., 2009**).

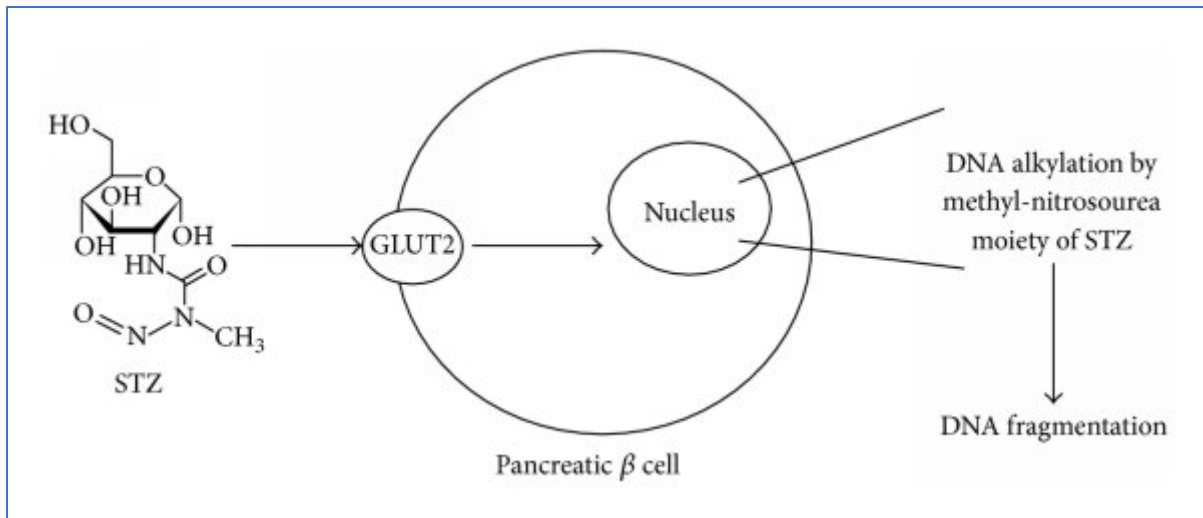


Figure 1: Le mécanisme d'action de la streptozotocine dans les cellules bêta pancréatiques (Al-Awar *et al.*, 2016).

3. Régulation physiologique de la glycémie

3.1. L'homéostasie glucidique

Le maintien d'une glycémie normale repose sur des processus complexes impliquant des mécanismes endocriniens, nerveux et métaboliques. Ces mécanismes contrôlent l'entrée, la sortie et l'utilisation du glucose, qui est la principale source d'énergie pour la plupart des cellules de l'organisme. Le foie, le pancréas, les muscles et le tissu adipeux jouent un rôle actif dans la régulation de la concentration de glucose dans le sang par le biais de diverses voies biochimiques (figure 2). Ces voies incluent le stockage du glucose sous forme de glycogène dans le foie et les muscles (glycogénogenèse), son utilisation en fonction des besoins énergétiques des cellules (glycolyse suivie d'une phosphorylation oxydative) (Petersen *et al.*, 2017), sa contribution à la synthèse d'acides gras (lipogenèse de novo) et de coenzymes réduits (voie des pentoses phosphate), ainsi que sa production principalement assurée par le foie (glycogénolyse et néoglucogenèse) et, si nécessaire, par les muscles (production de lactate et d'oxaloacétate) et par le tissu adipeux (production d'acides gras comme substrat) (Han *et al.*, 2016).

Cette régulation est soigneusement ajustée pour maintenir une glycémie constante et assurer un apport adéquat en glucose en fonction des besoins des tissus de l'organisme (Röder *et al.*, 2016).

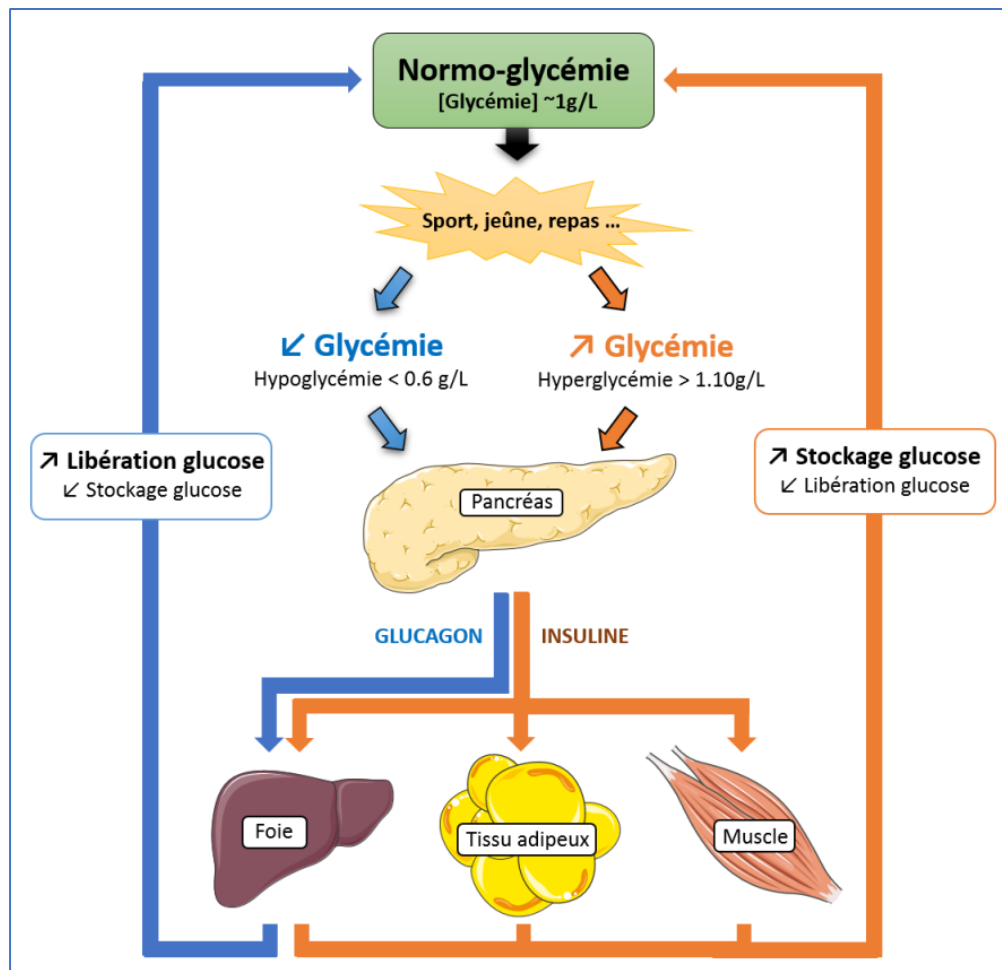


Figure 2: Régulation de l'homéostasie glucidique (Röder *et al.*, 2016).

3.2. Action et Sécrétion de l'insuline

L'insuline est initialement synthétisée dans les cellules β des îlots pancréatiques sous forme de pré-pro-insuline. Ensuite, le réticulum endoplasmique effectue la conversion en pro-insuline après avoir clivé le peptide signal N-terminal (figure 3). La pro-insuline est ensuite transportée vers l'appareil de Golgi, où elle est stockée dans des vésicules (Liu *et al.*, 2014). À l'intérieur de ces vésicules, la pro-insuline subit une transformation en insuline mature sous l'action de protéases.

L'insuline mature est ensuite libérée par exocytose en réponse à une augmentation de la concentration plasmatique de glucose, qui est le principal stimulateur physiologique de la sécrétion d'insuline. D'autres facteurs, tels que les acides aminés et les acides gras, peuvent également jouer un rôle en activant plus ou moins la voie de signalisation métabolique (Keane *et al.*, 2014).

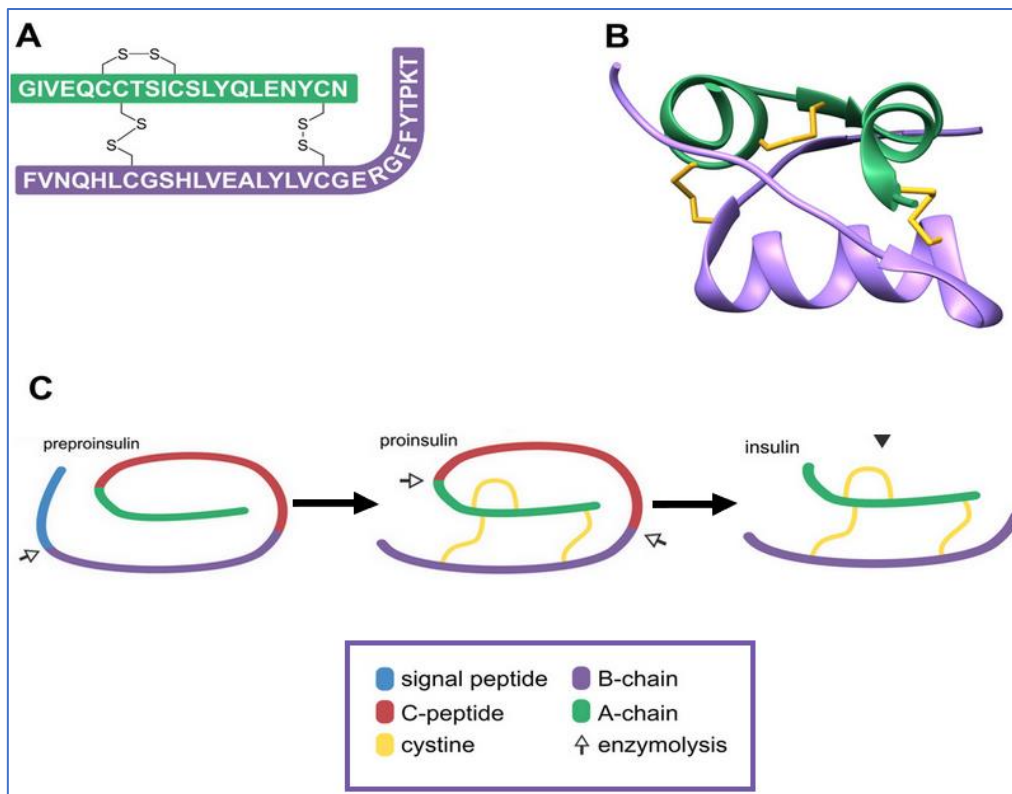


Figure 3: Structure de l'insuline (Karas *et al.*, 2021)

A : structure primaire de l'insuline ; **B** : structure spatiale de l'insuline ; **C** : la transformation de la pré-proinsuline à l'insuline mature.

Les étapes de la sécrétion et de la libération de l'insuline peuvent être résumées de la manière suivante (figure 4) :

- Lorsque l'apport alimentaire entraîne une augmentation de la glycémie, les cellules β réagissent rapidement et de manière efficace aux pics de glucose sanguin en sécrétant de l'insuline stockée et en en produisant davantage au besoin (Moini, 2019).
- Le transporteur de glucose GLUT2 facilite l'entrée du glucose dans les cellules β en suivant le gradient de concentration (Rutter *et al.*, 2015).
- Le glucose subit une série de transformations métaboliques, commençant par sa phosphorylation par la glucokinase et aboutissant à la production d'ATP, augmentant ainsi le rapport ATP/ADP.
- À ce stade, les canaux potassiques sensibles à l'ATP (K^+ ATP) se ferment, entraînant une accumulation de potassium à l'intérieur de la cellule, ce qui provoque une dépolarisation de la membrane (Newsholme *et al.*, 2012).

- Cette modification du potentiel de membrane provoque l'ouverture simultanée de canaux calciques dépendants de la tension, favorisant l'entrée d'ions calcium dans la cellule selon le gradient de concentration.
- Cet influx de calcium stimule le déplacement des vésicules contenant de l'insuline vers la membrane cellulaire et, finalement, induit sa libération par exocytose (**Keane *et al.*, 2014**).

La stimulation de la sécrétion d'insuline par le métabolisme du glucose résulte de la production d'ATP et de la fermeture des canaux K^+ ATP, entraînant ainsi la dépolarisation de la membrane. En revanche, le métabolisme des acides aminés augmente la sécrétion d'insuline en provoquant une dépolarisation directe de la membrane plasmique. En ce qui concerne le métabolisme des acides gras, il favorise la sécrétion d'insuline même en l'absence de glucose, en stimulant la production d'ATP (figure 3) (**Newsholme *et al.*, 2012**).

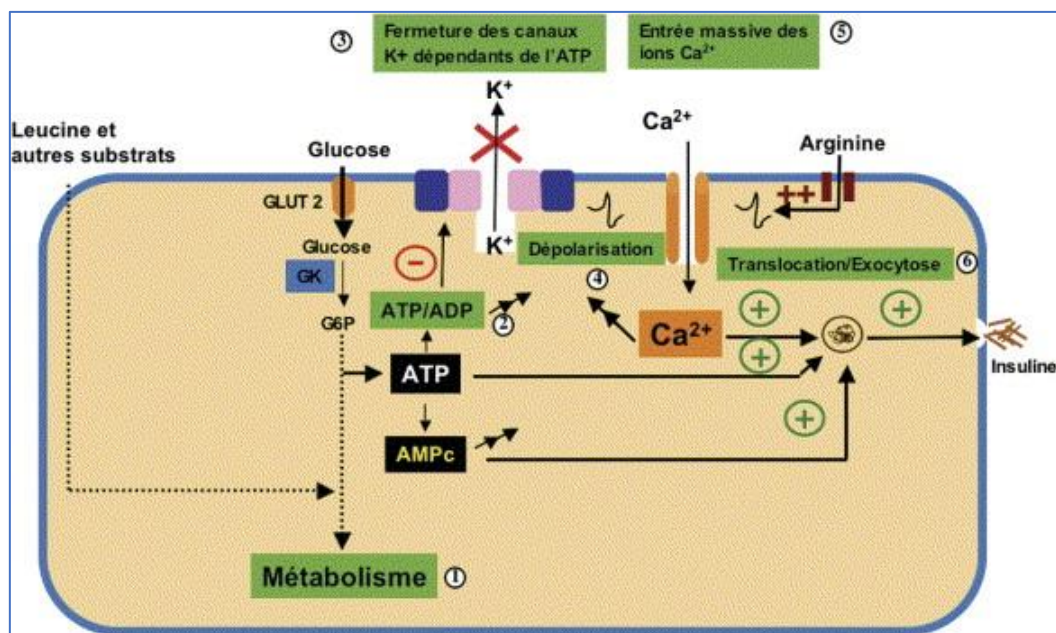


Figure 4: Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique

(**Magnan *et al.*, 2005**)

Pendant la phase postprandiale, l'insuline joue un rôle essentiel en tant que régulateur du glucose en réduisant l'hyperglycémie. Elle facilite l'entrée du glucose dans les cellules, principalement les cellules hépatiques, adipeuses et musculaires, en vue de son utilisation ou de son stockage (**Yaribeygi *et al.*, 2019**). De plus, elle inhibe la sécrétion de glucagon, un puissant inducteur d'hyperglycémie, favorise la synthèse protéique tout en freinant la protéolyse

musculaire. Par ailleurs, elle encourage la synthèse et le stockage des acides gras tout en inhibant la lipolyse au niveau du tissu adipeux (**Röder *et al.*, 2016**).

Par ailleurs, en cas de diminution de la concentration de glucose dans le sang, comme dans un état de privation de nutriments, les îlots pancréatiques de Langerhans jouent un rôle essentiel dans la régulation de cette modification physiologique. Ils sécrètent l'hormone glucagon, qui favorise à la fois la glycogénolyse et la gluconéogenèse (**Keane *et al.*, 2014**), contribuant ainsi à l'augmentation de la glycémie.

4. Physiopathologie du diabète

4.1. Physiopathologie de DT1

Le diabète de type 1 est généralement attribuable à une destruction auto-immune des cellules bêta du pancréas. Une élévation de la glycémie suppose généralement une destruction substantielle, atteignant environ 80 à 90 % des cellules bêta. Cette destruction de la cellule bêta est principalement due à une infiltration des îlots pancréatiques par les lymphocytes T cytotoxiques CD8 (**Hartemann *et al.*, 2019**).

4.1.1. *Effets sur le métabolisme du glucose*

Le diabète insulino-dépendant non contrôlé se traduit par une augmentation de la production de glucose par le foie. Initialement, les réserves de glycogène hépatique sont mobilisées, suivies de la gluconéogenèse hépatique pour générer du glucose. L'insuline joue un rôle clé en favorisant la pénétration du glucose. Elle facilite le déplacement des protéines transporteurs de glucose vers la membrane plasmique des tissus, contribuant ainsi à cette pénétration. Cependant, en cas de carence en insuline, l'utilisation du glucose est altérée, en particulier dans les tissus non hépatiques, comme le tissu adipeux et le muscle squelettique. Cette réduction de l'absorption du glucose par les tissus périphériques entraîne en fin de compte une diminution du métabolisme du glucose. De plus, l'activité de la glucokinase hépatique est régulée par l'insuline. Par conséquent, une baisse de la phosphorylation du glucose dans les hépatocytes conduit à une augmentation de son accumulation dans le sang (**Chhabra, 2012**).

4.1.2. *Effets sur les protéines*

L'insuline exerce une influence globale sur le métabolisme des protéines en augmentant la synthèse des protéines tout en réduisant leur dégradation. Par conséquent, en cas de carence en

insuline, on observe une augmentation du catabolisme des protéines. Cette augmentation de la protéolyse entraîne une concentration élevée d'acides aminés dans le plasma. Les acides aminés issus de cette protéolyse peuvent servir de précurseurs à la glycogénèse hépatique (**Olokoba et al., 2012**).

4.2. Physiopathologie du DT2

Chez les individus atteints de diabète de type 2, l'organisme développe une résistance à l'insuline. Bien que la production d'insuline persiste, la réponse de l'organisme à cette hormone diminue. Avec le temps, la capacité du pancréas à produire de l'insuline diminue progressivement. C'est pourquoi la gestion du diabète de type 2 nécessite souvent l'ajout progressif de différents types de médicaments dans le traitement, que ce soit en raison d'une insuffisance d'insuline ou de l'incapacité de l'organisme à utiliser correctement cette hormone (**Favier et al., 2005**).

Les facteurs de risque associés au diabète de type 2 (DT2) sont le résultat d'une interaction entre des facteurs génétiques, métaboliques et environnementaux, contribuant ainsi à la prévalence de cette maladie (**Crabbé, 2014; Monnier, 2014**).

5. Les complications du diabète

Le diabète engendre à la fois des complications métaboliques aiguës et chroniques. Le manque de suivi et de traitement de cette maladie chronique, bien qu'elle ne soit pas guérissable, peut précipiter son évolution, aggravant ainsi et accélérant l'apparition de ces complications.

5.1. Les complications métaboliques aiguës

Le diabète peut entraîner plusieurs complications, notamment :

- L'hypoglycémie : Cette complication est la plus fréquente chez les diabétiques traités, survenant lorsque l'insulinémie n'est pas en adéquation avec la glycémie. Les symptômes courants incluent des palpitations, des sueurs, des tremblements, une polyphagie, une sensation de l'anxiété, et peuvent évoluer jusqu'au vertige, à la perte de conscience, voire au coma (**Schlienger, 2013**).
- L'acidocétose : Cette complication dangereuse est plus fréquente chez les personnes atteintes de diabète de type 1. Elle résulte de l'accumulation de corps cétoniques dans le sang, due à une production excessive liée à la lipolyse et à une libération excessive d'acides gras et de

glycérol. L'acidocétose est une urgence médicale qui peut provoquer des douleurs abdominales, une soif intense, une miction fréquente, des problèmes respiratoires et une déshydratation (**Fishbein et al., 1995**).

- Le syndrome d'hyperglycémie hyperosmolaire : Cette complication est causée par une carence en insuline. Une hyperglycémie prolongée sur plusieurs jours, associée à une cétogenèse modérée, entraîne une polyurie osmolaire qui peut conduire à la déshydratation et à l'hyperosmolarité. En l'absence d'apport de liquides, cela peut évoluer jusqu'à la perte de conscience et le coma (**Pasquel et al., 2014**).

5.2. Les complications chroniques

La morbidité et la mortalité associées au diabète sont principalement dues à l'apparition de lésions dégénératives au niveau des petits vaisseaux sanguins, tant au niveau microvasculaire que macro-vasculaire, affectant les organes cibles tels que les reins, les yeux, le système cardiovasculaire et le système nerveux (figure 5) (**Schlienger, 2013**).

Des facteurs de risque tels que l'hypertension, le tabagisme et l'hypercholestérolémie interagissent avec le diabète pour influencer l'évolution de ces maladies vasculaires (**Donnelly et al., 2000**).

La neuropathie est la complication la plus courante du diabète, touchant le système nerveux périphérique (comme les jambes et les pieds) ainsi que le système nerveux autonome (comme le cœur, les intestins, etc.) (**Schlienger, 2013**).

La rétinopathie caractérisée par des lésions des petits vaisseaux sanguins de la rétine, résultant d'une glycémie élevée et non contrôlée. Elle peut entraîner une perte de vision.

la néphropathie, qui affecte la fonction de filtration glomérulaire rénale (**Stratton et al., 2000**).

Il a été signalé que l'impact de diabète sur les maladies cardiovasculaires est très considérable. L'élévation du taux de sucre dans le sang est principalement responsable de l'apparition de complications au niveau des grosses artères, en favorisant le développement de l'athérosclérose, qui, à son tour, augmente le risque de maladies cardiovasculaires telles que l'infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux (AVC), l'insuffisance cardiaque, ainsi que d'autres problèmes (**Beckman et al., 2016**).

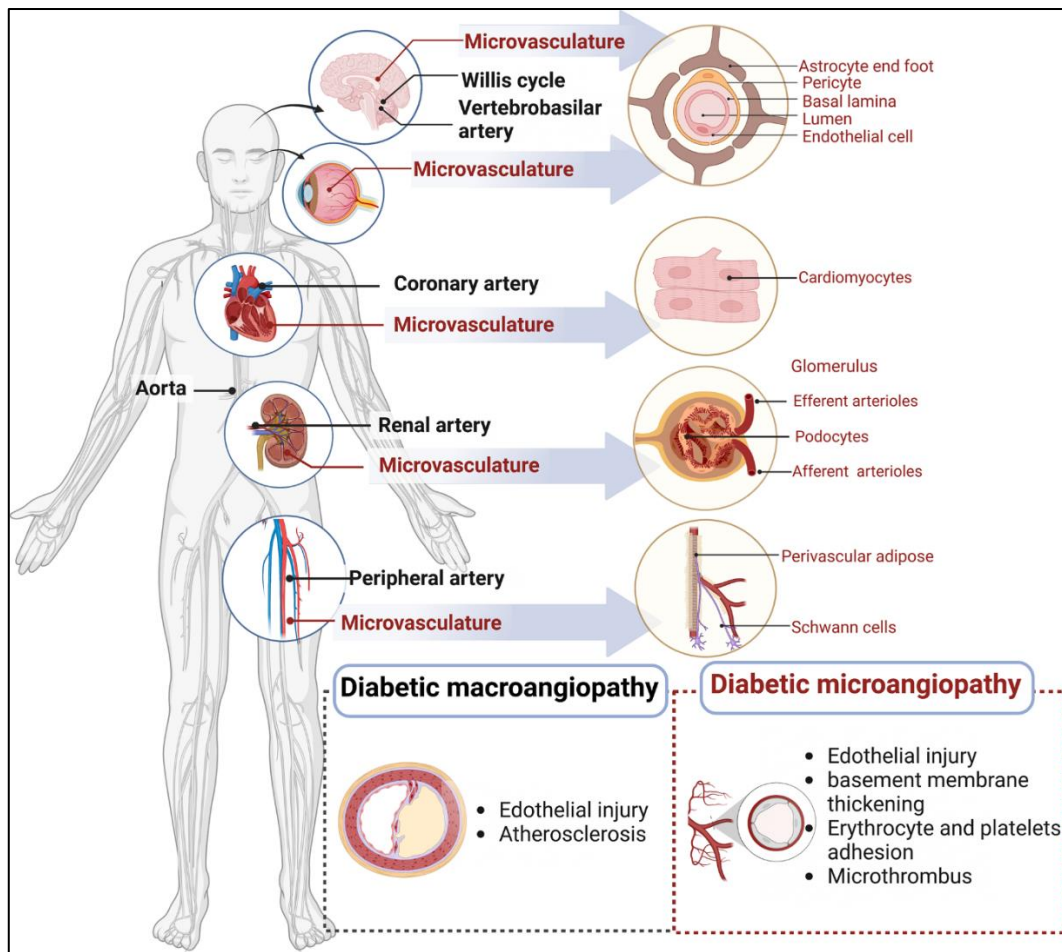


Figure 5 : Quelques angiopathies associées au diabète (Li *et al.*, 2023)

6. Traitement du diabète

Le diabète est une maladie chronique évolutive, ce qui signifie qu'il nécessite la gestion non seulement de la glycémie, mais également des complications associées à cette condition. Cela implique l'adoption d'une alimentation équilibrée et saine, la pratique régulière d'une activité physique, ainsi que l'usage approprié des médicaments prescrits par un professionnel de la santé, dans le but de réduire l'incidence des problèmes de santé et la mortalité liée au diabète (Herman *et al.*, 2015).

En ce qui concerne les patients diabétiques de type 1, l'insulinothérapie continue demeure vitale pour leur survie, et elle peut également devenir nécessaire pour certains patients diabétiques de type 2. Pour maintenir des niveaux de glucose sanguin normaux chez les diabétiques de type 2, les antidiabétiques oraux (ADO) sont les médicaments les plus couramment utilisés (les biguanides, les sulfamides, les glitazones (thiazolidinediones), les

inhibiteurs des alpha-glucosidases, les glinides, les inhibiteurs de l'enzyme di peptidyl peptidase-4 (DPP-4), les analogues du glucagon like peptide 1 (GLP1).)

CHAPITRE II :



Le Stress Oxydatif

Chapitre II : Le Stress Oxydatif

1. Définition du Stress Oxydatif

Le stress oxydant est un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les défenses antioxydantes de l'organisme, avec une prédominance des ERO. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense) et nos mauvaises habitudes alimentaires augmentent anormalement la production des ERO. À long terme, cela peut entraîner des pathologies liées au vieillissement comme les cancers et les maladies cardiovasculaires. Pour prévenir ces dommages, il est important de disposer d'outils pour évaluer le stress oxydant chez un individu, afin de renforcer nos défenses antioxydantes et réduire les dommages oxydatifs sur l'ADN, les protéines et les lipides (**Haleng *et al.*, 2007**).

2. Les Espèces Réactives de l'oxygène

La chaîne respiratoire mitochondriale est essentielle pour produire l'énergie des cellules des organismes aérobies. Elle transforme l'ADP en ATP en utilisant l'oxygène. Deux conséquences principales de cette activité sont :

a. Production d'énergie : La mitochondrie génère 36 molécules d'ATP (cas particulier), fournissant l'énergie nécessaire à la cellule.

b. Production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) : Environ 0,4 à 4 % des électrons forment des ERO, comme les radicaux libres (anion superoxyde, radical hydroxyle) et des molécules comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'oxygène singulet (1O₂). Les métaux comme le fer (Fe²⁺) et le cuivre (Cu²⁺) aident à former ces radicaux (**Delattre *et al.*, 2005**).

Les ERO ont des effets variés. À faibles concentrations, elles agissent comme messagers pour des processus comme l'apoptose et la transcription génétique. Par exemple, lors de la fécondation, les spermatozoïdes utilisent des ERO pour pénétrer l'ovule.

Le monoxyde d'azote radicalaire (NO•), produit par les cellules endothéliales, régule des fonctions physiologiques comme le tonus vasculaire et la neurotransmission. Mais, en réagissant avec l'anion superoxyde, il forme le peroxyde d'azote, un oxydant pouvant endommager des molécules organiques (**Hare, 2004**).

En excès, les ERO deviennent nuisibles, pouvant provoquer une inflammation et des modifications oxydatives impliquées dans diverses maladies.

3. Le stress oxydant et les facteurs le favorisant

Dans des conditions normales, notre organisme contrôle bien la production des espèces oxygénées actives (ERO) grâce à un équilibre entre anti-oxydants et pro-oxydants. Le stress oxydant survient lorsque cet équilibre est perturbé, entraînant une présence excessive de radicaux oxygénés toxiques. Ce stress est potentiellement lié au vieillissement et à des maladies associées comme les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, le cancer, le diabète, la dégénérescence maculaire et l'asthme (**Pincemail *et al.*, 2007**).

Le tableau 1 montre que les sources de stress oxydant peuvent être d'origine interne (endogène) ou externe (exogène).

Tableau 1: sources de stress oxydant endogènes et exogènes

Mode de vie

Tabagisme
Faible consommation en fruits et légumes
Alcool
Médicaments
Pilule contraceptive
Exposition au soleil
Exercice intense ou mal géré

Environnement

Pollution
Ozone
Amiante
Radiations
Contacts avec des substances cancérogènes

Mécanismes biochimiques

Xanthine-oxydase (ischémie-reperfusion)
Inflammation
Altération de la fonction endothéliale
Surcharge en fer
Oxydation de l'hémoglobine
Altérations mitochondriales
Biosynthèse des prostaglandines
Interventions chirurgicales (Circulation extra-corporelle, transplantations)

4. Principales cibles biologiques des ERO

4.1. L'Acide désoxyribonucléique (ADN)

L'ADN est une cible privilégiée pour les ERO. Par exemple, la guanine peut réagir avec le radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$) pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG). Cette altération fait que la guanine modifiée s'apparie avec l'adénine au lieu de la cytosine, entraînant des mutations dans l'ADN. Ces mutations peuvent altérer le message génétique, contribuant ainsi au développement du cancer et au vieillissement (Atkin *et al.*, 2005).

4.2. Les protéines

Les acides aminés réagissent différemment aux espèces oxygénées actives (ERO). Les plus sensibles sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Leur oxydation peut entraîner la formation de groupements carbonylés, des ruptures de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine. Ces dommages peuvent altérer les fonctions des protéines, affectant la reconnaissance des récepteurs et l'activité enzymatique. Les protéines oxydées peuvent s'accumuler dans les cellules et l'espace extracellulaire, formant des agrégats (Nakajima *et al.*, 2006).

4.3. Les lipides membranaires

Le radical hydroxyle peut initier une réaction en arrachant un hydrogène des acides gras polyinsaturés (AGPI), formant un radical lipidique. Ce radical réagit avec l'oxygène pour créer un radical peroxyde ($\text{ROO}\bullet$), qui peut arracher un hydrogène à un AGPI voisin, propageant la réaction (Atkin *et al.*, 2005). Cela perturbe la fluidité des membranes cellulaires, entraînant la mort cellulaire. Les peroxydes formés peuvent être neutralisés par la glutathion peroxydase ou se décomposer en aldéhydes comme le malondialdéhyde et le 4-hydroxynonéal, connus pour leurs effets pro-athérogènes.

4.4. Les lipoprotéines

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes conduit à la formation de LDL oxydées, qui sont captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. Comme l'activité de ces récepteurs n'est pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages deviennent progressivement des cellules spumeuses, jouant un rôle clé dans les premières étapes de l'athérosclérose (Nakajima *et al.*, 2006). De plus, les LDL oxydées sont

immunogènes et les complexes immuns formés peuvent activer la voie classique du complément, entraînant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages (Saad *et al.*, 2006).

5. Les défenses antioxydantes

Pour se protéger des espèces réactives de l'oxygène (ERO), l'organisme utilise des défenses antioxydantes (figure6). Il existe deux sources d'antioxydants : ceux apportés par l'alimentation (fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion, acide lipoïque) et ceux produits par le corps (enzymes comme SOD, GSH-Px, CAT, protéines comme ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine, et systèmes de réparation des dommages). Les oligoéléments comme le zinc, le sélénium et le cuivre sont aussi importants car ils sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes. (Haleng *et al.*, 2007).

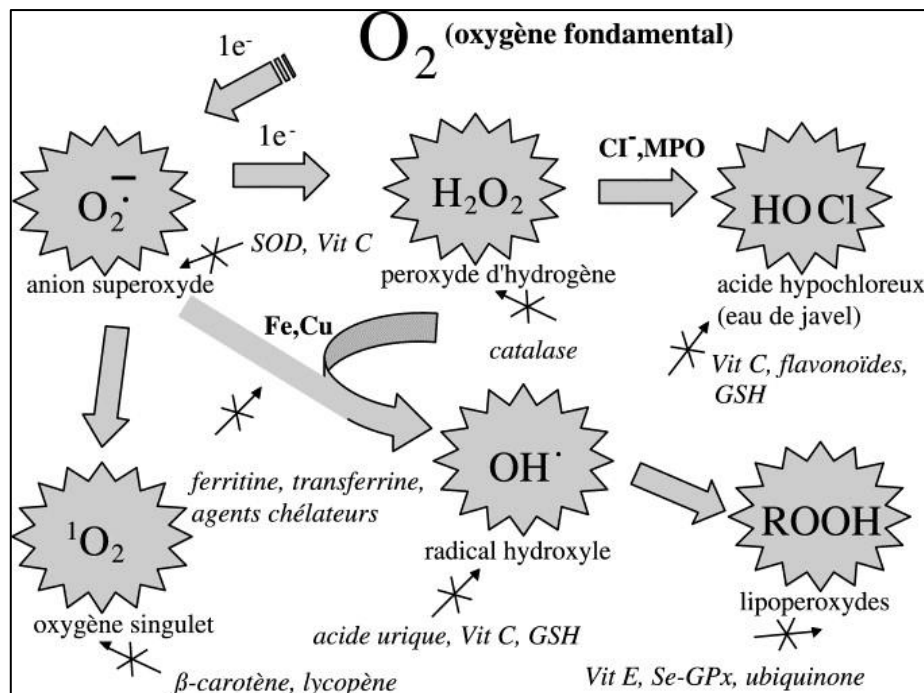


Figure 6: Aperçu des différentes espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des antioxydants régulateurs de leur production. (Pincemail *et al.*, 2002).

6. Une pathologie associée au stress oxydant : le diabète

Plusieurs mécanismes pathogéniques conduisent à une augmentation du stress oxydant et semblent impliqués dans l'apparition des complications du diabète (Defraigne, 2005a; Vincent *et al.*, 2006b).

6.1. L'activation de la voie des polyols

En situation d'hyperglycémie, l'hexokinase qui permet la phosphorylation du glucose et son utilisation dans les voies de la glycolyse et des pentoses phosphates est saturée. En conséquence, le glucose est transformé en sorbitol puis en fructose, respectivement sous l'action de l'aldose réductase et du sorbitol déshydrogénase. Suite à ces réactions, le rapport NADH/ NAD⁺ s'élève, entraînant une inhibition de la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase et une accentuation de la formation de produits terminaux de glycation (AGE) (Chen *et al.*, 2005).

6.2. La Production de produits terminaux de glycation (AGE)

Le glucose réagit facilement avec les groupements amines libres des protéines pour se dégrader en produits avancés de la glycation (AGE) ou produits de Maillard (Selvaraj *et al.*, 2006). Des recherches récentes ont montré que les AGE, retrouvés en concentrations élevées dans la rétine et les glomérules rénaux, jouent un rôle important dans le développement des complications du diabète.

Les AGE plasmatiques peuvent se lier à des récepteurs (RAGE) présents sur les cellules endothéliales, glomérulaires et les macrophages. L'activation de ces récepteurs déclenche une production d'ERO et active le facteur de transcription NF-κB (Nuclear Factor kappa-B), modifiant la transcription génique. La liaison des AGE aux RAGE endothéliaux semble, en partie, responsable de l'hyperperméabilité capillaire observée au cours du diabète, via la production de NO[•] (Hudson *et al.*, 2005).

6.3. L'auto-Oxydation du Glucose

En présence de fer, le glucose s'oxyde, entraînant la génération d'ERO, mais aussi la production de la forme aldéhyde du glucose, le glyoxal. Cette molécule se fixe rapidement sur les protéines dans lesquelles apparaît un résidu Carboxy-Méthyl-Lysine (CML). Ce groupement capte facilement le cuivre, ce qui provoque le déclenchement de réactions de type Fenton avec production de radicaux libres : il s'ensuit une augmentation de la peroxydation lipidique (Devaraj *et al.*, 2001). Ce mécanisme pourrait expliquer pourquoi le diabète est souvent associé à des complications cardio-vasculaires.

6.4. L'activation de la protéine kinase C (PKC)

L'activation de la protéine kinase C (PKC) joue un rôle clé dans les complications liées à l'hyperglycémie. Des niveaux élevés de glucose activent la PKC, ce qui perturbe le flux sanguin local. Cette activation diminue l'oxyde nitrique (NO•), une molécule qui dilate les vaisseaux sanguins, et augmente l'endothéline-1, une molécule qui les contracte. Ces changements altèrent la fonction des vaisseaux sanguins, menant à des problèmes de circulation et contribuant aux complications vasculaires du diabète, comme les maladies cardiovasculaires et les troubles vasculaires périphériques. **(Maher, 2001).**

CHAPITRE III :



Le Zinc

Chapitre III : Le Zinc

1. Généralités

Après le fer, le zinc représente le deuxième oligo-élément le plus présent dans l'organisme. Bien que l'importance du zinc pour la croissance des micro-organismes, des plantes et des animaux soit reconnue depuis plusieurs décennies, le rôle du zinc dans la pathologie humaine a été mis en lumière par Prasad en 1961. Depuis la découverte de la carence en zinc en tant que problème de santé humaine dans les années 1990, l'intérêt pour les aspects biochimiques et cliniques de la nutrition en zinc a considérablement augmenté (**Imoberdorf *et al.*, 2010**).

2. Sources alimentaires

Le zinc se trouve dans une grande variété d'aliments, mais sa teneur varie beaucoup. Les sources les plus riches en zinc sont les aliments d'origine animale comme la viande, la volaille, le poisson, les fruits de mer (surtout les huîtres), et dans une moindre mesure les œufs et les produits laitiers. Les noix, les graines, les légumineuses et les céréales complètes en contiennent également une quantité relativement élevée. En revanche, les tubercules, les céréales raffinées, les fruits et les légumes en contiennent moins (**Brown *et al.*, 2004**). Les besoins quotidiens en zinc sont de 15 mg pour les adultes et de 12 mg pour les personnes âgées (**Roussel *et al.*, 2009**). L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a également évalué ces besoins en fonction de la perte quotidienne, en prenant en compte l'âge, le sexe et l'état physiologique de chaque individu (tableau 2).

Tableau 2: Apport et besoin en zinc (**Roussel *et al.*, 2009**).

	Besoin (OMS) (mg)	Apport (RDA) (mg)
Enfants de moins de 1 ans	1,1	3 à 5
Enfants 1 à 10 ans	1,6	5 à 10
Adolescents	2,8	15
Adolescents	2,2	15
Femmes enceintes	2,5 à 3,0	20
Femmes allaitantes	5 à 6	20 à 25

Les concentrations moyennes en zinc (mg/100 g de poids frais) ainsi que la densité en zinc (mg/100 kcal) pour une variété spécifique d'aliments sont exposées dans le tableau 3.

Tableau 3: Teneur en zinc de certains aliments (**Brown et al., 2004**)

Sources	mg/100 g	mg/100KCal
Foie, rein (poulet, bœuf)	4,2-6,1	2,7-3,8
Viande (bœuf)	2,9-4,7	1,1-2,8
Volaille (poule, canard, etc.)	1,8-3,0	0,6-1,4
Fruits de mer (poisson, etc.)	0,5-5,2	0,3-1,7
Œuf	1,1-1,4	0,7-0,8
Lait et produits laitiers	0,4-3,1	0,3-1
Grain et noix (sésame, citrouille, amande, etc.)	2,9-7,8	0,5-1,4
Haricot, lentille (soja, haricot, pois, etc.)	1,0-2,0	0,9-1,2
Graines de céréales entières (blé, maïs, riz brisé, etc.)	0,5-3,2	0,4-0,9
Graines de céréales raffinées (farine blanche, riz blanc, etc.)	0,4-0,8	0,2-0,4
Pain	0,9	0,3
Manioc fermenté	0,7	0,2
Légumes	0,1-0,8	0,3-3,5
Fruits	0-0,2	0-0,6

3. Le Métabolisme du zinc

3.1. Absorption

Pendant la digestion, l'acide chlorhydrique libère le zinc des aliments sous forme d'ions libres (Zn^{2+}) ou liés à des ligands de faible poids moléculaire (**King et al., 2000**). Ces ions peuvent être présents librement ou liés à des ligands endogènes dans la lumière intestinale. L'absorption du zinc se produit principalement dans l'intestin proximal, soit par diffusion simple (suivant le gradient de concentration), soit de manière facilitée par des transporteurs membranaires. La plupart du zinc absorbé passe de l'intestin à la circulation portale, est rapidement transportée au foie, où il est capté avant d'être libéré dans la circulation générale pour être redistribué aux tissus extra-hépatiques (**Ford, 2004**).

3.2. Transport

Le transport du zinc circulant ne dépend pas d'une seule protéine spécifique, mais de plusieurs transporteurs capables de capturer différentes quantités de zinc selon leurs concentrations et affinités respectives. Principalement, le zinc est transporté en se liant à

l'albumine (environ 60 à 65 % du zinc sérique total), à l'alpha-2-macroglobuline (environ 20 % du zinc est fortement lié à cette protéine), et à d'autres protéines (environ 12 %) telles que la transferrine et la glycoprotéine riche en histidine (**Tubek, 2007**).

3.3. Régulation de l'homéostasie du zinc

La régulation précise de l'homéostasie du zinc intracellulaire est essentielle à la survie cellulaire. Deux familles de transporteurs transmembranaires, ZnT et ZIP, jouent des rôles opposés pour assurer cette régulation (figure 7).

a. Transporteurs Zip : Dans les cellules humaines, les transporteurs ZIP (14 identifiés) importent le zinc extracellulaire. Ils se trouvent sur la membrane plasmique ou au niveau des organites intracellulaires comme le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et la mitochondrie, transportant le zinc de la lumière de l'organite vers le cytoplasme (**Kambe *et al.*, 2015; Hara *et al.*, 2017**).

b. Transporteurs ZnT : Contrairement aux ZIP, les transporteurs ZnT (10 identifiés) facilitent le transport du zinc intracellulaire vers l'extérieur de la cellule ou du cytoplasme vers la lumière des organites, diminuant ainsi la concentration de zinc intracellulaire (**(Lichten *et al.*, 2009)**).

Les transporteurs ZIP et ZnT maintiennent la concentration totale en zinc à environ 200 à 300 μmol . Au niveau cytoplasmique, la concentration en zinc soluble est régulée par les métallothionéines, des protéines riches en cystéine qui jouent un rôle crucial pour maintenir cette concentration et fournir une réponse rapide en cas de déséquilibre (**Bonaventura *et al.*, 2015**).

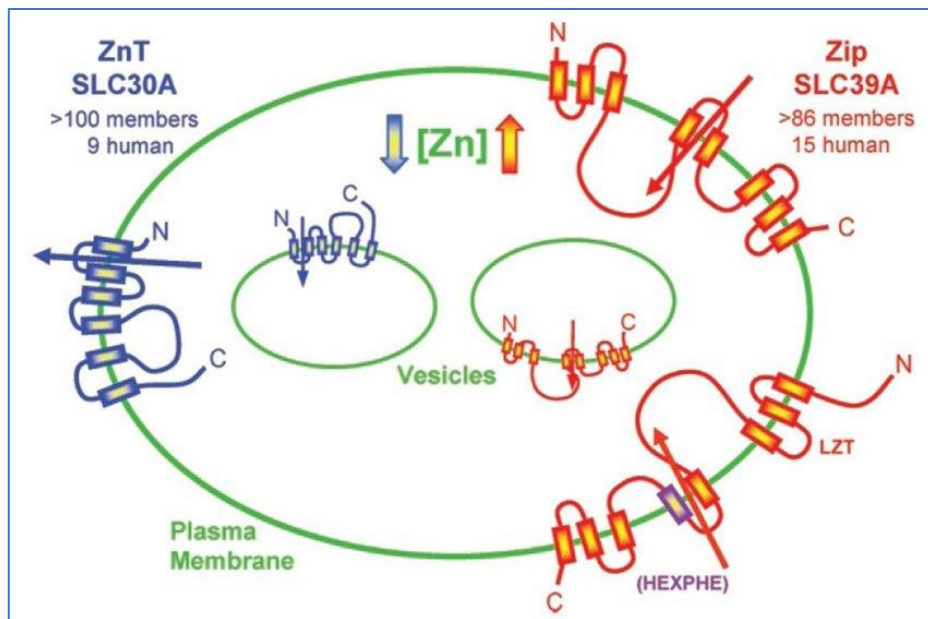


Figure 7: Schéma illustrant les deux principales familles de transporteurs transmembranaires (ZnT ; Zip) impliquées dans la régulation de l'homéostasie cellulaire du zinc (Liuzzi *et al.*, 2004).

3.4. Excrétion

Le zinc ne s'accumule pas dans l'organisme; sa charge corporelle est soigneusement régulée par un mécanisme homéostatique qui supervise l'absorption et le taux hépatique (Goyer *et al.*, 1996). L'intestin constitue la principale voie d'excrétion, avec une petite fraction éliminée dans l'urine, tandis que le reste se répartit entre la sueur, le sperme, les cheveux, la salive et le lait (Lansdown, 1991).

4. Rôle du zinc

4.1. Rôle physiologique du zinc

Le zinc, un oligo-élément essentiel, participe à de nombreuses fonctions biologiques, souvent en association avec des protéines. On estime que 3 % à 10 % des protéines synthétisées par le génome des mammifères dépendent du zinc pour leur structure ou leur fonction (Hill *et al.*, 2009). Plus de 300 métalloenzymes à zinc, incluant des oxydoréductases, transférases, hydrolases, lyases, isomérases et ligases, ainsi que 2000 facteurs de transcription à zinc, ont été identifiés. À travers ces enzymes, le zinc joue un rôle crucial comme catalyseur dans divers processus, tels que la fonction des métalloenzymes, la réponse immunitaire, la reproduction, la

régénération des tissus lésés, la synthèse de l'ADN et de l'ARN, et la régulation endocrinienne (**Matsuura *et al.*, 2009; Solomons, 2013**).

En plus de son rôle de catalyseur, le zinc semble aussi influencer la structure de certaines enzymes, comme la phosphatase alcaline, la glutamate déshydrogénase et la superoxyde dismutase (SOD), agissant en tant que co-activateur (**Kindermann *et al.*, 2005**).

4.2. Zinc et métabolisme glucidique

Le zinc joue un rôle crucial dans la production, le stockage et la sécrétion d'insuline, ce qui est essentiel pour le bon fonctionnement des cellules β du pancréas et la régulation du métabolisme glucidique. Les cellules β du pancréas présentent une concentration de zinc significativement plus élevée que les autres parties du pancréas, suggérant son implication dans la synthèse de l'insuline (**Rungby, 2010**).

Après sa synthèse dans le réticulum endoplasmique rugueux, la proinsuline est transportée vers l'appareil de Golgi, où elle est stockée sous forme d'hexamères en présence d'ions de zinc et de calcium. Ces hexamères de proinsuline sont ensuite transformés en insuline active, notamment après le clivage du peptide C. Le zinc, crucial pour le stockage de l'insuline dans les vésicules de sécrétion, et nécessaire à sa cristallisation dans ces vésicules (**Khan *et al.*, 2014**). Il favorise également l'augmentation de la sécrétion d'insuline en agissant de manière autocrine sur la cellule β , notamment en activant les canaux potassiques ATP-dépendants impliqués dans l'exocytose de l'insuline en réponse au glucose (figure 8) (**Ashcroft *et al.*, 1989**).

De plus, le zinc, co-sécrété avec l'insuline, pourrait inhiber la sécrétion de glucagon des cellules α avoisinantes en activant également les canaux potassiques ATP-dépendants (**Zhou *et al.*, 2007; Robertson *et al.*, 2011**).

Le zinc a également un effet insulinomimétique, stimulant la lipogenèse de manière indépendante de l'insuline et favorisant le transport et l'oxydation du glucose (**Coulston *et al.*, 1980**). Il facilite l'entrée du glucose dans la cellule en influençant le transport à travers les membranes cellulaires, notamment en régulant la translocation des transporteurs GLUT. De plus, en agissant comme cofacteur pour des enzymes impliquées dans les voies métaboliques du glucose, telles que la glycolyse, le zinc favorise également l'oxydation du glucose, contribuant ainsi à la régulation du métabolisme énergétique cellulaire (**May *et al.*, 1982**).

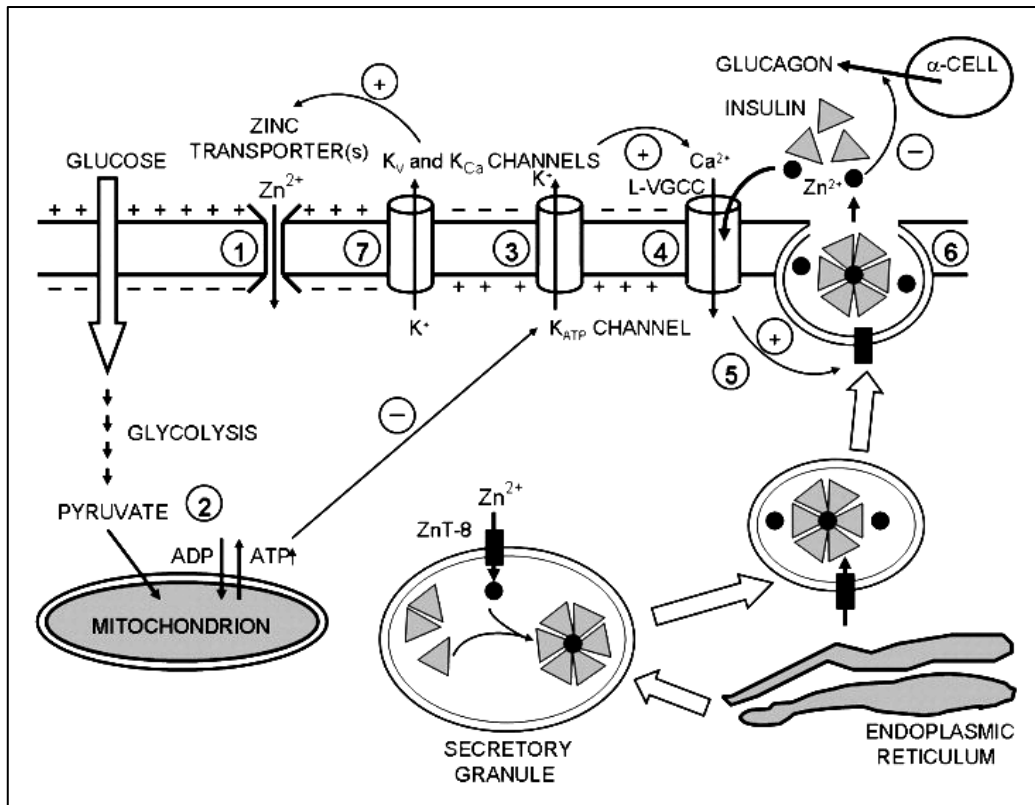


Figure 8: Représente l'implication du zinc dans la sécrétion de l'insuline, selon **Chistiakov et al., (2009)**.

4.3. Zinc et stress oxydatif

Le zinc est essentiel dans le système de défense antioxydant en agissant comme un cofacteur pour plusieurs enzymes. Il assure la stabilité des membranes et inhibe l'enzyme NADPH-Oxydase, qui produit le superoxyde d'oxygène. En collaboration avec le cuivre, le zinc active la superoxyde dismutase (SOD), une enzyme clé dans la neutralisation des ions superoxydes. De plus, il régule d'autres enzymes antioxydantes comme la glutathion peroxydase (GSH-Px) et la catalase (CAT), ainsi que l'expression des métallothionéines qui réduisent les radicaux libres et neutralisent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) produites lors du stress oxydatif (figure 9) (**Chasapis et al., 2012; Ruz et al., 2016**). Le zinc influence également l'expression de la glutamate cystéine ligase, impactant ainsi la synthèse du glutathion. En outre, il restreint la production d'ERO en rivalisant avec les métaux de transition dans la réaction de Fenton, réduisant ainsi le risque de dommages oxydatifs (**Roussel et al., 2009; Eide, 2011**).

Pour ce qui est de la protection contre les radicaux libres, le zinc agit comme un puissant antioxydant. Son absence peut être un facteur de risque pour des maladies oxydatives telles que

les cancers, les maladies cardiovasculaires et le diabète. Il neutralise les radicaux libres de trois manières principales :

- En agissant avec le cuivre pour activer la superoxyde dismutase, qui neutralise les ions superoxydes.
- En empêchant la formation du radical hydroxyle et en s'opposant aux réactions non enzymatiques catalysées par le fer (Réaction de Fenton) qui produisent ce radical.
- En stabilisant les membranes en se liant aux groupes thiol, empêchant ainsi leur réaction avec le fer. De plus, le zinc maintient une concentration élevée en métallothionéines, qui agissent comme des pièges à radicaux libres (Roussel *et al.*, 2009).

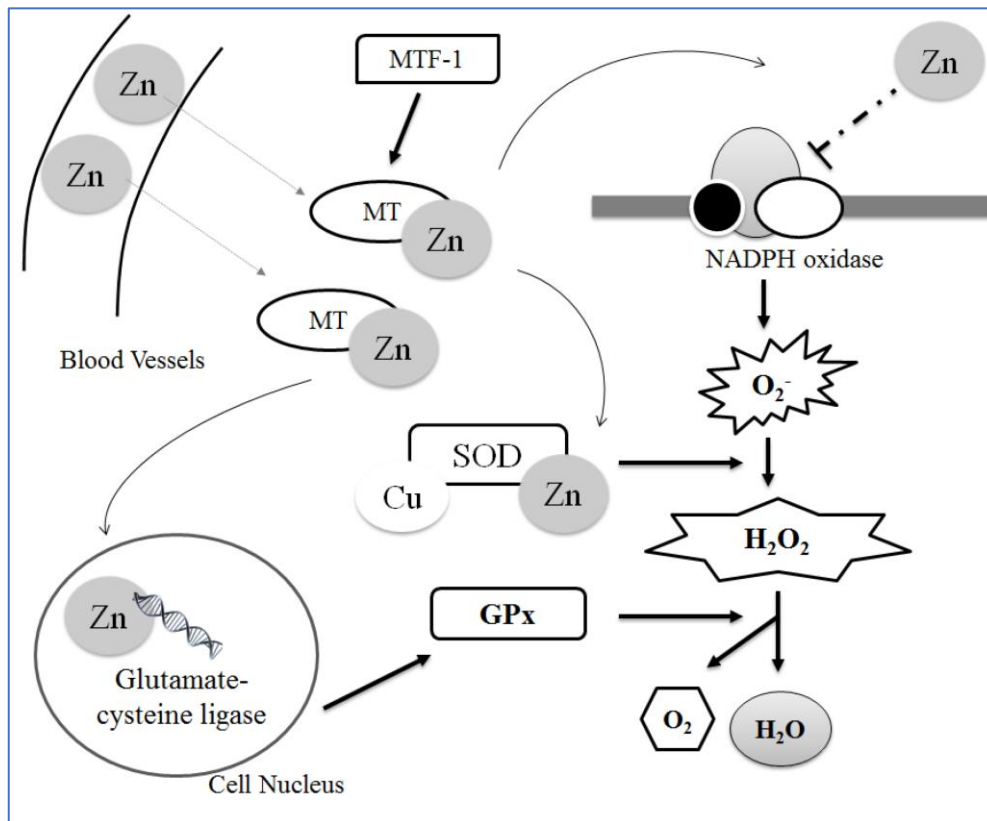


Figure 9: Implication du zinc dans les mécanismes antioxydants, selon Marreiro *et al.*, (2017).

5. La carence en zinc

La carence en zinc est reconnue comme l'un des principaux facteurs de risque de morbidité et de mortalité (**Black *et al.*, 2008**). Les principales causes de cette carence sont un apport alimentaire insuffisant en zinc, ainsi que des conditions pathologiques entraînant une augmentation des pertes de zinc ou une incapacité à utiliser efficacement le zinc (**Gibson *et al.*, 2009**).

Les symptômes cliniques de la carence en zinc sont variés, incluant un retard de croissance, des problèmes de reproduction, des troubles neurologiques et une sensibilité accrue aux infections en raison d'un dysfonctionnement immunitaire (**Brown *et al.*, 2001**). De plus, une carence en zinc altère les capacités antioxydantes des cellules, entraînant des dommages aux protéines et à l'ADN (**Oteiza *et al.*, 1995**).

Dans le cas du diabète, la carence en zinc contribue à une diminution de la synthèse d'insuline, une réduction de la sensibilité à l'insuline et des problèmes de fluidité membranaire, de stabilité de l'insuline et de synthèse de récepteurs à l'insuline (**Moore *et al.*, 2001**).

Les personnes atteintes de diabète sont particulièrement sensibles à la carence en zinc en raison d'une perte excessive de zinc dans les urines et d'une altération de son absorption intestinale (**Kazi *et al.*, 2008**).

CHAPITRE IV :

L'Azérolier (*Crataegus azarolus*)

Chapitre IV : L'azérolier (*Crataegus azarolus*)

1. Généralité

Depuis de nombreuses années, l'azérolier (*Crataegus Azarolus*) est présente en Algérie et est utilisée dans divers domaines, notamment en tant qu'aliment ; cette utilisation perdure jusqu'à nos jours. L'azérolier (*Crataegus* espèces), faisant partie de la famille des Rosacées, se présente sous la forme de petits arbres ou arbustes. Le terme communément utilisé pour désigner le (*Crataegus azarolus*) est azérolier ou azérole. L'arbre d'azérolier préfère les zones inférieures de la forêt (**Boudraa, 2008**).

1.1. Etymologie

Le nom botanique "*Crataegus azarolus*" désigne communément l'azérolier ou l'épine d'Espagne. En arabe, il est connu sous le nom de "Zaarour" et est appelé "Azarole Hawthorn" par les anglophones. Le terme "*Crataegus*" est le nom générique des azéroliers, une famille de plantes appartenant aux Rosacées. En latin, il dérive de "*Crataegon*" ou "*Crataegos*". L'azérolier tire peut-être son nom du grec "kratos", qui évoque la dureté de son bois (**Aymonin et al., 1993**).

Le terme "Azarolus" provient de l'espagnol "acerola", qui désigne le fruit, lui-même. Il est probable que les Arabes aient introduit l'azérolier en Afrique du Nord, puis en Espagne, où il était connu sous le nom d'épine d'Espagne, avant de se répandre en France (**Aymonin et al., 1993**).

1.2. Description de l'espèce

L'azérolier, également connu sous le nom d'épine d'Espagne, est un arbuste ou un petit arbre de la famille des Rosacées. Il atteint généralement entre 4 et 6 mètres de hauteur, bien qu'il puisse parfois atteindre jusqu'à 12 mètres. Cet arbuste présente une écorce lisse allant du gris clair au brunâtre, des rameaux pourpre foncé peu épineux, des feuilles caduques divisées en 3 à 5 lobes, et des fleurs blanches ou rosées dégageant un parfum agréable, regroupées en bouquets denses (figure 10). Les fruits de l'azérolier, appelés azéroles, sont des baies ressemblant à de mini-pommes, de couleur rouge vermillon ou jaunâtre à maturité, avec une chair pulpeuse et un goût acidulé. Chaque azérole renferme généralement deux noyaux plats,

bien que des variations avec trois noyaux ou un seul noyau entier soient également observées (Espiard, 2002).

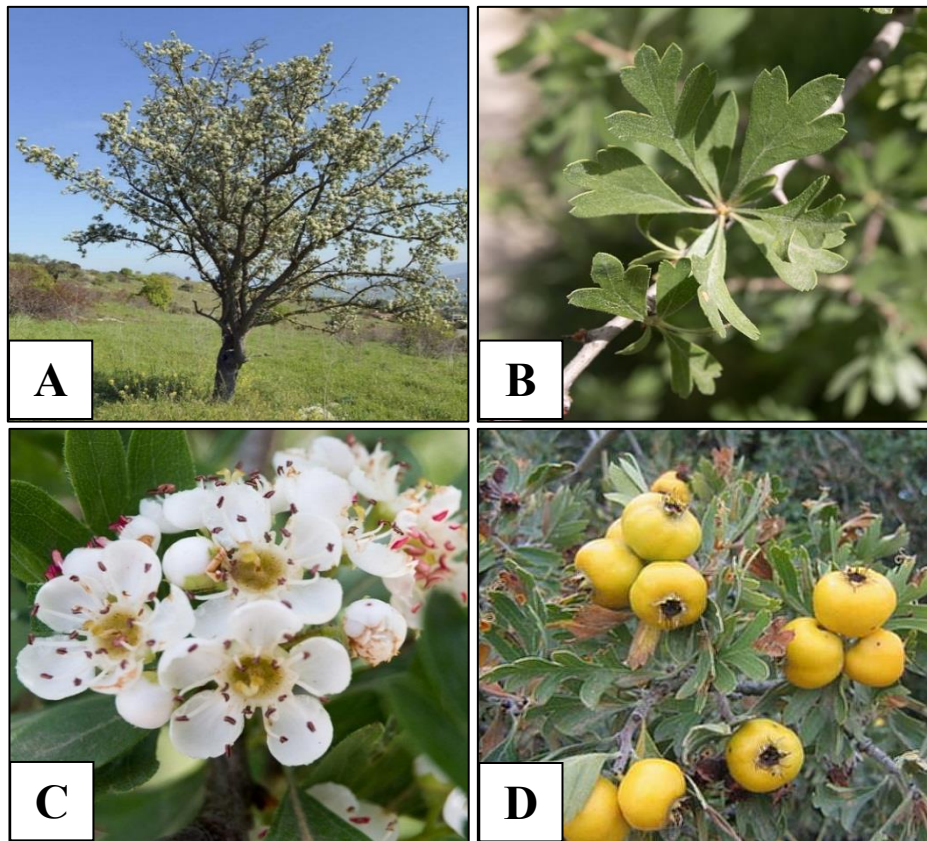


Figure 10: Morphologie détaillée du *Crataegus azarolus* (A) : Arbre ; (B) : Feuilles ; (C) : Fleurs ; (D) : Fruits.

1.3. Classification botanique

Tableau 4: La position taxonomique de l'Azerolier D'après (Messaili, 1995) :

Règne : Végétal

Sous-règne : Cormophytes (plantes à axe ou plantes vasculaires)

Embranchement : Spermaphytes (plantes à graines)

Sous-embranchement : Angiospermes (plantes à fruits)

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Dialypétales (Choripétales)

Série : Calciflores

Ordre : Rosales

Famille : Rosacées

Genre : *Crataegus*

Espèce : *Crataegus azarolus* L.

L'azérolier (Crataegus azarolus) est l'une des espèces spontanées de Rosacées en Algérie (Messaili, 1995).

1.4. Origine et répartition

L'azérolier, originaire de la Méditerranée Orientale, du Sud de l'Europe, de l'Afrique du Nord et de l'Asie Mineure, est une espèce répandue dans les zones tempérées de l'hémisphère nord (Mazzochi *et al.*, 1999; Brosse, 2004). En Algérie, il est naturellement présent dans la région du Tell algéro-constantinois, où il forme des forêts relativement rares et est parfois cultivé dans les jardins des zones rurales. Outre l'azérolier, plusieurs autres espèces du genre *Crataegus* sont présentes en Algérie, notamment *Crataegus oxyacantha*, *Crataegus monogyna*, *Crataegus maura*, et l'hybride *azarolus* × *oxyacantha* (Serhane *et al.*, 2005). Ce dernier, appelé Azerolier du Roussillon, se trouve dans le Constantinois et se distingue par ses pédicelles glabres et ses fruits plus petits par rapport à l'azérolier classique.

Serhane (2005) a confirmé la présence de l'azérolier dans plusieurs régions d'Algérie, notamment :

- La région de Constantine, comprenant Djebel El Meridj, El Khroub et Ain Abid.
- La région de Guelma, couvrant Oued Zenati et Ras el Akba, incluant Bouchegouf.
- La région de Souk Ahras.
- La région de Sétif, englobant Bougaa, Ain Roua, Ain Kbira, Beni Aziz, Djebel Boutaleb et Ouled Tebène.

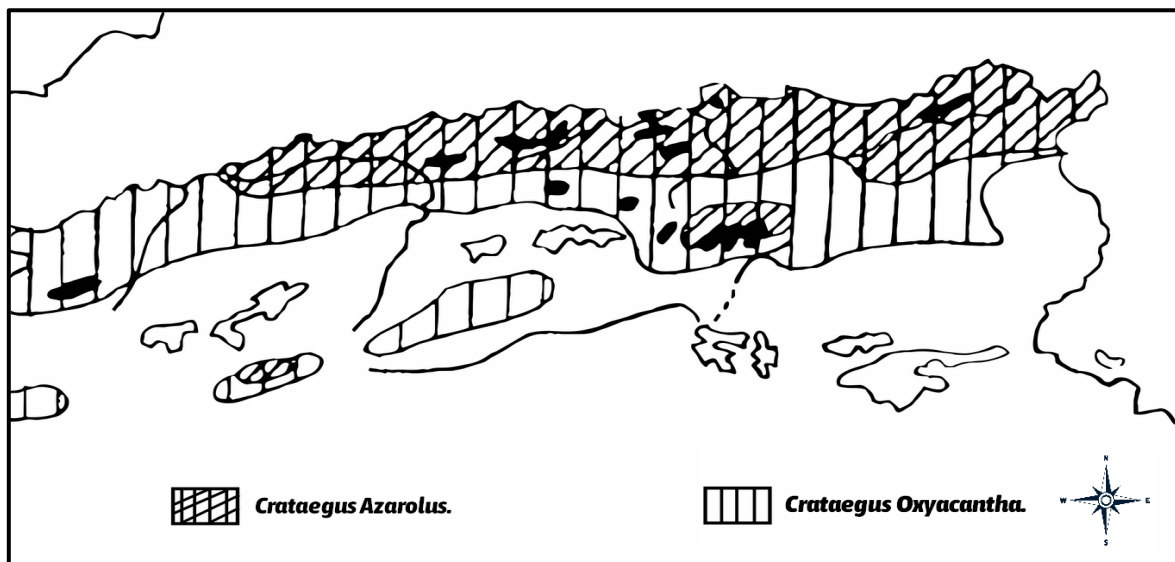


Figure 11: La répartition du *Crataegus* en Algérie (Quezel *et al.*, 1963).

2. Propriétés pharmacologiques

En médecine chinoise, l'azérolier est utilisé depuis environ 650 ans, en particulier pour traiter les troubles cardiovasculaires (Chang *et al.*, 2006).

Actuellement, la plante est reconnue pour ses nombreuses vertus et est intégrée dans la composition de plus de 200 préparations médicinales. Les fruits et les feuilles de l'azérolier ont été reconnus comme un bon remède pour les douleurs de l'appareil digestif et urinaire. Elle présente des propriétés antispasmodiques, astringentes, diurétiques, fébrifuges, hypotensives et sédatives (Rose *et al.*, 1999).

Les fleurs de l'azérolier sont réputées pour réguler les rythmes cardiaques, améliorer la circulation sanguine, traiter l'hypertension artérielle et apaiser le système nerveux.

Les feuilles de l'azérolier sont également réputées pour leur utilisation dans le traitement du cancer, du diabète et de la faiblesse sexuelle (**Ljubuncic et al., 2005**).

Des analyses récentes ont confirmé ces propriétés :

- Les feuilles et les fleurs de *Crataegus* renferment des composés agissant sur le système cardiovasculaire ainsi que des effets antidiabétiques (**McGuffin, 1997; Aierken et al., 2017**).
- Selon les études de **Sun et al., (2002)**, les extraits de *Crataegus* ont démontré des effets cardioprotecteurs en piégeant les radicaux et en inhibant l'élastase.
- Les études rapportées par **Özcan et al., (2005)** ont confirmé le potentiel cardiotonique de ces fruits, car ils sont utilisés dans le traitement de la faiblesse cardiaque, en particulier lorsqu'elle est accompagnée d'hypertension.
- Les fruits sont utilisés dans le traitement de diverses maladies cardiovasculaires, notamment l'insuffisance cardiaque, l'hypertension et l'athérosclérose, comme l'ont indiqué les recherches de **Chang et al., (2006)**.

CHAPITRE V :

L'avoine (*Avena sativa*)

Chapitre V : L'avoine (*Avena sativa*)

1. Généralité

L'avoine (*Avena sativa*) est une céréale de la famille des Poacées cultivée pour l'alimentation du bétail (70 %) et la consommation humaine (30 %) (**Barcchiya et al., 2017**).

Sur le plan nutritionnel, l'avoine se distingue des autres céréales par sa teneur élevée en protéines, en acides aminés essentiels et en matières grasses, atteignant 6 % à 10 %, bien au-dessus du blé et d'autres céréales qui se situent généralement entre 2 % et 3 % (**Singh et al., 2013; Kumar et al., 2021**). De plus, elle se distingue par sa richesse en β -glucanes, des composants fonctionnels essentiels recherchés dans diverses industries alimentaires (**Ahmad et al., 2010**). L'avoine est également riche en avénanthramides, plus de 20 composés polyphénoliques uniques qui présentent une activité antioxydante remarquable, surpassant de loin d'autres polyphénols présents dans les céréales (**Chu et al., 2013**).

Ces dernières années, les aliments à base d'avoine ont gagné en popularité en raison de leurs nombreux bienfaits pour la santé (**Chen et al., 2020**). La consommation régulière de produits à base d'avoine a été associée à une réduction du cholestérol sérique, ainsi qu'à une diminution du risque de maladies cardiovasculaires, d'obésité, d'hypertension, de cancer, de diabète et de troubles gastro-intestinaux (**Joyce et al., 2019**).

Les bienfaits pour la santé de l'avoine sont attribués à ses composants bioactifs, notamment les β -glucanes et les avénanthramides, qui présentent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives, vasodilatatrices, cytoprotectrices et anticancéreuses (**Ratnasari et al., 2017**).

2. Classification botanique

Tableau 5 : 1. La classification botanique de l'avoine (Kinthali Usha Rani, 2021) :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
<i>Sous-classe</i>	Commelinidae
<i>Ordre</i>	Cyperales
<i>Famille</i>	Poaceae
<i>Sous-famille</i>	Poideae
<i>Tribu</i>	Aveneae
<i>Genre</i>	Avena
<i>Ordre</i>	Poales
<i>Famille</i>	Poaceae

3. Phyto-constituants

Une large gamme de constituants chimiques (tableau 6) tels que les glucides, les protéines, les avénanthramides, les tocols, les lipides, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines et les stérols ont été rapportés dans l'avoine (*A. sativa*).

Tableau 6 : Tableau récapitulatif des phyto-constituants de l'avoine (*Avena sativa*)

Phyto-constituants	Description
Les glucides	- 3% à 4% de sucres provenant des fruits (glucose et fructose) ; β -glucanes, pentosanes, saccharose, kestose, néokéstose, bifurcose, néobifurcose et galactoarabinoxylane acide (Hansel, 1992)
Les protéines	- Principale protéine de stockage : avenaline (représentant environ 80% des protéines totales) - Autres protéines : gluten, zéine, prolamine mineure appelée avenine (Lásztity, 2017)
Les lipides	- Esters stériques, triglycérides, glycérides partiels, acides gras libres, glycolipides et phospholipides - Cinquante espèces moléculaires de N-acyl- phosphatidyléthanolamine et vingt-quatre espèces moléculaires d'acyl- phosphatidylglycérol (Holmback et al., 2001)
Les alcaloïdes	L'avoine contient également un alcaloïde indole appelé gramine ; (Duke, 1992) .
Les avénanthramides	- Composés phénoliques constitués d'acide anthranilique et d'hydroanthranilique liés à un acide hydroxycinnamique par une liaison amide. (Pihlava et al., 2004)
Les tocophérols et tocotriénols	- Antioxydants naturellement présents sous forme de composés liposolubles - Principalement α -tocotriénol suivi de l' α -tocophérol - Capacité de réduire la concentration de cholestérol sérique et d'inhiber la croissance de certaines cellules cancéreuses. (Peterson et al., 2007) (Pihlava et al., 2004) .
Acides organiques	- Acides maléique, citrique, malonique, aconitique, oxalique - Antioxydants : acide caféique et acide férulique (Dimberg et al., 2001) .
Flavonoïdes	- Plus de vingt-huit flavonoïdes différents identifiés - Propriétés phytoalexines pour certains (rhamnosylisowertisin) - Protection contre certains nématodes des céréales pour d'autres (O-methyl-apigénine-C-désoxyhexoside-O-hexoside) Wenzig et al., 2005
Saponines	- Saponines triterpénoïdes : avenacine, avenacosides A et B (Osborn, 2003)
Stérols	- Stérols présents dans les feuilles d'avoine : stérylglycosides, stérolglycosides acylés, saponines stéroïdiennes - Principalement constitués de sitostérol, stigmastérol et cholestérol (Eichenberger, 1984) .

4. Valeur nutritionnelle

La valeur nutritionnelle de l'avoine a été présentée dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Valeur nutritionnelle de l'avoine (Kinthali Usha Rani, 2021).

Nutriments	Unités	Par 1 tasse/156 g	Nutritif	Unités	Par 1 tasse /156 g
PROXIMITES :					
Eau	g	12.82	Vitamine D (D2 + D3)	µg	0
Énergie	kJ	2540	Vitamine D	UI	0
Protéine	g	26h35	LIPIDES :		
Total lipide (graisse)	g	10.76	Gras les acides, total saturé	g	1 . 899
Cendre	g	2,68	12 :0	g	0 . 037
les glucides, par différence	g	103.38	14 :0	g	0 . 023
Fibre, total diététique	g	16,5	16 :0	g	1 . 613
MINÉRAUX :					
Calcium, Californie	mg	84	18 :0	g	0 . 101
Fer, Fe	mg	7.36	Gras les acides, total monoinsaturé	g	3 . 398
Magnésium, Mg	mg	276	16:1 indifférencié	g	0 . 020
Phosphore, P.	mg	816	18:1 indifférencié	g	3 . 377
Potassium, K	mg	669	Gras les acides, total polyinsaturé	g	3 . 955
Sodium, N / A	mg	3	18:2 indifférencié	g	3 . 781
Zinc, Zn	mg	6.19	18:3 indifférencié	g	0 . 173
Cuivre, Cu	mg	0,977	Cholestérol	mg	0
Manganèse, Mn	mg	7.669	AMINO ACIDES :		
VITAMINES :					
Vitamine C, total ascorbique acide	mg	0	Tryptophane	g	0 . 365
Thiamine	mg	1.190	Thréonine	g	0 . 897
Riboflavine	mg	0,217	Isoleucine	g	1 . 083
Niacine	mg	1.499	Leucine	g	2 . 003
Pantothénique acide	mg	2.104	Lysine	g	1 . 094
Vitamine B- 6	mg	0,186	Méthionine	g	0 . 487
Le folate, total	µg	87	Cystine	g	0 . 636
Folique acide	µg	0	Phénylalanine	g	1 . 396
Le folate, nourriture	µg	87	Tyrosine	g	0 . 894
Le folate, DFE	µg DFE	87	Valine	g	1 . 462
Vitamine B -12	µg	0	Arginine	g	1 . 860
Vitamine B-12, ajoutée	µg	0	Histidine	g	0 . 632
Vitamine A, RAE	µg, RAE	0	Alanine	g	1 . 374
Rétinol	µg	0	Aspartique acide	g	2 . 259
Vitamine A, UI	UI	0	Glutamique acide	g	5 . 791
			Glycine	g	1 . 312
			Proline	g	1 . 457
			Sérine	g	1 . 170

DFE : Dietary Folate Equivalent ; RAE : Retinol Activity Equivalent ;

La composition nutritionnelle de l'avoine diffère significativement de celle des autres céréales, avec une teneur élevée en protéines et une quantité suffisante d'acides aminés essentiels.

5. Utilisations

L'avoine est mondialement reconnue comme un nutraceutique, un vitaliseur et un médicament en général. Leur importance médicinale, elles sont également utilisées pour le traitement pendant le sevrage du tabac, et la toxicomanie à l'opium. Les flocons d'avoine sont également utilisés comme aliment pour le bétail, les chevaux, les bovins, et dans certaines races de chiens et de poulets (**Anand, 1974**).

Les parties ayant des propriétés médicinales sont la plante fraîche ou séchée au-dessus du sol, les fruits mûrs et séchés, et la feuille et la tige séchées et battues. L'utilisation de la paille d'avoine a également été mentionnée dans certains textes, mais il y a peu d'action médicinale dans cette partie de la plante (**Weiss, 1988**).

5.1. Usages traditionnels

Dans la médecine traditionnelle, l'avoine est réputée pour ses multiples propriétés médicinales. Elle est utilisée pour traiter divers troubles tels que l'épuisement nerveux, l'insomnie et la faiblesse des nerfs. Ses propriétés antispasmodiques, antitumorales, émoullientes, diurétiques, neurotoniques, stimulantes, toniques et vulnérables en font une plante polyvalente (**Duke, 1981**). Une infusion d'avoine était traditionnellement recommandée pour les rhumatismes et la rétention d'eau, tandis qu'une teinture des parties vertes de la plante était utilisée comme stimulant nerveux et pour aider au sevrage tabagique et à la désintoxication de l'opium. L'utilisation de l'avoine dans les bains était courante pour traiter l'insomnie, l'anxiété et diverses affections cutanées telles que les brûlures et l'eczéma, grâce à son action émoulliente (**Wain, 1981**).

La paille d'avoine est également largement utilisée dans divers domaines. Outre ses utilisations traditionnelles dans la médecine populaire, elle est utilisée pour la biomasse, les fibres, le paillage, la fabrication de papier, les panneaux de construction, le chaume et comme matériau de rembourrage pour les matelas. De plus, les enveloppes d'avoine sont précieuses pour la production de furfural, un intermédiaire chimique utilisé dans diverses industries telles que la fabrication de nylon, d'huiles lubrifiantes, de butadiène, de colles de résine phénolique et de compositions de bande de roulement en caoutchouc (**Carruthers, 1986 ; Chevallier, 1996**).

5.2. Aliments et santé

Les flocons d'avoine sont polyvalents en cuisine et sont utilisés pour préparer des plats tels que le porridge, les galettes d'avoine, les biscuits et le pain à l'avoine, ainsi que dans les céréales froides comme le muesli et le granola. De plus, la crème glacée à l'avoine et le lait d'avoine sont des options disponibles. En raison de ses propriétés conservatrices et antioxydantes naturelles, l'avoine est utilisée dans une variété de produits alimentaires tels que le pain, le lait, la poudre de lait, le beurre, la crème glacée, l'huile de poisson, l'huile d'olive, le bacon, la graisse de porc, le poisson surgelé et la saucisse surgelée (Gauldie, 1981 ; Sikora *et al.*, 2008). La farine d'avoine est également utilisée pour aromatiser le pain et comme substitut du café, tandis que les lipides d'avoine ont un potentiel comme émulsifiants dans le pain et le chocolat. La gomme d'avoine est également proposée comme alternative à la gélatine dans la crème glacée, les sauces et les vinaigrettes (Sikora *et al.*, 2008).

5.3. Nutraceutiques et pharmaceutiques modernes

L'avoine est généralement considérée comme "saine" et la consommation de son « Son » est censée abaisser le cholestérol LDL ("mauvais") et potentiellement réduire le risque de maladie cardiaque. Ces propriétés ont conduit à une meilleure appréciation de l'avoine en tant qu'aliment humain (Truswell, 2002 ; Kelly *et al.*, 2007).

Tableau 8 : Composants Nutraceutiques et Pharmaceutiques Modernes de l'Avoine.

Catégorie	Description
Les fibres	- Les fibres solubles, notamment les β - glucanes, contribuent à réduire le cholestérol LDL et le risque de maladies cardiaques ; une portion contenant au moins 0,75 gramme de fibres solubles de l'avoine peut bénéficier de cette allegation (Saturni <i>et al.</i> , 2010)
Les lipides	Très riche en lipides, contenant plus de 10 % par rapport à d'autres céréales ; Teneur élevée en lipides polaires, avec une concentration de lécithine significative (Sahasrabudhe, 1979)
Les protéines	- Contient l'avenaline, une protéine de type légumineuse, comme protéine de stockage majeure - Protéine globuline caractéristique, solubilité dans l'eau - Qualité de protéine presque équivalente à celle du soja et d'autres sources de protéines animaux (Lasztity, 1999).
Les vitamines	- Présence de vitamines hydrosolubles et liposolubles ; Teneur en vitamines A, B1 (thiamine), B6, et E (tocophérol) (Gregory, 1991)
Les substances minérales	- Riche en minéraux ; Excellente source de sélénium, nécessaire pour la glutathion peroxydase, un antioxydant important (Kinthali Usha Rani, 2021).

La teneur en minéraux des graines d'avoine et des jeunes plantes d'avoine est donnée dans le tableau 9.

Tableau 9 : Teneur en minéraux des fruits et parties vertes d'*A. sativa* (mg/100 g) (*Kinthali Usha Rani, 2021*).

Éléments	Graines D'avoine	Avoine verte
K	355	1140
Ca	79.6	660
Mg	129	715
P	342	330
Mn	3.7	8.5
Fe	5.8	39
Zn	4.5	19.2
Cu	0.47	2.1

6. Effets Pharmacologiques et essais Cliniques de l'avoine

L'avoine et ses constituants sont rapportés posséder diverses activités pharmacologiques (tableau 10) telles que la réduction du cholestérol sanguin et de la glycémie, l'immunomodulation, l'anticancer, l'antioxydant, l'antiathérogène, anti-inflammatoire topique, utile dans le contrôle de l'asthme infantile, du poids corporel, etc.

Tableau 10 : les effets pharmacologiques et des essais cliniques de l'avoine.

Effet pharmacologique/clinique	Description
Activité antidiabétique	Le β -glucane de l'avoine atténue la réponse glycémique postprandiale, bénéfique pour la prévention du diabète de type 2. L'avoine est également riche en magnésium, nécessaire pour l'utilisation du glucose par le corps et la sécrétion d'insuline. (Livesey et al., 2008)
Prévention du cancer	La consommation d'avoine est associée à un risque réduit de cancer, en particulier du côlon. Le sélénium et les fibres solubles dans l'avoine participent à la réduction du risque de certains cancers en favorisant la prolifération cellulaire de la muqueuse colique. (Anderson et al., 2009) .
Effet immunomodulateur	Les 3-glucanes de l'avoine stimulent les cellules immunitaires, offrant une protection contre les infections et une activité antitumorale. (Hong et al., 2004)
Effet sur la maladie cœliaque	Des données cliniques indiquent que les patients cœliaques peuvent tolérer des avoines non contaminées, ce qui en fait une option possible dans un régime sans gluten. (Rajinder, 2013)
Effet sur l'asthme	Une augmentation de la consommation d'avoine et de poisson est associée à une réduction du risque d'asthme chez les enfants. Les enfants ayant une faible consommation de ces aliments présentent une prévalence plus élevée d'asthme. (Rajinder, 2013)
Obésité	Le β -glucane d'avoine est associé à une réduction significative du poids corporel et de l'IMC, ainsi qu'à une diminution du risque d'obésité. Les fibres solubles de l'avoine prolongent la sensation de satiété, contribuant ainsi à la perte de poids. (Sanchez et al., 2008)
Réduction du cholestérol	Les produits à base d'avoine réduisent significativement le cholestérol total et LDL. Le B-glucane et les avénanthramides sont les principaux composés responsables de cet effet, agissant en augmentant la viscosité du bol alimentaire et en supprimant la production de molécules impliquées dans l'athérosclérose. (Liu et al., 2004) .
Maladies cardiovasculaires	La consommation d'avoine est associée à une réduction du risque de maladies cardiovasculaires. Les fibres solubles et les avénanthramides présents dans l'avoine contribuent à cet effet bénéfique. (Djousse, 2007)
Effet sur le flux sanguin	L'avoine améliore la santé cardiovasculaire en augmentant la vasodilatation médiée par le flux sanguin et en réduisant la pression artérielle. Les régimes riches en fibres solubles d'avoine réduisent également le besoin de médicaments antihypertenseurs. (Katz et al., 2004)
Activité antioxydante	L'avoine présente une bonne activité antioxydante, principalement due à ses composés phénoliques polaires comme les avénanthramides. Ces composés réduisent les dommages causés par les radicaux libres, réduisant ainsi le risque de maladies cardiovasculaires. (Rajinder, 2013)



LA PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

Chapitre VI : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel Végétal

1.1. Description de la région

La commune d'Aïn-Berda est située au Sud-est de la wilaya d'Annaba à 34 km au sud-ouest d'Annaba. Elle est traversée du sud au nord par la Nationale 21 à l'Ouest de la limite de la ville originelle. La sortie N° 5 de l'Autoroute Est-Ouest est dans la commune, et fait jonction avec la Pénétrante de Guelma. Elle présente une diversité floristique unique grâce à la diversité de ses écosystèmes, ses chaînes montagneuses traversées de gorges (figure 12)



Figure 12: La commune de Aïn-Berda wilaya d'Annaba (**Google Earth**)

1.2. Récolte de la plante

Les feuilles d'azérolier fraîches ont été récoltées en septembre 2020, dans la région d'Aïn-Berda (Wilaya d'Annaba), lavées plusieurs fois, coupées en petits morceaux, séchées à l'obscurité et broyées au mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.

Les flocons d'avoine ont été recueillis auprès de l'Office Algérien Interprofessionnel des Céréales (OAIC) de la région d'Ain-Berda (Wilaya d'Annaba). Les flocons ont été broyés dans le moulin et filtrés du son qu'ils contenaient. Afin d'obtenir une poudre très fine sans impuretés.

Les poudres obtenues ont été conservées à une température ambiante dans des récipients hermétiques à l'abri de la lumière jusqu'à le début de l'expérimentation.

1.3. Analyse phytochimique de la plante

1.3.1. Aspect qualitatif

La préparation de l'infusé à 10 %, a été préparé de la manière suivante : 5 g de feuilles broyées séchées sont mis dans 50 ml d'eau bouillante, on filtre après 15 min d'attente.

- **Détection des Tanins**

5 ml de l'infusé a été préparé, 1ml de solution de chlorure ferrique (Fe Cl_3) à 1% a été ajouté au mélange goutte à goutte: l'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques, bleu noirâtre : tanins galliques.

A 30 ml de l'infusé, 15 ml de réactif de Stiasny (Formol à 30% + HCl concentré 3-1 v/v) a été rajouté. Après chauffage de 30 min au bain-marie, l'observation d'un précipité orange indique la présence des tanins catéchiques (**Bruneton, 1993**).

- **Détection des Saponines**

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. 2 g de matériel végétal sec broyé à tester sont utilisés pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau. On porte à ébullition pendant 30 min.

Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. A partir de cette solution mère, on prépare 10 tubes avec 1, 2, ... 10 ml, le volume final étant réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée.

Chacun des tubes est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 min en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm.

Si elle est proche de 1 cm dans le ‘x’ tube, alors la teneur en saponosides est évaluée comme suivant :

- ✓ Pas de mousse : test faiblement positif.
- ✓ Mousse moins de **1 cm** = test moyennement positif.
- ✓ Mousse de **1-2 cm** = test positif.
- ✓ Mousse plus de **2 cm** = test très positif (**Trease *et al.*, 1987**)

- **Détection des anthocyanes**

La recherche des Anthocyanes repose sur le changement de la couleur de l'infusé à 10% avec le changement de pH. Quelques gouttes de HCl ont été ajoutés à l'infusée après observation de changement de couleur, quelques gouttes de NH₄OH ont été ajoutées.

Un test positif est révélé par une coloration rose-rouge qui vire au bleu violacé (**Debrayb *et al.*, 1971 ; Paris *et al.*, 1969**)

- **Détection des alcaloïdes**

Cinq grammes (5 g) de poudre sont mélangés avec 50 ml d'HCl à 1 % dans un récipient. Après une macération, une filtration du mélange a été effectuée et quelques gouttes de réactif de Mayer ont été additionnés au filtrat: l'apparition d'un précipité blanc indique leur présence (**Bruneton, 1999; Karumi, 2004**).

- **Détection des flavonoïdes**

Dix grammes (10 g) de poudre sont macérés dans 150ml d'HCl à 1% pendant 24 heures, après avoir filtré le mélange:

10ml du filtrat, après avoir rendu basique par l'ajout de NH₄OH, après 3 heures ; l'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

1.3.2. Aspect quantitatif

- **Dosage des polyphénols totaux**

- **Principe**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par **Wong *et al.*, (2006)**. La méthode la plus utilisée pour l'évaluation quantitative des composés phénoliques dans les extraits végétaux est basé sur leurs capacités de réduire le mélange d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) et phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) du réactif de Folin-Ciocalteu.

- **Mode opératoire**

- Un volume de 0,1 mL de chaque extrait est mélangé avec 2ml de la solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparé.
 - Le mélange est agité par un vortex et incubé pendant 5 minutes.
 - 100 µl du réactif Folin-Ciocalteu 0,1N est ajouté au mélange (dilution 1/10).
 - Le mélange obtenu est incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.
 - L'absorbance est mesurée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm.
 - L'absorbance maximale lue à 750nm est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans les extraits végétaux.
 - Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif ([voir annexe 1](#)).

- **Dosage des flavonoïdes totaux**

- **Principe**

Le dosage des flavonoïdes est réalisé en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510nm.

- **Mode opératoire**

La quantification des flavonoïdes est réalisée par la méthode colorimétrique décrit par **Zhishen *et al.*, (1999)**.

- 500 µl de l'extrait sont ajoutés à 2 ml d'eau distillée suivi de 150 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 15%.
- Après 6 minutes, 150 µl de chlorure d'aluminium (AlCl₃-6H₂O) à 10% sont ajoutés au mélange.
- Le tout est laissé pendant 6 minutes, ensuite 2 ml d'hydroxyde de sodium à 4% sont ajoutés aux tubes et le volume final est complété immédiatement à 5 ml par l'eau distillée.
- Après 15 minutes, la lecture est faite à 510 nm contre un blanc au spectrophotomètre.
- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif ([voir annexe I](#)).
- Les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme de matière végétale sèche.

- **Dosage des tanins condensés**

Les quantités des tannins condensés sont estimées en utilisant la méthode vanilline (**Julkunen-Tiitto, 1985**). Un volume de 50µL de l'extrait brut (aqueux) est ajouté à 1500µL de la solution vanilline /méthanol (4% ; m/v) puis mélangé le contenu à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750µL de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionnée et laisser réagir à la température ambiante pendant 20 min.

L'absorbance à 550nm est mesurée contre le blanc. La concentration des tannins est estimée en milligramme (mg) équivalent de catéchine par gramme (g) du poids de la matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage.

1.4. Le pouvoir antioxydant de la plante « test au DPPH° »

- Principe

Cette méthode est basée sur le principe que le DPPH° (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) accepte un atome d'hydrogène (H) à partir d'une molécule scavenger par exemple un antioxydant, résultant une réduction du DPPH° en DPPH₂, un changement de la couleur violette en jaune (figure 13), avec une diminution concomitante de l'absorbance à 515nm (**Mishra et al., 2012**). Le degré de changement de la couleur est proportionnel à la concentration et à la puissance des antioxydants.

L'activité antioxydante est ensuite mesurée par la diminution de l'absorbance à 515nm. Une grande diminution de l'absorbance du mélange réactionnel indique une activité significative du balayage du composé à l'essai (Nunes *et al.*, 2011).

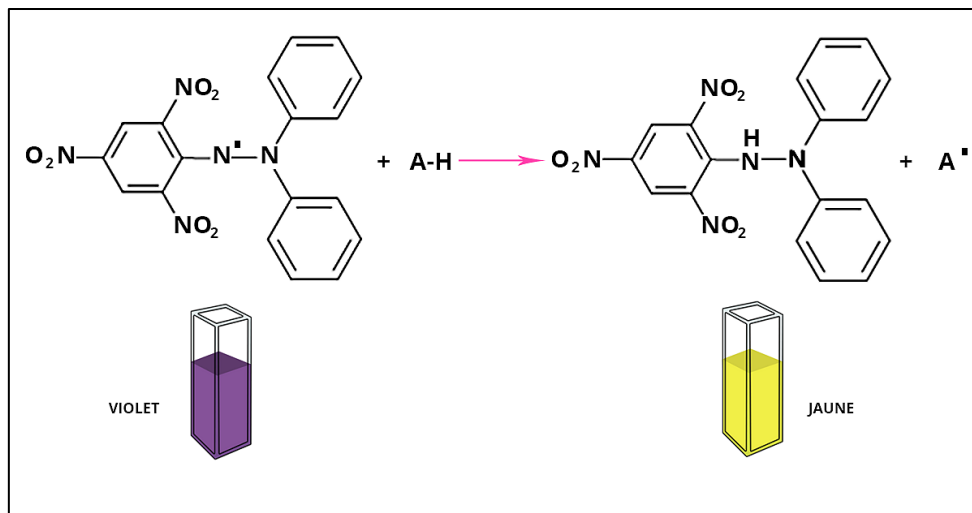


Figure 13: Forme libre et réduite du DPPH° (Nunes *et al.*, 2011).

- Mode opératoire

- Préparation de la solution mère du DPPH° : Le DPPH est solubilisé dans le méthanol absolu (Mishra *et al.*, 2012) pour en avoir une solution de 0,3mM.
- La méthode de Brand-Williams *et al.*, (1995) a été suivie pour la réalisation de notre test. La méthode consiste à faire mélanger 100 µl de chaque extrait à tester avec 1900 µL d'une solution méthanolique de DPPH°, le mélange est agité vigoureusement pendant quelques secondes. Celui-ci est laissé à l'obscurité pendant 30 min.
- La mesure d'absorbance a été effectuée à 515nm en utilisant un spectrophotomètre type SECOMAM UV line 9400, contre le blanc correspondant.
- Le contrôle négatif est composé de 1900µL de la solution méthanolique de DPPH et de 100µL de méthanol.

- Expression des résultats

Plusieurs paramètres peuvent être pris en compte pour faire la détermination de l'activité anti-radicalaire entre autres est de calculer la concentration d'inhibition (IC₅₀),

❖ La concentration d'inhibition (IC₅₀)

les résultats sont exprimés en pourcentage (%) d'inhibition selon la formule suivante (Mishra *et al.*, 2012) :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{Abs Blanc} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs blanc}] \times 100$$

Abs blanc et Abs échantillon correspond à l'absorbance à 515nm du radical de DPPH° en absence et en présence de l'antioxydant respectivement.

La valeur IC50 a été définie comme étant la concentration minimale du l'extrait qui inhibe 50% de l'activité de DPPH°.

2. Matériel Biologique et condition d'élevage

Dans cette étude, 40 rats blancs mâles (*Albinos Wistar*) ont été utilisé, provenant de l'institut Pasteur (Centre d'élevages El-Kouba, Alger), âgés de neuf semaines et ayant un poids corporel entre 200 et 250 g. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours environ, aux conditions de l'animalerie, à une température voisine de 25°C et une photopériode naturelle. Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

3. Induction du diabète

Les rats ont été maintenus toute la nuit à jeun avant de procéder à l'injection intrapéritonéale de la Streptozotocine STZ (*Sigma Chemicals Company*), Afin d'induire le diabète (de type 1) chez les rats wistar adultes. Selon Nagarchi *et al.*, (2015), l'injection intrapéritonéale d'une dose unique de (50 mg/kg du poids corporel) de STZ chez les rats provoque une dégénérescence de la cellule bêta des îlots de Langerhans et induit un diabète sucré expérimental. La STZ dissoute dans une solution tampon Citrate (0.1 mol/L, pH 4.5). Une solution de glucose à 5 % est ajoutée à l'eau de boisson pour éviter l'hypoglycémie. Après 72 heures de l'injection, le diabète a été confirmé chez les rats par la mesure de la glycémie à jeun à l'aide d'un glucomètre (*Vital Check®MM1200*) dans des échantillons prélevés à partir de la veine caudale grâce à une incision au niveau de l'extrémité de la queue. Seuls les rats ayant un taux de glucose sanguin supérieur à 1,8 g/L ont été sélectionnés pour les groupes diabétiques.

4. Composition de régimes alimentaires

Dans notre travail, deux régimes alimentaires pour rats ont été préparés, l'un supplémenté en zinc (54 mg/kg d'aliment) pour les groupes dont la nourriture est adéquate en zinc et l'autre à faible teneur en zinc (1,2 mg/kg d'aliment) destiné aux groupes dont l'alimentation est carencée en zinc. La préparation du régime a été effectuée comme décrit par **Southon *et al.*, (1988)**, en mélangeant des quantités de matières premières et de métaux, comme indiqué dans le tableau 11 et 12.

Tableau 11 : La composition de la nourriture (**Southon *et al.*, 1988**).

Les matières premières	La quantité (g/Kg nourriture)	Le pourcentage (%)
Amidon	326	32.6
Saccharose	326	32.6
Protéines	168	16.8
Cellulose	40	4
Métaux mixtes	40	4
Vitamines	20	2
Huile	80	8

Tableau 5: La quantité des métaux dans la nourriture (**Southon *et al.*, 1988**).

Le métal (mg/kg)	Régime alimentaire adéquat en zinc	Régime alimentaire carencé en zinc
Zinc	52.1	/
Cuivre	6.0	6.0
Iode	0.6	0.6
Manganèse	58.5	58.5
Fer	28.6	28.6
Calcium	7.11	7.11
Phosphate	14.02	14.02
Chlore	3.68	3.67
Potassium	3.34	3.33
Magnésium	0.70	0.70
Sodium	2.39	2.39

5. Constitution des groupes expérimentaux

Après l'induction de diabète, les rats ont été répartis en 5 groupes de 8 rats chacun, il s'agit de :

- ❖ **Groupe 1** : rats témoins non-diabétiques (ND) sous un régime alimentaire adéquat en zinc.
- ❖ **Groupe 2** : rats diabétiques sous un régime alimentaire adéquat en zinc (DAZ).
- ❖ **Groupe 3** : rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc (DCZ).
- ❖ **Groupe 4** : rats diabétiques traités par un extrait aqueux de l'azérolier à une dose de 150mg/Kg) (DCZ + Ab), sous un régime alimentaire carencé en zinc (**Mustapha *et al.*, 2016**).
- ❖ **Groupe 5** : rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc et supplémentées en avoine 10% d'aliment (DCZ + Av) (**Aly, 2012**).

Ce protocole expérimental s'est poursuivi pendant 28 jours. Cependant la consommation alimentaire est mesurée quotidiennement, tandis que le poids des animaux est poursuivi deux fois par semaine.

6. Prélèvement des échantillons

6.1. Prélèvement sanguin

Après un suivi de 28 jours de traitement, les rats ont été sacrifiés par décapitation. Le sang a été récupéré immédiatement dans des tubes héparinés, pour tous les paramètres biochimiques et dans d'autres tubes secs, pour le dosage de l'insuline, puis soumis à une centrifugation (15 minutes, 3000 tours/min, 4°C).

Les échantillons obtenus ont été stockés au congélateur, à -20°C pour le dosage ultérieur des paramètres biochimiques (Glucose, Insuline, transaminase-glutamo-oxaloacétique (TGO), transaminase-glutamo-pyruvique (TGP), Phosphatase alcaline (PAL), Cholestérol, Triglycérides (TG), Lactate déshydrogénase (LDH), Bilirubine totale et Bilirubine directe, Protéines totales, albumine, créatinine, urée et acide urique, Alfa Amylase).

6.2. Prélèvement des organes

- ❖ Les organes prélevés, sont débarrassés de leurs tissus adipeux, rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0.9% et pesés.
- ❖ Le fémur, fragment du pancréas, le rein et un fragment du foie des rats ont été mis dans une étuve à 80 °C pendant 16 heures pour les sécher, puis ils ont été conservés pour déterminer la concentration du zinc, et le deuxième fragment du foie et l'autre rein ont été stockés à (-20 °C) pour le dosage des paramètres du stress oxydatif.
- ❖ L'autre fragment du pancréas a été conservé dans une solution de formol (10%) et destiné pour réaliser l'étude histologique de ce tissu.

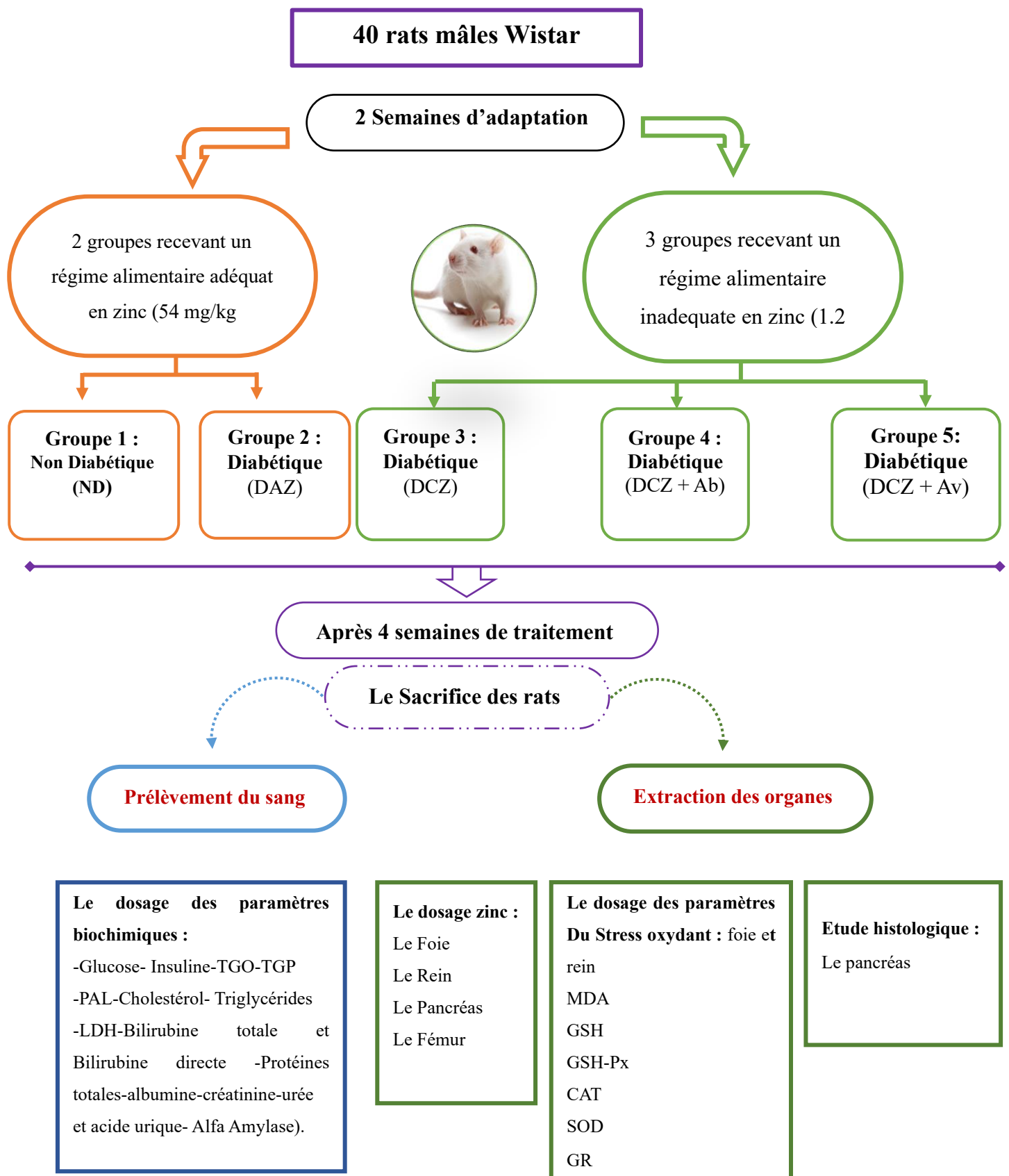


Figure 14: Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

7. Techniques de dosage

7.1. Dosage Du zinc

Les organes préalablement séchés ont été mis au four à moufle (Furnace) pendant 48 heures à 480 °C. Après refroidissement, les cendres obtenues ont été dissous avec l'acide nitrique concentré, diluées avec l'eau distillé et filtrées à l'aide d'un papier filtre wattman No 542. La détermination de la concentration du zinc dans les organes a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique de flamme (*Perkin-Elmer AAnalyst 400 AA Spectrometer*). La concentration du zinc est déterminée par comparaison à une gamme étalon de nitrate du zinc (1mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions (**Southon et al., 1988**).

7.2. Dosage des paramètre Biochimique

Le dosage des paramètres biochimique a été effectué à l'aide d'un système analyseur de biochimie (Erba Mannheim XL600) et le principe de chaque test a été déterminé selon la fiche technique ERBA XL-600 ([voir Annexe 2](#)).

7.2.1. Test de Tolérance au Glucose Oral (TTGO)

Les tests de tolérance au glucose oral ont été réalisés selon la méthode de Bonner-Weir (Bonner-Weir, 1988). Les animaux ont été divisés en 7 groupes, chacun composé de six animaux. Le groupe 1 a servi de groupe témoin, tandis que les groupes 2, 3 et 4 ont reçu des doses orales de 100, 150 et 200 mg/kg d'extraits aqueux de **C. azarolus**, respectivement. Les groupes 5, 6 et 7 ont été nourris avec un régime alimentaire supplémenté à 5%, 10% et 15% de *Avena sativa*, respectivement.

Après 14 jours de traitement, le TTGO a été effectué sur les animaux qui étaient maintenus sous un régime alimentaire standard. Des échantillons de sang ont été prélevés à partir de la veine caudale des rats à jeun avant l'administration de glucose (2 g/kg) et à 30, 60, 90 et 120 minutes après la charge de glucose. Les niveaux de glucose sanguin ont été mesurés immédiatement à l'aide d'un glucomètre Vital-Check.

7.2.2. Dosage de l'insuline

La concentration de l'insuline dans le sérum des rats a été déterminée à l'aide d'un système analyseur *COBAS E411 (TEST N°650)*. Ce test immunologique est utilisé pour la détermination quantitative *in vitro* de l'insuline dans le sérum sanguin.

- Principe

Méthode "*Sandwich*". Durée totale du cycle analytique : 18 minutes.

- 1^{ère} incubation : 20 µl d'échantillon sont mis en présence d'un anticorps monoclonal anti-insuline biotinylé et d'un anticorps monoclonal anti-insuline marqué au ruthénium. Il se forme un complexe "*Sandwich*".
- 2^{ème} incubation : les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans cuvette réactionnelle. Le complexe immunitaire est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est aspiré dans la cellule de mesure où les microparticules sont maintenues au niveau de la surface de l'électrode par un aimant.

L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell M. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.

- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Celle-ci est générée spécifiquement pour l'analyse utilisée par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans l'étiquette code-barres ou le e-code-barres du réactif (**Sapin et al., 2001**).

7.2.3. Dosage Du Glucose

Le glucose a été mesuré à l'aide d'un glucomètre (VitalChek MM1200).

- Principe du test

Le glucose contenu dans l'échantillon sanguin réagit avec le glucose oxydase contenu dans la bandelette, un faible courant électrique est produit. L'intensité de ce courant varie selon la quantité de glucose présente dans l'échantillon sanguin.

Le lecteur (Vital Check MM1200) mesure l'intensité du courant, calcule la glycémie, affiche le résultat et le conserve en mémoire.

8. Dosage des paramètres du stress oxydant

8.1. Préparation de l'homogénat

L'évaluation du stress oxydatif a été réalisée dans les tissus hépatiques et rénaux des rats. Un gramme de foie ou de rein des différents groupes étudiés a été homogénéisé dans un tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4). La suspension cellulaire a ensuite été centrifugée à 9000 tours/minute pendant 15 minutes à 4°C. Le surnageant obtenu a été aliquoté dans des tubes Eppendorf puis conservé à -20°C en attendant le dosage des paramètres du stress oxydatif.

8.2. Dosage des protéines

- Principe

Le dosage des protéines est déterminé selon la méthode de **(Bradford, 1976)**, qui utilise le Bleu Brillant de Coomassie G250 comme réactif. Ce dernier, réagit avec les groupements amines (- NH) des protéines pour former un complexe de couleur bleue. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines qui est mesurée à 595nm (à l'aide d'un spectrophotomètre SECOMAM UV line 9400)

- Mode opératoire

Un volume de 5 mL de bleu brillant de Coomassie (G250) est ajouté à 0,1 ml de l'homogénat, après agitation, le mélange est laissé à température ambiante pendant 5 min pour la stabilisation de la couleur. L'absorbance de l'échantillon est mesurée à 595 nm contre le blanc contenant la solution de tampon phosphate à la place de l'homogénat. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage préalablement réalisée dans les mêmes conditions, en utilisant une solution mère d'albumine bovine sérique (1mg/mL de **BSA**) comme standard ([voir Annexe 2](#)).

8.3. Détermination du taux de Malondialdéhyde (MDA) au niveau tissulaire

Le niveau de peroxydation lipidique a été évalué en mesurant le malondialdéhyde avec le test TBARS (Thiobarbituric reactive species) selon la méthode de **Buege et al., (1978)**. Le test

TBARS est le test le plus couramment utilisé pour déterminer indirectement la peroxydation des lipides, en mesurant le MDA.

- Principe

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm (figure 15).

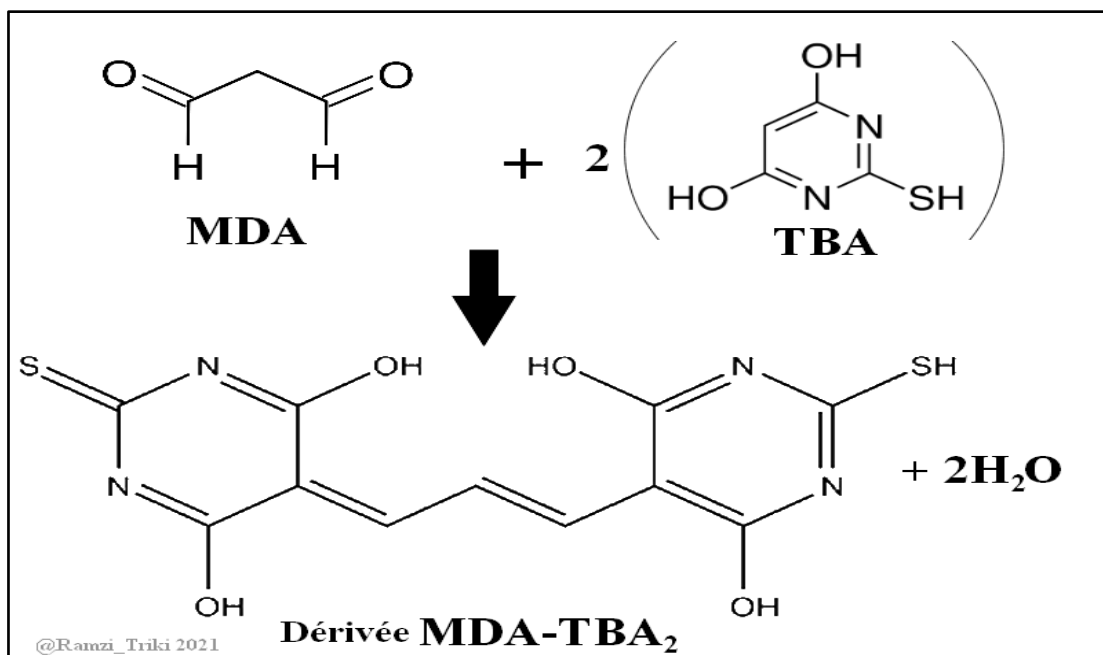


Figure 15: Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide Thiobarbiturique.

- Mode opératoire

- Prélever 375 µl de l'homogénat.
- Ajouter 150 µl de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Ajouter 375 µl de solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%).
- Agiter et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min.

- Prélever 400 µl de surnageant. Puis ajouter 80 µl d'HCl (0.6 M).
- Ajouter 320 µl de solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM).
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.

La densité optique a été enregistrée à $\lambda=530$ nm. L'absorbance est proportionnelle à la quantité de MDA formée, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés.

La concentration du MDA est calculée selon la loi de **Beer-Lambert** (**DO = E.C.L**) :

$$C \text{ (nmol /mg protéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot X \cdot Fd}$$

- **C** : Concentration de MDA en nMol/mg de protéines.
- **DO** : Densité optique lue à 530 nm.
- **ϵ** : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
- **L** : Longueur du trajet optique = 1 cm.
- **X** : Concentration d'échantillon en protéines (mg/ml).
- **Fd** : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.

8.4. Détermination du taux de glutathion réduit (GSH)

- Principe

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé selon la méthode d'**Ellman, (1959)** avec quelques modifications apportées par **Jollow *et al.*, (1974)**.

La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque (**DTNB**) par le GSH, ce qui libère l'acide Thio-Nitro-Benzoïque (**TNB**) (figure 16) lequel présente une absorbance à 412nm.

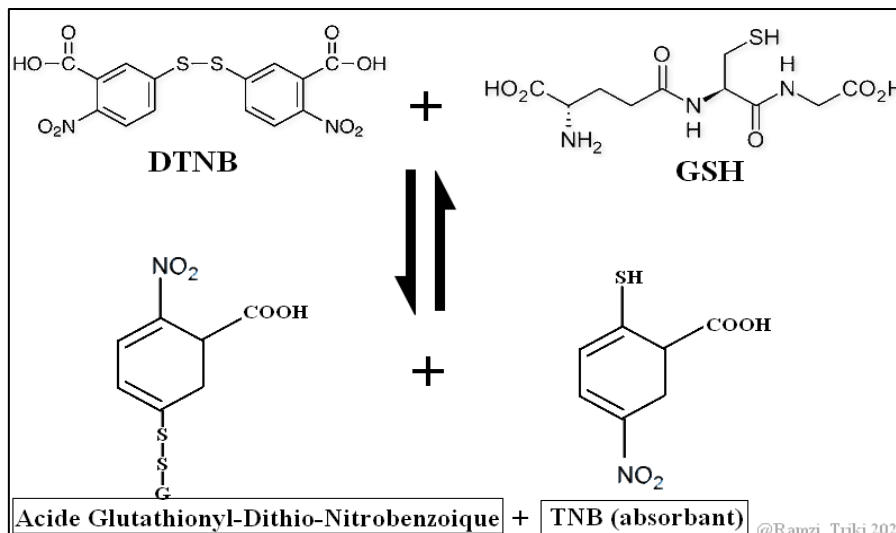


Figure 16: Principe de dosage du glutathion.

- Mode opératoire

- Prélever 0,8 ml de l'homogénat. Puis Ajouter 0,2 ml de solution d'acide salicylique (0.25%).
- Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- Prélever 0,5 ml du surnageant.
- Ajouter 1 ml de tampon Tris, pH 9,6.
- Mélanger et ajouter 0,025 ml d'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0,01M. Puis laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire la densité optique à 412 nm contre le blanc. La concentration du glutathion réduit est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH } (\mu\text{Mol/mg protéine}) = \frac{\text{DO} \times \text{L} \times 1.525}{13.1 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéine}}$$

- **L** : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8mL homogénat + 0.2 mL de l'acide salicylique).
- **1,525** : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 mL surnageant +1 mL Tris + 0.025 mL DTNB).
- **13,1** : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.

- **0,8** : Volume de l'homogénat. **0,5** : Volume du surnageant.

8.5. Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

- Principe

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mesurée par la méthode de **Flohé *et al.*, (1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH). Ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GSH-Px selon la réaction suivante :



- Mode opératoire

- Prélever 0,2 ml de l'homogénat (surnageant) ;
- Ajouter 0,4 ml de GSH (0,1 mM) ;
- Ajouter 0,2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4 ;
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min ;
- Ajouter 0,2ml de H₂O₂ (1,3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction ;
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes ;
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes ;
- Prélever 0,48 ml du surnageant ;
- Ajouter 2,2 ml de la solution tampon TBS ;
- Ajouter 0,32 ml de DTNB (1,0 mM) ;
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante :

$$\text{GSH-Px (nMol GSH/min/mg protéine)} = \frac{(\text{DO Echantillon} - \text{DO Etalon}) \times 0,04}{\text{DO Etalon}} \times \frac{5}{\text{mg de protéine}}$$

- DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.
- DO étalon : Densité optique de l'étalon.
- 0,04 : Concentration de substrat (GSH).

8.6. Détermination de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

- Principe

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, où chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Aebi, 1984).

La réaction se fait en deux étapes. La réaction bilan est :



Les absorbances sont lues après 15 secondes de délai et durant 60 secondes de mesure.

- Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
Tampon phosphate (0.1M) pH 7.4	800	780
H ₂ O ₂ (0.5M)	200	200
Homogénat	-	20

NB : L'activité décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps de pipetage et le moment où on place la cuve au spectrophotomètre.

L'activité catalytique est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité CAT } (\mu\text{moles d'H}_2\text{O}_2 / \text{min/mg de protéine}) = \frac{\Delta\text{DO}}{\varepsilon \times l \times X \times Fd}$$

- ΔDO : Variation de la densité optique par minutes.

- ϵ : Coefficient d'extinction d' HO_2 ($0,043 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).
- l : Largeur de la cuve.
- X : Quantité de protéines en mg/ml.
- Fd : Facteur de dilution pour le H_2O_2 dans la solution tampon

8.7. Détermination de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD)

- Principe

La méthode de **Misra *et al.*, (1977)** permet d'apprécier l'effet antioxydant de la SOD par la mesure de la quantité d'enzyme capable d'inhiber 50% d'auto-oxydation d'épinéphrine en milieu alcalin à 480 nm. Une augmentation de la longueur d'onde est proportionnelle à cette auto-oxydation qui se reflète par la formation d'un adrénochrome d'où le développement d'une coloration rose (figure 17).

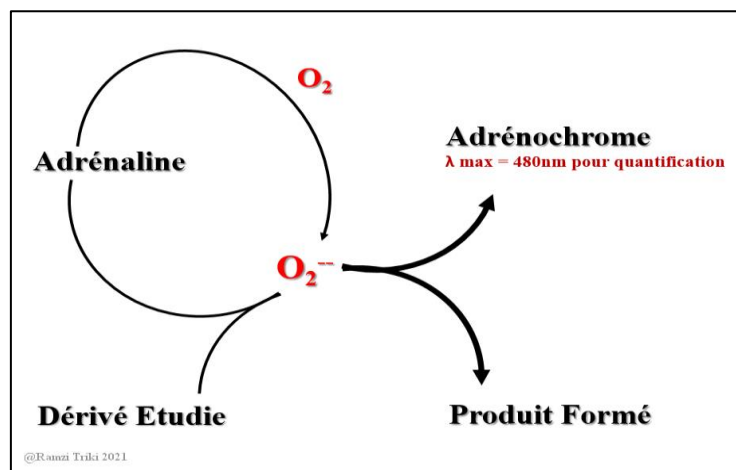


Figure 17: Oxydation de l'adrénaline en adrénochrome via l'anion superoxyde.

- Mode opératoire

Réactifs	Blanc (μL)	Essai (μL)
Tampon EDTA Sodium Carbonate (0.05 M, pH 10.2)	970	970
Epinéphrine (30 mM)	20	20
TBS	10	/
Homogénat		10

- Mélanger
- Démarrer le chronomètre et lire les absorbances de l'échantillon et du blanc toute les minutes pendant 4 minutes à 480 nm.

L'activité enzymatique de la SOD est calculée par la formule suivante :

$$\text{SOD (UI/ mg protéine)} = \frac{\Delta\text{DO}}{\varepsilon \times L \times X} \times \text{Fd}$$

- ΔDO : (ΔA échantillon/min - ΔA blanc/min) à 480 nm.
- ε : Coefficient d'extinction molaire d'épinéphrine (4.2 mM⁻¹.Cm⁻¹).
- X : Quantité des protéines (mg/ml).
- Fd : Facteur de dilution = 10.
- L : 1 cm.

8.8. Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion réductase (GR)

- Principe

Cette méthode est basée sur la détermination d'activité enzymatique du glutathion réductase en mesurant la quantité du NADPH consommé par minute. La GR catalyse la réaction de réduction du glutathion oxydé et d'oxydation du NADPH résultant une diminution d'absorbance de ce dernier à 340 nm comme le montre la figure 18 (Goldberg, 1983).

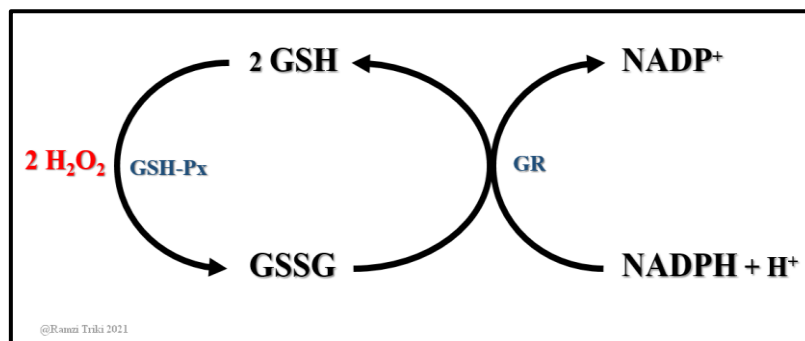


Figure 18: Réaction d'oxydoréduction catalysée par GR.

- Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
Eau distillé	930	920
Tampon (pH 7.3)	40	40
GSSG (2.2 mM)	20	20
Homogénat	/	10

- Mélanger.
- Régler le spectrophotomètre à 340 nm.
- Mettre la cuve contenant soit le blanc, soit l'essai et ajuster l'absorbance à zéro.

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
NADPH (0.17 mM)	10	10

- Mélanger.
- Démarrer le chronomètre et lire les absorbances de l'échantillon et du blanc toute les minutes pendant 5 minutes.

L'activité enzymatique de la GR est calculée par la formule suivante :

$$\text{GR (UI/ mg protéine)} = \frac{\Delta\text{DO}}{\varepsilon \times L \times X} \cdot \text{Fd}$$

- UI: µmoles GSSG réduit correspond au µmoles NADPH consommé/min;
- ΔDO: (ΔDO échantillon/ min – ΔDO blanc/ min) à 340 nm;
- ε: coefficient d'extinction molaire du NADPH = 6.22 mM⁻¹ cm⁻¹ ;
- χ: Concentration en protéines (mg/ml);
- L: 1 cm;
- Fd : Facteur de dilution = 100

9. Technique histologique

L'étude histologique a été réalisée au laboratoire d'Anatomie pathologique au centre de diagnostic médical El-MADINA à Annaba. La technique utilisée est celle décrite par **Hould, (1984)**. Elle comporte les étapes suivantes :

- Fixation :

La fixation des échantillons a été faite dans formol. Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

- Déshydratation des échantillons :

Au début, il faut déshydrater les échantillons à l'aide d'un appareil automatique qui permet le passage automatique et progressif des échantillons dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70, 95 et 100%).

- L'inclusion et réalisation des blocs

Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide. Les tissus étant maintenus et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe.

Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion » refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu.

La réalisation des coupes minces de quelques microns (5 μm en moyenne) est possible grâce à des appareils spéciaux appelés « Microtomes ».

Ces coupes sont étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

- La coloration

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine) ; qui nécessite la présence de l'alcool et l'acide (100 ml d'alcool éthylique à 70% + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml Ammoniaque) et solution d'Eosine (100 ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95%, 375 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique). La coloration suit les étapes suivantes :

- ❖ Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet puis rincer à l'eau distillée.
- ❖ Immerger dans un bain d'Hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux).
- ❖ Différencier les coupes dans l'alcool acide (1 à 2 plongées) ; déposer ensuite les lames dans un bain d'eau du robinet et vérifier la différenciation au microscope.
- ❖ Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale.

❖ Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme). Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet.

Les préparations ensuite ont été séchées puis observées au microscope optique et photographiées à l'aide d'un appareil photo.

10. Présentation des résultats et analyses statistiques

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'erreur standard de la moyenne ($Moy \pm SEM$). La comparaison entre les différents groupes est effectuée après une analyse de la variance par le test (*One Way ANOVA*), les moyennes sont comparées par un test *t* de Student. L'analyse statistique des données a été réalisée grâce aux logiciels GraphPad Prism (V8.0.1.244) et Microsoft Excel (V.2021).

Trois comparaisons ont été effectuées:

- * : comparaison de groupe DAZ vs le groupe ND,
- # : comparaison de groupe DCZ vs le groupe DAZ,
- + : comparaison des groupes DCZ+Ab, DCZ+Av vs le groupe DCZ.

Les différences sont considérées comme :

- (*, #, +) significative lorsque ($p < 0.05$),
- (**, ##, ++) hautement significative lorsque ($p < 0.01$),
- (***, ###, +++) très hautement significative lorsque ($p < 0.001$).

LA PARTIE EXPERIMENTALE

RESULTATS & DISCUSSIONS

Chapitre VII : Résultats & Discussion

Résultats

1. Analyse phytochimique et activité antioxydante

Le dépistage phytochimique préliminaire des extraits de feuilles d'azérolier (*C. azarolus*) et d'avoine (*A. sativa*) a révélé la présence de divers composés bioactifs, notamment des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des saponines et des alcaloïdes, tous dotés de propriétés pharmacologiques (tableau 13).

Une analyse quantitative a montré des quantités plus élevées de polyphénols totaux (15,53 mg EAG/g MS et 11,67 mg/g MS), de flavonoïdes totaux (23,14 mg/g MS et 14,81 mg EQ/g MS) et de tanins totaux (1,29 mg /g MS et 4,79 mg/g MS) pour l'extrait d'azérolier et l'extrait d'avoine, respectivement (tableau 14).

En ce qui concerne l'activité antioxydante, les tests ont montré des résultats plus élevés pour l'extrait d'azérolier, avec un taux d'inhibition de 83,7%, tandis que l'extrait d'avoine a montré un taux d'inhibition de 40,62% (tableau 14).

Tableau 6 : Résultats des tests de dépistage phytochimique.

Extrait	Flavonoïdes	Tanins	Anthocyanes	Saponines	Alcaloïdes
Azérolier (<i>C. azarolus</i>)	+++	+++	-	+	++
Avoine (<i>A. sativa</i>)	+++	+++	+	++	+++

Légende : +++ : Élevé, ++ : Modéré, + : Trace, - : Absent ou négligeable.

Tableau 7 : Contenu en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, tanins condensés et activité antioxydante déterminée par le test du DPPH dans les extraits aqueux de l'azérolier et l'avoine.

Extrait	Polyphénols Totaux	Flavonoïdes Totaux	Tanins Totaux	Test du DPPH	
	(mg GAE/g MS)	(mg QE/g MS)	(mg CE/g MS)	IC ₅₀ (µg/mL)	% Inhibition
Azérolier (<i>C. azarolus</i>)	15,53±1,37	23,14±4,74	1,29±0,60	14,79±2,71	83,70
Avoine (<i>A. sativa</i>)	11,67±1,20	14,81±2,21	4,79±0,98	22,01±4,75	40,62

Les valeurs sont des moyennes de triplicatas ± SEM

GAE : équivalents d'acide gallique, QE : équivalents de quercétine, CE : équivalents de catéchine.

2. Etude pondérale

2.1. Effet sur la croissance corporelle et la consommation journalière en aliment

Le tableau 15 et les figures 19 et 20 représentent les variations du poids corporel et de la consommation alimentaire des différents groupes.

Nos résultats montrent une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du poids corporel et une baisse du gain de poids chez les rats diabétiques sous un régime alimentaire adéquat en zinc (DAZ) par rapport au groupe témoin non diabétique. En revanche, une augmentation de la prise alimentaire a été remarquée chez le groupe non diabétique.

Par ailleurs, une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de la consommation alimentaire chez le groupe diabétique sous un régime alimentaire carencé en zinc (DCZ) a été remarquée, ce qui a entraîné une chute pondérale considérable chez ce groupe.

L'administration orale d'une dose journalière de 150 mg/Kg P.C./jours de l'azérolier ou la supplémentation de 10% de l'avoine chez les groupes (DCZ) a montré une augmentation du poids corporel significativement ($p < 0,05$; $p < 0,001$) respectivement. De même, une amélioration très hautement significative ($p < 0,001$) a été enregistrée de la prise alimentaire chez ces groupes.

Tableau 8: Effet du traitement sur la croissance corporelle chez les groupes : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Ab) et (DCZ+Av).

Paramètres	Groupe Expérimentaux				
	ND	DAZ	DCZ	DCZ + Ab	DCZ + Av
Poids initial (g)	238,8±2,54	249±6,53	249,6±5,27	239,4±4,96	245±3,74
Poids final (g)	244,4±2,61	184,4±4,94 (***)	174,8±6,15	210,4±12,35(+)	232,8±6,83 (+++)
Gain de poids (g)	5,6	(-) 64,6	(-) 74,8	(-) 29	(-) 12,2

Les valeurs sont présentées en moyenne ± SEM et les comparaisons faites entre les groupes :

DAZ vs ND : *** p<0.001

DCZ+Ab vs DCZ : + p<0.05

DCZ+Av vs DCZ : +++ p<0.001

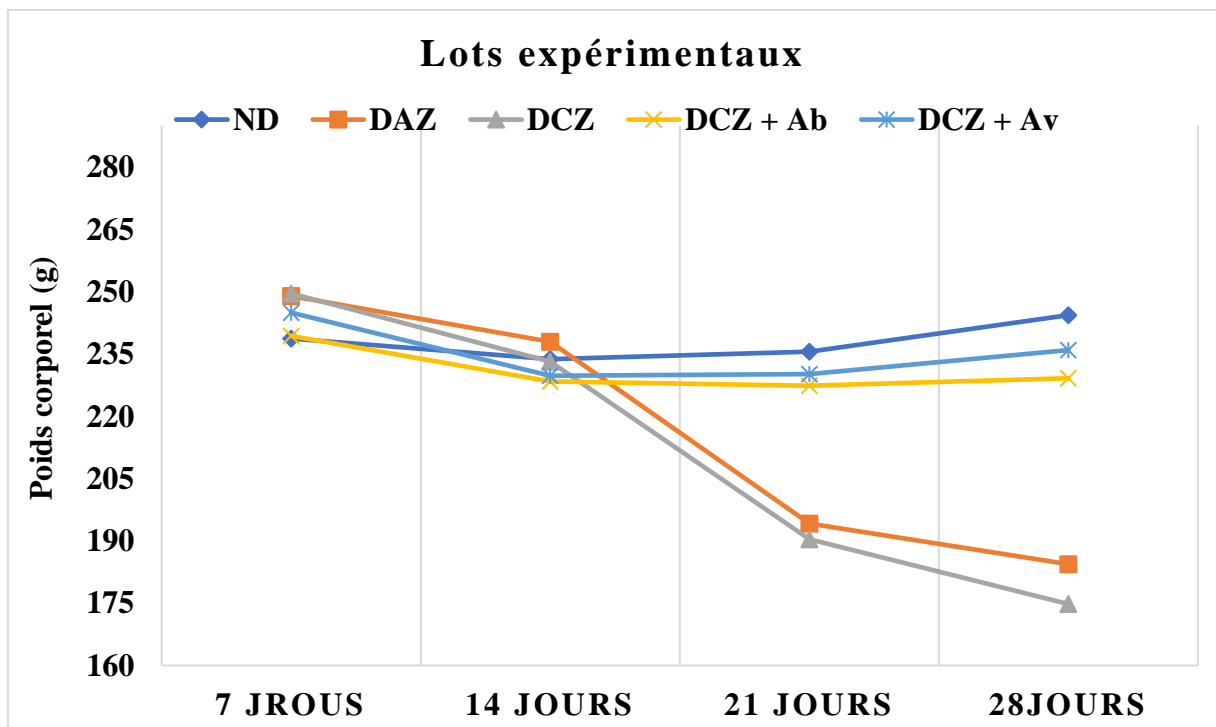


Figure 19: Variation du poids corporel chez les groupes expérimentaux pendant 28 jours de traitement.

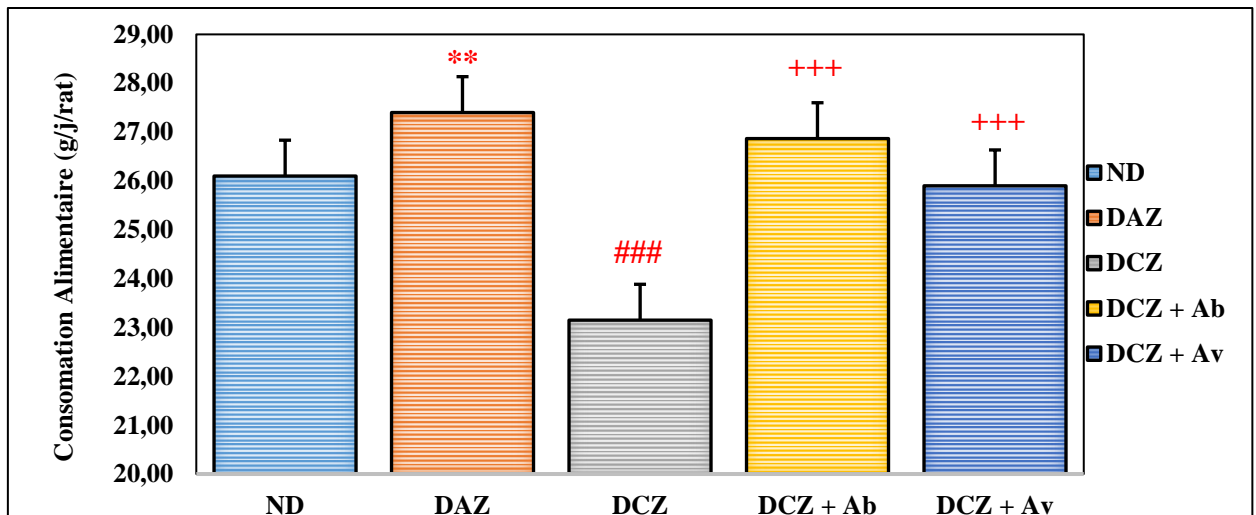


Figure 20: Variation de la consommation alimentaire chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ vs DAZ : ### $p < 0.001$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$;
 DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0.001$

2.2. Effet sur le poids absolu et relatif de certains organes

Suivi de l'évolution des poids absolus (PA) et relatifs (PR) de différents organes (le foie, les reins, le pancréas et le fémur) rapportés à 100g de poids corporel chez les rats des groupes suivants : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Ab), (DCZ+Av).

Les résultats obtenus montrent qu'il y a eu une augmentation significative ($p < 0.05$) du poids absolu du foie en comparaison avec le groupe non diabétique, nous enregistrons aussi une différence statistiquement significative ($p < 0.01$, $p < 0.05$) du poids absolu du foie chez les groupes (DCZ+Ab), (DCZ+Av) respectivement, par rapport au groupe (DCZ) (tableau 15). L'administration de l'azérolol ou la supplémentation de l'avoine chez les groupes (DCZ) a montré une variation significative ($p < 0.05$) du poids relatif par rapport au groupe (DCZ) (tableau 16).

De même, une augmentation statistiquement significative ($p < 0.01$, $p < 0.001$) du poids absolu et le poids relatif respectivement, des reins, a été remarqué chez le groupe des rats diabétiques sous un régime alimentaire adéquat en zinc (DAZ), par rapport au groupe des rats non diabétiques. Par contre, nous enregistrons un rétablissement par une diminution significative ($p < 0.05$) du poids relatif des reins chez les groupes (DCZ+Av) par rapport au groupe (DCZ) (tableau 15, 16).

Les résultats obtenus dans les tableaux 17 et 18, illustrent une diminution statistiquement significative ($p < 0.05$) du poids absolu et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) du poids relatif du pancréas chez le groupe (DAZ) par rapport au groupe des rats non diabétiques. Cependant, les groupes (DCZ+Ab) ont montré une variation statistiquement significative ($p < 0.05$) du poids absolu, et une différence hautement significative ($p < 0.01$) du poids relatif du pancréas en comparaison avec le groupe (DCZ).

De plus, une différence statistiquement significative ($p < 0.05$, $p < 0.01$) du poids absolu et poids relatif respectivement, du fémur a été noté chez le groupe diabétique sous un régime alimentaire carencé en zinc (DCZ) par rapport au groupe diabétique sous un régime alimentaire adéquat en zinc (DAZ). Alors que, les groupes (DCZ+Ab) et (DCZ+Av) montrent qu'il y a eu une différence statistiquement significative ($p < 0.05$, $p < 0.001$) respectivement, du poids absolu du fémur par rapport au groupe (DCZ). Une différence statistiquement significative ($p < 0.01$, $p < 0.001$), a été remarqué chez les groupes (DCZ+Ab) et (DCZ+Av) respectivement du poids relatif du fémur par rapport au groupe DCZ.

Tableau 9: Variation de poids absolu (PA) (g) du foie, reins, pancréas et fémur au cours de l'expérience.

Paramètre	<i>Lots expérimentaux</i>				
	<i>ND</i>	<i>DAZ</i>	<i>DCZ</i>	<i>DCZ+Ab</i>	<i>DCZ+Av</i>
PA (Foie)	6,672±0,25	7,155±0,31 ^(*)	7,406±0,42	6,816±0,28 ⁽⁺⁺⁾	7,332±0,22 ⁽⁺⁾
PA (Reins)	1,230±0,07	1,595±0,12 ^(**)	1,410±0,11	1,635±0,14	1,531±0,16 ⁽⁺⁾
PA (Pancréas)	0,645±0,18	0,515±0,05 ^(*)	0,613±0,09	0,701±0,10 ⁽⁺⁾	0,595±0,08
PA (Fémur)	0,615±0,05	0,721±0,03	0,647±0,05 ^(#)	0,652±0,05 ⁽⁺⁾	0,712±0,03 ⁽⁺⁺⁺⁾

DAZ vs ND : * p<0.05 ; ** p<0.01

DAZ vs DCZ : # p<0.05

DCZ+Ab ; DCZ+Av vs DCZ : + p<0.05, ++ p<0.01, +++ p<0.001

Tableau 10: Variation du poids relatif (PR) (g/100g du PC) du foie, reins, pancréas et fémur au cours de l'expérience.

Paramètre	<i>Groupes expérimentaux</i>				
	<i>ND</i>	<i>DAZ</i>	<i>DCZ</i>	<i>DCZ+Ab</i>	<i>DCZ+Av</i>
PR (Foie)	2,837±0,08	3,006±0,10	3,181±0,14	2,754±0,13 ⁽⁺⁾	2,869±0,07 ⁽⁺⁾
PR (Reins)	0,503±0,02	0,709±0,04 ^(***)	0,671±0,03	0,584±0,05	0,556±0,03 ⁽⁺⁾
PR (Pancréas)	0,367±0,05	0,183±0,01 ^(**)	0,197±0,02	0,335±0,04 ⁽⁺⁺⁾	0,273±0,04
PR (Fémur)	0,268±0,02	0,277±0,01	0,223±0,01 ^(##)	0,302±0,02 ⁽⁺⁺⁾	0,308±0,01 ⁽⁺⁺⁺⁾

Les valeurs sont présentées en moyenne ± SEM et les comparaisons faites entre les groupes :

DAZ vs ND : ** p<0.01 ; *** p<0.001

DAZ vs DCZ : ## p<0.01

DCZ+Ab ; DCZ+Av vs DCZ : + p<0.05, ++ p<0.01, +++ p<0.001

3. Influence du traitement sur le statut du zinc

L'analyse statistique des résultats illustrés dans les figures 21, 22, 23 et 24 a montré qu'il y a eu une réduction statistiquement significative ($p < 0.05$; $p < 0.001$) dans les concentrations du zinc de certains organes le fémur et le foie respectivement, chez le groupe des rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire adéquat en zinc par rapport au groupe des rats non-diabétiques.

La carence en zinc dans la nourriture des rats diabétiques (DCZ), pendant 28 jours de traitement, a entraîné un abaissement significatif ($p < 0.05$) dans les concentrations du zinc dans les organes le foie, le pancréas, et les reins respectivement, par rapport au groupe des rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire adéquat en zinc (DAZ). Cependant, le traitement oral des rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc par 150mg/Kg P.C. d'extrait aqueux de l'azérolier (DCZ+Ab) pendant 28 jours a amélioré ces altérations ($p < 0,05$) en engendrant une augmentation de la concentration du zinc dans le fémur, le foie, le pancréas et les reins, respectivement, en comparant au groupe (DCZ). De même, la supplémentation de 10% de l'avoine dans la nourriture des rats diabétiques (DCZ+Av) a révélé une augmentation statistiquement significative ($p < 0,05$) de la concentration du zinc dans les organes fémur, foie, pancréas et les reins par rapport au groupe (DCZ).

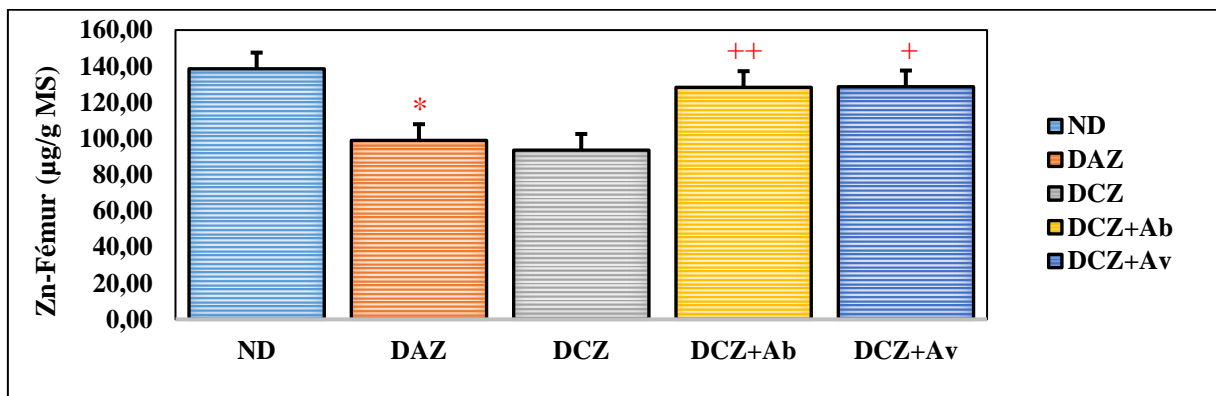


Figure 21: La concentration du zinc dans le fémur des groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : * $p < 0.05$; DCZ+Ab vs DCZ : ++ $p < 0.01$; DCZ+Av vs DCZ : + $p < 0.05$

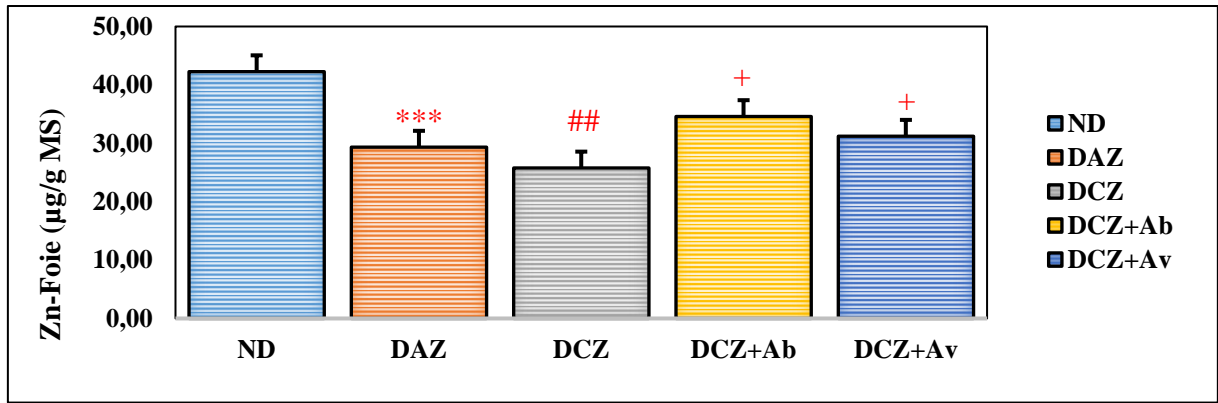


Figure 22: La concentration du zinc dans le foie des groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : *** $p < 0.01$; DCZ vs DAZ : ## $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : + $p < 0.05$; DCZ+Av vs DCZ : + $p < 0.05$

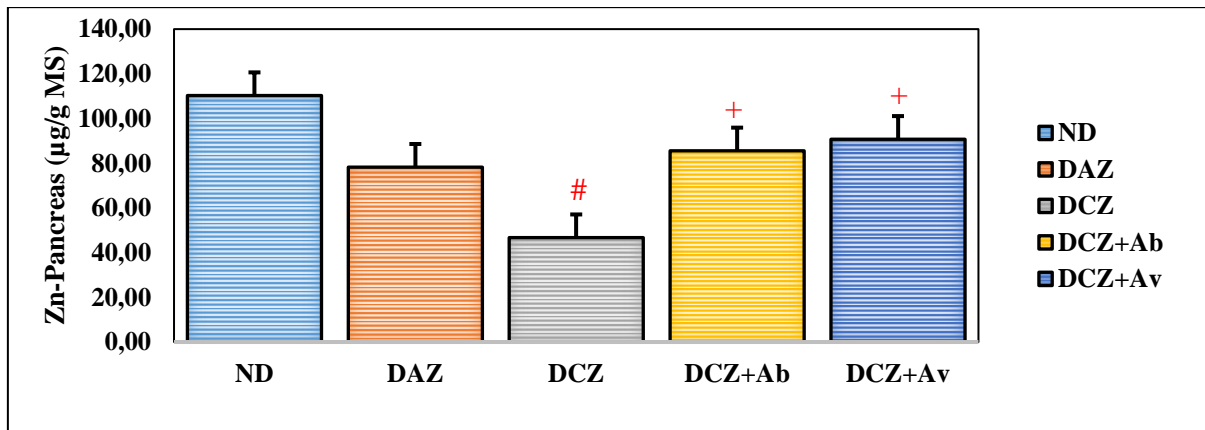


Figure 23: La concentration du zinc dans le pancréas des groupes expérimentaux.

DCZ vs DAZ : # $p < 0.05$; DCZ+Ab vs DCZ : + $p < 0.05$; DCZ+Av vs DCZ : + $p < 0.05$

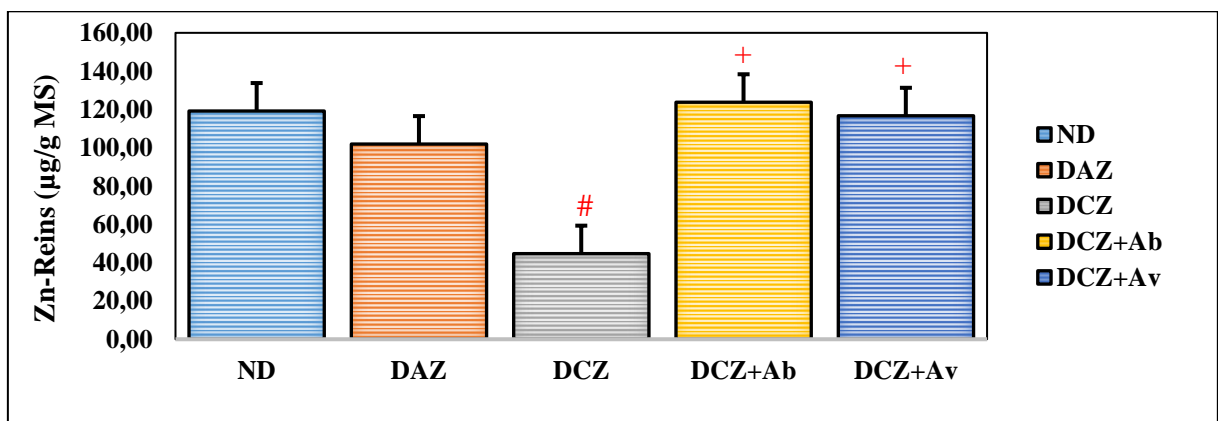


Figure 24: La concentration du zinc dans les reins des groupes expérimentaux.

DCZ vs DAZ : # $p < 0.05$; DCZ+Ab vs DCZ : + $p < 0.05$; DCZ+Av vs DCZ : + $p < 0.05$

4. Etude biochimique

4.1. Bilan glucidique

4.1.1. Test de Tolérance au Glucose Oral (TTGO)

Pour évaluer l'effet anti-hyperglycémique de l'extrait de *C. azarolus* et de la supplémentation en *Avena sativa*, un TTGO a été réalisé. Les Figures 25 et 26 montrent que l'administration de glucose a entraîné une augmentation significative des niveaux de glucose sanguin à 30 et 60 minutes dans tous les groupes expérimentaux. Cependant, à 90 et 120 minutes, les groupes expérimentaux traités avec l'extrait de l'azérolier et la supplémentation en avoine ont présenté des concentrations de glucose sanguin plus faibles par rapport au groupe témoin. Ces résultats suggèrent que l'extrait de *C. azarolus* et l'avoine ont le potentiel d'améliorer le métabolisme du glucose et pourraient être bénéfiques dans la gestion de l'hyperglycémie.

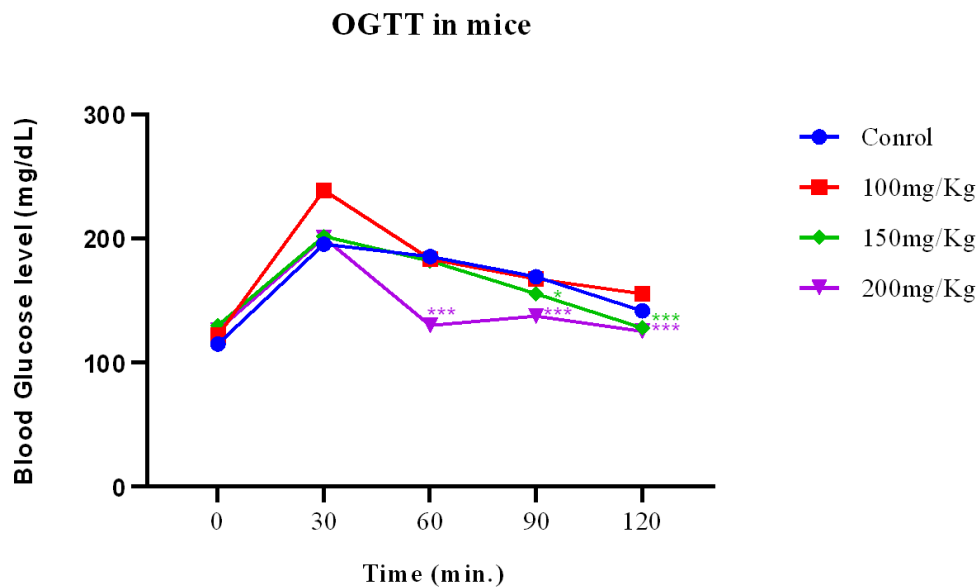


Figure 25 : Effet de l'extrait de *Crataegus azarolus* sur l'hyperglycémie chez les souris après 120 minutes d'administration de glucose.

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin

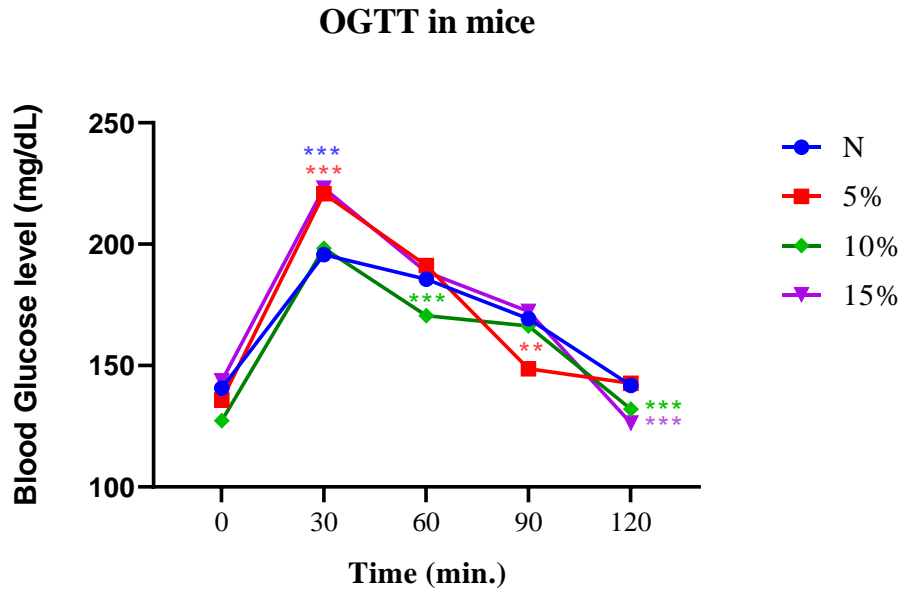


Figure 26 : Effet de l'extrait de *Avena sativa* sur l'hyperglycémie chez les souris après 120 minutes d'administration de glucose.

p < 0,01 et *p < 0,001 par rapport au groupe témoin

4.1.1. Glycémie

Les résultats obtenus concernant l'effet de 28 jours de traitement par l'extrait aqueux de l'azérolier sur la variation de la glycémie à jeun, sont mentionnés dans le tableau 18.

Tableau 11: Variation de la glycémie à jeun (g/l) pendant 28 jours de traitement chez les groupes : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Ab) et (DCZ+Av).

Groupes Expérimentaux	Glycémie (g/l)		Variation de la glycémie pendant 28 jours (%)
	Initiale	Finale	
ND	1,306±0,036	1,132±0,063	(-) 13,32
DAZ	3,166±0,626	3,674±0,338 (***)	(+) 16,05
DCZ	3,096±0,56	3,316±0,350	(+) 7,11
DCZ + Ab	3,96±0,577	1,31±0,126 (+++)	(-) 66,92
DCZ + Av	3,872±0,508	1,412±0,168 (+++)	(-) 63,53

Les valeurs sont présentées en moyenne ± SEM et les comparaisons faites entre les groupes :

DAZ vs ND : *** p<0.01

DCZ+Ab ; DCZ+Av vs DCZ : +++ p<0.001

Le suivi glycémique régulier des rats diabétiques pendant les vingt-huit jours de traitement nous a amené à obtenir les résultats illustrés sur les figures 27, 28.

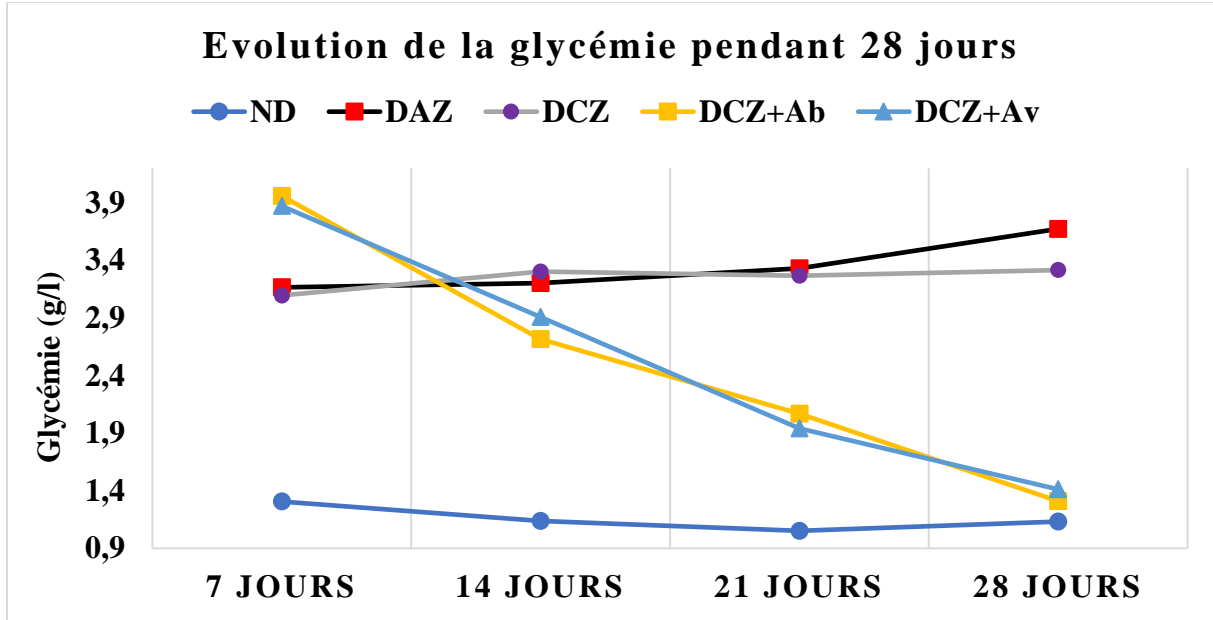


Figure 25: Evolution de la glycémie à jeun chez les groupes expérimentaux pendant 28 jours de traitement.

Une nette différence des valeurs basales de la glycémie à jeun a été notée entre les groupes d’animaux traités et diabétiques (figure 26).

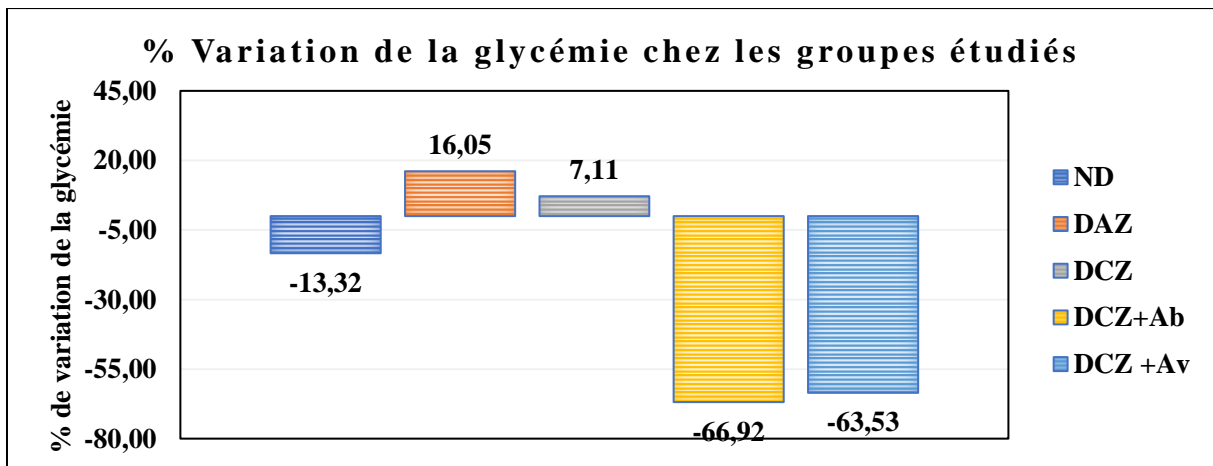


Figure 28: Pourcentage de variation de la glycémie chez les groupes expérimentaux.

Les résultats obtenus présentés dans les figures. 27, 28 et le tableau 17 révèlent que les moyennes normales de la glycémie pour cette souche se situent entre $1,306 \pm 0,036$ g/L et

1,132±0,063 g/L. Le diabète expérimental a augmenté ce niveau glycémique à des valeurs supérieures à 3 g/l, trois jours après l'injection de la streptozotocine. Cet état hyperglycémique a persisté chez les rats diabétiques non traités jusqu'à la fin de la période de suivi, atteignant une valeur maximale de 3,674±0,338 g/L.

L'administration orale d'une dose journalière de 150 mg/kg P.C./jour de l'extrait aqueux de l'azérolier et la supplémentation de 10% d'avoine en aliment aux rats diabétiques sous un régime carencé en zinc a entraîné une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la glycémie, en comparaison au groupe (DCZ). Ces diminutions ont se poursuivi jusqu'à la fin de la période de traitement (j28), atteignant les valeurs minimales de 1,31±0.126 g/l, 1,412±0.168 g/l et 1,124±0,108 g/l, chez les groupes (DCZ+Ab), (DCZ+Av) respectivement (tableau 17).

Cependant, les rats des deux groupes diabétiques (DAZ, DCZ) ont montré une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la glycémie à jeun par rapport au groupe des rats non diabétiques.

4.1.2. *Insulinémie*

La figure 29 illustre la variation de la concentration sérique de l'insuline, après 28 jours de traitement chez les groupes : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Ab) et (DCZ+Av).

Le diabète expérimental a produit une baisse hautement significative ($p < 0,01$) de la concentration sérique de l'insuline, chez les rats des deux groupes diabétiques (DAZ), (DCZ) en comparaison aux rats non diabétiques.

Tandis que le traitement oral des rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc par 150mg/Kg P.C. d'extrait aqueux de l'azérolier pendant 28 jours a amélioré très remarquablement ($p < 0,001$) ces altérations métaboliques en engendrant une augmentation de la concentration sérique de l'insuline, en comparant au groupe (DCZ).

De même, le traitement par la supplémentation de 10% de l'avoine en aliment pendant 28 jours a entraîné une hausse significative ($p < 0,01$) de la concentration sérique de l'insuline par rapport au groupe des rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc.

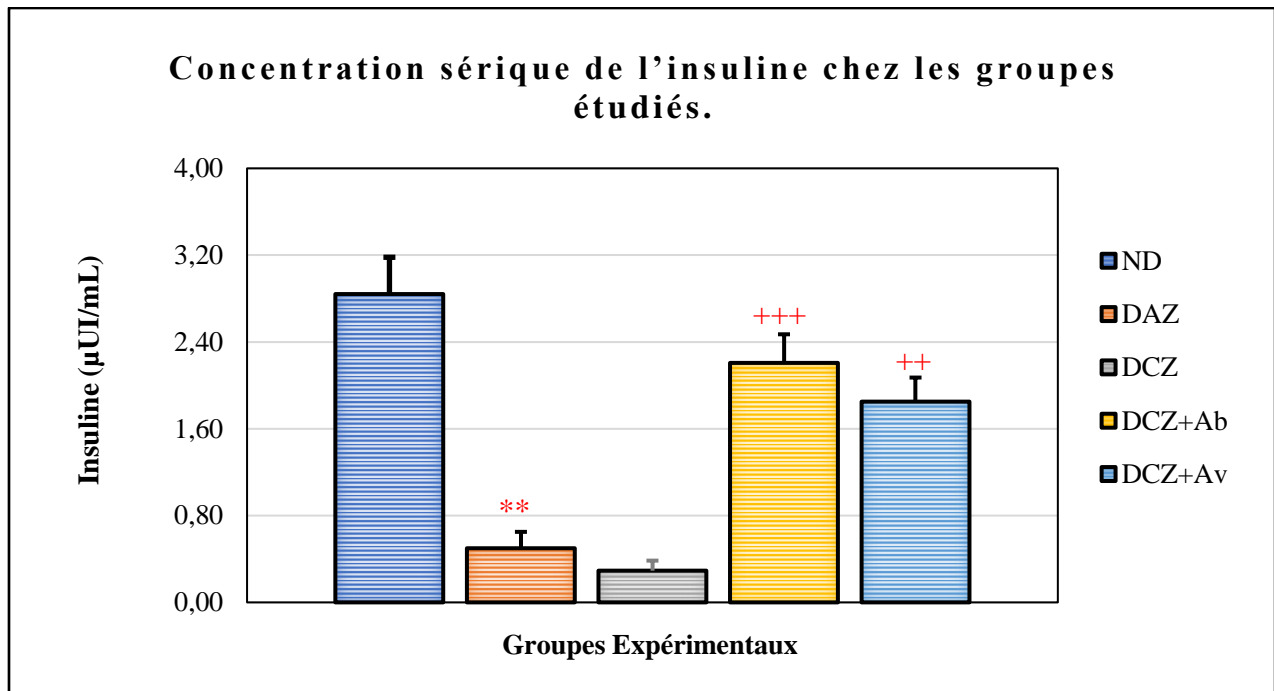


Figure 26: Concentration sérique de l'insuline chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

4.2. Bilan Lipidique

4.2.1. Cholestérol total

La figure 30 montre la variation de la concentration plasmatique de cholestérol, après 28 jours de traitement chez les groupes : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Ab) et (DCZ+Av). Les animaux diabétiques non traités (DAZ) ont montré une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) des taux du cholestérol total en comparaison au groupe témoin sain. De plus, les rats diabétiques soumis à un régime alimentaire carencé en zinc (DCZ) ont révélé une diminution statistiquement significative ($p < 0,05$) de la concentration plasmatique du cholestérol par rapport à ceux qui sont sous un régime adéquat en zinc (DAZ). Par ailleurs, le traitement oral des rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc par 150mg/Kg P.C. d'extrait aqueux de l'azérolier pendant 28 jours, n'a pas entraîné de changements significatifs dans les concentrations plasmatiques du cholestérol. Alors que le traitement par la supplémentation de 10% d'avoine en aliment a montré une différence statistiquement significative ($p < 0,01$) de la concentration du cholestérol par rapport au groupe DCZ.

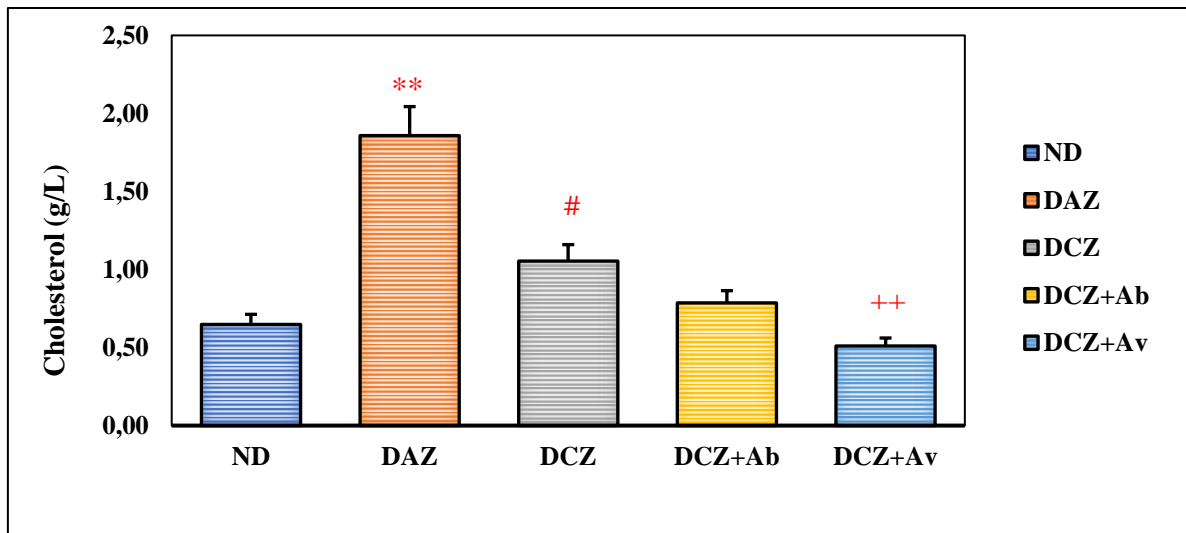


Figure 27: Variation de la concentration plasmatique de cholestérol total (mg/dl) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0,01$; DCZ vs DAZ : # $p < 0,05$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0,01$

4.2.2. Triglycérides

Les résultats du dosage des triglycérides indiquent une perturbation métabolique importante illustrée par une augmentation significative de la concentration plasmatique de triglycérides ($p < 0,001$) chez les rats diabétiques soumis à un régime alimentaire adéquat en zinc en comparaison avec les rats non-diabétiques. Alors qu'aucune différence significative n'a été enregistrée chez les rats diabétiques carencés en zinc par rapport à ceux qui sont sous un régime alimentaire adéquat en zinc. Par ailleurs, le traitement oral des rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc par 150mg/Kg P.C. d'extrait aqueux de l'azérolier (DCZ+Ab) et le traitement par la supplémentation de 10% d'avoine en aliment (DCZ+Ab) pendant 28 jours, ont entraîné des changements significatifs ($p < 0,05$; $p < 0,01$) respectivement, dans les concentrations des triglycérides plasmatiques, par rapport au groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire carencé en zinc (figure 31).

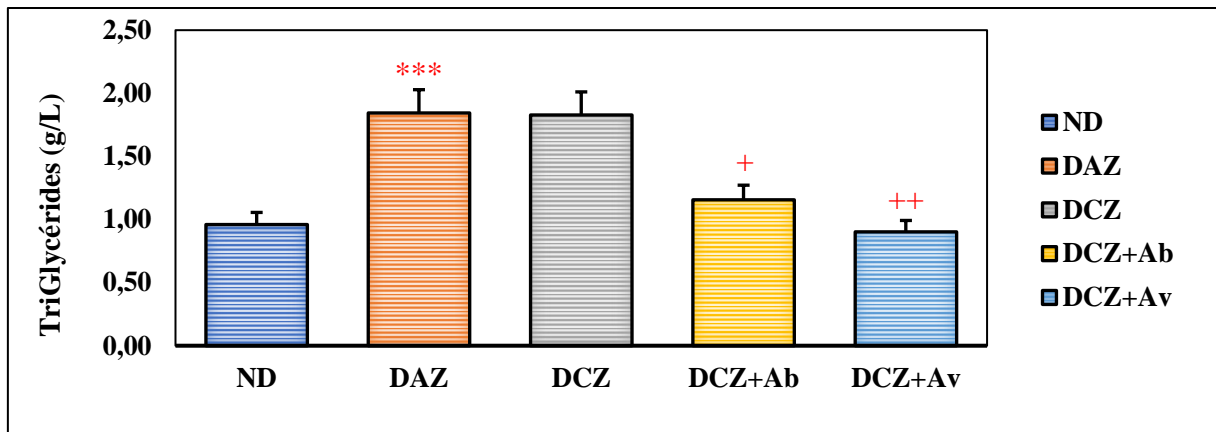


Figure 31 : Variation de la concentration plasmatique de triglycérides (g/l) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : *** $p < 0.001$; DCZ+Ab vs DCZ : + $p < 0.05$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

4.3. Bilan Protéique

4.3.1. Protéines totales

Après quatre semaines de traitement, les résultats ont montré que la concentration des protéines totales a significativement diminué ($p < 0.01$) chez les rats diabétiques soumis à un régime adéquat en zinc comparativement au groupe des rats non-diabétiques. Une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration plasmatique des protéines chez les rats diabétiques soumis à un régime alimentaire carencé en zinc comparativement au groupe des rats soumis à un régime adéquat en zinc. Les rats diabétiques du groupe (DCZ) recevant 150mg/kg P.C. d'extrait aqueux de l'azérolier administré par voie orale, et 10% de l'avoine supplémenté en aliment, ont montré des améliorations importantes dans le profil protéique, représentées par une augmentation significative ($p < 0.01$) du taux des protéines totales chez tous les groupes traités (DCZ+Ab) et (DCZ+Av) (figures 32).

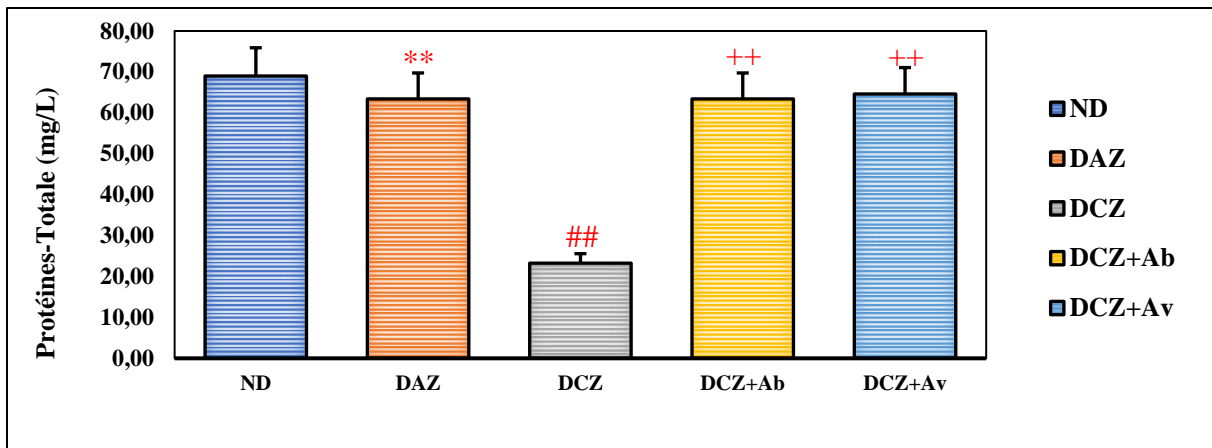


Figure 28: Variation de la concentration plasmatique de protéines totales chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ vs DAZ : ## $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : ++ $p < 0.01$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

4.3.2. Albumine

Les résultats obtenus dans la figure 33 montrent qu'il y a eu une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration plasmatique d'albumine chez le groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire adéquat en zinc par rapport au groupe des rats non-diabétiques. Aucune signification statistique n'a été enregistrée de la concentration d'albumine chez le groupe (DCZ) en comparaison au groupe (DAZ). Par contre, un rétablissement a été enregistré par une augmentation statistiquement significative ($p < 0.05$; $p < 0.01$) de la concentration plasmatique d'albumine chez les groupes diabétiques traités (DCZ+Ab) et (DCZ+Av) respectivement, par rapport au groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire carencé en zinc.

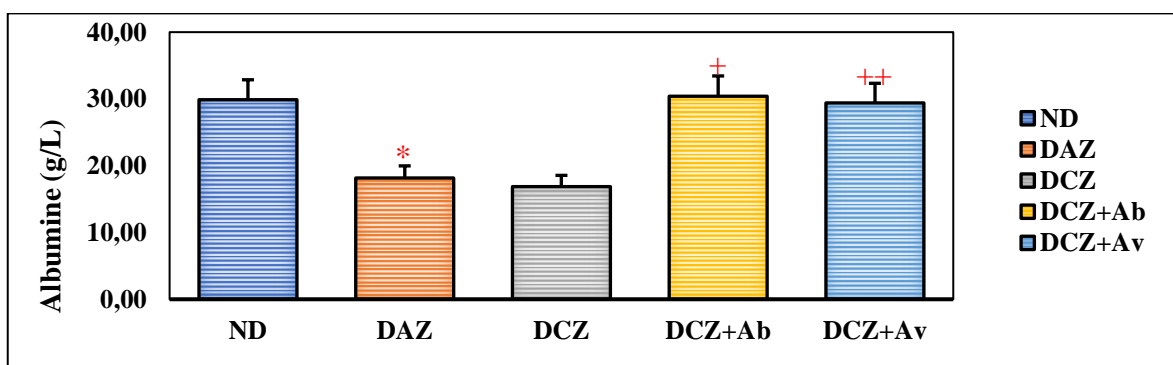


Figure 29: Variation de la concentration plasmatique d'albumine chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : * $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : + $p < 0.05$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

4.4. Bilant hépatique

4.4.1. Activité des transaminases SGOT (ASAT), SGPT (ALAT).

En comparaison avec les rats non-diabétiques, le diabète était à l'origine des perturbations de biomarqueurs hépatiques, l'activité de l'ASAT et de l'ALAT, ont augmentés significativement ($p < 0.05$; $p < 0.01$) respectivement, sous l'effet du diabète chez les rats nourris avec le régime alimentaire adéquat en zinc.

Une augmentation statistiquement significative ($p < 0.05$) de l'activité de l'ASAT a été enregistré chez le groupe des rats nourris avec le régime alimentaire carencé en zinc, par rapport au groupe soumis à un régime alimentaire adéquat en zinc.

Les rats diabétiques traités par l'extrait aqueux de l'azérolier administré par voie orale (DCZ+Ab), et avec 10% de l'avoine supplémenté en aliment (DCZ+Av) ont révélés une efficacité remarquable, traduite par l'abaissement significatif des taux de l'ASAT ($p < 0.001$; $p < 0.001$), associé à une diminution significative de l'activité de l'ALAT ($p < 0.01$; $p < 0.01$) chez les groupes (DCZ+Ab) et (DCZ+Av) respectivement, par rapport au groupe DCZ (figure 34, 35)

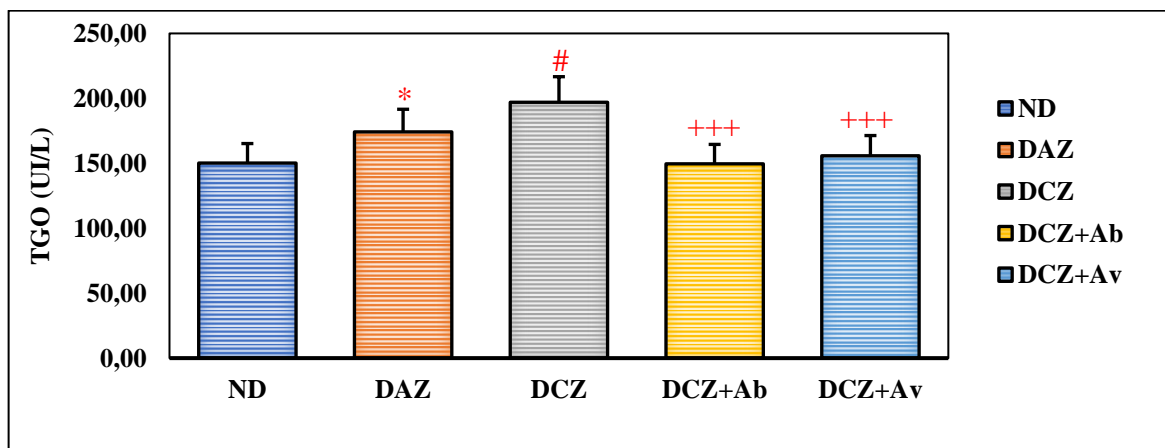


Figure 30: Variation de l'activité enzymatique de l'ASAT chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : * $p < 0.05$; DCZ vs DAZ : # $p < 0.05$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0.001$

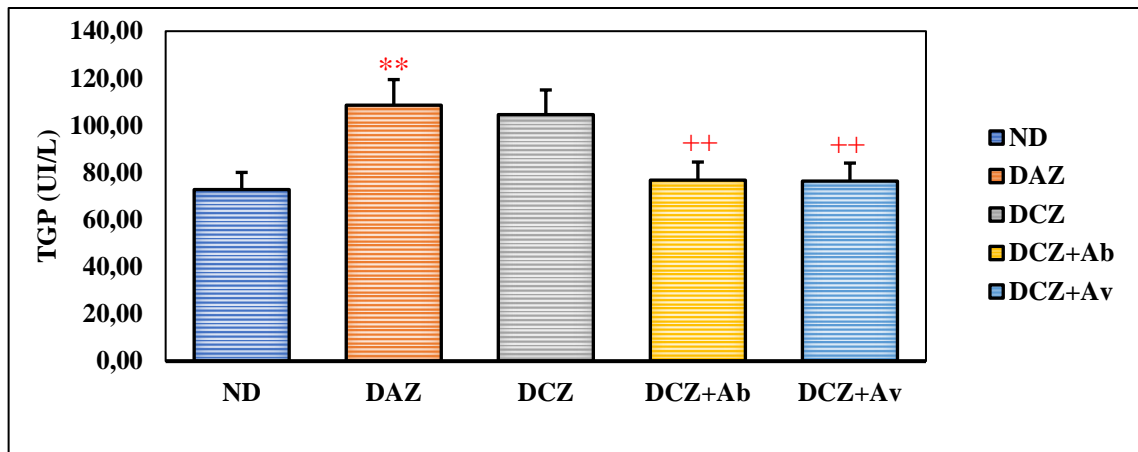


Figure 31: Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : ++ $p < 0.01$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

4.4.2. *Activité des Phosphatases alcalines (PAL).*

Nos résultats (figure 36) montrent qu'il y a eu une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (PAL) chez les rats diabétiques soumis à régime alimentaire adéquat en zinc par rapport aux rats non-diabétiques. Le diabète expérimental a entraîné une hausse de l'activité enzymatique de la PAL atteignant une valeur maximale de 975.2 ± 44.4 UI/L chez le groupe des rats diabétiques nourris avec un régime carencé en zinc (DCZ), mais en comparaison avec le groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire adéquat en zinc (DAZ), aucune signification statistique n'a été enregistrée. L'administration orale d'une dose de 150 mg/Kg de P.C. de l'extrait aqueux d'azérolier, et la supplémentation de 10% d'avoine en aliment, chez les rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire carencé en zinc, ont entraîné une baisse très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline, en comparaison avec le groupe DCZ, et rétablir cette activité enzymatique à des valeurs proches des activités normales.

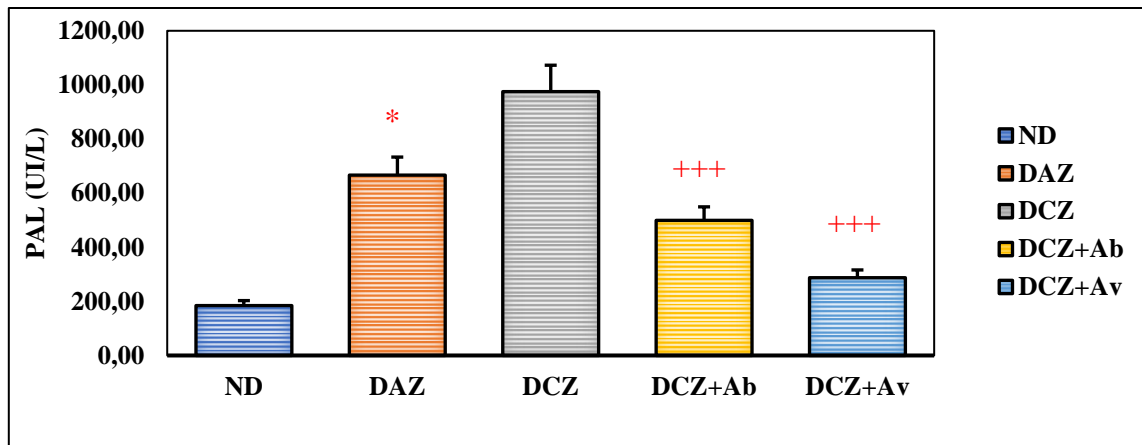


Figure 32: Variation de l'activité enzymatique de la PAL (UI/l) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : * $p < 0.05$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0.001$

4.4.3. *Activité des lactates déshydrogénases (LDH)*

Nos résultats dans la figure 37 montrent qu'il y a eu une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de LDH chez les rats diabétiques soumis à régime alimentaire adéquat en zinc par rapport aux rats non-diabétiques. Une diminution a été notée de l'activité enzymatique de LDH atteignant une valeur minimale de 440.55 ± 73.11 UI/L chez le groupe des rats diabétiques nourris avec un régime carencé en zinc (DCZ), mais en comparaison avec le groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire adéquat en zinc (DAZ), aucune signification statistique n'a été enregistrée. Le traitement oral par une dose de 150 mg/Kg de P.C. de l'extrait aqueux d'azérolier, et par la supplémentation de 10% d'avoine en aliment, chez les rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire carencé en zinc, a entraîné une hausse hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de LDH, en comparaison avec le groupe DCZ, et rétablir cette activité enzymatique à des valeurs proches des activités normales.

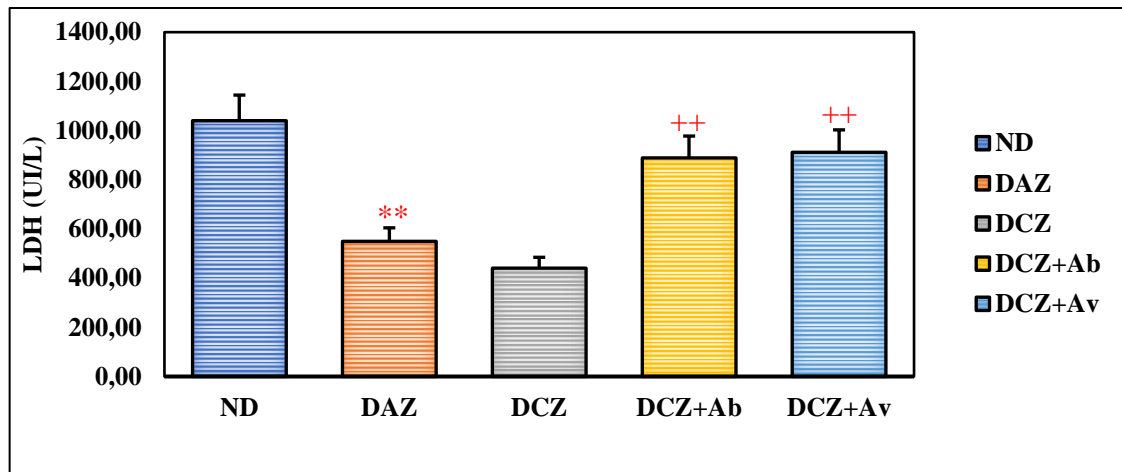


Figure 33: Variation de l'activité enzymatique de LDH (U/l) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : ++ $p < 0.01$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

4.4.4. Bilirubine Total et Direct

Il y avait une nette augmentation dans les concentrations plasmatiques de la bilirubine totale ($p < 0,05$) et directe ($p < 0,01$) respectivement, chez les rats diabétiques soumis à un régime adéquat en zinc, en comparaison aux concentrations des rats non diabétiques. Une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) dans les concentrations plasmatiques de la bilirubine totale a été remarqué chez les rats diabétiques soumis à un régime carencé en zinc (DCZ) par rapport aux concentrations du groupe (DAZ). Cependant, des diminutions modérées ont été remarqués des taux de la bilirubine totale et directe, ($p < 0.01$) respectivement chez les groupes (DCZ+Ab) et (DCZ+Av), et des diminutions statistiquement significatives des concentrations plasmatiques de la bilirubine totale ($p < 0,001$) et direct ($p < 0,01$), respectivement, par rapport aux concentrations du groupe diabétique soumis à un régime alimentaire carencé en zinc (DCZ) (figure 38, 39).

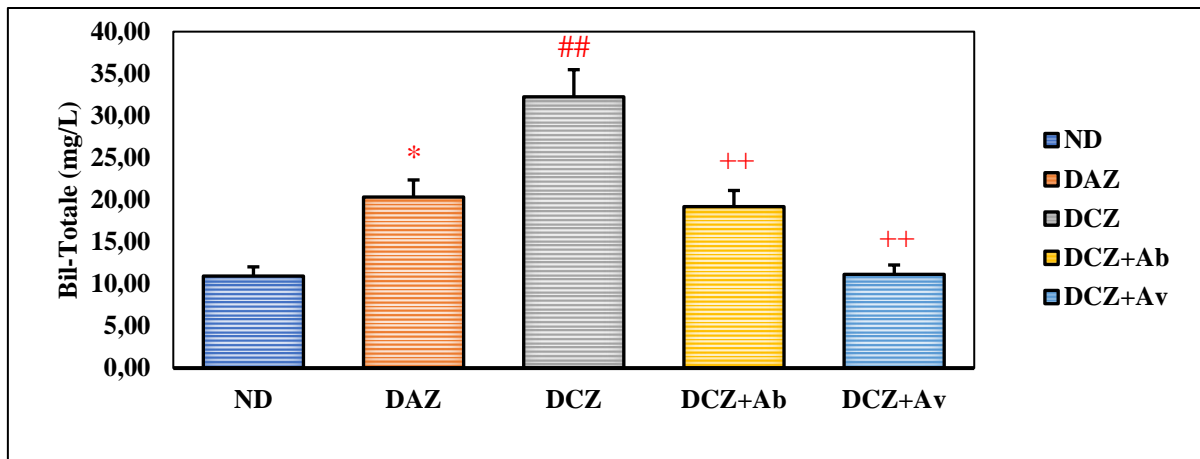


Figure 34: Variation de la concentration plasmatique de la Bilirubine totale (mg/L) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : * $p < 0.01$; DCZ vs DAZ : ## $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : ++ $p < 0.01$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

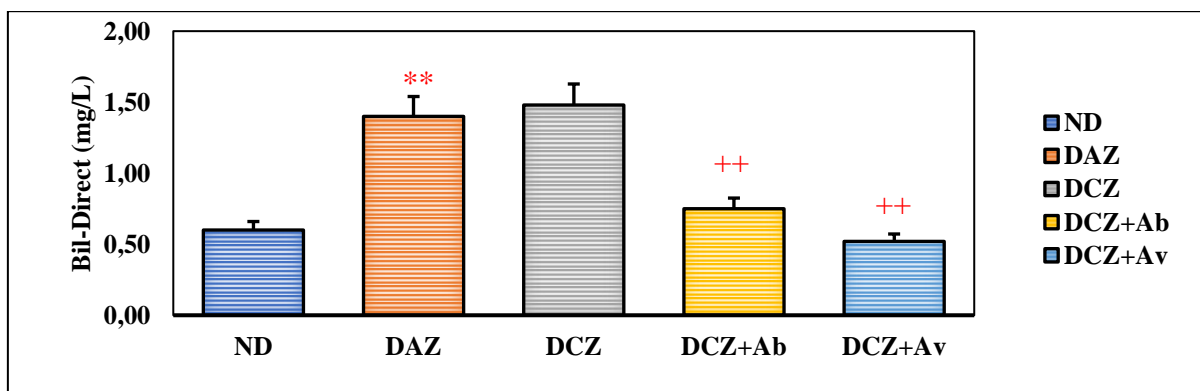


Figure 35: Variation de la concentration plasmatique de la Bilirubine direct (mg/L) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : ++ $p < 0.01$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

4.5. Bilan Rénales

4.5.1. Urée et acide urique

Le bilan rénal inclus l'urée et l'acide urique a présenté des altérations significative ($p < 0.01$; $p < 0.001$) de chacun de ces paramètres, respectivement, chez le groupe des rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire carencé en zinc. Une différence statistiquement significative ($p < 0.01$) de la concentration plasmatique d'urée a été remarqué chez le groupe des rats nourris avec le régime alimentaire carencé en zinc, par rapport au groupe soumis à un régime alimentaire adéquat en zinc. En revanche, les rats diabétiques traités par l'extrait aqueux de

l'azérolier administré par voie orale (DCZ+Ab), avec 10% de l'avoine supplémenté en aliment (DCZ+Av) ont révélés une efficacité remarquable, traduite par l'abaissement significatif des taux plasmatiques de l'urée ($p < 0.05$; $p < 0.001$) associé à une diminution significative dans la concentration plasmatique de l'acide urique ($p < 0.01$; $p < 0.01$) chez les groupes (DCZ+Ab) et (DCZ+Av) respectivement, par rapport au groupe DCZ (figure 40, 41).

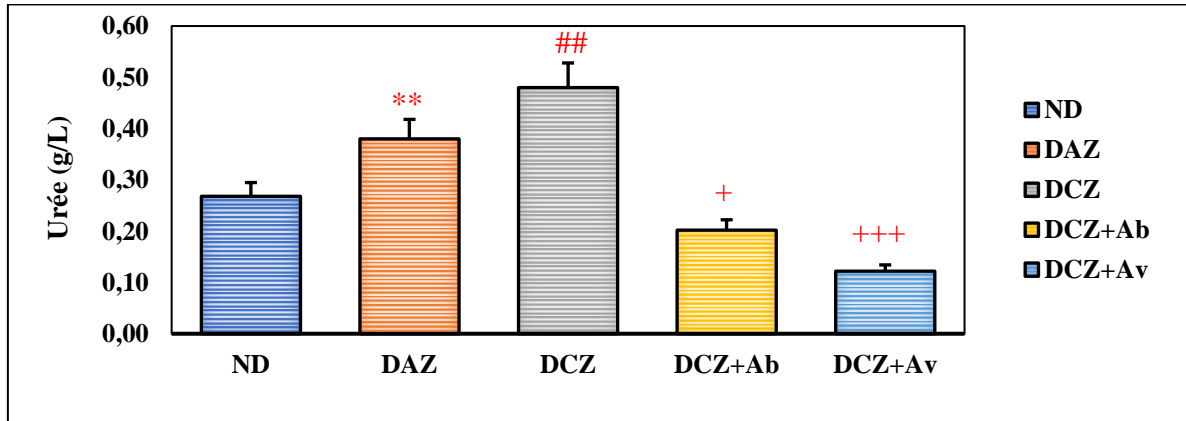


Figure 36 : Variation de la concentration plasmatique d'urée (g/l) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ vs DAZ : ## $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : + $p < 0.05$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0.001$

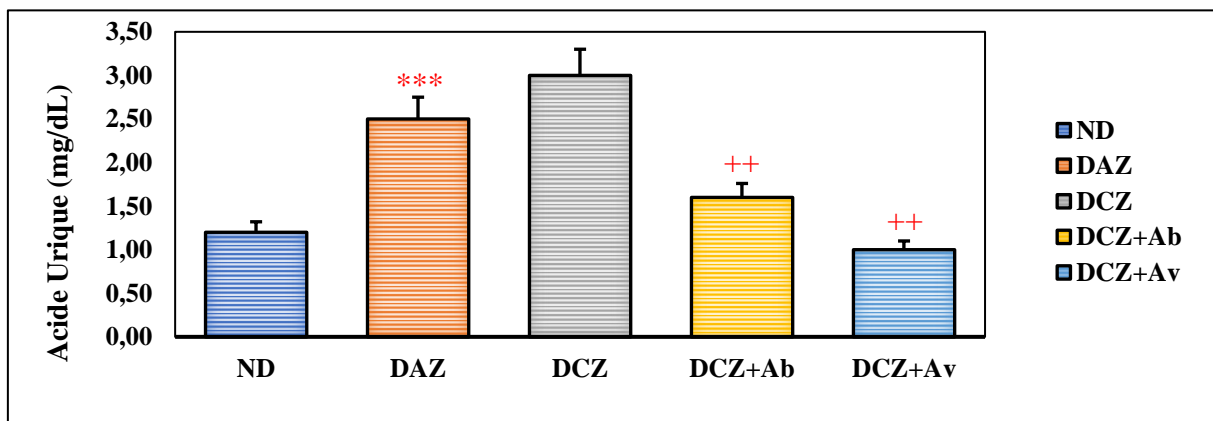


Figure 41 : Variation de la concentration plasmatique d'acide urique (mg/dl) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ vs DAZ : ### $p < 0.001$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0.001$

4.5.2. Créatinine sanguine

Les résultats obtenus dans la figure 42 montrent qu'il y a eu une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration plasmatique de la créatinine chez le groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire adéquat en zinc par rapport au groupe des rats non-diabétiques.

Une augmentation statistiquement significative ($p < 0.05$) a été enregistrée de la concentration de la créatinine chez le groupe (DCZ) en comparaison au groupe (DAZ). Tandis que, un rétablissement a été enregistré par une baisse statistiquement significative ($p < 0.001$; $p < 0.001$) de la concentration plasmatique de la créatinine chez les groupes diabétiques traités (DCZ+Ab) et (DCZ+Av) respectivement, par rapport au groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire carencé en zinc.

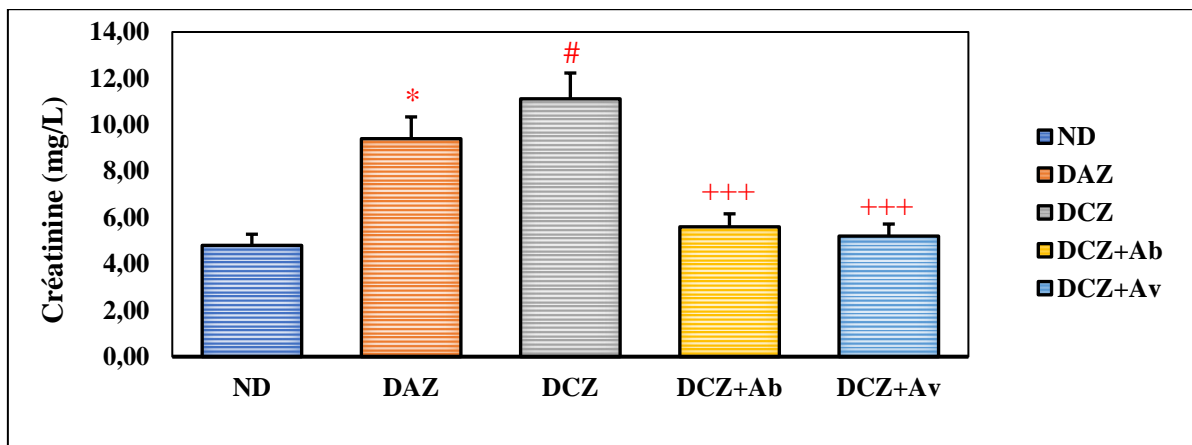


Figure 37: Variation de la concentration plasmatique de la créatinine (mg/L) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : * $p < 0.05$; DCZ vs DAZ : # $p < 0.05$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0.001$

4.6. Bilan pancréatique

4.6.1. Activité enzymatique de α -Amylase

La fonction pancréatique pourra être estimée par l' α -amylase qui a présenté juste une augmentation significative ($p < 0.05$) chez le groupe des rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire adéquat en zinc par rapport au groupe des rats non-diabétiques. Une augmentation de l'activité enzymatique d'alfa-amylase chez le groupe DCZ, mais sans aucune signification statistique en comparant au groupe DAZ. Par contre, un abaissement statistiquement significatif

($p < 0.01$; $p < 0.05$) a été noté de l'activité enzymatique d' α -Amylase chez les groupes diabétiques traités (DCZ+Ab) et (DCZ+Av) respectivement, par rapport au groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire carencé en zinc (figure 43).

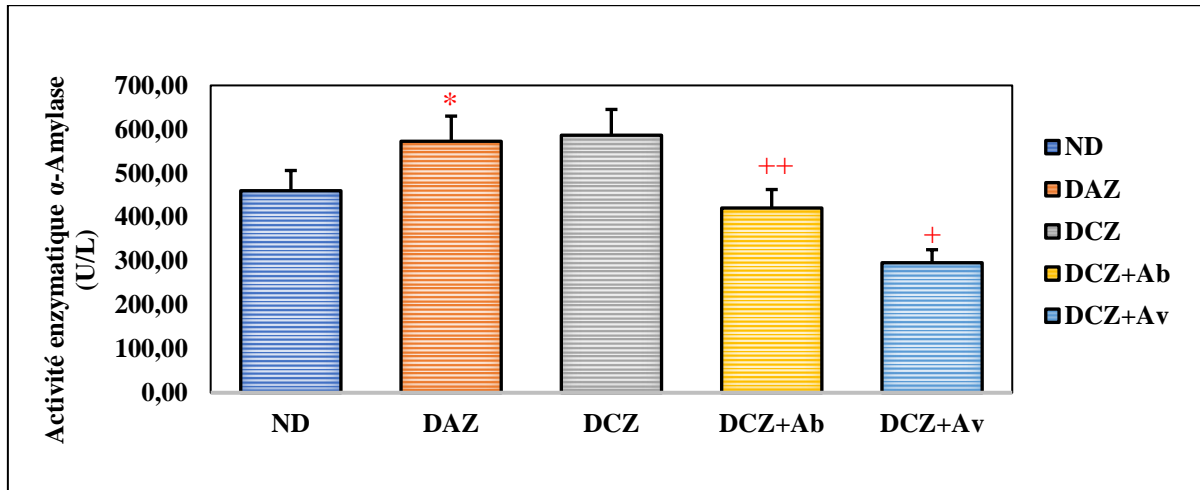


Figure 38: Variation de l'activité enzymatique d'alfa Amylase (UI/L) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : * $p < 0.05$; DCZ+Ab vs DCZ : ++ $p < 0.01$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.05$

5. Influence du traitement sur la variation de paramètres du stress oxydant

5.1. Effet sur le taux du malondialdéhyde (MDA)

Dans notre étude, le stress oxydant a induit une augmentation statistiquement significative du taux de la peroxydation lipidique ($p < 0.01$; $p < 0.001$) dans le foie et les reins, respectivement, chez les rats diabétiques soumis à un régime alimentaire suffisant en zinc par rapport au groupe non-diabétiques.

De même, le taux du malondialdéhyde (MDA) dans le foie et les reins, a augmenté chez le groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire carencé en zinc, par rapport au groupe nourris avec un régime adéquat en zinc, mais aucune signification a été remarqué (figure 44 et 45).

Par ailleurs, le traitement oral des rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc par 150mg/Kg P.C. d'extrait aqueux de l'azérolier (DCZ+Ab) et le traitement par la supplémentation de 10% d'avoine en aliment (DCZ+Ab), pendant 28 jours, ont entraînés des changements très hautement significatifs dans les concentrations de malondialdéhyde

($p < 0,001$), dans le foie et les reins, chez tous les groupes traités par rapport au groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire carencé en zinc (figure 44 et 45).

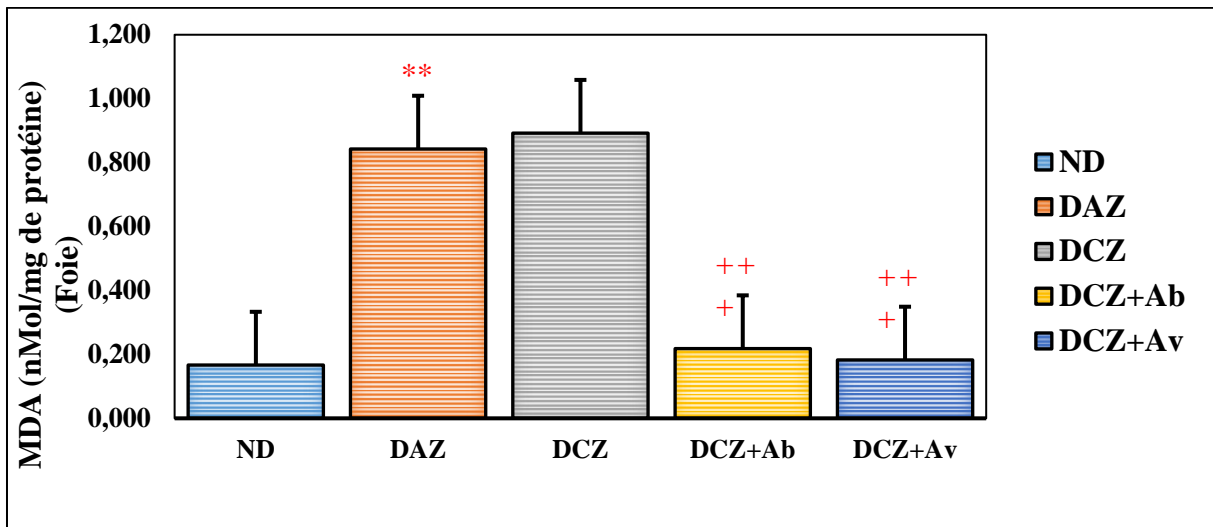


Figure 39: Variation de la teneur hépatique en MDA (nMol /mg de protéines) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0,01$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0,001$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0,001$

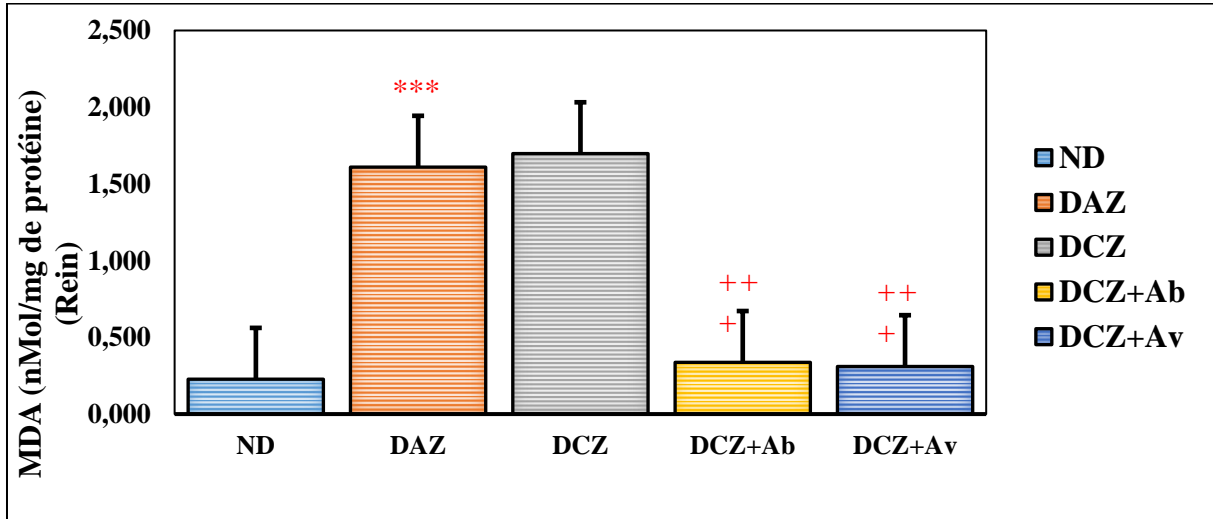


Figure 40: Variation de la teneur Rénale en MDA (nMol /mg de protéines) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : *** $p < 0,001$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0,001$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0,001$

5.2. Effet sur les systèmes antioxydants non-enzymatiques

5.2.1. Taux du glutathion réduit (GSH)

Les résultats obtenus montrent qu'il y a eu une diminution statistiquement significative de la concentration du glutathion réduit (GSH), ($p < 0.05$; $p < 0.01$) dans le foie et les reins, respectivement, chez les rats diabétiques soumis à un régime alimentaire suffisant en zinc par rapport au groupe non-diabétiques.

De même, le taux du (GSH) dans le foie et les reins, a diminué chez le groupe des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire carencé en zinc, par rapport au groupe des rats diabétiques nourris avec un régime suffisant en zinc, mais cette réduction n'était pas significative (figure 46 et 47).

L'administration orale d'une dose journalière de 150 mg/kg P.C./jour de l'extrait aqueux de l'azérolier (DCZ+Ab) et la supplémentation de 10% d'avoine en aliment (DCZ+Av) chez les rats diabétiques sous un régime carencé en zinc a entraîné une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration du GSH, dans le foie et les reins, chez tous les groupes traités, en comparaison au groupe (DCZ) (figure 46 et 47).

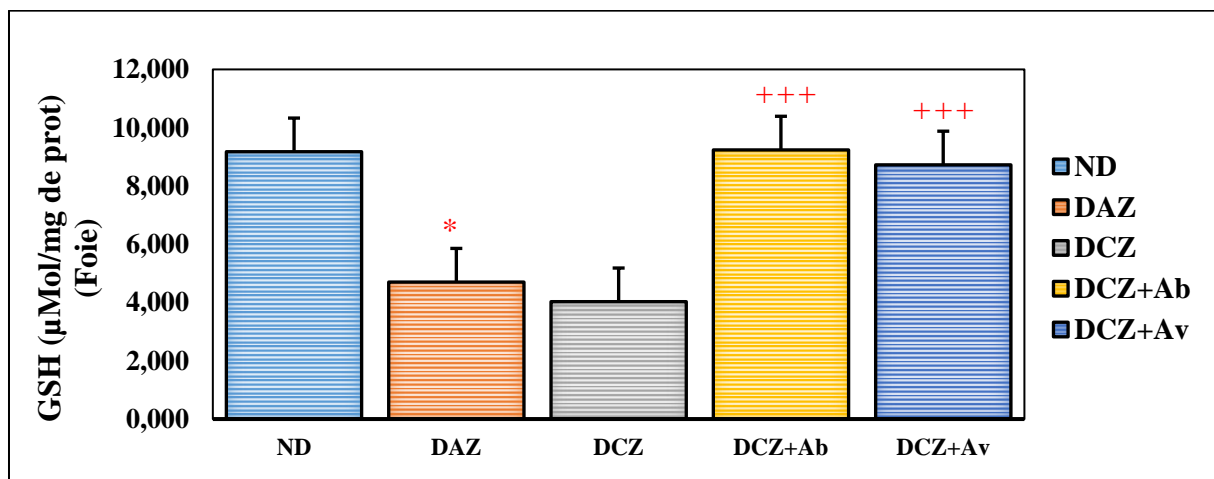


Figure 41: Variation de la teneur hépatique en GSH ($\mu\text{Mol} / \text{mg}$ de protéines) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : * $p < 0.05$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0.001$

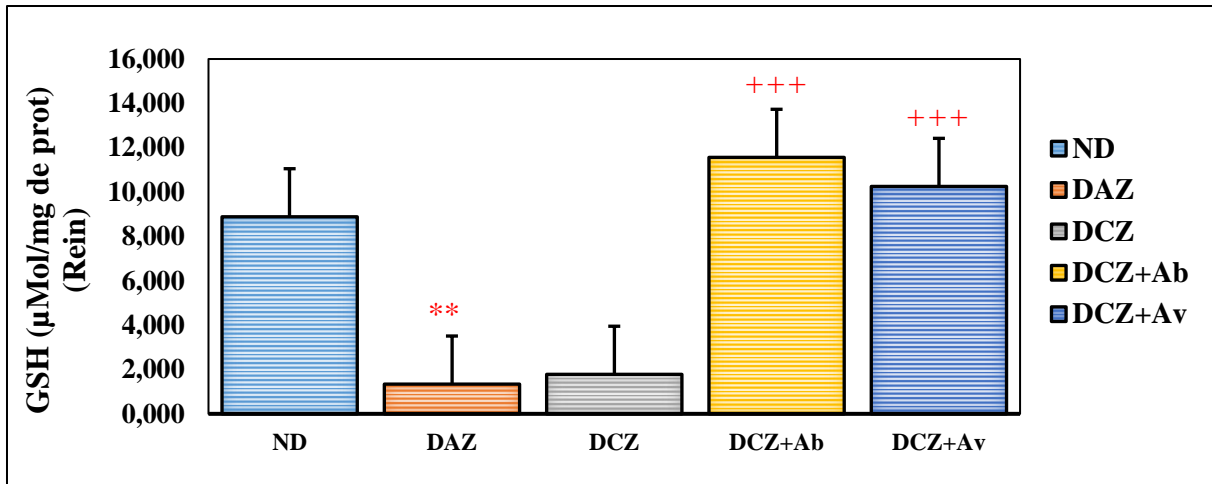


Figure 42: Variation de la teneur rénale en GSH ($\mu\text{Mol/mg}$ de protéines) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0.001$

5.3. Effet sur les systèmes antioxydants enzymatiques

5.3.1. *Activité enzymatique de la Glutathion peroxydase (GSH-Px)*

Les résultats obtenus indiquent une diminution très hautement significative de l'activité de la glutathion peroxydase (GSH-px) ($p < 0.001$) dans le foie et les reins des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire suffisant en zinc par rapport au groupe non-diabétique. De manière similaire, le taux de GSH-Px dans le foie et les reins a diminué chez le groupe de rats diabétiques soumis à un régime alimentaire carencé en zinc par rapport au groupe de rats diabétiques nourris avec un régime suffisant en zinc, bien que cette réduction n'ait pas atteint une signification statistique (figure 48 et 49).

L'administration orale quotidienne de 150 mg/kg P.C./jour de l'extrait aqueux d'azérolier (DCZ+Ab), et le traitement par la supplémentation de 10% d'avoine en aliment (DCZ+Ab) chez les rats diabétiques sous un régime carencé en zinc a entraîné une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité de GSH-Px dans le foie et les reins, chez tous les groupes traités, comparativement au groupe (DCZ) (figure 48 et 49).

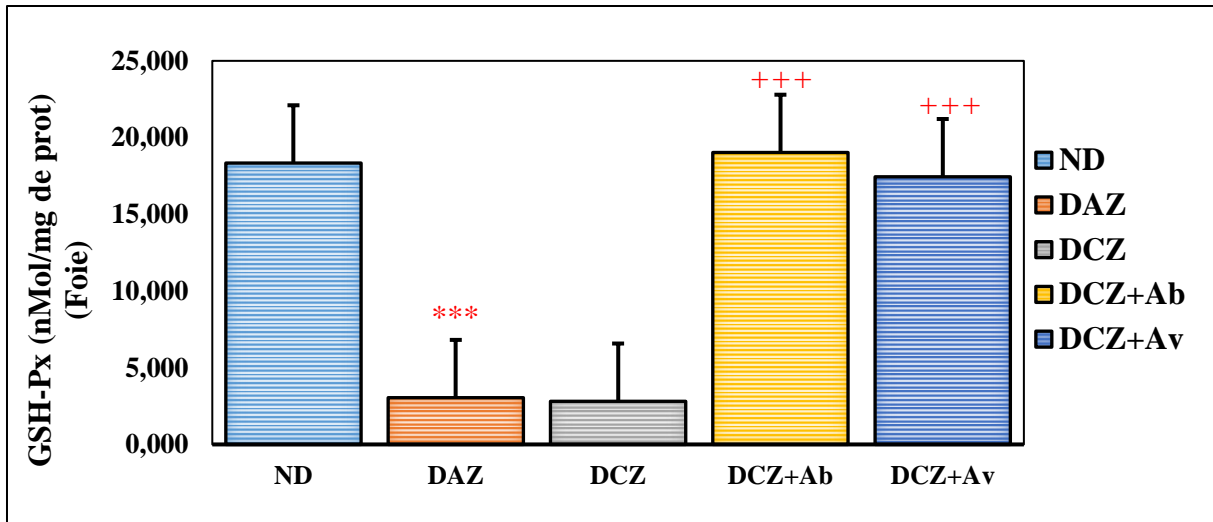


Figure 43: Variation de l'activité enzymatique hépatique du GSH-Px (nMol-GSH/min/mg de protéine) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : *** $p < 0.001$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0.001$

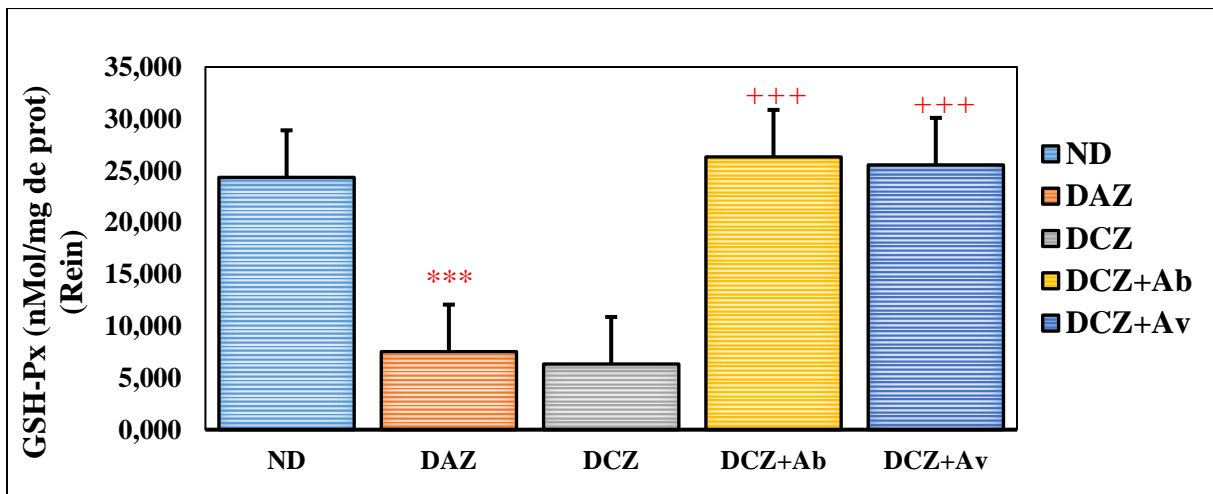


Figure 44: Variation de l'activité enzymatique rénale du GSH-Px (nMol-GSH/min/mg de protéine) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : *** $p < 0.001$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : +++ $p < 0.001$

5.3.2. *Activité enzymatique de la catalase (CAT)*

Nos résultats révèlent une diminution extrêmement significative de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) ($p < 0,01$) dans le foie et les reins des rats diabétiques soumis à un régime alimentaire adéquat en zinc par rapport au groupe non-diabétique. De manière similaire, le taux d'activité de la catalase dans le foie a diminué chez les rats diabétiques exposés à un régime

carencé en zinc par rapport au groupe diabétique nourri avec un régime suffisant en zinc, tandis qu'une légère augmentation de l'activité de la catalase dans les reins a été observée, bien que cette variation n'ait pas atteint une signification statistique. Le groupe traité avec l'extrait aqueux d'azérolier (DCZ+Ab) et le groupe traité avec la supplémentation de l'avoine (DCZ + Av) ont provoqué une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité de CAT dans le foie, et une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de l'activité de CAT dans les reins par rapport au groupe (DCZ) (figure 50 et 51).

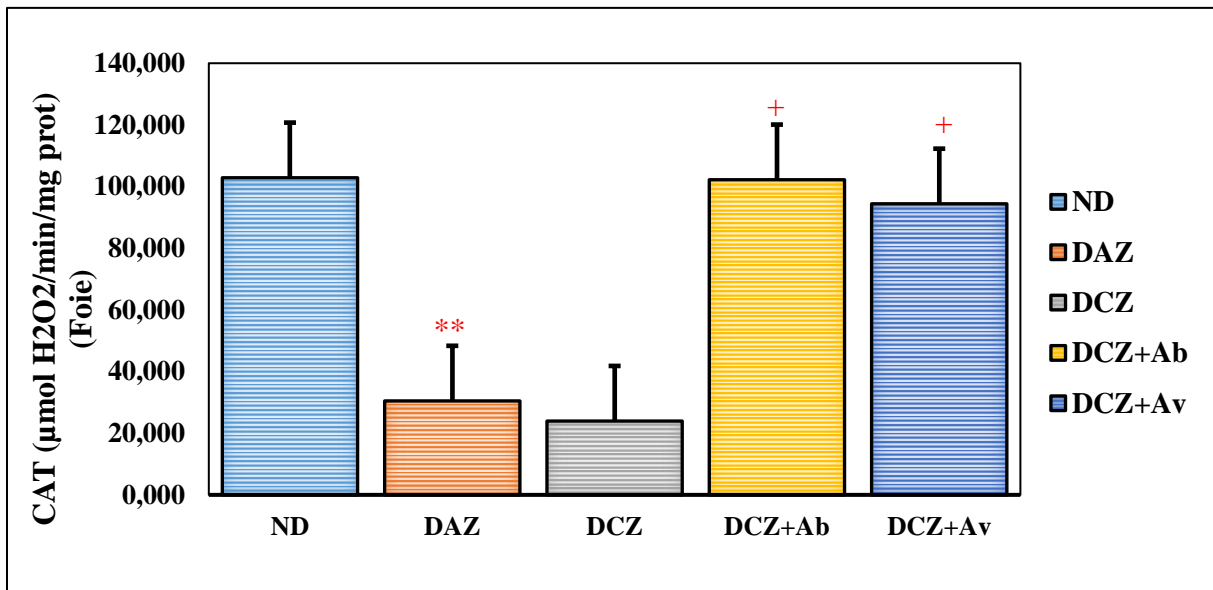


Figure 50 : Variation de l'activité enzymatique hépatique du CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ protéine) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : + $p < 0.05$; DCZ+Av vs DCZ : + $p < 0.05$

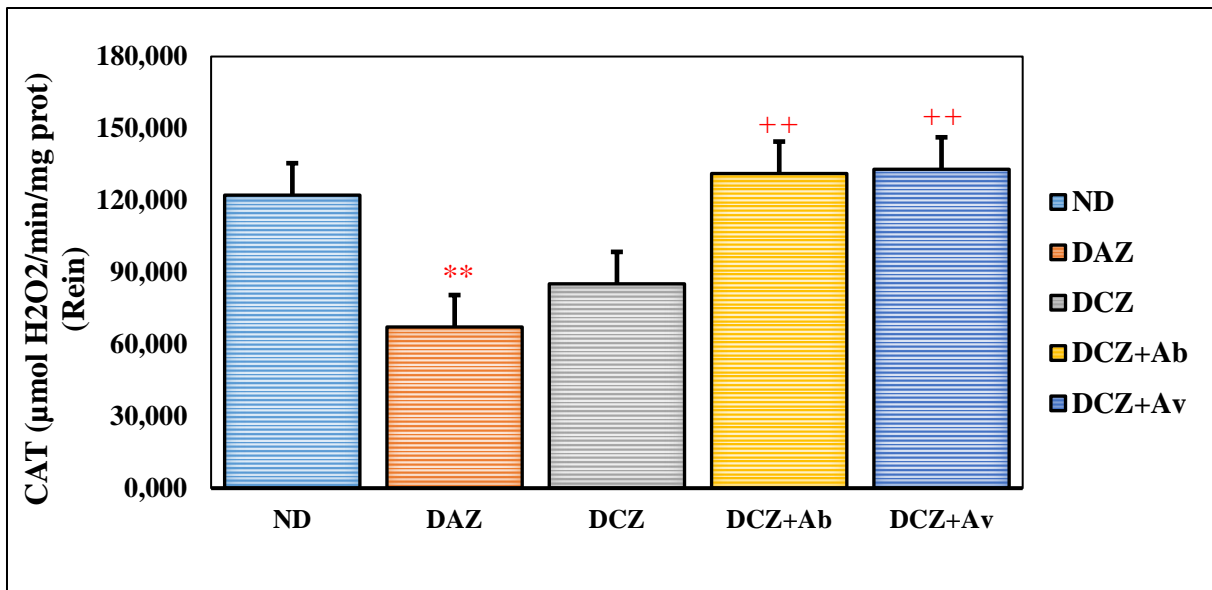


Figure 51 : Variation de l'activité enzymatique rénale du CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ protéine) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : ++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.001$

5.3.3. *Activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD)*

Cette étude met en lumière une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD) dans le foie et une diminution particulièrement marquée ($p < 0.001$) dans les reins chez les rats diabétiques soumis à un régime alimentaire riche en zinc par rapport au groupe non-diabétique. De plus, le groupe de rats diabétiques exposés à un régime alimentaire déficient en zinc présente une diminution du taux d'activité de la SOD dans le foie et les reins par rapport au groupe de rats diabétiques nourris avec un régime adéquat en zinc, bien que cette variation ne soit pas significative. Les résultats révèlent également une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité de la SOD dans le foie et les reins chez le groupe traité avec une dose de 150 mg/kg de poids corporel d'extrait aqueux d'azérolier (DCZ+Ab) par rapport au groupe témoin (DCZ). D'autre part, le groupe des rats diabétiques traité avec la supplémentation en avoine (DCZ+Av), sous un régime carencé en zinc a entraîné une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité de SOD dans le foie et dans les reins, comparativement au groupe (DCZ) (figure 52 et 53).

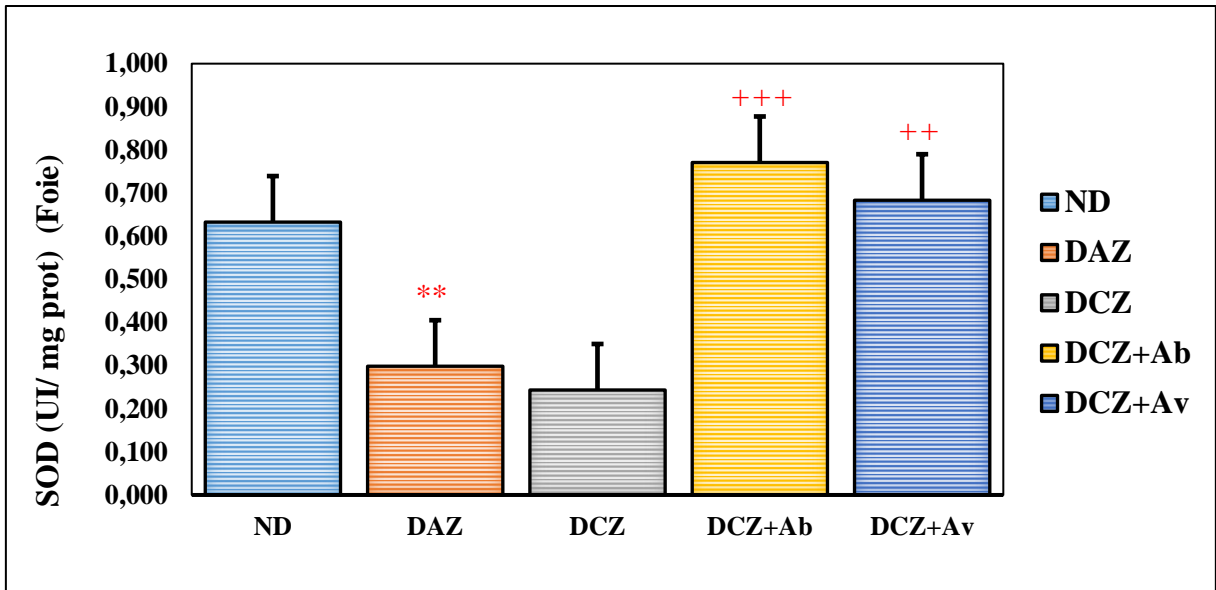


Figure 45: Variation de l'activité enzymatique hépatique du SOD (UI/ mg protéine) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : ** $p < 0.01$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

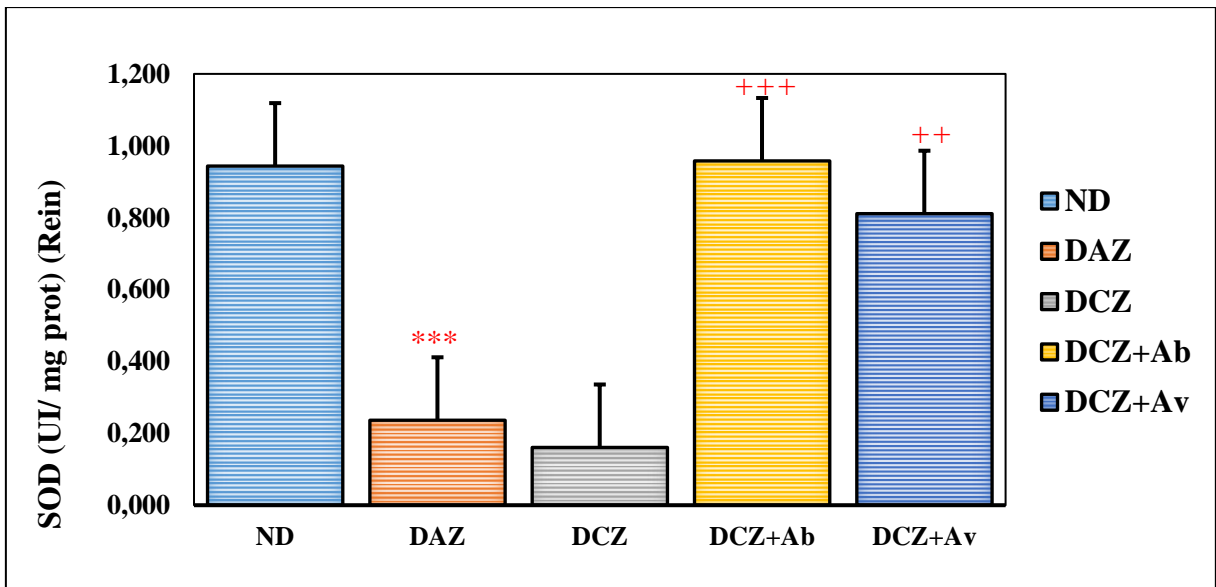


Figure 46: Variation de l'activité enzymatique rénale du SOD (UI/ mg protéine) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : *** $p < 0.001$; DCZ+Ab vs DCZ : +++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

5.3.4. *Activité enzymatique de la glutathion réductase (GR)*

Cette étude met en évidence une diminution statistiquement significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la glutathion réductase (GR) dans le foie et les reins, chez les rats diabétiques soumis à un régime alimentaire enrichi en zinc par rapport au groupe non-diabétique. De plus, le groupe de rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire carencé en zinc présente une diminution d'activité de la GR dans le foie et les reins par rapport au groupe de rats diabétiques nourris avec un régime adéquat en zinc, bien que cette variation ne soit pas significative.

Cette étude révèle également une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité de la GR dans le foie et une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité de la GR dans les reins chez le groupe traité avec une dose de 150 mg/kg de poids corporel d'extrait aqueux d'azérolier (DCZ+Ab), comparativement au groupe DCZ (figure 52 et 53). Une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité de la GR a été remarqué dans le foie et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité de la GR dans les reins chez le groupe traité avec la supplémentation en avoine (DCZ+Av), comparativement au groupe (DCZ) (figure 54 et 55).

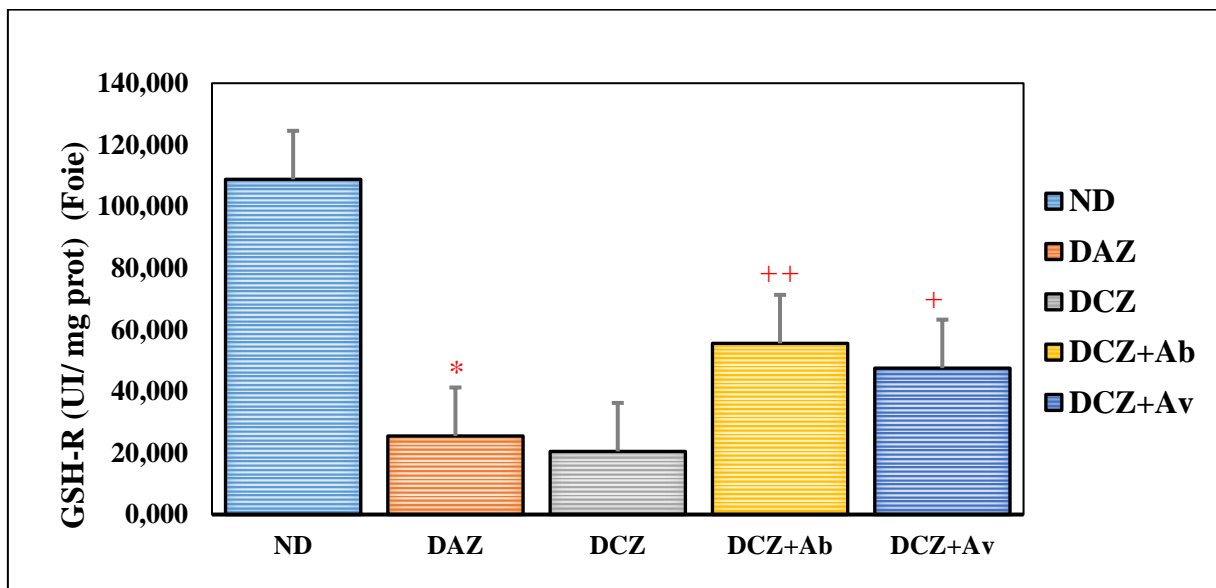


Figure 47: Variation de l'activité enzymatique hépatique du G-R (UI/ mg protéine) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : * $p < 0.05$; DCZ+Ab vs DCZ : ++ $p < 0.001$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.001$

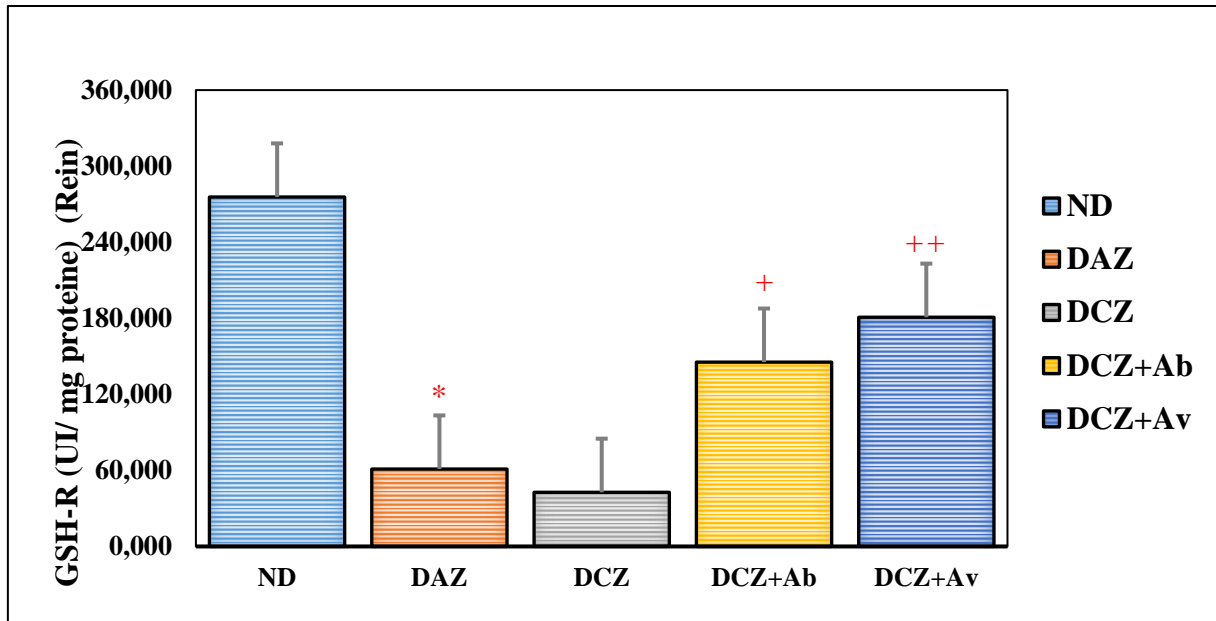


Figure 48: Variation de l'activité enzymatique rénale du G-R (UI/ mg protéine) chez les groupes expérimentaux.

DAZ vs ND : * $p < 0.05$; DCZ+Ab vs DCZ : + $p < 0.05$; DCZ+Av vs DCZ : ++ $p < 0.01$

6. Etude Histologique

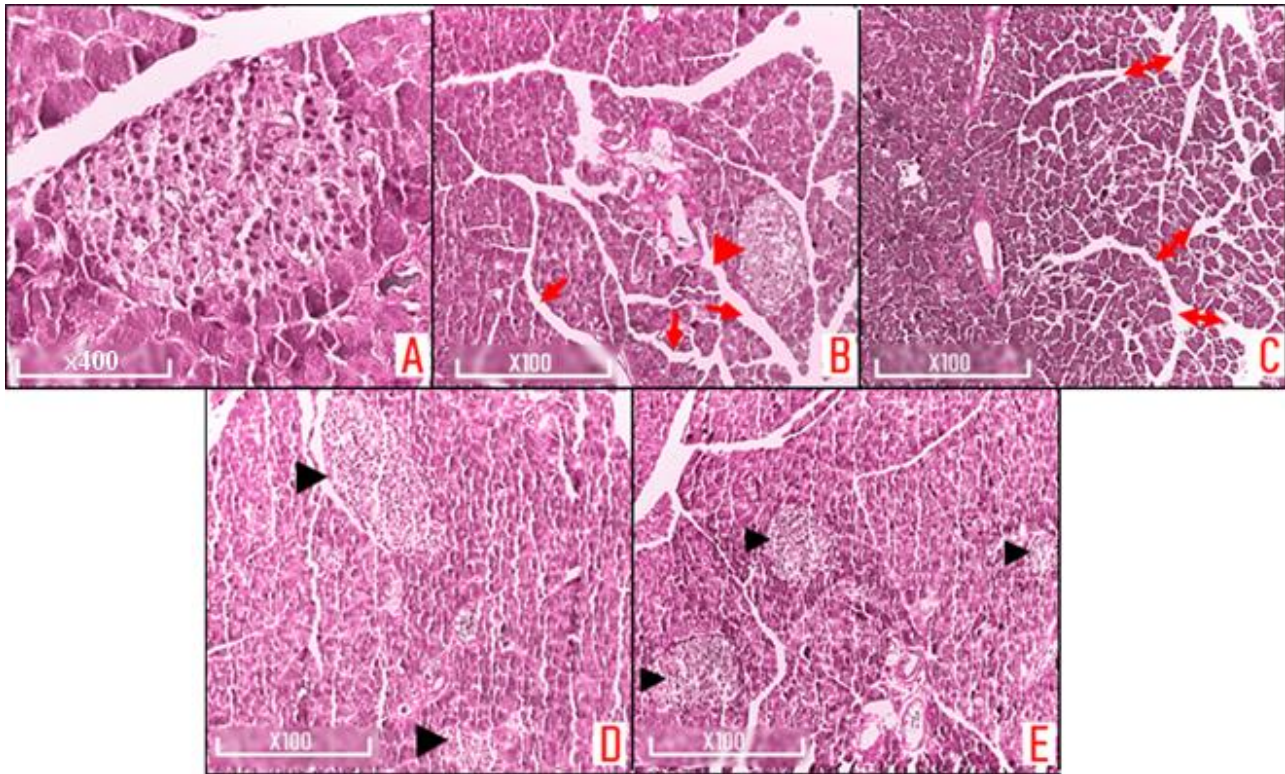


Figure 49: Effet de l'azérolier (*Crataegus azarolus*) ou l'avoine (*Avena sativa*) sur les changements histopathologiques dans le pancréas après quatre semaines de traitement : **A**) section de tissu pancréatique de rats non-diabétiques (ND) montrant une architecture normale ; **B**) section de tissu pancréatique de rats diabétiques avec une régime alimentaire adéquat en zinc (DAZ) montrant une taille réduite des cellules *B* (**tête de flèche rouge**) et des changements vasculaires dégénératifs dans les îlots pancréatiques (**flèche rouge**) ; **C**) section de tissu pancréatique de rats diabétiques déficients en zinc (DCZ) indiquant des changements vasculaires dégénératifs plus graves dans les îlots pancréatiques (**double flèche rouge**) ; **D** ; **E** sections de tissus pancréatiques des rats diabétiques déficients en zinc traités avec *Crataegus azarolus* (DCZ + Ab), avec *Avena sativa* (DCZ + Av) successivement, montrant une population préservée d'îlots pancréatiques (**pointe de flèche noire**) par rapport au groupe DCZ. Les sections ont été colorées selon la méthode d'hématoxyline-éosine et examinées sous microscope optique (100×).

Discussion

La découverte des effets nocifs de l'oxygène remonte aux années 50, lorsque Gerschman et Hartman ont introduit la "théorie des radicaux libres". Ces radicaux peuvent conduire à des dommages cellulaires et tissulaires, un processus connu sous le nom de stress oxydatif. Notre organisme possède des systèmes de défense, tels que le superoxyde dismutase (SOD), pour neutraliser les radicaux oxygénés toxiques et maintenir un équilibre entre les antioxydants et les pro-oxydants. Cependant, lorsque cet équilibre est rompu, le stress oxydatif peut survenir, contribuant au vieillissement et à diverses pathologies, y compris les maladies cardiovasculaires, neuro-dégénératives, le cancer, le diabète et d'autres encore. Parmi ces maladies, le diabète sucré a reçu une attention particulière ces dernières années en raison de son lien étroit avec le stress oxydatif (**Defraigne, 2005b; Vincent *et al.*, 2006^a**).

Le stress oxydatif peut contribuer à la destruction de la cellule bêta du pancréas, affectant ainsi la production d'insuline et aggravant le diabète. De plus, il est impliqué dans le développement de complications graves telles que les maladies cardiovasculaires et la néphropathie. En conditions d'hyperglycémie, plusieurs mécanismes peuvent conduire à une augmentation de la production de radicaux libres, notamment la voie des polyols, la formation de produits finaux de glycation avancée (AGEs), et l'activation de la protéine kinase C (PKC) (**Ayepola *et al.*, 2014**). En somme, la compréhension du rôle du stress oxydatif dans le développement et les complications du diabète ouvre de nouvelles perspectives pour la prévention et le traitement de cette maladie complexe. Les recherches continuent à explorer les mécanismes sous-jacents et à identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pour améliorer la prise en charge du diabète et de ses complications associées.

Des études récentes ont montré que certaines plantes médicinales sont considérées comme de bonnes sources de médicaments traditionnels, et de nombreux médicaments

modernes sont produits à partir de ces plantes (**Dar et al., 2019**). Néanmoins, l'utilisation des plantes en médecine repose essentiellement sur leurs composés biologiquement actifs, qui ont de nombreuses propriétés thérapeutiques, notamment antioxydantes, antidiabétiques, anti-inflammatoires et anti-hyper-cholestérolémies (**Pal et al., 2010; Neeta et al., 2015**).

Par conséquent, différentes études ont été consacrées à l'évaluation des propriétés des plantes. Ainsi, notre étude s'est concentrée sur l'évaluation des effets antidiabétiques potentiels et antioxydants de l'extrait aqueux de la partie aérienne d'azérolier (*Crataegus azarolus*), ainsi que sur la supplémentation en avoine (*Avena sativa*) dans l'alimentation des animaux dans le cas d'une carence nutritionnelle en zinc.

Les résultats de l'estimation des teneurs totales en phénols, en flavonoïdes et en tanins totaux ont indiqué que *C. azarolus* et *A. sativa* était très riche en ces composés chimiques, ce qui reflète ses fortes propriétés antioxydantes biologiques. De plus, la capacité antioxydante de *C. azarolus* ou *A. sativa* a été évaluée à l'aide de différents tests. Les résultats ont révélé que l'extrait aqueux de *C. azarolus* était plus puissant, avec un taux d'inhibition de 83,7 %, tandis que l'extrait d'avoine a présenté un taux d'inhibition de 40,62%, indiquant ainsi un effet antioxydant significatif. Cela est évident pour l'extrait aqueux, car il existe une relation étroite entre les teneurs en phénols et en flavonoïdes et l'activité antioxydante. De plus, la valeur IC₅₀ de l'extrait de *C. azarolus* et *A. sativa* étaient proches de celles des standards utilisés. Ces résultats sont en cohérence avec les conclusions tirées des études antérieures menées sur d'autres espèces du genre *Crataegus*, recueillies à travers plusieurs pays (**Alirezalu et al., 2018; Yahyaoui et al., 2019**), ainsi que sur l'espèce *Avena sativa* (**Emmons et al., 1999; Do Tan et al., 2016**). Nos résultats sont en accord avec d'autres études, telles que celle menée par (**Soycan et al., 2019**), qui ont également observé des teneurs similaires en phénols, flavonoïdes et tanins totaux dans l'avoine. Cela renforce la cohérence des constatations et suggère une robustesse des

données, appuyant ainsi la validité de nos résultats dans le contexte plus large de la recherche sur les composés bioactifs de ces plantes médicinales.

Comme prévu dans la présente étude, le groupe diabétique a montré une diminution remarquable du poids corporel par rapport au groupe non diabétique ; cela est en accord avec certains rapports (**Derouiche *et al.*, 2016; Oguntibeju, 2019**). La réduction du poids corporel était sans aucun doute due à la perturbation de l'état métabolique et suggère que la perte de poids pourrait s'expliquer par l'incapacité du corps à utiliser les glucides comme source d'énergie et le catabolisme élevé des graisses et de la masse protéique (**Juárez-Rojop *et al.*, 2012**). D'autre part, les rats diabétiques nourris avec un régime pauvre en zinc avaient un poids corporel et une consommation alimentaire plus faibles par rapport aux rats nourris avec un régime adéquat en zinc, ce qui est conforme à des études publiées (**Derai *et al.*, 2014; Tebboub *et al.*, 2021**). Il est connu que le zinc est nécessaire à la croissance et au développement normaux des espèces animales et humaines (**El Hendy *et al.*, 2001**).

Le traitement des animaux diabétiques carencés en zinc par l'extrait aqueux d'azérolier ou la supplémentation en avoine, a amélioré le poids corporel. L'augmentation notable du poids corporel des animaux pourrait s'expliquer par une augmentation de la prise alimentaire et de la synthèse des protéines. Des études antérieures ont également montré que l'incorporation d'avoine dans l'alimentation humaine, en raison de ses bienfaits liés aux fibres, au β -glucane, aux protéines fonctionnelles, aux composants lipidiques et d'amidon, pourrait contribuer à réguler la perte de protéines (**Rasane *et al.*, 2015**).

De manière similaire, les propriétés d'azérolier, comme sa capacité à inverser la gluconéogenèse, suggèrent qu'il pourrait influencer le métabolisme et aider à réguler le poids des animaux (**Shih *et al.*, 2013**). Ainsi, la combinaison de ces données suggère une influence

complexe de l'alimentation sur le métabolisme et le poids corporel, soulignant l'importance d'une approche intégrée pour comprendre ces mécanismes.

Les concentrations en zinc des tissus, y compris le fémur, le foie, le pancréas et le rein des rats diabétiques, étaient plus basses que celles des rats non diabétiques. Il a été postulé que le faible taux de zinc chez les patients atteints de diabète est généralement lié à une excrétion excessive par les urines et à une malabsorption gastro-intestinale (**Kinlaw *et al.*, 1983**), il est suggéré également que la teneur réduite en zinc est liée à une malabsorption gastro-intestinale de ce minéral (**Sinha *et al.*, 2014**). Les résultats ont également montré qu'il y avait une diminution significative de la teneur en zinc dans les organes mentionnés ci-dessus des animaux diabétiques nourris avec un régime pauvre en zinc par rapport aux animaux diabétiques nourris avec un régime suffisant en zinc ; cela concorde avec certaines investigations publiées (**Beloucif *et al.*, 2021**; **Tebboub *et al.*, 2021**). Le niveau de zinc chez les rats diabétiques carencés en zinc a été rétabli après l'administration de l'extrait de l'azérolier ou la supplémentation en avoine. Il est possible d'expliquer que le traitement par l'extrait aqueux ou la supplémentation en nourriture, influence positivement les dommages causés par le stress oxydatif en régulant à la baisse l'hyperglycémie et en prévenant les dysfonctionnements rénaux, ce qui entraîne une réduction des pertes urinaires de zinc.

L'analyse des résultats obtenus a montré également une élévation significative de la glycémie accompagnée d'une diminution du taux d'insuline sérique chez les rats diabétiques ayant reçu une alimentation suffisante en zinc par rapport aux rats non-diabétiques. Ces perturbations métaboliques peuvent s'expliquer par une dégénérescence accrue des cellules β pancréatiques consécutive à l'injection de STZ, entraînant ainsi une diminution de la sécrétion d'insuline (**Gupta *et al.*, 2004**). De plus, l'hyperglycémie pourrait résulter d'une perturbation de

l'utilisation du glucose par les tissus périphériques ou d'une surproduction endogène de glucose (par excès de néoglucogenèse et de glycogénolyse) (**Derouiche et al., 2016**).

Ces résultats, confirment la conclusion de l'étude réalisée par (**Madkor et al., 2010**), qui ont suggéré que les changements significatifs dans les niveaux de glucose et d'insuline dans le sang après l'administration de STZ chez les rats pourraient résulter d'une diminution ou d'une insuffisance de la libération d'insuline. Lorsque le moment de l'alimentation était strictement contrôlé et que la quantité de nourriture ingérée par chaque animal avant un jeûne nocturne était connue pour être similaire, les animaux diabétiques nourris avec un régime pauvre en zinc et ceux sous un régime adéquat en zinc n'ont montré aucune différence de niveau de glucose sanguin. Il est à noter que malgré le fait que la carence en zinc aggrave souvent l'hyperglycémie à jeun associée à une diminution de l'insuline circulante.

Cependant, le niveau de glucose sanguin a diminué chez les rats diabétiques carencés en zinc, qui ont été traités avec *C. azarolus* ou avec la supplémentation en *A. sativa* dans la nourriture des animaux. Ces résultats étaient en corrélation avec les études histologiques du pancréas, où les effets de plantes ont préservé les cellules des îlots. Les effets hypoglycémiques de *C. azarolus* et *A. sativa* pourrait être dû à la présence de certains inhibiteurs de l'alpha-glucosidase, notamment les polyphénols contenant principalement de la quercétine, de la gallate d'épigallo-catéchine (EGCG) et des flavonoïdes (**He et al., 2016; Abu-Gharbieh et al., 2017**).

Le criblage phytochimique a indiqué la richesse de ces plantes en ces constituants actifs. Ces composés peuvent réduire efficacement la résistance à l'insuline, la gluconéogenèse et augmenter la synthèse et le stockage du glycogène hépatique (**Xin et al., 2021**).

L'administration orale de l'azérolier à la dose de 150 mg/kg de régime et la supplémentation en avoine à 10% dans la nourriture chez les groupes diabétique carencés en

zinc ont montré un effet anti-hyperglycémique significatif et une amélioration marquée de la tolérance au glucose (TTGO), confirmant ainsi l'efficacité de ces plantes en tant qu'agents hypoglycémiques en retardant la digestion des glucides, et donc réduisant le taux de glucose sanguin (**Abu-Gharbieh *et al.*, 2017**).

Nos résultats ont montré que le taux de cholestérol et triglycérides étaient plus élevés chez les rats diabétiques carencés en zinc par rapport aux rats diabétiques suffisamment pourvus en zinc.

Une concentration élevée de cholestérol et de triglycérides était certainement due à des variations du métabolisme des lipides dans les conditions du diabète, qui ont conduit à la suppression de l'activité de la lipoprotéine lipase en raison du déficit en insuline et de la résistance à l'insuline (**Suryawanshi *et al.*, 2006**).

De plus, la variation du statut en zinc a entraîné une perturbation des lipides par une élévation très significative du cholestérol, et des triglycérides. En d'autres termes, la carence en zinc a provoqué un catabolisme des lipides en raison d'une demande accrue en énergie (**Hamdiken *et al.*, 2018a; Beloucif *et al.*, 2021**).

Le traitement des rats diabétiques carencés en zinc avec *C. azarolus* et *A. sativa* a entraîné une amélioration de ces paramètres altérés. Une explication réside dans le fait que la réduction des taux de cholestérol total et de triglycérides plasmatiques est un processus complexe impliquant plusieurs étapes du métabolisme lipidique. Parmi celles-ci, les flavonoïdes totaux contribuent à l'expression de deux enzymes essentielles du foie, l'hydroxy-méthyl-glutaryl coenzyme A réductase (HMG-CoA) et la cholestérol-7-alpha-hydroxylase (CYP7 α), qui sont des enzymes clés de la synthèse des lipides. De plus, ils jouent un rôle dans l'inhibition de

l'absorption du cholestérol en régulant à la baisse l'expression et l'activité de l'acyl-CoA cholestérol acyl-transférase intestinale (ACAT) (**Kwok et al., 2013; Wu et al., 2020**).

Les résultats de notre recherche ont montré une diminution significative des niveaux de protéines totales et d'albumine plasmatique chez les rats diabétiques, qu'ils aient reçu un régime alimentaire suffisant en zinc ou un régime alimentaire carencé en zinc, accompagnée d'une augmentation des déchets protéiques tels que l'urée et la créatinine. Ces observations peuvent s'expliquer par plusieurs mécanismes sous-jacents.

Tout d'abord, une augmentation du catabolisme des protéines peut avoir lieu, entraînant une décomposition plus rapide des protéines dans le corps. De plus, une diminution de la synthèse des protéines peut également contribuer à cette baisse, indiquant une réduction de la capacité du corps à produire de nouvelles protéines. La présence de micro-protéinurie, l'excrétion anormale de petites quantités de protéines dans l'urine, est un autre facteur contributif. Ces mécanismes sont des marqueurs cliniques courants du diabète sucré et sont associés à la diminution des niveaux de protéines totales et d'albumine plasmatique observée chez les rats diabétiques soumis à différents régimes alimentaires en zinc (**Khan et al., 2011**).

La protéolyse et la stimulation de la néoglucogénèse sont des systèmes compensatoires qui s'accroissent à cause de la déficience en insuline chez le diabétique (**Moini, 2019**). En cas de stress oxydatif intense, les radicaux libres générés provoquent des altérations dans les protéines. Ces altérations surviennent principalement lorsque les radicaux libres interagissent directement avec des acides aminés sensibles (**Chitra et al., 2010**). Effectivement, ces découvertes ont également été remarquées dans d'autres études antérieures, comme celles menées par **Hamdiken et al. (2017)**, ainsi que par **Tebboub et al. (2021)**.

D'autre étude a confirmé également que l'augmentation des taux d'urée, d'acide urique et de créatinine constitue un indicateur de dysfonctionnement rénal, particulièrement de la filtration glomérulaire. Ces paramètres sont directement et significativement liés à l'hyperglycémie. Par conséquent, le diabète est largement reconnu comme un facteur majeur contribuant à cette détérioration rénale progressive (**Kamal, 2014**).

En ce qui concerne la fonction hépatique, les résultats ont révélé des augmentations significatives des activités de la TGO, de la TGP, de la PAL, ainsi que des taux de bilirubine totale (Bil-T) et directe (Bil-D) plasmatiques chez les rats diabétiques carencés en zinc comparés aux rats diabétiques suffisamment pourvus en zinc. Ces résultats coïncident avec ces rapports publiés (**Beloucif et al., 2021; Tebboub et al., 2021**).

L'augmentation de ces paramètres peut s'expliquer comme suit : les transaminases TGO/TGP sont des enzymes cruciales dans le métabolisme des acides aminés et la production d'énergie. Une carence en zinc altère l'intégrité des hépatocytes, les cellules du foie, augmentant la libération de TGO/TGP dans le sang. Le diabète, associé à une hyperglycémie chronique, induit un stress oxydatif qui endommage les membranes cellulaires des hépatocytes, provoquant ainsi la libération accrue de TGO. Les transaminases semblent être les plus sensibles à la restriction en zinc, car leurs activités sont affectées de manière défavorable par un régime déficient en Zinc (**Yousef et al., 2002**). En 1983, **Greeley et Sandstead** ont trouvé des preuves d'une diminution de l'oxydation de la chaîne carbonée de l'alanine lorsque le zinc était limité, ce qui a entraîné une accumulation d'alanine dans le sang (**Greeley et al., 1983**).

La phosphatase alcaline (PAL) est une enzyme présente dans de nombreux tissus, dont le foie. Le zinc étant un cofacteur important pour la PAL, sa carence perturbe la structure et la fonction de l'enzyme, entraînant une augmentation de la production de PAL pour essayer de maintenir l'activité enzymatique nécessaire, afin de compenser cette perturbation (**Cho et al.,**

2007). Les niveaux élevés de PAL dans le diabète et la carence en zinc sont dus à des mécanismes différents, mais tous deux sont liés à une réponse compensatoire à un stress ou un dysfonctionnement tissulaire. Dans le cas du diabète, cela résulte principalement des dommages hépatiques (tels que la stéatose hépatique non alcoolique) et du stress oxydatif, tandis que dans la carence en zinc, c'est la perturbation directe de la structure et de la fonction de l'enzyme qui en est la cause principale.

Le stress oxydatif et l'inflammation chronique associés au diabète stimulent également la production de PAL, reflétant des dommages cellulaires et des altérations des voies métaboliques (Sharma *et al.*, 2014). Les taux de bilirubine totale (Bil-T) et directe (Bil-D) augmentent en raison des dommages aux hépatocytes et de la dysfonction biliaire, fréquemment observés chez les diabétiques. Le foie endommagé perd sa capacité à conjuguer et excréter efficacement la bilirubine, entraînant une accumulation dans le sang. La carence en zinc aggrave cette situation en réduisant l'efficacité des enzymes métabolisant la bilirubine, contribuant à l'hyperbilirubinémie observée (Tripathi *et al.*, 2024).

Ces mécanismes interdépendants soulignent l'importance du zinc dans le maintien de l'intégrité hépatique, particulièrement dans les conditions métaboliques stressantes comme le diabète. La combinaison de la carence en zinc et du diabète exacerbe les dommages cellulaires et les altérations métaboliques, entraînant des dysfonctionnements hépatiques significatifs.

Une réduction de la déshydrogénase lactique (LDH) plasmatique a été notée aussi chez les rats diabétiques carencés en zinc. La diminution de l'activité de la déshydrogénase lactique était certainement due à l'épuisement du zinc. En bref, la LDH est une métalloenzyme qui nécessite du zinc comme cofacteur pour son activité (Derouiche *et al.*, 2016).

Après la supplémentation de l'avoine à 10% dans l'alimentation et l'administration orale de 150 mg/kg d'azérolier, plusieurs mécanismes d'action peuvent contribuer à l'amélioration de ces paramètres chez les rats diabétiques carencés en zinc. L'azérolier, riche en flavonoïdes et en composés phénoliques, possède des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, réduisant ainsi le stress oxydatif induit par le diabète et la carence en zinc. En parallèle, son effet hypoglycémiant régule la glycémie, protégeant ainsi les hépatocytes contre les dommages causés par l'hyperglycémie (**Kim *et al.*, 2022**).

De plus, l'avoine, grâce à ses fibres solubles telles que les bêta-glucanes, réduit l'absorption intestinale du cholestérol et favorise son excrétion, tout en exerçant des effets anti-inflammatoires et antioxydants. Ces actions combinées contribuent à restaurer l'intégrité structurelle et fonctionnelle du foie, en réduisant la stéatose hépatique et en améliorant le métabolisme des lipides. Ainsi, la synergie entre l'avoine et l'azérolier offre un potentiel thérapeutique prometteur pour la protection hépatique chez les sujets atteints de diabète et de carence en zinc (**Debnath *et al.*, 2019**).

De nombreuses preuves récentes suggèrent que le déséquilibre réduction-oxydation (redox) cellulaire conduit au stress oxydatif et à l'apparition subséquente et au développement de complications du diabète en impliquant certaines voies de signalisation dans la dysfonction des cellules bêta et la résistance à l'insuline (**Zhang *et al.*, 2020**). Selon les résultats obtenus, il y avait une augmentation de la concentration de MDA, ce qui confirme l'impact nocif de la carence en zinc en augmentant la peroxydation des lipides. De plus, le niveau de glutathion (GSH), les activités de la catalase (CAT), de la glutathion peroxydase (GSH-Px), de la superoxyde dismutase (SOD) et de la glutathion réductase (GR) étaient réduits chez les rats diabétiques carencés en zinc. La raison de l'épuisement du glutathion pourrait s'expliquer par son rôle dans la capture des radicaux libres et sa consommation élevée (**Shaheen *et al.*, 1995**).

Cependant, la diminution observée des activités des enzymes antioxydantes pourrait être due à la modification des groupes sulfhydriles dans ces enzymes par la génération de espèces réactives de l'oxygène ou par l'auto-oxydation du glucose et la glycation non enzymatique des protéines (**Hamdiken *et al.*, 2018a**). L'administration de l'azérolier et la supplémentation en avoine ont entraîné une atténuation, une diminution du stress oxydatif et des dommages cellulaires. En d'autres termes, les résultats ont montré une réduction significative de la formation de malondialdéhyde et une augmentation de la concentration de GSH ainsi qu'une amélioration des activités de la CAT, GSH-Px, SOD et GR chez les animaux diabétiques carencés en zinc traités avec ces plantes.

Il a été rapporté que plusieurs composés polyphénoliques trouvés dans ces plantes, tels que les alcaloïdes, les tanins et les flavonoïdes, ont une forte propriété antioxydante et jouent un rôle important dans l'inhibition et la capture des radicaux libres (**Jurikova *et al.*, 2012**).

Conclusion et perspectives

Cette étude a été initiée dans le but essentiel de concevoir de nouvelles approches thérapeutiques antidiabétiques en exploitant les bienfaits des plantes riches en antioxydants naturels. L'objectif spécifique était d'évaluer les effets d'une administration orale de l'extrait aqueux d'azérolier (*Crataegus azarolus*) et de la supplémentation en avoine (*Avena sativa*) à 10% dans l'alimentation de rats diabétiques afin d'atténuer les conséquences néfastes de la carence en zinc. Les principales conclusions déduites de cette étude sont les suivantes :

- L'analyse de l'azérolier/avoine a révélé une richesse en composés bioactifs, notamment les polyphénols et les flavonoïdes et des tannins suggérant un potentiel thérapeutique prometteur.
- L'extrait d'azérolier et la supplémentation en avoine ont démontré une capacité antioxydante significative.
- La carence en zinc a induit une perte de poids significative associée à une réduction de la prise alimentaire.
- Des perturbations du statut en zinc, avec une diminution de la concentration de zinc dans les organes examinés, ont été constatées.
- Des perturbations métaboliques, telles qu'une hyperglycémie conjuguée à une hypo-insulinémie, ont été observées.
- Des altérations marquées ont été observées au niveau du profil lipidique (cholestérol et triglycérides), du niveau protéique (protéines totales et albumine plasmatique), ainsi qu'au niveau rénal (urée, acide urique et créatinine) chez les rats diabétiques soumis à un régime adéquat ou carencé en zinc.

- Des perturbations des biomarqueurs de la fonction hépatique ont été observées, caractérisées par une augmentation des activités des transaminases (TGO, TGP), de la phosphatase alcaline (PAL) et la réduction de l'activité du lactate déshydrogénase (LDH), ainsi que des taux accrus de bilirubine totale et de bilirubine directe.

Concernant les effets de l'administration de l'extrait aqueux d'azérolier (*Crataegus azarolus*) et la supplémentation en avoine (*Avena sativa*) chez les rats diabétiques carencés en zinc, plusieurs améliorations significatives ont été observées, notamment :

- Le restauration du poids corporels des animaux.
- La normalisation du statut en zinc dans le foie, le fémur, le pancréas et les reins.
- Une amélioration du métabolisme glucidique, illustrée par une réduction de la glycémie et une amélioration de l'insulinémie.
- Des effets bénéfiques sur le profil lipidique ainsi que la fonction hépatique soulignant un potentiel hépato-protecteur.
- La restauration du profil protéique, avec une augmentation des taux de protéines totales et d'albumine, accompagnée d'une réduction des taux de créatinine, d'urée et d'acide urique.
- L'amélioration de l'activité des enzymes à zinc, telle que la phosphatase alcaline (PAL), la lactate déshydrogénase (LDH) et alfa-Amylase.

En ce qui concerne le stress oxydatif, les résultats ont montré que l'administration orale de l'extrait aqueux d'azérolier et la suppléments en avoine ont contribué à atténuer les effets délétères de la carence en zinc et du diabète, en réduisant la peroxydation lipidique, augmentant

la concentration de glutathion réduit (GSH) et améliorant l'activité des enzymes antioxydantes (GSH-Px, CAT, SOD).

Pour approfondir ces découvertes, il serait pertinent :

- D'identifier et d'isoler les composés bioactifs spécifiques de ces plantes médicinales qui sont responsables de ses effets bénéfiques, ouvrant la voie au développement de médicaments plus précis et ciblés.

- De comprendre plus en détail les mécanismes moléculaires responsables des effets antioxydants et métaboliques de ces plantes médicinales, offrant ainsi des informations cruciales pour optimiser son utilisation thérapeutique.

Références

A

- Abdulmalek, S., Eldala, A., Awad, D., & Balbaa, M. (2021). Ameliorative effect of curcumin and zinc oxide nanoparticles on multiple mechanisms in obese rats with induced type 2 diabetes. *Scientific Reports*, *11*(1), 20677. doi:10.1038/s41598-021-00108-w
- Abu-Gharbieh, E., & Shehab, N. G. (2017). Therapeutic potentials of *Crataegus azarolus* var. *eu-azarolus* Maire leaves and its isolated compounds. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *17*(1), 218. doi:10.1186/s12906-017-1729-9
- Acharya, J. D., & Ghaskadbi, S. S. J. I. (2010). Islets and their antioxidant defense. *2*(4), 225-235.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, *105*, 121-126. doi:10.1016/s0076-6879(84)05016-3
- Ahmad, A., Anjum, F. M., Zahoor, T., Nawaz, H., & Ahmed, Z. (2010). Extraction and characterization of β -d-glucan from oat for industrial utilization. *International Journal of Biological Macromolecules*, *46*(3), 304-309. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.01.002
- Aierken, A., Buchholz, T., Chen, C., Zhang, X., & Melzig, M. F. (2017). Hypoglycemic effect of hawthorn in type II diabetes mellitus rat model. *J Sci Food Agric*, *97*(13), 4557-4561. doi:10.1002/jsfa.8323
- Al-Awar, A., Kupai, K., Veszelka, M., Szűcs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., . . . Varga, C. J. J. o. d. r. (2016). Experimental diabetes mellitus in different animal models. *2016*.
- Al zaben, K. (2009). Induction of Diabetes Mellitus in Rats Using Intraperitoneal Streptozotocin: A Comparison between 2 Strains of Rats. *European Journal of Scientific Research*, *32*, 398-402.
- Alirezalu, A., Salehi, P., Ahmadi, N., Sonboli, A., Aceto, S., Hatami Maleki, H., & Ayyari, M. (2018). Flavonoids profile and antioxidant activity in flowers and leaves of hawthorn species (*Crataegus* spp.) from different regions of Iran. *International Journal of Food Properties*, *21*(1), 452-470. doi:10.1080/10942912.2018.1446146
- Aly, N. H. (2012). Effect of dietary oat and wheat bran on biochemical changes in rats fed high fat-high cholesterol diets.
- American-Diabetes-Association. (2015). Standards of medical care in diabetes-2015 abridged for primary care providers. *Clin Diabetes*, *33*(2), 97-111. doi:10.2337/diaclin.33.2.97
- Anderson, T., Schein, P. S., McMenamin, M. G., & Cooney, D. A. J. T. J. o. C. I. (1974). Streptozotocin diabetes correlation with extent of depression of pancreatic islet nicotinamide adenine dinucleotide. *54*(3), 672-677.
- Ashcroft, F. M., & Rorsman, P. (1989). Electrophysiology of the pancreatic β -cell. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, *54*(2), 87-143. doi:https://doi.org/10.1016/0079-6107(89)90013-8
- Atkin, M. A., Gasper, A., Ullegaddi, R., & Powers, H. J. J. C. C. (2005). Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma: response to antioxidants in vitro and to antioxidant supplementation. *51*(11), 2138-2144.

- Attia, E. S., Amer, A. H., & Hasanein, M. A. J. N. p. r. (2019). The hypoglycemic and antioxidant activities of garden cress (*Lepidium sativum* L.) seed on alloxan-induced diabetic male rats. *33*(6), 901-905.
- Ayepola, O. R., Brooks, N. L., & Oguntibeju, O. O. (2014). Kolaviron improved resistance to oxidative stress and inflammation in the blood (erythrocyte, serum, and plasma) of streptozotocin-induced diabetic rats. *ScientificWorldJournal*, 2014, 921080. doi:10.1155/2014/921080
- Aymonin, G.-G., Aulanier, P., & Timbal, J. (1993). *Guide des arbres et arbustes*: Section du Reader's Digest.

B

- Barcchiya, J., Meena, R. K., & Lal, N. J. I. F. (2017). Oat is a multifunctional cereal crop. *Innovative Farming*, 2, 114-116.
- Beckman, J. A., & Creager, M. A. J. C. r. (2016). Vascular complications of diabetes. *118*(11), 1771-1785.
- Beloucif, A., Kechrid, Z., & Bekada, A. M. A. (2021). Effect of Zinc Deficiency on Blood Glucose, Lipid Profile, and Antioxidant Status in Streptozotocin Diabetic Rats and the Potential Role of Sesame Oil. *Biol Trace Elem Res*. doi:10.1007/s12011-021-02934-5
- Black, R. E., Allen, L. H., Bhutta, Z. A., Caulfield, L. E., de Onis, M., Ezzati, M., . . . Rivera, J. (2008). Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *The Lancet*, 371(9608), 243-260. doi:10.1016/S0140-6736(07)61690-0
- Bonaventura, P., Benedetti, G., Albarède, F., & Miossec, P. (2015). Zinc and its role in immunity and inflammation. *Autoimmunity Reviews*, 14(4), 277-285. doi:https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.11.008
- Boudraa, S. (2008). *Etude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de: Celtis australis L., Crataegus azarolus L., Crataegus monogyna Jacq., Elaeagnus angustifolia L. et Zizyphus lotus L.* Université de Batna 1-Hadj Lakhder,
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72, 248-254. doi:10.1006/abio.1976.9999
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi:https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Brosse, J. (2004). *Larousse des arbres et des arbustes*: Larousse.
- Brown, K. H., Rivera, J. A., Bhutta, Z., Gibson, R. S., King, J. C., Lönnerdal, B., . . . Hotz, C. (2004). International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document #1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull*, 25(1 Suppl 2), S99-203.
- Brown, K. H., Wuehler, S. E., & Peerson, J. M. (2001). The Importance of Zinc in Human Nutrition and Estimation of the Global Prevalence of Zinc Deficiency. *Food and Nutrition Bulletin*, 22(2), 113-125. doi:10.1177/156482650102200201
- Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales*. Retrieved from

- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes Médicinales* (T. Doc Ed. 3rd Edition, Revue et Augmentée ed. Vol. 1). Paris: Tec & Doc.
- Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 52, 302-310. doi:10.1016/s0076-6879(78)52032-6
- Buyschaert, M. (2006). *Diabétologie clinique* (3ème édition ed.): De Boeck Supérieur.

C

- Chang, Q., Zuo, Z., Chow, M. S. S., & Ho, W. K. K. (2006). Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. *major*) fruits and a hawthorn drink. *Food Chemistry*, 98(3), 426-430. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.015
- Chasapis, C. T., Loutsidou, A. C., Spiliopoulou, C. A., & Stefanidou, M. E. (2012). Zinc and human health: an update. *Archives of Toxicology*, 86(4), 521-534. doi:10.1007/s00204-011-0775-1
- Chen, C., Qu, L., Li, B., Xing, L., Jia, G., Wang, T., . . . Chai, Z. (2005). Increased Oxidative DNA Damage, as Assessed by Urinary 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine Concentrations, and Serum Redox Status in Persons Exposed to Mercury. *Clinical Chemistry*, 51(4), 759-767. doi:10.1373/clinchem.2004.042093
- Chen, L., Wu, D., Schlundt, J., & Conway, P. L. (2020). Development of a Dairy-Free Fermented Oat-Based Beverage With Enhanced Probiotic and Bioactive Properties. *II*. doi:10.3389/fmicb.2020.609734
- Chhabra, N. (2012). *A case oriented approach towards biochemistry*: JP Medical Ltd.
- Chistiakov, D. A., & Voronova, N. V. (2009). Zn²⁺-transporter-8: A dual role in diabetes. *BioFactors*, 35(4), 356-363. doi:https://doi.org/10.1002/biof.49
- Cho, Y.-E., Lomeda, R.-A. R., Ryu, S.-H., Sohn, H.-Y., Shin, H.-I., Beattie, J. H., & Kwun, I.-S. (2007). Zinc deficiency negatively affects alkaline phosphatase and the concentration of Ca, Mg and P in rats. *Nutr Res Pract*, 1(2), 113-119.
- Choi, S., Liu, X., & Pan, Z. (2018). Zinc deficiency and cellular oxidative stress: prognostic implications in cardiovascular diseases. *Acta Pharmacologica Sinica*, 39(7), 1120-1132. doi:10.1038/aps.2018.25
- Chu, Y.-F., Wise, M. L., Gulvady, A. A., Chang, T., Kendra, D. F., Jan-Willem van Klinken, B., . . . O'Shea, M. (2013). In vitro antioxidant capacity and anti-inflammatory activity of seven common oats. *Food Chemistry*, 139(1), 426-431. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.104
- Coulston, L., & Dandona, P. (1980). Insulin-like Effect of Zinc on Adipocytes. *Diabetes*, 29(8), 665-667. doi:10.2337/diab.29.8.665
- Crabbé, J.-M. J. T. s. l. d. (2014). Tempête sur le diabète: autopsie d'une épidémie planétaire. 1-145.

D

- Daniele, C., Mazzanti, G., Pittler, M. H., & Ernst, E. (2006). Adverse-event profile of *Crataegus* spp.: a systematic review. *Drug Saf*, 29(6), 523-535. doi:10.2165/00002018-200629060-00005

- Dar, R., Shahnawaz, M., & Qazi, P. (2019). General overview of medicinal plants: A review. 349-351. doi:10.31254/phyto.2017.6608
- Debnath, T., Kim, E.-K., Das, G., Nath, N. C. D., & Lee, K.-G. (2019). Protective effect of oat (*Avena sativa*) bran extracts on acute hepatic liver damage in mice. *Food and Agricultural Immunology*, 30(1), 34-46. doi:10.1080/09540105.2018.1541169
- Defraigne, J.-O. J. R. m. d. l. (2005a). Un mecanisme physiopathologique central a l'origine des complications du diabete? , 60(5-6, May-Jun).
- Defraigne, J. O. (2005b). [A central pathological mechanism explaining diabetic complications?]. *Rev Med Liege*, 60(5-6), 472-478.
- Delattre, J., Beaudoux, J.-L., Bonnefont-Rousselot, D., Delattre, J., Delattre, J., Beaudoux, J.-L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). *Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques*. (Première édition ed.). Paris Londres New-York: Tec & Doc Éditions médicales internationales.
- Derai, E.-h., Kechrid, Z. J. M. J. o. N., & Metabolism. (2014). Combined effect of vitamins C and E on zinc status, carbohydrate metabolism and antioxidant values in diabetic rats fed zinc-deficient diet. 7, 55-65.
- Derouiche, S., & Kechrid, Z. (2016). Zinc Supplementation Overcomes Effects of Copper on Zinc Status, Carbohydrate Metabolism and Some Enzyme Activities in Diabetic and Nondiabetic Rats. *Can J Diabetes*, 40(4), 342-347. doi:10.1016/j.jcjd.2016.02.005
- Devaraj, S., Hirany, S. V., Burk, R. F., & Jialal, I. (2001). Divergence between LDL Oxidative Susceptibility and Urinary F2-Isoprostanes as Measures of Oxidative Stress in Type 2 Diabetes. *Clinical Chemistry*, 47(11), 1974-1979. doi:10.1093/clinchem/47.11.1974
- Do Tan, K., T, V., & Dang Xuan, T. (2016). Bioactive compounds, antioxidant and enzyme activities in germination of oats (*Avena sativa* L.). *International Food Research International*, 23, 1980-1987.
- Donnelly, R., Emslie-Smith, A. M., Gardner, I. D., & Morris, A. D. J. B. (2000). Vascular complications of diabetes. 320(7241), 1062-1066.

E

- Efrat, S. J. A. d. d. r. (2008). Beta-cell replacement for insulin-dependent diabetes mellitus. 60(2), 114-123.
- Eide, D. J. (2011). The oxidative stress of zinc deficiency†. *Metallomics*, 3(11), 1124-1129. doi:10.1039/c1mt00064k
- El Hendy, H. A., Yousef, M. I., & Abo El-Naga, N. I. (2001). Effect of dietary zinc deficiency on hematological and biochemical parameters and concentrations of zinc, copper, and iron in growing rats. *Toxicology*, 167(2), 163-170. doi:https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00373-0
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70-77. doi:https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6
- Emmons, C. L., Peterson, D. M., & Paul, G. L. (1999). Antioxidant Capacity of Oat (*Avena sativa* L.) Extracts. 2. In Vitro Antioxidant Activity and Contents of Phenolic and Tocol Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 4894-4898. doi:10.1021/jf990530i

Espiard, E. (2002). *Introduction à la transformation industrielle des fruits [Texte imprimé]*: Éd. Tec & Doc.

F

Favier, F., Fianu, A., Naty, N., Le Moullec, N., & Papoz, L. J. R. m. d. l. a. m. (2005). Essai de prévention primaire du diabète de type 2 et du syndrome métabolique à la Réunion. (1), 5-13.

Feig, D. S., Berger, H., Donovan, L., Godbout, A., Kader, T., Keely, E., & Sanghera, R. J. C. J. D. (2018). Diabète et grossesse. *42*(3), S255-282.

Fishbein, H., & Palumbo, P. J. A. (1995). Acute metabolic complications in diabetes. *30*, 30.

Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984). [12] Assays of glutathione peroxidase. In *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 114-120): Academic Press.

Ford, D. (2004). Intestinal and placental zinc transport pathways. *Proceedings of the Nutrition Society*, *63*(1), 21-29. doi:10.1079/PNS2003320

G

Gholamhoseinian, A., Shahouzehi, B., & Mohammadi, G. (2020). Trace elements content of some traditional plants used for the treatment of diabetes mellitus. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *10*(5), 6167-6173. doi:10.33263/BRIAC105.61676173

Gibson, R. S., & Anderson, V. P. (2009). A Review of Interventions Based on Dietary Diversification or Modification Strategies with the Potential to Enhance Intakes of Total and Absorbable Zinc. *Food and Nutrition Bulletin*, *30*(1_suppl1), S108-S143. doi:10.1177/15648265090301S107

Goldberg, D. M. S., R. J. . (1983). "Glutathione Reductase, ". In J. B. a. M. G. H. U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, (3rd Edition ed., pp. pp. 258-265.). Weinheim Verlag Chemie.

Golden, S. H., Folsom, A. R., Coresh, J., Sharrett, A. R., Szklo, M., & Brancati, F. J. D. (2002). Risk factor groupings related to insulin resistance and their synergistic effects on subclinical atherosclerosis: the atherosclerosis risk in communities study. *51*(10), 3069-3076.

Goyer, R. A., Clarkson, T. W. J. C., & poisons, D. s. t. t. b. s. o. (1996). Toxic effects of metals. *5*, 691-736.

Greeley, S., & Sandstead, H. H. (1983). Oxidation of Alanine and β -Hydroxybutyrate in Late Gestation by Zinc-Restricted Rats. *The Journal of Nutrition*, *113*(9), 1803-1810. doi:10.1093/jn/113.9.1803 %J The Journal of Nutrition

Gupta, S., Kataria, M., Gupta, P., Shanmugam, M., & Yashroy, R. (2004). Protective role of extracts of neem seeds in diabetes caused by Streptozotocin in rats. *Journal of ethnopharmacology*, *90*, 185-189. doi:10.1016/j.jep.2003.09.024

H

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J., Charlier, C., & Chapelle, J. J. R. m. d. l. (2007). Oxidative stress. *62*(10), 628-638.

Les Références Bibliographiques

- Hamdiken, M., Bouhalit, S., & Kechrid, Z. (2018a). Effect of *Ruta chalepensis* on Zinc, Lipid Profile and Antioxidant Levels in the Blood and Tissue of Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats Fed Zinc-Deficient Diets. *Canadian Journal of Diabetes*, 42(4), 356-364. doi:10.1016/j.jcjd.2017.08.239
- Hamdiken, M., Bouhalit, S., & Kechrid, Z. (2018b). Effect of *Ruta chalepensis* on Zinc, Lipid Profile and Antioxidant Levels in the Blood and Tissue of Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats Fed Zinc-Deficient Diets. *Canadian Journal of Diabetes*, 42(4), 356-364. doi:https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2017.08.239
- Han, H.-S., Kang, G., Kim, J. S., Choi, B. H., Koo, S.-H. J. E., & medicine, m. (2016). Regulation of glucose metabolism from a liver-centric perspective. 48(3), e218-e218.
- Hansel, R., Keller, K., Rimpler, H., and Schneider, G. (1992). *Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis* (Drogen A-D ed.). Berlin: SpringerVerlag.
- Hao, W., Zhang, Z., Guo, Y., Sun, P., Lv, X., & Zuo, Y. (2011). Hawthorn fruit increases the antioxidant capacity and reduces lipid peroxidation in senescence-accelerated mice. *European Food Research and Technology*, 232, 743-751. doi:10.1007/s00217-011-1435-7
- Hara, T., Takeda, T.-a., Takagishi, T., Fukue, K., Kambe, T., & Fukada, T. (2017). Physiological roles of zinc transporters: molecular and genetic importance in zinc homeostasis. *The Journal of Physiological Sciences*, 67(2), 283-301. doi:10.1007/s12576-017-0521-4
- Hare, J. M. J. N. E. J. o. M. (2004). Nitroso-redox balance in the cardiovascular system. 351(20), 2112-2114.
- Hartemann, A., & Grimaldi, A. (2019). *Guide pratique du diabète*: Elsevier Health Sciences.
- Harvey, A. L., & Cree, I. A. (2010). High-throughput screening of natural products for cancer therapy. *Planta Med*, 76(11), 1080-1086. doi:10.1055/s-0030-1250162
- He, K., Song, S., Zou, Z., Feng, M., Wang, D., Wang, Y., . . . Ye, X. (2016). The Hypoglycemic and Synergistic Effect of Loganin, Morroniside, and Ursolic Acid Isolated from the Fruits of *Cornus officinalis*. *Phytother Res*, 30(2), 283-291. doi:10.1002/ptr.5529
- Herman, W. H., Ye, W., Griffin, S. J., Simmons, R. K., Davies, M. J., Khunti, K., . . . Borch-Johnsen, K. J. D. c. (2015). Early detection and treatment of type 2 diabetes reduce cardiovascular morbidity and mortality: a simulation of the results of the Anglo-Danish-Dutch study of intensive treatment in people with screen-detected diabetes in primary care (ADDITION-Europe). 38(8), 1449-1455.
- Hill, G. M., & Link, J. E. (2009). Transporters in the absorption and utilization of zinc and copper1. *Journal of Animal Science*, 87(suppl_14), E85-E89. doi:10.2527/jas.2008-1341
- Hould, R. (1984). *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Montreal: Decarie Montreal.
- Hudson, B. I., Wendt, T., Bucciarelli, L. G., Rong, L. L., Naka, Y., Yan, S. F., & Schmidt, A. M. (2005). Diabetic Vascular Disease: It's All the RAGE. *Antioxidants & Redox Signaling*, 7(11-12), 1588-1600. doi:10.1089/ars.2005.7.1588

I

- International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: 2021. Disponible à: <https://www.diabetesatlas.org>.
- Imoberdorf, R., Rühlin, M., & Ballmer, P. E. (2010). *Zinc un oligoélément vital à grand potentiel*.

J

- Jiménez, P. G., Martín-Carmona, J., & Hernández, E. L. (2020). Diabetes mellitus. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 13(16), 883-890. doi:<https://doi.org/10.1016/j.med.2020.09.010>
- Jollow, D. J., Mitchell, J. R., Zampaglione, N., & Gillette, J. R. (1974). Bromobenzene-induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3,4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite. *Pharmacology*, 11(3), 151-169. doi:10.1159/000136485
- Joyce, S. A., Kamil, A., Fleige, L., & Gahan, C. G. M. (2019). The Cholesterol-Lowering Effect of Oats and Oat Beta Glucan: Modes of Action and Potential Role of Bile Acids and the Microbiome. 6. doi:10.3389/fnut.2019.00171
- Juárez-Rojop, I. E., Díaz-Zagoya, J. C., Ble-Castillo, J. L., Miranda-Osorio, P. H., Castell-Rodríguez, A. E., Tovilla-Zárate, C. A., . . . Bermúdez-Ocaña, D. Y. (2012). Hypoglycemic effect of *Carica papaya* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 236. doi:10.1186/1472-6882-12-236
- Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(2), 213-217. doi:10.1021/jf00062a013
- Jurikova, T., Sochor, J., Rop, O., Mlcek, J., Balla, S., Szekeres, L., . . . Kizek, R. (2012). Polyphenolic profile and biological activity of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* BUNGE) fruits. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(12), 14490-14509. doi:10.3390/molecules171214490

K

- Kamal, A. (2014). *IMPACT OF DIABETES ON RENAL FUNCTION PARAMETERS*.
- Kambe, T., Tsuji, T., Hashimoto, A., & Itsumura, N. (2015). The Physiological, Biochemical, and Molecular Roles of Zinc Transporters in Zinc Homeostasis and Metabolism. *Physiological Reviews*, 95(3), 749-784. doi:10.1152/physrev.00035.2014
- Karas, J. A., Wade, J. D., & Hossain, M. A. J. C. r. (2021). The chemical synthesis of insulin: an enduring challenge. 121(8), 4531-4560.
- Karumi, Y. J. J. o. M. S. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. 4(3), 179-182.
- Kazi, T. G., Afridi, H. I., Kazi, N., Jamali, M. K., Arain, M. B., Jalbani, N., & Kandhro, G. A. (2008). Copper, Chromium, Manganese, Iron, Nickel, and Zinc Levels in Biological Samples of Diabetes Mellitus Patients. *Biological Trace Element Research*, 122(1), 1-18. doi:10.1007/s12011-007-8062-y

Les Références Bibliographiques

- Keane, K., Newsholme, P. J. V., & Hormones. (2014). Metabolic regulation of insulin secretion. *95*, 1-33.
- Khan, H. (2014). Medicinal Plants in Light of History: Recognized Therapeutic Modality. *J Evid Based Complementary Altern Med*, *19*(3), 216-219. doi:10.1177/2156587214533346
- Khan, S., Yan-Do, R., Duong, E., Wu, X., Bautista, A., Cheley, S., . . . Braun, M. (2014). Autocrine activation of P2Y1 receptors couples Ca²⁺ influx to Ca²⁺ release in human pancreatic beta cells. *Diabetologia*, *57*(12), 2535-2545. doi:10.1007/s00125-014-3368-8
- Kim, E., Jang, E., & Lee, J.-H. (2022). Potential Roles and Key Mechanisms of Hawthorn Extract against Various Liver Diseases. *Nutrients*, *14*, 867. doi:10.3390/nu14040867
- Kindermann, B., Döring, F., Budczies, J., & Daniel, H. (2005). Zinc-sensitive genes as potential new target genes of the metal transcription factor-1 (MTF-1). *Biochemistry and Cell Biology*, *83*(2), 221-229. doi:10.1139/o04-133
- King, J. C., Shames, D. M., & Woodhouse, L. R. (2000). Zinc Homeostasis in Humans. *The Journal of Nutrition*, *130*(5), 1360S-1366S. doi:10.1093/jn/130.5.1360S
- Kinlaw, W. B., Levine, A. S., Morley, J. E., Silvis, S. E., & McClain, C. J. (1983). Abnormal zinc metabolism in type II diabetes mellitus. *The American Journal of Medicine*, *75*(2), 273-277. doi:https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)91205-6
- Krisanapun, C., Peungvicha, P., Temsiririrkkul, R., & Wongkrajang, Y. J. N. r. (2009). Aqueous extract of *Abutilon indicum* Sweet inhibits glucose absorption and stimulates insulin secretion in rodents. *29*(8), 579-587.
- Kumar, L., Sehrawat, R., & Kong, Y. (2021). Oat proteins: A perspective on functional properties. *LWT*, *152*, 112307. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112307
- Kwok, C.-Y., Li, C., Cheng, H.-L., Ng, Y.-F., Chan, T.-Y., Kwan, Y.-W., . . . Chan, S.-W. (2013). Cholesterol lowering and vascular protective effects of ethanolic extract of dried fruit of *Crataegus pinnatifida*, hawthorn (Shan Zha), in diet-induced hypercholesterolaemic rat model. *Journal of Functional Foods*, *5*(3), 1326-1335. doi:https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.04.020.

L

- Lansdown, A. B. G. (1991). Interspecies variations in response to topical application of selected zinc compounds. *Food and Chemical Toxicology*, *29*(1), 57-64. doi:https://doi.org/10.1016/0278-6915(91)90063-D
- Lásztity, R. (2017). *The chemistry of cereal proteins, second edition*.
- Li, Y., Liu, Y., Liu, S., Gao, M., Wang, W., Chen, K., . . . Liu, Y. (2023). Diabetic vascular diseases: molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *8*(1), 152. doi:10.1038/s41392-023-01400-z
- Li, Y. V. (2014). Zinc and insulin in pancreatic beta-cells. *Endocrine*, *45*(2), 178-189. doi:10.1007/s12020-013-0032-x
- Lichten, L. A., & Cousins, R. J. (2009). Mammalian Zinc Transporters: Nutritional and Physiologic Regulation. *Annual Review of Nutrition*, *29*(1), 153-176. doi:10.1146/annurev-nutr-033009-083312

- Liu, M., Wright, J., Guo, H., Xiong, Y., Arvan, P. J. V., & Hormones. (2014). Proinsulin entry and transit through the endoplasmic reticulum in pancreatic beta cells. *95*, 35-62.
- Liuzzi, J. P., & Cousins, R. J. (2004). MAMMALIAN ZINC TRANSPORTERS. *Annual Review of Nutrition*, *24*(1), 151-172. doi:10.1146/annurev.nutr.24.012003.132402
- Ljubuncic, P., Portnaya, I., Cogan, U., Azaizeh, H., & Bomzon, A. (2005). Antioxidant activity of Crataegus aronia aqueous extract used in traditional Arab medicine in Israel. *Journal of ethnopharmacology*, *101*(1), 153-161. doi:https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.024
- López Stewart, G. (2014). Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy: A World Health Organization Guideline.

M

- Madkor, H., Mansour, S., & Ramadan, G. (2010). Modulatory effects of garlic, ginger, turmeric and their mixture on hyperglycemia, dyslipidemia, and oxidative stress in streptozotocin-nicotinamide diabetic rats. *The British journal of nutrition*, *105*, 1210-1217. doi:10.1017/S0007114510004927
- Magnan, C., & Ktorza, A. (2005). Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique. *EMC - Endocrinologie*, *2*(4), 241-264. doi:https://doi.org/10.1016/j.emcend.2005.07.001
- Maher, P. (2001). How protein kinase C activation protects nerve cells from oxidative stress-induced cell death. *J Neurosci*, *21*(9), 2929-2938. doi:10.1523/jneurosci.21-09-02929.2001
- Malik, V. S., Popkin, B. M., Bray, G. A., Després, J.-P., Willett, W. C., & Hu, F. B. J. D. c. (2010). Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *33*(11), 2477-2483.
- Marreiro, D. D., Cruz, K. J., Morais, J. B., Beserra, J. B., Severo, J. S., & De Oliveira, A. R. (2017). Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms. *Antioxidants*, *6*(2). doi:10.3390/antiox6020024
- Marrelli, M. (2021). Medicinal Plants. *Plants (Basel)*, *10*(7). doi:10.3390/plants10071355
- Matsuura, W., Yamazaki, T., Yamaguchi-Iwai, Y., Masuda, S., Nagao, M., Andrews, G. K., & Kambe, T. (2009). SLC39A9 (ZIP9) Regulates Zinc Homeostasis in the Secretory Pathway: Characterization of the ZIP Subfamily I Protein in Vertebrate Cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *73*(5), 1142-1148. doi:10.1271/bbb.80910
- May, J. M., & Contoreggi, C. S. (1982). The mechanism of the insulin-like effects of ionic zinc. *Journal of Biological Chemistry*, *257*(8), 4362-4368. doi:https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)34730-6
- Mazzochi, J., Dalioche, G., & Frenol, U. J. P., 169p. (1999). Glaner dans le midi.
- McGuffin, M. (1997). *Botanical safety handbook*: CRC press.
- Messaili, B. J. A., 91p. (1995). Botanique, systématique des spermaphytes.
- Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: Critical review and results. *Food Chemistry*, *130*, 1036-1043. doi:10.1016/j.foodchem.2011.07.127

- Misra, H. P., & Fridovich, I. (1977). Superoxide dismutase: "positive" spectrophotometric assays. *Anal Biochem*, 79(1-2), 553-560. doi:10.1016/0003-2697(77)90429-8
- Moini, J. (2019). *Epidemiology of diabetes*: Elsevier.
- Monnier, L. (2014). Diabétologie. In (2e éditions ed., pp. P. 432). Paris: Elsevier Masson.
- Moore, J. B., Blanchard, R. K., Cousins, R. J., & McCormack, W. T. (2001). cDNA Array Analysis Identifies Thymic LCK as Upregulated in Moderate Murine Zinc Deficiency before T-Lymphocyte Population Changes. *The Journal of Nutrition*, 131(12), 3189-3196. doi:10.1093/jn/131.12.3189
- Mustapha, N., Mokdad-Bzéouich, I., Maatouk, M., Ghedira, K., Hennebelle, T., & Chekir-Ghedira, L. (2016). Antitumoral, antioxidant, and antimelanogenesis potencies of Hawthorn, a potential natural agent in the treatment of melanoma. *Melanoma Research*, 26(3).

N

- Nagarchi, K., Ahmed, S., Sabus, A., & Saheb, S. (2015). Effect of Streptozotocin on glucose levels in albino wister rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7, 67-69.
- Nakajima, K., Nakano, T., & Tanaka, A. J. C. C. A. (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. 367(1-2), 36-47.
- Nazhand, A., Lucarini, M., Durazzo, A., Zaccardelli, M., Cristarella, S., Souto, S. B., . . . Santini, A. (2020). Hawthorn (*Crataegus* spp.): An Updated Overview on Its Beneficial Properties. *Forests*, 11(5). doi:10.3390/f11050564
- Neeta, M., Mukta, N., & Bilwa, K. J. I. J. C. M. A. S. (2015). Comparative qualitative phytochemical analysis of *Sesamum indicum* L. 2, 172-181.
- Newsholme, P., & Krause, M. J. T. C. B. R. (2012). Nutritional regulation of insulin secretion: implications for diabetes. 33(2), 35.
- Nunes, X., Silva, F., Almeida, J. R., Lima, J., Ribeiro, L., Quintans-Júnior, L., & Barbosa Filho, J. (2011). Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products. In.

O

- Oguntibeju, O. O. (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, 11(3), 45-63.
- Ogurtsova, K., Guariguata, L., Barengo, N. C., Ruiz, P. L.-D., Sacre, J. W., Karuranga, S., . . . practice, c. (2022). IDF diabetes Atlas: Global estimates of undiagnosed diabetes in adults for 2021. 183, 109118.
- Ojuade, F. I., Olorundare, O. E., Akanbi, O. B., Afolabi, S. O., & Njan, A. A. (2021). Antidiabetic and antihyperlipidemic effects of aqueous extract of *Parquetina nigrescens* in streptozotocin–nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *Heliyon*, 7(6), e07363. doi:https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07363
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A., & Olokoba, L. B. J. O. m. j. (2012). Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. 27(4), 269.

- Oteiza, P. I., Olin, K. L., Fraga, C. G., & Keen, C. L. (1995). Zinc Deficiency Causes Oxidative Damage to Proteins, Lipids and DNA in Rat Testes¹²³. *The Journal of Nutrition*, 125(4), 823-829. doi:10.1093/jn/125.4.823
- Özcan, M., Hacıseferoğulları, H., Marakoğlu, T., & Arslan, D. (2005). Hawthorn (*Crataegus* spp.) fruit: some physical and chemical properties. *Journal of Food Engineering*, 69(4), 409-413. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.08.032.

P

- Pal, A., Khanum, F., & Bawa, A. (2010). Nutritional, Medicinal and Industrial Uses of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Seeds - An Overview. *Agriculturae Conspectus Scientificus (ACS) (acs@agr.hr)*; Vol.75 No.4, 75.
- Pasquel, F. J., & Umpierrez, G. E. J. D. c. (2014). Hyperosmolar hyperglycemic state: a historic review of the clinical presentation, diagnosis, and treatment. 37(11), 3124-3131.
- Patwardhan, B., Vaidya, D. B. A., Chorghade, M., & Joshi, P. S. (2008). Reverse Pharmacology and Systems Approaches for Drug Discovery and Development. *Current Bioactive Compounds*, 4(4), 201-212. doi:http://dx.doi.org/10.2174/157340708786847870
- Paudel, D. (2018). *Rapid and Simultaneous Determination of Nutritional Constituents of United States Grown Oats Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS)*: South Dakota State University.
- Paudel, D., Dhungana, B., Caffè, M., & Krishnan, P. (2021). A Review of Health-Beneficial Properties of Oats. *Foods*, 10(11). doi:10.3390/foods10112591
- Petersen, M. C., Vatner, D. F., & Shulman, G. I. J. N. r. e. (2017). Regulation of hepatic glucose metabolism in health and disease. 13(10), 572-587.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J.-O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 233-239. doi:https://doi.org/10.1016/S0985-0562(02)00166-8
- Pincemail, J., Degruene, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N., & Defraigne, J.-O. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 21(2), 66-75. doi:https://doi.org/10.1016/j.nupar.2007.04.005.

Q

- Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*.

R

- Rahmati, M., Keshvari, M., Mirnasouri, R., & Chehelcheraghi, F. (2021). Exercise and *Urtica dioica* extract ameliorate hippocampal insulin signaling, oxidative stress, neuroinflammation, and cognitive function in STZ-induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111577. doi:https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111577
- Rasane, P., Jha, A., Sabikhi, L., Kumar, A., & Unnikrishnan, V. S. (2015). Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods - a review. *J Food Sci Technol*, 52(2), 662-675. doi:10.1007/s13197-013-1072-1

- Ratnasari, N., Walters, M., & Tsopmo, A. (2017). Antioxidant and lipoxygenase activities of polyphenol extracts from oat brans treated with polysaccharide degrading enzymes. *Heliyon*, 3(7), e00351. doi:https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2017.e00351
- Regnault, N., Salanave, B., Castetbon, K., Cosson, E., Vambergue, A., Barry, Y., . . . Vernay, M. J. B. E. H. (2016). Diabète gestationnel en France en 2012: dépistage, prévalence et modalités de prise en charge pendant la grossesse. 9, 164-172.
- Robertson, R. P., Zhou, H., & Slucca, M. (2011). A role for zinc in pancreatic islet β -cell cross-talk with the α -cell during hypoglycaemia. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 13(s1), 106-111. doi:https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2011.01448.x
- Röder, P. V., Wu, B., Liu, Y., Han, W. J. E., & medicine, m. (2016). Pancreatic regulation of glucose homeostasis. 48(3), e219-e219.
- Rose, J., & Treadway, S. J. C. N. I. (1999). Herbal support for a healthy cardiovascular system. 6, 1-6.
- Roussel, A.-M., & Hininger-Favier, I. (2009). *Éléments-trace essentiels en nutrition humaine : chrome, sélénium, zinc et fer*.
- Rungby, J. (2010). Zinc, zinc transporters and diabetes. *Diabetologia*, 53(8), 1549-1551. doi:10.1007/s00125-010-1793-x
- Rutter, G. A., Pullen, T. J., Hodson, D. J., & Martinez-Sanchez, A. J. B. J. (2015). Pancreatic β -cell identity, glucose sensing and the control of insulin secretion. 466(2), 203-218.
- Ruz, M., Carrasco, F., Sánchez, A., Perez, A., & Rojas, P. (2016). Does Zinc Really “Metal” with Diabetes? The Epidemiologic Evidence. *Current Diabetes Reports*, 16(11), 111. doi:10.1007/s11892-016-0803-x.

S

- Saad, A. F., Virella, G., Chassereau, C., Boackle, R. J., & Lopes-Virella, M. F. J. J. o. l. r. (2006). OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. 47(9), 1975-1983.
- Sang, S., & Chu, Y. (2017). Whole grain oats, more than just a fiber: Role of unique phytochemicals. *Mol Nutr Food Res*, 61(7). doi:10.1002/mnfr.201600715
- Sapin, R., Galudec, V. r., Gasser, F. o., Pinget, M., & Grucker, D. (2001). Elecsys Insulin Assay: Free Insulin Determination and the Absence of Cross-Reactivity with Insulin Lispro. *Clinical chemistry*, 47, 602-605. doi:10.1093/clinchem/47.3.602
- Schlienger, J.-L. J. L. p. m. (2013). Complications du diabète de type 2. 42(5), 839-848.
- Selvaraj, N., Bobby, Z., & Sathiyapriya, V. J. C. C. A. (2006). Effect of lipid peroxides and antioxidants on glycation of hemoglobin: an in vitro study on human erythrocytes. 366(1-2), 190-195.
- Shaheen, A. A., & Abd El-Fattah, A. A. (1995). Effect of dietary zinc on lipid peroxidation, glutathione, protein thiols levels and superoxide dismutase activity in rat tissues. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 27(1), 89-95. doi:https://doi.org/10.1016/1357-2725(94)00053-0
- Sharma, U., Pal, D., & Prasad, R. (2014). Alkaline phosphatase: an overview. *Indian J Clin Biochem*, 29(3), 269-278. doi:10.1007/s12291-013-0408-y

- Shih, C.-C., Lin, C.-H., Lin, Y.-J., & Wu, J.-B. (2013). Validation of the Antidiabetic and Hypolipidemic Effects of Hawthorn by Assessment of Gluconeogenesis and Lipogenesis Related Genes and AMP-Activated Protein Kinase Phosphorylation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 597067. doi:10.1155/2013/597067
- Singh, R., De, S., & Belkheir, A. (2013). Avena sativa (Oat), A Potential Nutraceutical and Therapeutic Agent: An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(2), 126-144. doi:10.1080/10408398.2010.526725
- Sinha, S., & Sen, S. (2014). Status of zinc and magnesium levels in type 2 diabetes mellitus and its relationship with glycemic status. *International Journal of Diabetes in Developing Countries, International Journal of Diabetes in Developing Countries December 2014, Volume 34, Issue 4*, pp 220-223. doi:10.1007/s13410-014-0196-9
- Solomons, N. W. (2013). Update on Zinc Biology. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 62(Suppl. 1), 8-17. doi:10.1159/000348547
- Southon, S., Kechrid, Z., Wright, A., & Fairweather-Tait, S. (1988). Effect of reduced dietary zinc intake on carbohydrate and Zn metabolism in the genetically diabetic mouse (C57BL/KsJ db+/db+). *The British journal of nutrition*, 60, 499-507. doi:10.1079/BJN19880122
- Soycan, G., Schär, M. Y., Kristek, A., Boberska, J., Alsharif, S. N. S., Corona, G., . . . Spencer, J. P. E. (2019). Composition and content of phenolic acids and avenanthramides in commercial oat products: Are oats an important polyphenol source for consumers? *Food Chemistry: X*, 3, 100047. doi:https://doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100047
- Stratton, I. M., Adler, A. I., Neil, H. A. W., Matthews, D. R., Manley, S. E., Cull, C. A., . . . Holman, R. R. J. B. (2000). Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *321*(7258), 405-412.
- Sun, J., Tan, B. K., Huang, S.-H., Whiteman, M., & Zhu, Y.-Z. J. A. P. S. (2002). Effects of natural products on ischemic heart diseases and cardiovascular system. *23*(12), 1142-1151.
- Suryawanshi, N. P., Bhutey, A. K., Nagdeote, A. N., Jadhav, A. A., & Manoorkar, G. S. (2006). Study of lipid peroxide and lipid profile in diabetes mellitus. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 21(1), 126. doi:10.1007/BF02913080.

T

- Takenaka, T. (2001). Classical vs reverse pharmacology in drug discovery. *BJU Int*, 88 Suppl 2, 7-10; discussion 49-50. doi:10.1111/j.1464-410x.2001.00112.x
- Tebboub, I., & Kechrid, Z. (2021). Effect of curcuma on zinc, lipid profile and antioxidants levels in blood and tissue of streptozotocin-induced diabetic rats fed zinc deficiency diet. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 127(2), 162-169. doi:10.1080/13813455.2019.1623820
- Trease, G., & Evans, W. (1987). A text book of pharmacognosy. ELSB Baillere Tindal. In: Oxford.
- Tripathi, N., & Jialal, I. (2024). Conjugated Hyperbilirubinemia. In *StatPearls*. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Ishwarlal Jialal declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing

Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.

- Tubek, S. (2007). Selected zinc metabolism parameters in premenopausal and postmenopausal women with moderate and severe primary arterial hypertension. *Biological Trace Element Research*, 116(3), 249-255. doi:10.1007/BF02698009
- Turcotte, G., Girouard, J., & Giguère, Y. (2004). *Biochimie Pathologique—Aspects moléculaires et cellulaires: by J. Delattre, G. Durand and J.-C. Jardillier*; Flammarion Médecine-Sciences, Paris, France, 2003 (ISBN: 2-257-10946-5). In: Elsevier.

V

- Vélez-Alavez, M., Labrada-Martagón, V., Méndez-Rodríguez, L. C., Galván-Magaña, F., & Zenteno-Savín, T. (2013). Oxidative stress indicators and trace element concentrations in tissues of mako shark (*Isurus oxyrinchus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 165(4), 508-514. doi:https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.006
- Vincent, H. K., & Taylor, A. G. (2006a). Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond)*, 30(3), 400-418. doi:10.1038/sj.ijo.0803177
- Vincent, H. K., & Taylor, A. G. J. I. j. o. o. (2006b). Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. 30(3), 400-418.

W

- Wang, S. Z., Wu, M., Chen, K. J., Liu, Y., Sun, J., Sun, Z., . . . Liu, L. T. (2019). Hawthorn Extract Alleviates Atherosclerosis through Regulating Inflammation and Apoptosis Related Factors: An Experimental Study. *Chin J Integr Med*, 25(2), 108-115. doi:10.1007/s11655-018-3020-4
- Wong, S., Leong, L., & Koh, J. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*, 99, 775-783. doi:10.1016/j.foodchem.2005.07.058
- Wu, M., Liu, L., Xing, Y., Yang, S., Li, H., & Cao, Y. (2020). Roles and Mechanisms of Hawthorn and Its Extracts on Atherosclerosis: A Review. *Frontiers in pharmacology*, 11, 118-118. doi:10.3389/fphar.2020.00118.

X

- Xin, C., Zhao, M., Wang, J., & Wang, Z. (2021). Hawthorn polyphenols, D-chiro-inositol, and epigallocatechin gallate exert a synergistic hypoglycemic effect. *J Food Biochem*, 45(7), e13771. doi:10.1111/jfbc.13771.

Y

- Yahyaoui, A., Arfaoui, M. O., Rigane, G., Hkir, A., Amari, K., Ben Salem, R., & Ammari, Y. (2019). Investigation on the Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Extracts from *Crataegus azarolus* L.: Effect of Growing Location of an Important Tunisian Medicinal Plant. *Chemistry Africa*, 2(3), 361-365. doi:10.1007/s42250-019-00054-1

- Yang, B., & Liu, P. (2012). Composition and health effects of phenolic compounds in hawthorn (*Crataegus* spp.) of different origins. *J Sci Food Agric*, 92(8), 1578-1590. doi:10.1002/jsfa.5671
- Yaribeygi, H., Farrokhi, F. R., Butler, A. E., & Sahebkar, A. J. J. o. c. p. (2019). Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *234*(6), 8152-8161.
- Yousef, M. I., El-Hendy, H. A., El-Demerdash, F. M., & Elagamy, E. I. (2002). Dietary zinc deficiency induced-changes in the activity of enzymes and the levels of free radicals, lipids and protein electrophoretic behavior in growing rats. *Toxicology*, 175(1-3), 223-234. doi:10.1016/s0300-483x(02)00049-5.

Z

- Zhang, P., Li, T., Wu, X., Nice, E. C., Huang, C., & Zhang, Y. (2020). Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Front Med*, 14(5), 583-600. doi:10.1007/s11684-019-0729-1
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559. doi:https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2
- Zhou, H., Zhang, T., Harmon, J. S., Bryan, J., & Robertson, R. P. (2007). Zinc, Not Insulin, Regulates the Rat α -Cell Response to Hypoglycemia In Vivo. *Diabetes*, 56(4), 1107-1112. doi:10.2337/db06-1454



ANNEXES

Annexe 1 : Les Courbes D'étalonnages

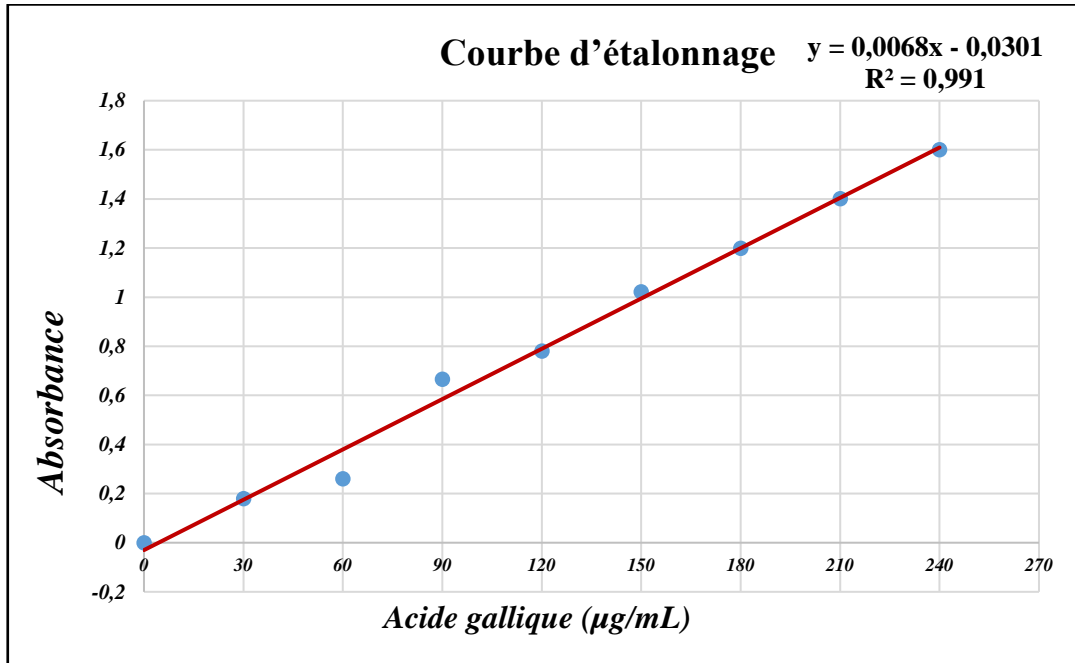


Figure A : Étalonage de l'acide gallique en vue du dosage des polyphénols totaux

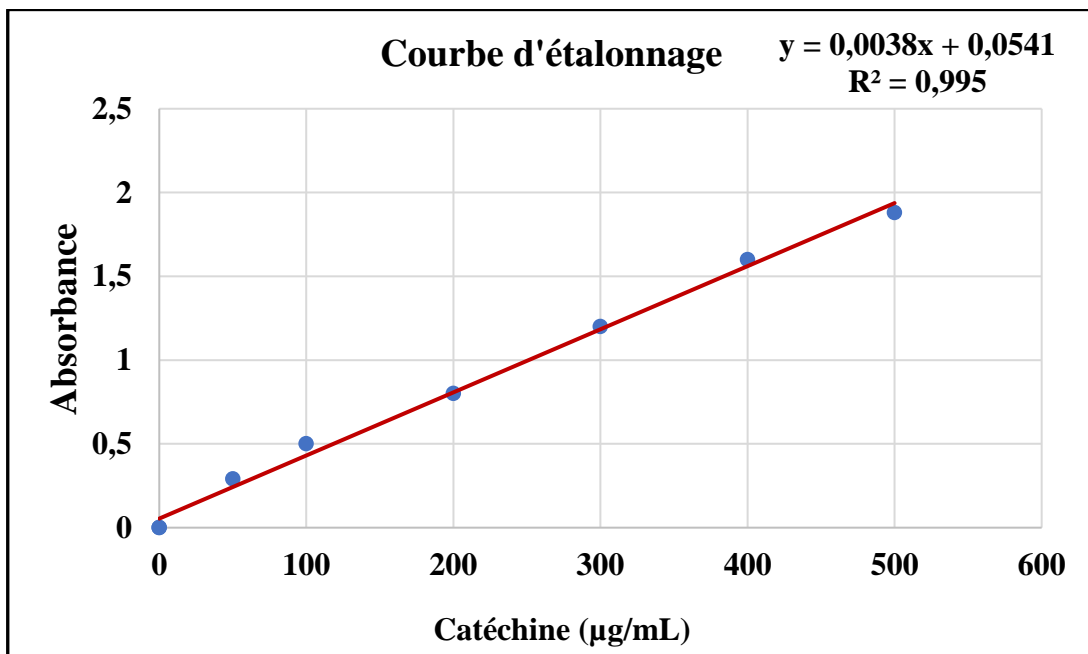


Figure B : Étalonage de la catéchine pour la quantification des flavonoïdes

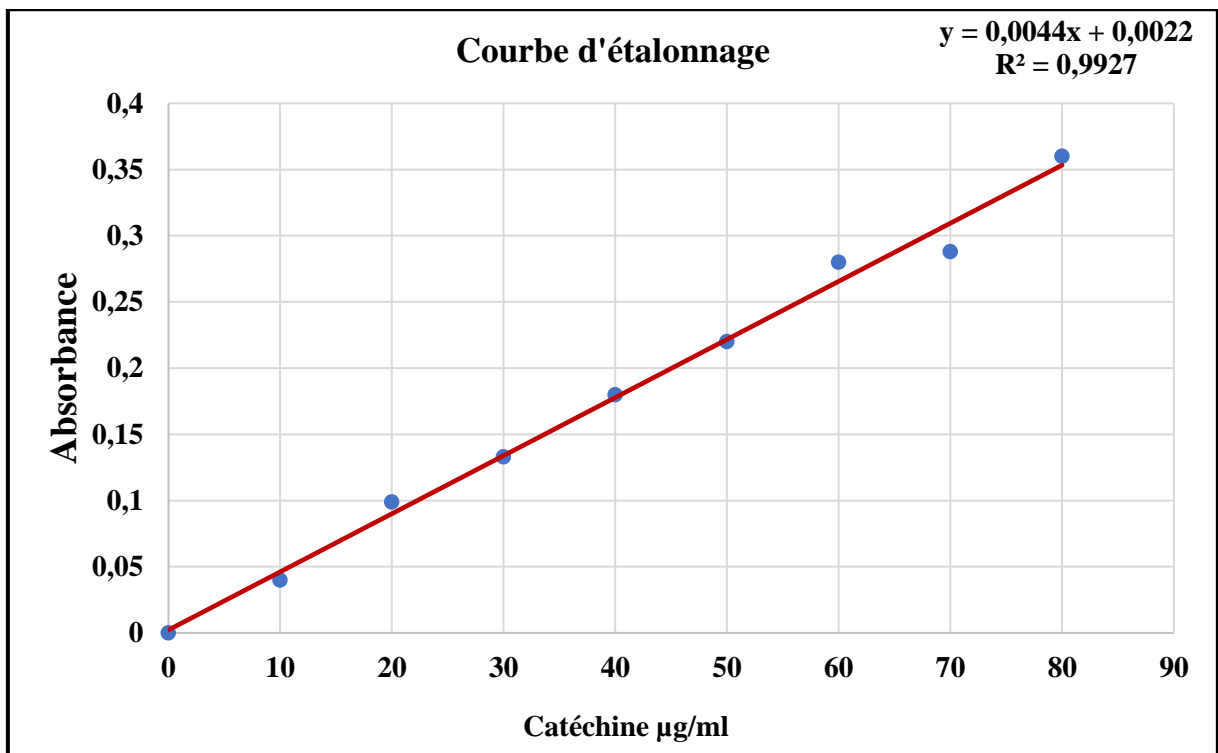


Figure C : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins.

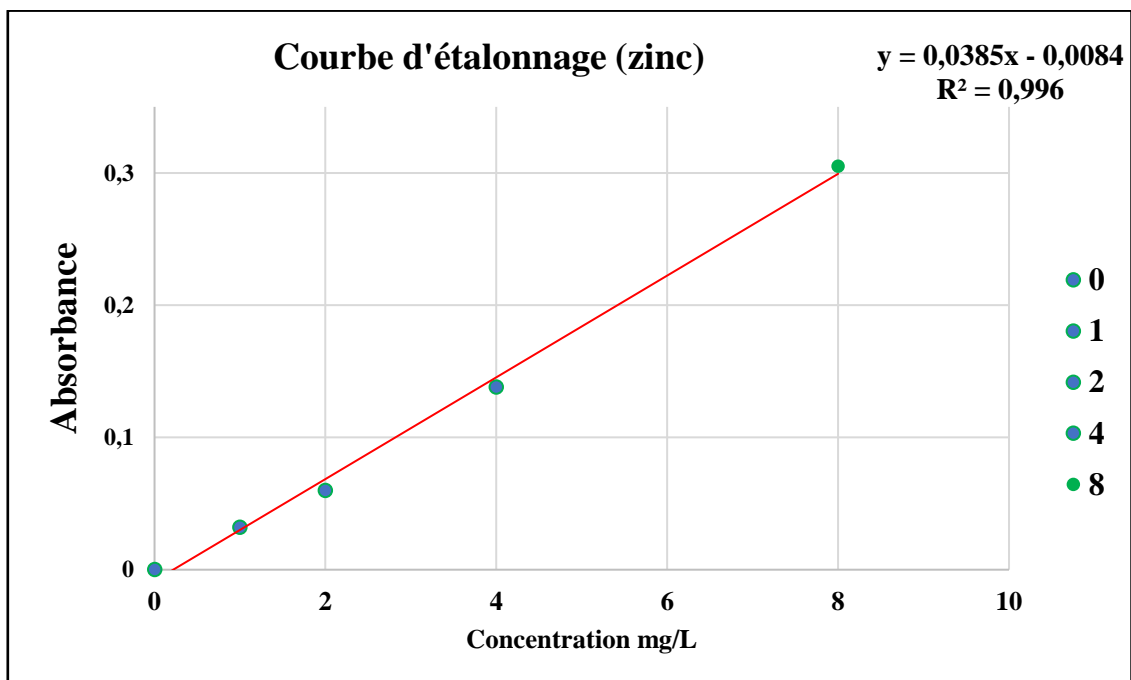


Figure D : Courbe d'étalonnage pour le dosage du zinc

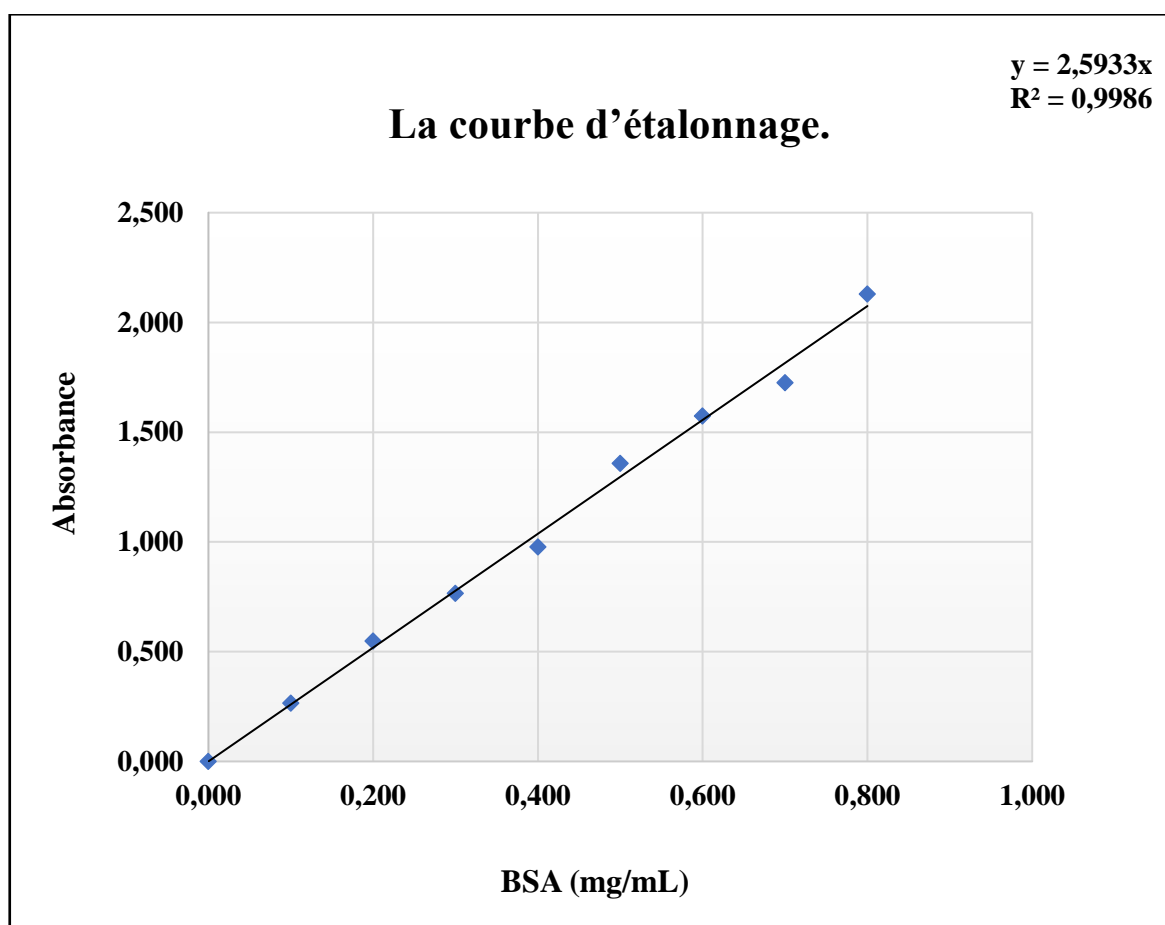


Figure E : La courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.

Annexe 2 : Dosage des paramètres Biochimiques selon la fiche technique (ERBA XL-600)

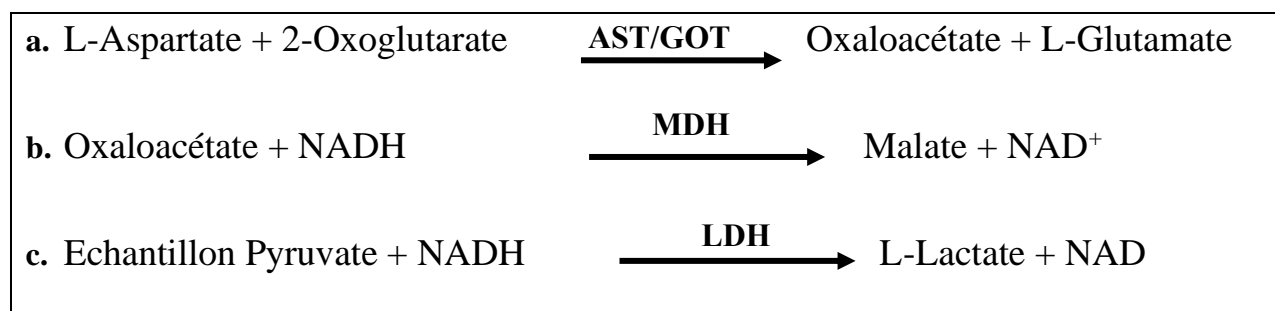
Le dosage des paramètres biochimique a été effectué à l'aide d'un système analyseur de biochimie (Erba Mannheim XL600) et le principe de chaque test a été déterminé selon la fiche technique ERBA XL-600

Détermination de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT) (TGO)

- Principe

Ce réactif ASAT_{SGOT} est basé sur les recommandations de la fédération internationale de chimie clinique (l'IFCC) sans phosphate de pyridoxal (**Schumann, 2002**).

La série de réactions impliquées dans le système de dosage est la suivante :



- a. Le SGOT/ASAT présent dans l'échantillon catalyse le transfert du groupement amine du L-aspartate au 2-oxoglutarate formant l'oxaloacétate et le L-glutamate.
- b. L'oxaloacétate en présence de NADH et de malate déshydrogénase (MDH) est réduit en L-malate. Dans cette réaction, le NADH est oxydé en NAD. La réaction est surveillée en mesurant la vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm due à l'oxydation du NADH en NAD.

- c. L'ajout de lactate déshydrogénase (LDH) au réactif est nécessaire pour obtenir une réduction rapide et complète du pyruvate endogène afin qu'il n'interfère pas avec le dosage.

- Le mode opératoire

Méthode à deux réactifs – substrat

Réactif 1 (tampon)	1,000 ml
Echantillon	0,100 ml

Mélanger et incuber 5 min. à 37°C. Puis ajouter :

Réactif 2 (substrat)	0,250 ml
-----------------------------	----------

Mélanger, incuber 1 min. à 37°C, puis mesurer l'absorbance initiale de l'étalon et de l'échantillon par rapport au blanc réactif.

Mesurer le changement d'absorbance exactement après 1, 2 et 3 min. Calculer le changement d'absorbance sur 1 minute ($\Delta A/\text{min}$).

- Calcul l'activité

$$\text{ASAT/GOT (U/L)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})/\text{min}}{\Delta A(\text{Cal})/\text{min}} \times C (\text{Cal})$$

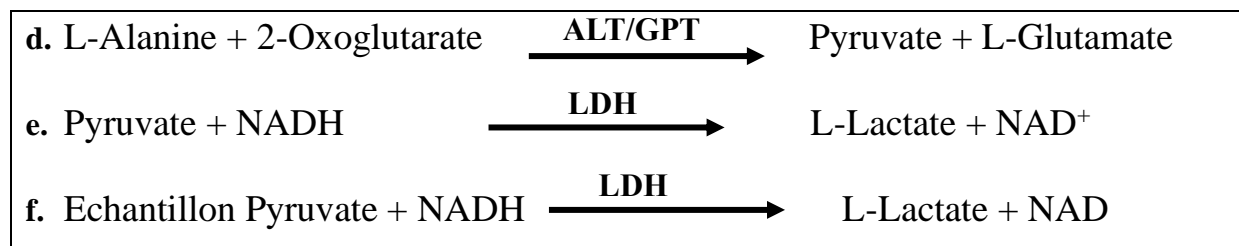
C(cal) = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

Détermination de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT) (TGP)

- Principe

Ce réactif ALT/GPT est basé sur les recommandations de l'IFCC sans phosphate de pyridoxal (Schumann, 2002).

La série de réactions impliquées dans le système de dosage est la suivante :



- Le groupement amine est transféré par voie enzymatique par le SGPT/ALAT présent dans l'échantillon de l'alanine à l'atome de carbone du 2-oxoglutarate donnant du pyruvate et du L-glutamate.
- Le pyruvate est réduit en lactate par la LDH présente dans le réactif avec l'oxydation simultanée du NADH en NAD. La réaction est surveillée en mesurant la vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm due à l'oxydation du NADH.
- Le pyruvate de l'échantillon endogène est rapidement et complètement réduit par la LDH pendant la période d'incubation initiale pour éviter les interférences pendant le dosage.

- Le mode opératoire

Méthode à deux réactifs – substrat

Réactif 1 (tampon)	1,000 ml
Echantillon	0,100 ml

Mélanger et incuber 5 min. à 37°C. Puis ajouter:

Réactif 2 (substrat)	0,250 ml
-----------------------------	-----------------

Mélanger, incuber 1 min. à 37°C, puis mesurer l'absorbance initiale de l'Etalon et de l'échantillon par rapport au blanc réactif.

Mesurer le changement d'absorbance exactement après 1, 2 et 3 min. Calculer le changement d'absorbance sur 1 minute ($\Delta A/\text{min}$).

- Calcul l'activité

$$\text{ALAT/GPT (U/L)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})/\text{min}}{\Delta A(\text{Cal})/\text{min}} \times C(\text{Cal})$$

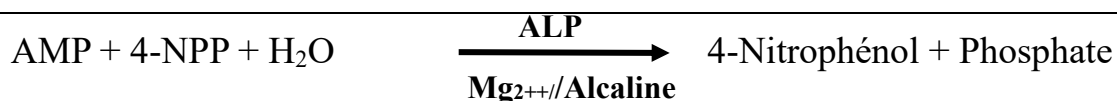
C(cal) = concentration de l'Étalon (les Étalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

Détermination de l'activité de phosphatase alcaline (PAL)

La méthode selon la recommandation de l'IFCC. Cette méthode utilise le phosphate de 4-nitrophényle comme substrat.

- Principe

Dans des conditions optimisées, l'ALP présente dans l'échantillon catalyse la réaction suivante :



Au pH de la réaction, le 4-nitrophénol a une couleur jaune intense.

Le réactif contient également un système tampon d'ions métalliques pour garantir le maintien des concentrations optimales de zinc et de magnésium.

Le tampon d'ions métalliques peut également chélater d'autres ions potentiellement inhibiteurs qui peuvent être présents.

La réaction est suivie en mesurant le taux d'augmentation de l'absorbance à 405 ou 415 nm qui est proportionnel à l'activité de l'ALP dans le plasma.

- Le mode opératoire

Méthode à deux réactifs – substrat

	Blanc réactif	Étalon	Echantillon
Réactif 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Echantillon	-	-	0,020 ml

Etalon	-	0,020 ml	-
Eau distillé	0,020 ml	-	-

Mélanger et après 5 min. incubation (à 37°C) ajouter :

Réactif 2	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml
------------------	----------	----------	----------

Mélanger, incuber 1 min. à 37°C, puis mesurer l'absorbance initiale du calibrateur et de l'échantillon par rapport au blanc réactif.

Mesurer le changement d'absorbance exactement après 1, 2 et 3 min. Calculer le changement d'absorbance sur 1 minute ($\Delta A/\text{min}$).

- Calcul l'activité

$$\text{PAL (U/L)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})/\text{min}}{\Delta A(\text{Cal})/\text{min}} \times C (\text{Cal})$$

$C(\text{cal})$ = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

- Utilisation du facteur :

$$\text{PAL (U/L)} = f \times \Delta A/\text{min}$$

- f = facteur = 2764 (à 405 nm)

Détermination de l'activité de lactate déshydrogénase (LDH)

La méthode LDH est basée sur les recommandations de la DGKCH (à partir du pyruvate).

- Principe

Ce réactif utilise du pyruvate et est basé sur la méthode de **Henry et al (1974)**.



La LDH catalyse la réduction du pyruvate en lactate en oxydant le nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) réduit en NAD. L'activité de la LDH peut être déterminée par le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm lorsque le NAD est produit.

- Le mode opératoire

- Méthode à deux réactifs – substrat

	Blanc réactif	Etalon	Echantillon
Réactif 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Echantillon	-	-	0,020 ml
Etalon	-	0,020 ml	-
Eau distillé	0,020 ml	-	-

- Mélanger et après 5 min. incubation (à 37°C) ajouter :

Réactif 2	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml
------------------	----------	----------	----------

Mélanger, incuber 1 min. à 37°C, puis mesurer l'absorbance initiale du calibrateur et de l'échantillon par rapport au blanc réactif.

Mesurer le changement d'absorbance exactement après 1, 2 et 3 min. Calculer le changement d'absorbance sur 1 minute ($\Delta A/\text{min}$).

- Calcul l'activité

$$\text{LDH (U/L)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})/\text{min}}{\Delta A(\text{Cal})/\text{min}} \times \text{C (Cal)}$$

C(cal) = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

- Utilisation du facteur :

$$\text{LDH (U/L)} = f \times \Delta A/\text{min}$$

- $f = \text{facteur} = 8095$ (à 340 nm)

Dosage de la bilirubine directe et totale

- Principe

Méthode modifiée de **Pearlman et Lee (1974)**, dans laquelle un tensioactif est utilisé comme solubilisant. Le glucuronate de bilirubine réagit directement avec le sel de sulfo-diazonium et forme un dérivé coloré azo-bilirubine. L'intensité de la couleur de l'azo-bilirubine formée

- Le mode opératoire

	Blanc réactif	Etalon	Echantillon
Réactif de travail	0,500 ml	0,500 ml	0,500 ml
Echantillon	-	-	0,025 ml
Etalon (Cal)	-	0,025 ml	-
Eau distillé	0,025 ml	-	-

- Mélanger et incuber 5 min. à 37°C.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon A(Ech) et de l'étalon A(Cal) par rapport au blanc réactif.

- Calcul de la concentration

$$\text{Bilirubine totale et directe (mg/dl)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})}{\Delta A(\text{Cal})} \times C(\text{Cal})$$

- Utilisation du facteur :

$$\text{Bilirubine totale et directe (mg/dl)} = f \times \Delta A$$

$f = \text{facteur} = \text{Bilirubine totale} = 23$ à (546-630nm) ; $\text{Bilirubine Direct} = 17$ à (546-630nm)

Dosage du cholestérol

- Principe

Ce réactif est basé sur la formulation d'Allain et al (1974) et la modification de **Roeschlaub et al., (1974)** avec d'autres améliorations pour rendre le réactif stable en solution.

a-	Ester de cholestérol + H ₂ O	$\xrightarrow{\text{CHE}}$	Cholestérol + Acides Gras
b-	Cholestérol + O ₂	$\xrightarrow{\text{CHO}}$	Cholest-4-en-3-one + H ₂ O ₂
c-	2H ₂ O ₂ + 4AAP + Phénol	$\xrightarrow{\text{POD}}$	Colorant Quinonéimine + 4H ₂ O

Où:

CHE = Cholestérol Estérase

CHO = Cholestérol Oxydase

4AAP = 4-aminoantipyrine

POD = Peroxydase

a. Les esters de cholestérol sont hydrolysés par voie enzymatique par le cholestérol estérase en cholestérol et acides gras libres.

b. Cholestérol libre, y compris celui présent à l'origine, puis oxydé par la cholestérol oxydase en cholest-4-en-3-one et peroxyde d'hydrogène.

c. Le peroxyde d'hydrogène combiné avec la 4-aminoantipyrine pour former un chromophore (colorant quinonéimine) qui peut être quantifié à 505 nm.

- Le mode opératoire

	Blanc réactif	Etalon (Cal)	Echantillon
Réactif de travail	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Echantillon	-	-	0,01 ml
Etalon (Cal)	-	0,01 ml	-
Eau distillé	0,01 ml	-	-

Mélanger et incubé 10 min à 37°C. Mesurer l'absorbance de l'échantillon $A_{(Ech)}$ et de l'étalon $A_{(Cal)}$ par rapport au blanc réactif.

La coloration est stable pendant une heure.

- Calcul de la concentration

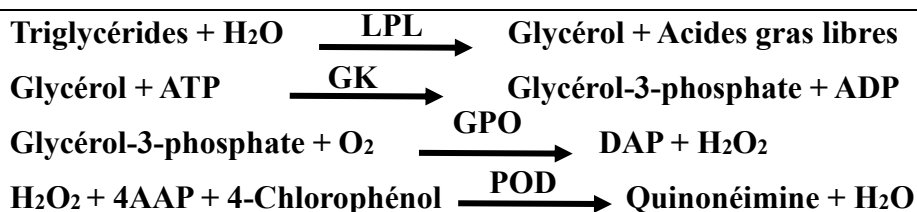
$$\text{Cholestérol (mg/dl)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})}{\Delta A(\text{Cal})} \times C(\text{Cal})$$

C(cal) = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

Dosage des triglycérides (TG)

- Principe

La série de réactions impliquées dans le système de dosage est la suivante:



Les triglycérides sont hydrolysés enzymatiquement par la lipase en acides libres et en glycérol.

Le glycérol est phosphorylé par l'adénosine triphosphate (ATP) avec la glycérol kinase (GK) pour produire le glycérol-3-phosphate et l'adénosine di-phosphate (ADP). Le glycérol-3-phosphate est oxydé en di-hydroxy-acétone phosphate (ADP) par le glycérol phosphate oxydase produisant du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Dans une réaction colorée de type *Trinder* catalysée par la peroxydase, le H₂O₂ réagit avec la 4-aminoantipyrine (4AAP) et le 4-chlorophénol pour produire un colorant de couleur rouge.

L'absorbance de ce colorant est proportionnelle à la concentration présente dans l'échantillon (Cole *et al.*, 1997).

- Le mode Opérateur

	Blanc réactif	Etalon (Cal)	Echantillon
Réactif de travail	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
Echantillon	-	-	0,01 ml
Etalon (Cal)	-	0,01 ml	-
Eau distillé	0,01 ml	-	-

Mélanger et incuber 10 min. à 37°C. Mesurer l'absorbance de l'échantillon $A_{(Ech)}$ et de l'étalon $A_{(Cal)}$ par rapport au blanc réactif.

La coloration est stable pendant une heure.

- Calcul de la concentration

$$\text{Triglycerides (mg/dl)} = \frac{\Delta A(Ech)}{\Delta A(Cal)} \times C(Cal)$$

Dosage des protéines totales

- Principe

Méthode de Biuret Les liaisons peptidiques de la protéine réagissent avec les ions cuivre II en solution alcaline pour former un complexe d'ions bleu-violet (la réaction dite du biuret), chaque ion cuivre se complexant avec 5 ou 6 liaisons peptidiques.

Le tartrate est ajouté comme stabilisant tandis que l'iodure est utilisé pour empêcher l'auto-réduction du complexe de cuivre alcalin (Cornall *et al.*, 1949).

La couleur formée est proportionnelle à la concentration en protéines et est mesurée à 546 nm

- Le mode opératoire

	Blanc réactif	Echantillon	Etalon (Cal)
Réactif R1	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
Eau distillé	0,02 ml	-	-
Echantillon	-	0,02 ml	-

Etalon (Cal)	-	-	0,02 ml
---------------------	---	---	---------

Mélanger et incuber pendant 10 minutes (en cas de procédure automatique, incuber pendant 5 minutes) incubation à l'obscurité.

L'absorbance de l'échantillon A1 et de l'étalon (Cal) A2 par rapport au blanc réactif est lue à un intervalle de 30 minutes.

- Calcul de la concentration

$$\text{Protéine totales (g/dl)} = \frac{A1}{A2} \times C \text{ (Cal)}$$

C(cal) = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument).

Dosage d'albumine

- Principe

L'albumine se lie au Bromo-Cresol-Green (**BCG**) à pH 4,2 provoquant un changement d'absorbance du colorant jaune BCG.

La couleur bleu-vert formée est proportionnelle à la concentration d'albumine, lorsqu'elle est mesurée photométriquement entre 540 et 630 nm avec une absorbance maximale à 625 nm.

- Le mode opératoire

	Blanc réactif	Etalon (Cal)	Echantillon
Réactif de travail	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
Echantillon	-	-	0,01 ml
Etalon (Cal)	-	0,01 ml	-
Eau distillé	0,01 ml	-	-

Mélanger et incuber 1 à 5 min. à 37°C. Mesurer l'absorbance de l'échantillon A(Ech) et de l'étalon A (Cal) par rapport au blanc réactif.

- Calcul de la concentration

$$\text{Albumine (g/dl)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})}{\Delta A(\text{Cal})} \times C (\text{Cal})$$

C(cal) = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument).

Dosage de créatinine

- Principe

La créatinine réagit avec le picrate alcalin pour produire une couleur rougeâtre (réaction de Jaffe), ceci est une réaction non spécifique et est donnée par de nombreuses autres substances.

La spécificité du test a été améliorée par l'introduction d'une méthode cinétique, cependant, les antibiotiques céphalosporines sont encore des interférents majeurs. L'absorbance de la couleur jaune orangé formée est directement proportionnelle à la concentration en créatinine et est mesurée photométriquement à 490-510 nm (Myers *et al.*, 2006).

- Mode opératoire

	Blanc réactif	Etalon (Cal)	Echantillon
Réactif de travail	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
Echantillon	-	-	0,100 ml
Etalon (Cal)	-	0,100 ml	-
Eau distillé	0,100 ml	-	-

Bien mélanger et lire l'absorbance initiale (A1) 30 secondes après le mélange et l'absorbance finale (A2) 60 secondes après le mélange.

- Calcul de la concentration

$$- (\Delta A = A2 - A1)$$

$$\text{Créatinine (g/dl)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})/\text{min} - \Delta A(\text{Bl})/\text{min}}{\Delta A(\text{Cal})/\text{min} - \Delta A(\text{Bl})/\text{min}} \times C(\text{Cal})$$

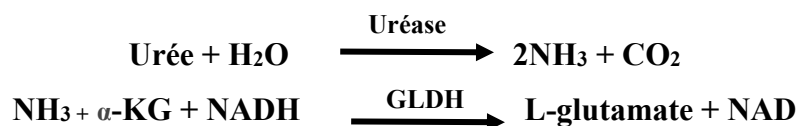
C(cal) = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

Dosage d'urée

- Principe

La méthodologie enzymatique employée dans ce réactif est basée sur la réaction décrite pour la première fois par **Talke et Schubert (1965)**. Pour raccourcir et simplifier le dosage.

Les calculs sont basés sur la découverte de **Tiffany et al (1972)** que la concentration d'urée est proportionnelle au changement d'absorbance sur un intervalle de temps fixe.



- L'urée est hydrolysée en présence d'eau et d'uréase pour produire de l'ammoniac et du dioxyde de carbone.
- En présence de glutamate déshydrogénase (**GLDH**) et de nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) réduite, l'ammoniac se combine avec l'-cétoglutarate (α -KG) pour produire du L-glutamate.
- La réaction est surveillée en mesurant le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm lorsque le NADH est converti en NAD.

- Mode opératoire

- Méthode à deux réactifs – substrat

	Blanc réactif	Etalon	Echantillon
--	---------------	--------	-------------

Réactif 1	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Echantillon	-	-	0,010 ml
Étalon	-	0,010 ml	-
Eau distillé	0,010 ml	-	-

- Mélanger et après 5 min. incubation (à 37°C) ajouter :

Réactif 2	0.250 ml	0.250 ml	0.250 ml
------------------	----------	----------	----------

Mélanger et mesurer l'absorbance initiale après 30sec (A1), démarrer le chronomètre simultanément et relire exactement après 1 min (A2). Mesurer par rapport au blanc réactif.

Calculer le changement d'absorbance $\Delta A(\text{Ech}) = (A2 - A1) / \text{min.}$

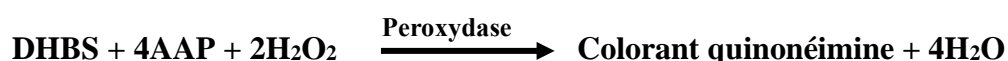
- **Calcul de la concentration**

$$\text{Urée (mg/dl)} = \frac{\Delta A(\text{Ech}) - \Delta A(\text{bl})}{\Delta A(\text{Cal}) - \Delta A(\text{bl})} \times C (\text{Cal})$$

Dosage d'acide urique

- **Principe**

La série de réactions impliquées dans le système de dosage est la suivante :



- L'acide urique est oxydé en allantoïne par l'uricase avec production de H₂O₂.
- Le peroxyde réagit avec la 4-aminoantipyrine (4-AAP) et le DHBS en présence de peroxydase pour donner un colorant quinonéimine.

L'absorbance de ce colorant à 505 nm est proportionnelle à la concentration d'acide urique dans l'échantillon (Henry *et al.*, 1974).

- **Mode Opérateur**

Méthode à deux réactifs – substrat

	Blanc réactif	Étalon	Echantillon
--	----------------------	---------------	--------------------

Réactif 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Echantillon	-	-	0,020 ml
Étalon	-	0,020 ml	-
Eau distillé	0,020 ml	-	-

Mélanger et après 1-5 min. d'incubation lire l'absorbance initiale pour le blanc **A(bl)**, l'échantillon **A(Ech)** et l'étalon **A(Cal)**. Puis ajouter:

Réactif 2	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
------------------	--------	--------	--------

Mélanger et après 1-2 min. incubation lire l'absorbance du blanc **A(bl)**, de l'échantillon **A(Ech)** et de l'étalon (étalon) **A(Cal)**.

Calculer l'absorbance résultante comme la différence entre l'absorbance finale et initiale $A = (A_{\text{final}} - A_{\text{initial}})$.

- Calcul de la concentration

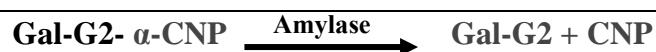
$$\text{Acide Urique } (\mu\text{Mol/L}) = \frac{\Delta A(\text{Ech}) - \Delta A(\text{bl})}{\Delta A(\text{Cal}) - \Delta A(\text{bl})} \times C(\text{Cal})$$

Dosage l'activité de alfa Amylase

- Principe

Le 2-chloro-4-nitrophénol - β -1-4 galacto-pyranosyl-malto-tri-oxide (CNP-G) est un substrat direct pour la détermination de l'activité α -amylase, qui ne nécessite pas la présence d'enzymes auxiliaires.

Le taux de formation de 2-chloro-4-nitrophénol peut être contrôlé à (400-420) nm et est proportionnel à l'activité -amylase.



- Mode opératoire

Solution de travail	1000 μL
Echantillon	20 μL

Mélanger, incuber 1 min. à 37°C, puis mesurer l'absorbance initiale du calibrateur et de l'échantillon par rapport au blanc réactif. Mesurer le changement d'absorbance exactement après 1, 2 et 3 min. Puis Calculer le changement d'absorbance sur 1 minute ($\Delta A/\text{min}$).

- Calcul de la concentration

$$\text{Activité de l'Amylase (U/L)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})/\text{min}}{\Delta A(\text{Cal})/\text{min}} \times C (\text{Cal})$$

- Utilisation du facteur :

$$\text{Activité de l'amylase (U/l)} = f \times \Delta A/\text{min}$$

- $f = \text{facteur} = 3128$ (à 405 nm).



Production
Scientifique

Publications :

- 1- Triki, R., Boughediri, K., Chelaghmia, M.L. et al. The therapeutic potential of “*Crataegus azarolus*” on zinc, lipid profile, and antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rats with zinc-deficient diet. *Comp Clin Pathol* (2023). <https://doi.org/10.1007/s00580-023-03517-7>.

Communications

1- Internationales

- Triki, R., Kechrid Z. (2021). Evaluation de l'effet anti-hyperglycemiant de l'extrait aqueux de *Crataegus azarolus*. PERTURBATEURS ENDOCRINIENS ENVIRONNEMENT & REPRODUCTION (*PEER 2021*).
- Triki, R., Kechrid Z. (2022). Effect of “*Crataegus azarolus*” on Zinc, Antioxidant Levels in Blood and Tissue, and lipid Profile, in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats Fed a Zinc Low Diet. 1st International Conference on Applied Engineering and Natural Sciences on 1-3 November in 2021 at Konya/Turkey.
- Triki, R., Kechrid Z. (2023). The Beneficial Effects of Hawthorn Extract in Diabetes and its Complications: Evaluating the Hepatoprotective Impact on Liver Parameters, Oxidative Stress, and Zinc Tissue Status. 5th International Conference on Applied Engineering and Natural Sciences on 10-12 July in 2023 at Konya/Turkey.

2- Nationales

- Triki, R., Kechrid Z. (2022). Impact of *Crataegus azarolus* on zinc, lipide profile and antioxidant levels in blood and tissue of streptozotocin-induced diabetes in rats fed zinc deficiency diet. Le 1er Séminaire National sur les Applications Thérapeutiques et Agroalimentaires des Substances Naturelles (*ATASN 2022*) at Mila University.
- Triki, R., Kechrid Z. (2022). L'effet préventif d'une plante médicinale algérienne « *Crataegus azarolus* » contre le diabète et le stress oxydant au niveau du foie, induits par la streptozotocine. 1 ère Web conférence nationale sur la gestion des écosystèmes naturels face aux Changements globaux, Organisé à Tlemcen le 11 Novembre 2021.
- Triki, R., Kechrid Z. (2021). Effet de "*crataegus azarolus*" sur le zinc, Profil lipidique, et les niveaux d'antioxydants dans le sang et les tissus, du diabète induit par la streptozotocine chez les rats nourris avec un régime pauvre en zinc. Séminaire National en Ecophysiologie et Environnement (*SNEE*) 10-11 Novembre 2021, Souk Ahras



The therapeutic potential of “*Crataegus azarolus*” on zinc, lipid profile, and antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rats with zinc-deficient diet

Ramzi Triki¹ · Khaoula Boughediri¹ · Mohamed Lyamine Chelaghmia² · Zine Kechrid¹

Received: 2 June 2023 / Accepted: 31 August 2023

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2023

Abstract

Zinc plays an important role in the biosynthesis and storage of insulin. Consequently, its deficiency may have a deleterious impact on the progression of diabetes and its associated consequences. Thus, this study was conducted to investigate the effect of hawthorn *Crataegus azarolus* on blood biochemical parameters, tissue zinc status, and oxidative stress biomarkers in streptozotocin-induced diabetic rats fed a zinc-insufficient diet. Thirty-two male albino Wistar rats were divided into four groups: two groups were fed a zinc-sufficient diet (one non-diabetic and the other diabetic), while the other two groups of diabetic rats were fed a zinc-insufficient diet. One group was not treated, and the other was treated with an extract of *Crataegus azarolus* (150 mg/kg body weight). Body weight and food intake were regularly recorded. After 4 weeks of dietary manipulation, the fasting animals were sacrificed. Zinc-deficient feed decreased body weight, insulin, and tissue zinc levels (in the femur, liver, kidney, and pancreas), as well as glutathione concentrations, lactic dehydrogenase, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activities. It was also noted that inadequate dietary zinc intake increased concentrations of glucose, cholesterol, triglycerides, urea, uric acid, creatinine, lipid peroxidation levels, and transaminase activities. However, oral administration of hawthorn extract was observed to improve all of the previously mentioned parameters, bringing them approximately back to their normal levels. The present study showed that *Crataegus azarolus* supplementation, presumably acting as an antioxidant, can be a natural source for reducing the development of diabetes caused by zinc deficiency.

Keywords *Crataegus azarolus* · Diabetes · Zinc deficiency · Oxidative stress · Antioxidant

Introduction

Diabetes mellitus (DM) is a complex group of chronic diseases with different etiologies, in which hyperglycemia is the common criterion that triggers defects in insulin secretion and/or its mechanism of action, causing disorders in various organs and systems (Jiménez et al. 2020). Globally, 537 million adults (20–79 years) were living with diabetes in 2021, and this number is predicted to rise to over 643 million by

2030 and 784 million by 2045 (Sun et al. 2022). Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is the most prevalent type of diabetes mellitus, accounting for over 90% of all morbidity and mortality (Ojuade et al. 2021). Diabetes is associated with deficiencies in insulin signaling transduction pathway components (Rahmati et al. 2021). In diabetes, constantly raised glucose levels contribute mostly to the process of overproduction of reactive oxygen species (ROS) through various mechanisms, especially glucose auto-oxidation, activation of polyol, hexamine pathways, protein kinase C, and advanced glycation end products (AGEs), which consequently contribute to the increase in oxidative stress (Abdulmalek et al. 2021). If cellular antioxidant defenses do not adjust ROS production, oxidative damage (lipid peroxidation, protein degradation, disruption of DNA) and possibly cell death may occur (Vélez-Alavez et al. 2013). Oxidative stress may take place when antioxidant mechanisms are not functioning correctly, as in dietary deficiencies of vitamins such as

✉ Ramzi Triki
ramzi.triki@univ-annaba.org

¹ Laboratory of Applied Biochemistry and Microbiology, Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Annaba, Annaba 23000, Algeria

² Laboratory of Industrial Analysis and Materials Engineering, University 8 May 1945 Guelma, BP 401, Guelma 24000, Algeria

vitamin C and vitamin E or essential trace elements such as zinc, selenium, and manganese (Hamdiken et al. 2018). Zinc performs various biological functions in different aspects. First, it is essential for more than 300 enzymes for their catalytic activation, thus participating in several enzymatic and metabolic cellular processes in the human body. Second, zinc binds to over 2500 proteins, equivalent to 10% of the total human proteome, and maintains the structural integrity for many of them (Choi et al. 2018). The trace element plays a crucial role in the stabilization of insulin hexamer and insulin stockpiling in the pancreas and expands insulin condensation. Zinc actually favors the phosphorylation of insulin receptors by improving the transport of glucose into cells. Nevertheless, zinc deficiency increases the destruction of the islet cell in type 1 diabetes mellitus (T1DM) through cytokine autoimmune attack (Li 2014). The element plays a significant role in antioxidant defense as a cofactor of the superoxide dismutase enzyme, by modulating glutathione metabolism and metallothionein expression, competing with iron and copper in the cell membrane, and inhibiting the nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase enzyme (Gholamhoseinian et al. 2020). Therefore, insufficient intake, reduced absorption, and expanded loss of zinc result in zinc deficiency. Recent studies show that most *Crataegus* species have beneficial effects on human health. Extracts from aerial parts exhibit several biological activities, such as anti-inflammatory (Wang et al. 2019), antihyperglycemic (Aierken et al. 2017), vasorelaxing (Yang and Liu 2012), and hypolipidemic properties (Hao et al. 2011). In addition, researchers have shown that leaves of *Crataegus azarolus* are rich in phenolic compounds and exhibit substantial antioxidant and antimicrobial activities (Yahyaoui et al. 2019). It has also been demonstrated that extracts from the fruits and leaves of *Crataegus* are safe for human consumption (Daniele et al. 2006). Thus, the present investigation was conducted to examine the modulatory effects of *Crataegus azarolus* administration for the prevention of diabetes pathology development by evaluating body weight gain, zinc status, carbohydrate metabolism, and the antioxidant system in rats fed a zinc-deficient diet.

Materials and methods

Animals

Male albino Wistar rats, weighing approximately 200 to 250 g and aged 10 to 12 weeks, were sourced from the Pasteur Institute (Algiers, Algeria). The rats were allowed to acclimate to the laboratory environment for a period of 2 weeks before the commencement of the experiments. Individual plastic cages with suitable bedding were provided for housing the rats. Standard food and tap water were provided

ad libitum unless specified otherwise. The temperature in the animal housing facility was maintained at approximately 22 ± 2 °C. A 12/12-h light/dark cycle was followed, with lights turned on at 6 am.

Preparation of extract

The aerial parts of *Crataegus azarolus* were collected in September from the Ain-Berda commune in the Annaba region of Eastern Algeria. The plant material was authenticated at the Department of Biology at Badji Mokhtar University in Annaba, Algeria. After thorough washing, the samples were dried in a well-ventilated area at room temperature. Once completely dry, the leaves were ground into a fine powder using a domestic blender. The resulting powder was stored in airtight containers, protected from light, at room temperature until the start of the experiment.

Qualitative phytochemical screening

The crude water extract of the plant underwent qualitative phytochemical screening to determine the presence of active chemical constituents. The screening followed the method described by Trease and Evans (Evans and Evans 2009).

Detection of alkaloids

Five grams of the powdered plant material was mixed with 50 mL of 1% HCl. After maceration and filtration, a few drops of Mayer's reagent were added. The formation of a white precipitate indicated the presence of alkaloids.

Detection of flavonoids

Ten grams of the powdered plant material was macerated in 150 mL of 1% HCl for 24 h. After filtration, the filtrate was made basic by adding a few drops of NH_4OH . The appearance of a pale yellow color in the upper part of the tube indicated the presence of flavonoids.

Detection of tannins

One milliliter of the water extract was mixed with 10 mL of distilled water and filtered. Three drops of ferric chloride (FeCl_3) reagent were added to the filtrate. A blue-black or green precipitate confirmed the presence of gallic tannins or catechol tannins, respectively.

Detection of saponins

Five milliliters of the water extract was vigorously shaken with 10 mL of distilled water for 2 min. The presence of a

stable foam that persisted for at least 15 min indicated the presence of saponins.

Detection of anthocyanins

The detection of anthocyanins involved observing color changes in a 10% extract with changes in pH. A few drops of HCl were added to the extract, followed by a few drops of NH_4OH . A positive test was indicated by a pink-red coloration that turned purplish-blue.

Quantitative phytochemical screening

Total polyphenol content determination

An aliquot of 100 μL of the extract was mixed with 2.5 mL of Folin–Ciocalteu phenol reagent (10 \times dilution) and allowed to react for 5 min. Then, 2.5 mL of saturated Na_2CO_3 solution was added, and the mixture was allowed to stand for 30 min. The absorbance of the reaction mixture was measured at 725 nm. The total polyphenol concentration was calculated using the equation $Y=0.0073x-0.3165$ ($R^2=0.990$) and expressed as milligrams of gallic acid equivalent (GAE) per gram of dry weight (mg GAE/g DW) (Wong et al. 2006).

Determination of total flavonoid content

The flavonoid content was determined using the aluminum trichloride method with catechin as the reference compound. A volume of 125 μL of the extract was mixed with 75 μL of a 5% NaNO_2 solution and allowed to stand for 6 min. Then, 150 μL of aluminum trichloride (10%) was added and incubated for 5 min, followed by the addition of 750 μL of NaOH (1 M). The final volume of the solution was adjusted to 2500 μL with distilled water. After 15 min of incubation, the mixture turned pink, and the absorbance was measured at 510 nm. The total flavonoid concentration was calculated using the equation $Y=0.0029x+0.131$ ($R^2=0.995$) and expressed as milligrams of quercetin equivalent (QE) per gram of dry weight (mg QE/g DW) (Zhishen et al. 1999).

Determination of total tannin content

A volume of 0.1–0.5 mL of the crude extract was taken and placed in tubes covered with aluminum foil. Then, 3 mL of 4% vanillin (w/v) in methanol was added, and the tubes were vigorously shaken. Immediately, 1.5 mL of concentrated HCl was pipetted into the tubes, and they were shaken again. After allowing the tubes to stand for 20 min at room temperature, the absorbance was measured at 500 nm against a blank. The total tannin content was calculated using the equation $Y=0.0018x+0.0737$ ($R^2=0.992$) and expressed

as milligrams of catechin equivalent (CE) per gram of dry weight (mg CE/g DW) (Julkunen-Tiitto 1985).

Determination of DPPH radical scavenging activity

The DPPH radical scavenging activity was determined following the method described by Brand-Williams et al. (Brand-Williams et al. 1995). A DPPH solution (0.070 mg/mL) was prepared and mixed with sample solutions at various concentrations (25 to 100 $\mu\text{g/mL}$). A control solution containing only methanol and DPPH was also prepared. The solutions were incubated for 30 min at room temperature, and the absorbance was measured at 517 nm.

Quercetin was used as a standard for calibration, and its concentrations ranged from 10 to 100 $\mu\text{g/mL}$. The radical scavenging capacity was evaluated by measuring the decrease in absorbance at 517 nm. The percentage of inhibition of the samples was calculated using the following equation:

$$\% \text{ inhibition} = [(\text{Abs control} - \text{Abs test}) / \text{Abs control}] \times 100$$

Curves were constructed by plotting the percentage of inhibition against the concentration in micrograms per milliliter. The equation of the curve allowed for the calculation of the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}), which corresponds to the sample concentration that reduced the initial DPPH \bullet absorbance by 50%. A lower IC_{50} value indicates higher antioxidant activity. All analyses were performed in triplicate to ensure the accuracy and reproducibility of the results.

Induction of experimental diabetes

Experimental diabetes was induced by administering a fresh streptozotocin solution intraperitoneally at a dose of 50 mg/kg body weight. Streptozotocin was dissolved in citrate buffer (0.1 M, pH 4.5). To prevent hypoglycemia induced by streptozotocin, the streptozotocin-treated animals were given a 10% glucose solution overnight. After 1 week, the diabetic state was confirmed by measuring blood glucose levels from the tail vein using a glucose meter (VitalCheck[®]MM1200). Rats with glucose levels over 14 mmol/L were considered diabetic animals.

Diet preparation

The basal diet for the animals was prepared following the method described by Southon et al. (Southon et al. 1988). It consisted of cornstarch (326 g/kg diet), sucrose (326 g/kg diet), protein from Soja (168 g/kg diet), lipids from corn oil (80 g/kg diet), fiber from cellulose (40 g/kg diet), vitamin mix (from Sigma), and mineral mix (40 g/kg diet).

The mineral mix was formulated to contain either adequate (54 mg/kg) or inadequate (1.2 mg/kg) amounts of zinc, as determined by atomic absorption spectroscopy. The mineral mix included calcium hydrogen orthophosphate (13 g/kg diet), disodium hydrogen orthophosphate (7.4 g/kg diet), calcium carbonate (8.2 g/kg diet), potassium chloride (7.03 g/kg diet), magnesium sulfate (4 g/kg diet), ferrous sulfate (0.144 g/kg diet), copper sulfate (0.023 g/kg diet), potassium iodide (0.001 g/kg diet), manganese sulfate (0.180 g/kg diet), and zinc carbonate (0.1 g/kg diet). The zinc-deficient diet did not contain any additional zinc carbonate.

Experimental design

After the stabilization of diabetes, the rats were divided into four groups, each consisting of eight rats. The groups were as follows: non-diabetic group (ND), diabetic group fed a sufficient zinc diet (DAZ), diabetic group fed a deficient zinc diet (DZD), and diabetic group treated with an oral dose of 150 mg/kg aqueous extract of *C. azarolus* (DZD+Az). The duration of the treatment was 4 weeks.

Blood and tissue sample collection

At the end of the treatment period, the rats were euthanized by cervical decapitation. Blood samples were collected and centrifuged at 3000 rpm to obtain serum, which was stored at -20°C for subsequent biochemical analysis. The pancreas, liver, and kidney were excised and washed with ice-cold isotonic NaCl saline. They were then blotted dry. The right femur was also collected, and any connective tissues and muscles were removed. The liver fragment, pancreas fragment, right kidney, and femur were weighed and dried at 80°C for 16 h for zinc concentration determination. Another fragment of the liver and the left kidney were immediately processed to assay malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GR), and glutathione peroxidase (GSH-Px). Finally, a second fragment of the pancreas was utilized for histological examination.

Measurement of biochemical parameters

The biochemical parameters were measured using a biochemistry analyzer system (ERBA Mannheim XL600). The specific principles for each test were determined based on the ERBA XL600 data sheet. The analyzer system provided accurate and standardized measurements of the biochemical parameters, ensuring reliable results for further analysis and interpretation.

Analysis of zinc in the tissues

The dried kidneys, pancreas, livers, and femurs were subjected to zinc analysis. To prepare the samples, they were heated in silica crucibles at 480°C for 48 h, resulting in ash. The ash was then dissolved in hot 12 M HCl acid. Zinc analysis was performed using a flame atomic absorption spectrophotometer (Perkin-Elmer Atomic Absorption Spectrometer AAAnalyst 400). To ensure accuracy, standard reference materials such as bovine liver and wheat flour were used to verify zinc recovery, which exceeded 96% in the reference materials. Zinc standards were prepared from a 1 mg/mL zinc nitrate standard solution. To prevent zinc contamination from exogenous sources, all tubes used in the analysis were soaked in 10% (v/v) HCl for 16 h and rinsed with doubly distilled water. This meticulous procedure ensured accurate and reliable measurements of zinc levels in the tissues.

Measurement of oxidative stress parameters

Tissue preparation

Approximately 1 g of liver and kidney tissue was homogenized in 2 mL of ice-cold TBS buffer (50 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7.4). The homogenates were then centrifuged at $9000\times g$ for 15 min at 4°C . The resulting supernatant was collected for further analysis of various oxidative stress parameters.

Estimation of lipid peroxidation

The level of lipid peroxidation was assessed by measuring the concentration of malondialdehyde (MDA), the end product of lipid peroxidation. MDA reacts with thiobarbituric acid (TBA) to form a TBA reactive substance (TBARS), which produces a red-colored complex with a peak absorbance at 532 nm. The method used for this assessment followed the protocol developed by Buege and Aust (Buege et al. 1978).

Estimation of reduced glutathione

The concentration of reduced glutathione (GSH) was determined using the colorimetric method described by Jollow et al. (Jollow et al. 1974). This method involves the development of a yellow color upon the addition of Ellman's reagent (5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid) (DTNB) to compounds containing sulfhydryl groups. The GSH concentration was measured in terms of nanomole of GSH per milligram of protein (nmol GSH/mg protein) at a wavelength of 412 nm.

Assay of superoxide dismutase activity

The specific activity of superoxide dismutase (SOD) was determined following the method described by Misra and Fridovich (Misra and Fridovich 1977). Tissue homogenate was added to an EDTA-sodium carbonate buffer (0.05 M, pH 10.2) along with epinephrine (30 mM). The activity was measured at 480 nm for 4 min. SOD activity was expressed as an international unit per milligram of protein (IU/mg protein).

Assay of glutathione peroxidase activity

The activity of glutathione peroxidase (GSH-Px) was determined using the method described by Flohé and Günzler (Flohé and Günzler 1984). This method is based on the reduction of hydrogen peroxide in the presence of reduced glutathione (GSH). The absorbance was measured at 412 nm, and the enzyme activity was expressed as micromole of reduced GSH/minute/milligram of protein (μmole of reduced GSH/min/mg of protein).

Assay of glutathione reductase activity

The estimation of glutathione reductase (GR) activity was based on the method described by Goldberg and Spooner (Goldberg and Spooner 1987). The enzymatic activity was measured photometrically by assessing the consumption of NADPH. The decrease in absorbance at 340 nm indicated the activity of GR.

Assay of catalase activity

Catalase activity was measured using the UV spectrophotometric method described by Aebi (Aebi 1984). The change in absorbance at 240 nm was monitored over 1 min in the presence of high concentrations of hydrogen peroxide (≥ 30 mM). The activity of catalase was determined based on the rate of absorbance change.

Oral glucose tolerance test (OGTT)

The oral glucose tolerance tests were conducted following the Bonner-Weir method (Bonner-Weir 1988). The animals were divided into four groups, each consisting of six animals. Group 1 served as the control, while groups 2, 3, and 4 received oral doses of 100, 150, and 200 mg/kg of aqueous

extracts of *C. azarolus*, respectively. After 14 days of treatment, the OGTT was performed on the animals while they were maintained on a standard diet. Blood samples were withdrawn from the tail vein of fasted rats prior to glucose administration (2 g/kg) and at 30, 60, 90, and 120 min after glucose loading. Blood glucose levels were measured immediately using a vital-check glucometer.

Histological assay

The pancreas was obtained through dissection and washed with isotonic saline (0.9%). It was then fixed in Bouin solution for 24 h, processed using a series of graded ethanol, and embedded in paraffin. The paraffin sections were sliced into 5 μm thickness and stained with hematoxylin–eosin. Optical microscope images were captured at a magnification of $\times 100$.

Statistical analysis

The data were presented as mean \pm SEM. Statistical analysis was performed using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's multiple comparison test. GraphPad Prism software (Version 8.0.1) was utilized for the statistical analysis. Statistically significant differences were considered at $p < 0.05$.

Results

Phytochemical screening

Table 1 presents the phytochemical analysis of the aqueous extract of *C. azarolus*.

Quantitative determination of total phenolic, flavonoid, and tannin contents

The quantitative analysis revealed that *C. azarolus* extract contains 15.53 mg GAE/g DW for total phenolic content, 23.14 mg QE/g DW for total flavonoid content, and 1.29 mg CE/g DW for total tannin content (Table 2).

Table 1 Phytochemical screening results for flavonoids, tannins, chlorophylls, anthocyanins, saponins, and alkaloids in *C. azarolus* extract

Extract	Flavonoids	Tannins	Chlorophylls	Anthocyanins	Saponins	Alkaloids
<i>Crataegus azarolus</i>	+++	+++	+++	–	+	++

+++; high; ++: moderately; +: trace; -: absent or negligible

Table 2 Total polyphenol, total flavonoid, total tannin amounts, and antioxidant activity in *C. azarolus* extracts

Extract	Total polyphenols (mg GAE/g DW)	Total flavonoids (mg QE/g DW)	Total tannins (mg CE/g DW)	DPPH assay	
				IC ₅₀ (μg/mL)	% inhibition
<i>Crataegus azarolus</i>	15.53 ± 1.37	23.14 ± 4.74	1.29 ± 0.60	14.79 ± 2.71	83.7

Values are means of triplicates ± SEM

GAE gallic acid equivalents, QE quercetin equivalents, CE catechin equivalents

Body weight gain and food intake

Diabetes significantly reduced body weight ($p < 0.001$) and increased food intake ($p < 0.01$). However, treatment with *C. azarolus* restored the growth rate and food consumption in zinc-deficient diabetic (DZD) rats (Table 3). These findings suggest that *C. azarolus* may have potential therapeutic effects in restoring body weight and food intake in diabetic rats with zinc deficiency.

Tissue zinc concentrations

Table 3 presents the zinc concentrations in the femur, liver, kidney, and pancreas of the experimental rats. The results indicate that the zinc levels in the femur and liver of diabetic (DAZ) rats were significantly lower than those of non-diabetic (ND) rats ($p < 0.05$ and $p < 0.001$, respectively). Moreover, diabetic rats fed a zinc-deficient diet exhibited significantly lower zinc concentrations in the liver, pancreas, and kidney ($p < 0.01$). Treatment with *C. azarolus* improved zinc levels in these tissues.

Blood biochemical values

The results in Table 4 demonstrate the impact of diabetes on various biochemical parameters. The diabetic group exhibited significantly higher levels of glucose ($p < 0.001$), cholesterol ($p < 0.01$), triglycerides ($p < 0.001$), urea

($p < 0.01$), uric acid ($p < 0.001$), aspartate aminotransferase ($p < 0.05$), and alanine aminotransferase ($p < 0.01$) compared to the non-diabetic group. Conversely, insulin ($p < 0.01$) and lactic dehydrogenase ($p < 0.01$) levels were significantly lower in the diabetic group. Additionally, zinc deficiency led to significant increases in cholesterol ($p < 0.05$), aspartate aminotransferase ($p < 0.05$), urea ($p < 0.01$), and creatinine ($p < 0.05$). However, administration of *C. azarolus* restored these parameters to normal levels, indicating its therapeutic potential in managing diabetes and zinc deficiency.

Oxidative stress parameters

Figures 1, 2, 3, 4, 5, and 6 demonstrate the impact of diabetes on oxidative stress parameters. Diabetes significantly increased levels of malondialdehyde (MDA) ($p < 0.01$; $p < 0.001$) and decreased glutathione (GSH) content ($p < 0.05$; $p < 0.01$), glutathione peroxidase (GSH-Px) ($p < 0.001$), catalase (CAT) ($p < 0.01$), superoxide dismutase (SOD) ($p < 0.01$; $p < 0.001$), and glutathione reductase (GR) ($p < 0.05$) activities in the liver and kidney. Additionally, zinc deficiency resulted in a slight increase in MDA levels in the liver and kidney, accompanied by a decrease in GSH, GSH-Px, SOD, GR, and liver catalase. However, treatment with *C. azarolus* extract improved these oxidative stress parameters.

Table 3 Initial body weight, final body weight, food intake, and tissue zinc concentration of non-diabetic (ND) rats, diabetic adequate-zinc (DAZ) rats, diabetic zinc-deficient (DZD) rats, and diabetic zinc-deficient rats given *Crataegus azarolus* (DZD+Az)

Parameters	Experimental groups			
	ND	DAZ	DZD	DZD+Az
Initial body weight (g)	238.8 ± 2.54	249 ± 6.53	249.6 ± 5.27	239.4 ± 4.96
Final body weight (g)	244.4 ± 2.61	184.4 ± 4.94 ^{a2}	174.8 ± 6.15	210.4 ± 12.35 ^c
Food intake (g/day/rat)	25.8 ± 3.60	27.4 ± 3.89 ^{a1}	23.15 ± 4.00 ^{b2}	26.86 ± 5.65 ^{c2}
Femur (μg/g dry weight)	138.57 ± 3.17	98.98 ± 14.88 ^a	93.58 ± 9.61	128.31 ± 8.64 ^c
Liver (μg/g dry weight)	42.26 ± 1.92	29.33 ± 1.70 ^{a2}	25.77 ± 1.26 ^b	34.58 ± 3.19 ^c
Pancreas (μg/g dry weight)	110.28 ± 34.07	78.23 ± 11.68	46.71 ± 9.44 ^b	85.55 ± 15.68 ^c
Kidney (μg/g dry weight)	119.17 ± 4.36	101.92 ± 23.79	44.7 ± 24.64 ^b	123.76 ± 13.76 ^{c1}

Values are mean ± SEM, number of samples = 8

^a $p < 0.05$; ^{a1} $p < 0.01$; ^{a2} $p < 0.001$: DAZ vs. ND

^b $p < 0.05$; ^{b2} $p < 0.001$: DZD vs. DAZ

^c $p < 0.01$; ^{c1} $p < 0.01$; ^{c2} $p < 0.001$: DZD+Az vs. DZD

Table 4 Effect of *C. azarolus* extract on blood glucose and serum biochemical parameters in treated groups compared to normal fasting blood glucose

Parameters	Experimental groups			
	ND	DAZ	DZD	DZD+Az
Glucose (g/L)	1.132±0.06	3.674±0.34 ^{a2}	3.316±0.35	1.31±0.13 ^{c2}
Insulin (µU/mL)	2.84±0.71	0.5±0.25 ^{a1}	0.29±0.10	2.20±0.20 ^{c2}
Triglyceride (g/L)	0.96±0.12	1.844±0.15 ^{a2}	1.828±0.29	1.156±0.07 ^c
Cholesterol (g/L)	0.65±0.15	1.86±0.36 ^{a1}	1.05±0.13 ^b	0.79±0.14
Urea (g/L)	0.27±0.13	0.38±0.06 ^{a1}	0.48±0.05 ^{b1}	0.20±0.02 ^c
Uric acid (mg/dL)	1.20±0.20	2.50±0.22 ^{a2}	3.00±0.45	1.60±0.24 ^{c1}
Creatinine (mg/L)	4.80±0.97	9.40±0.24 ^a	11.12±0.81 ^b	5.60±0.51 ^{c2}
GOT (IU/L)	150.20±4.75	174.20±9.59 ^a	197.00±2.17 ^b	149.60±6.71 ^{c2}
GPT (IU/L)	72.80±8.80	108.60±6.34 ^{a1}	104.60±6.64	76.80±4.53 ^{c1}
LDH (IU/L)	1040.25±126.82	549.58±104.41 ^{a1}	440.55±73.13	888.77±81.01 ^{c1}

Values are mean ± SEM, number of samples = 8

^a*p* < 0.05; ^{a1}*p* < 0.01; ^{a2}*p* < 0.001: DAZ vs. ND

^b*p* < 0.05; ^{b1}*p* < 0.01: DZD vs. DAZ

^c*p* < 0.01; ^{c1}*p* < 0.01; ^{c2}*p* < 0.001: DZD+Az vs. DZD

Oral glucose tolerance test (OGTT)

To assess the antihyperglycemic effect of *C. azarolus* extract, an OGTT was performed. Figure 7 shows that glucose administration led to a significant increase in blood glucose levels at 30 and 60 min in all experimental groups. However, at 90 and 120 min, the experimental groups treated with *C. azarolus* extract exhibited lower blood glucose concentrations compared to the control group. These results suggest that *C. azarolus* extract has the potential to improve glucose metabolism and may be beneficial in managing hyperglycemia. Further investigations are necessary to elucidate the

underlying mechanisms of the antihyperglycemic effect of *C. azarolus* extract.

Pancreatic histopathologic results

The histological examination of the pancreas (Fig. 8) revealed that non-diabetic rats exhibited intact pancreatic islets. In contrast, diabetic rats with adequate-zinc (DAZ) and zinc-deficient diabetic (DZD) rats displayed depleted islet cells. Notably, treatment with the aqueous extract of *C. azarolus* in zinc-deficient diabetic (DZD+Az) rats preserved the pancreatic islet cells.

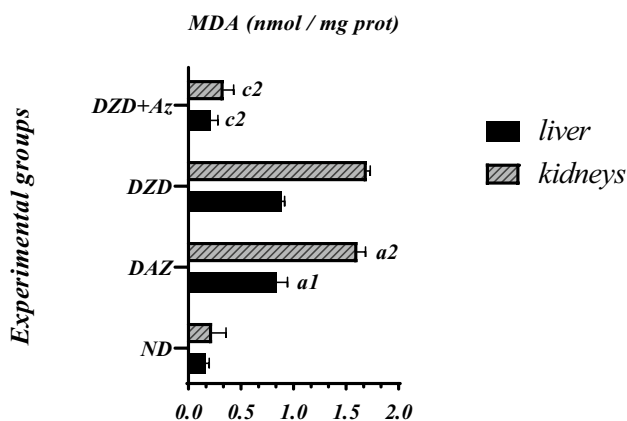


Fig. 1 Malondialdehyde (MDA) level of non-diabetic (ND) rats, diabetic adequate-zinc (DAZ) rats, diabetic zinc-deficient (DZD) rats, and diabetic zinc-deficient rats given *Crataegus azarolus* (DZD+Az). Values are mean ± SEM, number of samples = 8. ^{a1}*p* < 0.01, ^{a2}*p* < 0.001: DAZ vs. ND. ^{c2}*p* < 0.001: DZD+Az vs. DZD

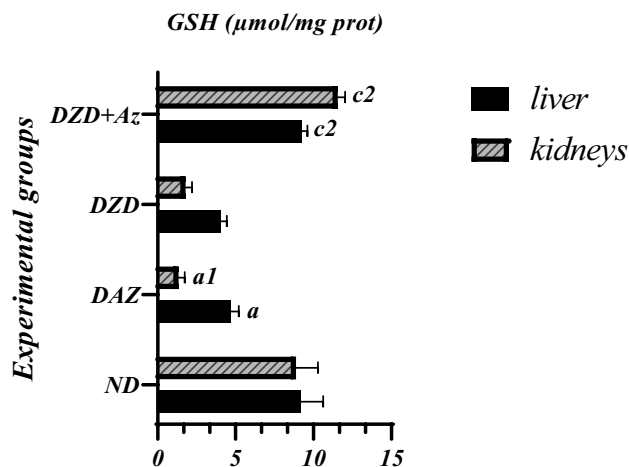


Fig. 2 Reduced glutathione (GSH) concentration of non-diabetic (ND) rats, diabetic adequate-zinc (DAZ) rats, diabetic zinc-deficient (DZD) rats, and diabetic zinc-deficient rats given *Crataegus azarolus* (DZD+Az). Values are mean ± SEM, number of samples = 8. ^a*p* < 0.05, ^{a1}*p* < 0.01: DAZ vs. ND. ^{c2}*p* < 0.001: DZD+Az vs. DZD

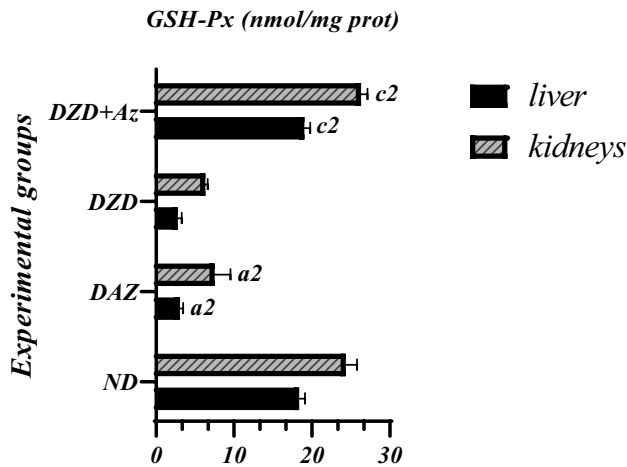


Fig. 3 Glutathione peroxidase (GSH-Px) activity of non-diabetic (ND) rats, diabetic adequate-zinc (DAZ) rats, diabetic zinc-deficient (DZD) rats, and diabetic zinc-deficient rats given *Crataegus azarolus* (DZD+Az). Values are mean \pm SEM, number of samples = 8. ^{a1} $p < 0.001$; DAZ vs. ND. ^{a2} $p < 0.001$; DAZ vs. ND. ^{c2} $p < 0.001$; DZD+Az vs. DZD

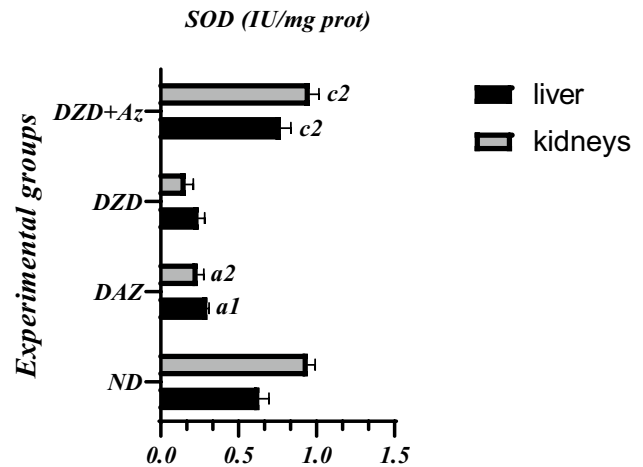


Fig. 5 Superoxide dismutase (SOD) activity of non-diabetic (ND) rats, diabetic adequate-zinc (DAZ) rats, diabetic zinc-deficient (DZD) rats, and diabetic zinc-deficient rats given *Crataegus azarolus* (DZD+Az). Values are mean \pm SEM, number of samples = 8. ^{a1} $p < 0.01$, ^{a2} $p < 0.001$; DAZ vs. ND. ^{c2} $p < 0.001$; DZD+Az vs. DZD

Discussion

Oxidative stress plays a crucial role in the development of DM. It is responsible not only for the destruction of islet β cells and insulin signaling pathways, but it may also contribute to serious complications such as cardiovascular and nephropathy (Zhang et al. 2019). Recent studies have shown that some medicinal plants are a good source of traditional medicines, and many modern medicines are produced from these plants (Dar et al. 2019). However, the use of plants in medicine is primarily based on their

biologically active compounds, which have numerous therapeutic properties, including antioxidant, antidiabetic, anti-inflammatory, and antihypercholesterolemic properties (Neeta et al. 2015; Pal et al. 2010). Therefore, several studies have been conducted to identify the therapeutic properties of plants. In this regard, the current study evaluated the potential antidiabetic and antioxidant effects of the aerial aqueous extract of *C. azarolus* on diabetes under nutritional zinc deficiency conditions. The results obtained from the estimation of total phenolic, flavonoid, and total tannin content indicate the richness of *C. azarolus* in these

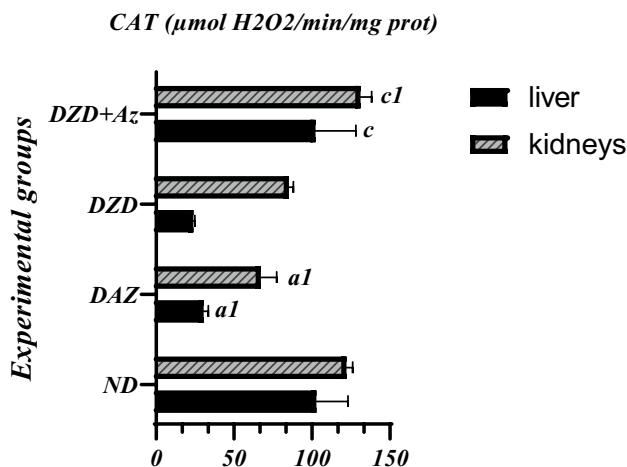


Fig. 4 Catalase (CAT) activity of non-diabetic (ND) rats, diabetic adequate-zinc (DAZ) rats, diabetic zinc-deficient (DZD) rats, and diabetic zinc-deficient rats given *Crataegus azarolus* (DZD+Az). Values are mean \pm SEM, number of samples = 8. ^{a1} $p < 0.01$; DAZ vs. ND. ^{a2} $p < 0.05$, ^{c1} $p < 0.01$; DZD+Az vs. DZD

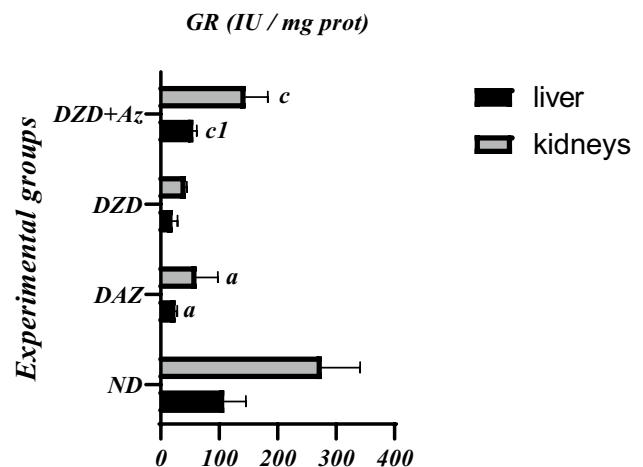
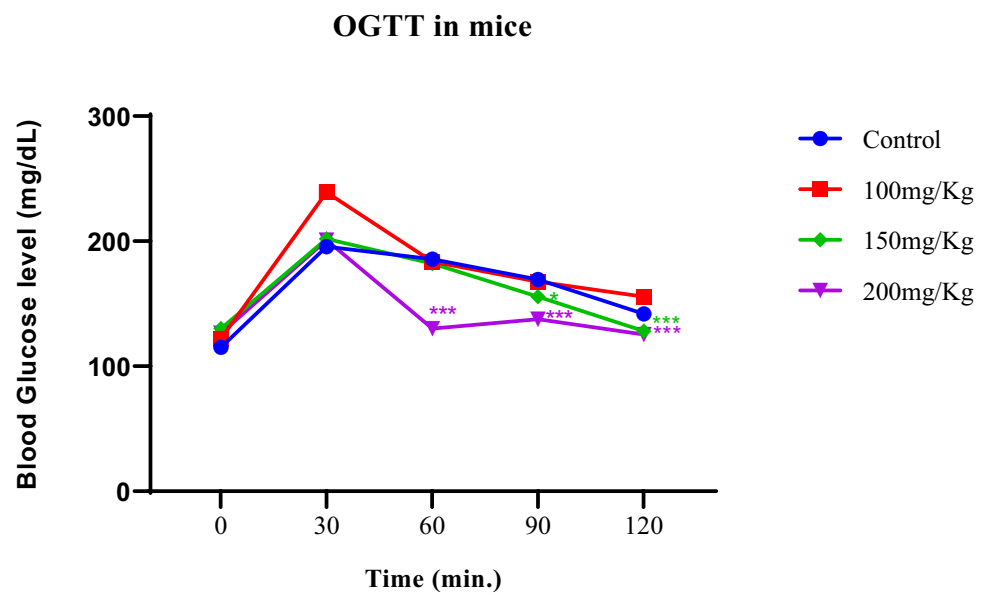


Fig. 6 Glutathione reductase (GR) activity of non-diabetic (ND) rats, diabetic adequate-zinc (DAZ) rats, diabetic zinc-deficient (DZD) rats, and diabetic zinc-deficient rats given *Crataegus azarolus* (DZD+Az). Values are mean \pm SEM, number of samples = 8. ^a $p < 0.05$; DAZ vs. ND. ^c $p < 0.05$, ^{c1} $p < 0.01$; DZD+Az vs. DZD

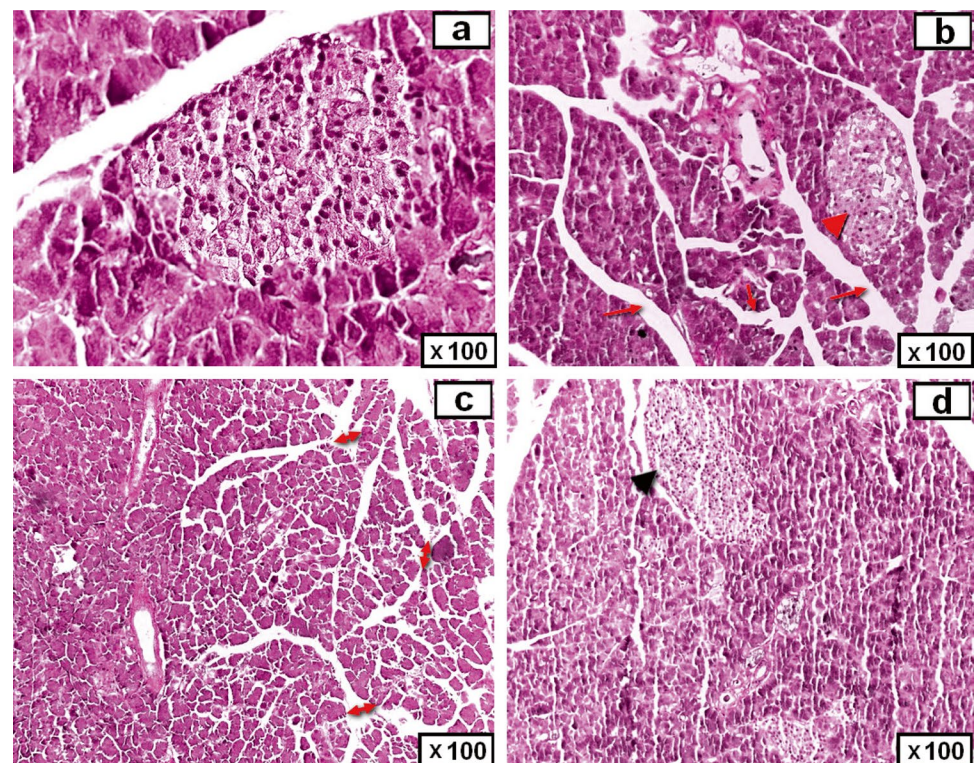
Fig. 7 Effect of *Crataegus azarolus* extract on blood glucose (hyperglycemia) in mice following 120 min of glucose administration. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$ as compared to the control group



chemical compounds, highlighting its potent biological antioxidant properties. This is evident for aqueous extract, as there is a close relationship between phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. Furthermore, the IC_{50} value for the *C. azarolus* extract was close to those used in standards, which is consistent with previous studies of other species of the *Crataegus* genus collected from many countries (Yahyaoui et al. 2019; Alirezalu et al.

2018). The reduction of body weight was undoubtedly due to the disturbance of the metabolic state and suggests that weight loss might be due to the body's inability to use carbohydrates as a source of energy and the high rate of catabolism of fat and protein mass. Moreover, diabetic rats fed a zinc-deficient diet had lower body weight gain and food intake than rats fed a zinc-adequate diet, which is consistent with published reports (Derouiche and Kechrid

Fig. 8 Effect of *Crataegus azarolus* on histopathological changes in the pancreas after 4 weeks of treatment: **a** section of pancreas tissue from non-diabetic (ND) rats showing normal architecture; **b** section of pancreas tissue from diabetic adequate-zinc (DAZ) rats showing reduced B-cell size (read arrowhead) and degenerative vascular changes in pancreatic islets (red arrow); **c** section of pancreas tissue from diabetic zinc-deficient (DZD) rats indicating more severe degenerative vascular changes in pancreatic islets (red double arrow); **d** section of pancreas tissue from diabetic zinc-deficient rats given *Crataegus azarolus* (DZD+Az) showing a preserved pancreatic islet population (black arrowhead) compared to the DZD group



2016; Tebboub and Kechrid 2021; Derai and Kechrid 2014). Zinc is required for the normal growth and development of animal species and humans (Hendy et al. 2001). The treatment of zinc-deficient diabetic animals with *C. azarolus* ameliorated body weight. The noticeable increase in body weight of animals might be due to the rise in food intake and protein synthesis. Additionally, it was documented that *Crataegus azarolus* has the ability to reverse gluconeogenesis and control protein loss (Shih et al. 2013). The present study revealed reduced concentrations of zinc in the different tissues of diabetic rats. It has been postulated that the low level of zinc in patients with diabetes is usually related to excessive urinary output and gastrointestinal malabsorption (Kinlaw et al. 1983). The administration of *C. azarolus* extract led to the restoration of zinc levels in diabetic rats with zinc deficiency. These findings suggest that zinc deficiency may contribute to the development and progression of diabetes, and *C. azarolus* may have a beneficial effect in restoring zinc levels in diabetic rats, which is consistent with some published investigations (Tebbou and Kechrid 2021; Beloucif et al. 2021). This was unlikely due to the antioxidant effect of this plant extract against the development of the diabetic state. It is possible that treatment with this aqueous extract positively influences oxidative stress harm through down-regulating hyperglycemia and preventing kidney dysfunction, resulting in the reduction of zinc urinary losses. In the present study, animals with diabetes that were fed an inadequate-zinc diet and those under an adequate-zinc diet showed no differences in blood glucose levels when the time of feeding was strictly controlled, and the amount of food eaten by each animal before an overnight fast was known to be similar. This is despite the fact that zinc deficiency often exacerbates fasting hyperglycemia related to decreased circulating insulin. However, blood glucose levels were found to decrease in diabetic zinc-deficient rats that were treated with *C. azarolus*. This finding was correlated with histological studies of the pancreas, where the plant extracts preserved islet cells. The hypoglycemic effect of *C. azarolus* might be due to the presence of some α -glucosidase inhibitors, including the polyphenols mainly containing quercetin, the epigallocatechin gallate (EGCG), and flavonoids (Abu-Gharbieh and Shehab 2017; He et al. 2016). Phytochemical screening indicated the richness of this plant in these active constituents. These compounds can effectively reduce insulin resistance and gluconeogenesis and increase hepatic glycogen synthesis and storage (Xin et al. 2021). Oral administration of *Crataegus azarolus* at a dose of 150 mg/kg diet exhibited a significant antihyperglycemic effect and marked improvement in glucose tolerance (OGTT), which confirmed the effectiveness of *C. azarolus* extract as a hypoglycemic agent through delaying carbohydrate digestion and thereby lowering

blood glucose levels (Abu-Gharbieh and Shehab 2017). Diabetes is generally associated with abnormal lipid metabolism, which is an important risk factor for diabetic vascular disease (Chen et al. 2020). The high concentration of cholesterol and triglycerides is definitely a result of lipid metabolism variations under diabetic conditions, which lead to the suppression of lipoprotein lipase activity in the account of insulin deficiency and insulin resistance (Suryawanshi et al. 2006). Moreover, variations of zinc status exhibited lipid and protein disturbance via highly significant elevation of cholesterol, triglycerides, and creatinine. In other words, zinc deficiency provoked catabolism of lipids and proteins because of the increased demand for energy (Hamdiken et al. 2018; Beloucif et al. 2021). The treatment of zinc-deficient diabetic rats with *C. azarolus* resulted in an improvement of these altered parameters. An explanation for the reduction in serum total cholesterol and triglyceride levels is a complex process involving multiple steps in cholesterol metabolism. Among these, total flavonoids contribute to the expression of two essential liver enzymes, hydroxy-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA) and cholesterol-7- α -hydroxylase (CYP7 α), which are key enzymes for lipid synthesis. Moreover, they play a role in inhibiting cholesterol absorption by downregulating the expression and activity of intestinal acyl-CoA cholesterol acyltransferase (ACAT) (Wu et al. 2020; Kwok et al. 2013). Significant increases in serum GOT and GPT activities were observed in zinc-deficient diabetic rats compared to zinc-sufficient diabetic rats, in accordance with previously published reports (Tebbou and Kechrid 2021; Beloucif et al. 2021). Transaminases appear to be the most sensitive markers to zinc restriction, with their activities being adversely affected by a Zn-deficient diet (Yousef et al. 2002). Greeley and Sandstead (Greeley and Sandstead 1983) found evidence of decreased oxidation of the carbon chain of alanine when zinc was restricted, leading to an accumulation of alanine in the blood. A reduction in serum lactic dehydrogenase (LDH) was also observed in zinc-deficient diabetic rats, and this decrease in LDH activity was certainly due to zinc depletion. LDH is a metalloenzyme that requires zinc as a cofactor for its activity (Derouiche and Kechrid 2016). Considerable recent evidence suggests that cellular redox imbalance leads to oxidative stress and subsequent occurrence and development of diabetes complications by involving certain signaling pathways in β -cell dysfunction and insulin resistance (Zhang et al. 2020). According to the results obtained, a rise in MDA concentration was observed, confirming the detrimental impact of zinc deficiency on lipid peroxidation. Additionally, the levels of glutathione (GSH), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), and glutathione reductase (GR)

activities were reduced in diabetic rats with zinc deficiency. The depletion of glutathione levels may be attributed to its role in scavenging free radicals and its high consumption (Shaheen and Abd El-Fattah 1995). Moreover, the decline in antioxidant enzyme activities observed may be due to the modification of sulfhydryl groups in these enzymes by the generation of reactive oxygen species or by the auto-oxidation of glucose and non-enzymatic glycation of proteins (Hamdiken et al. 2018). However, the administration of *C. azarolus* resulted in the attenuation and reduction of oxidative stress and cellular damage. The findings indicated a significant decrease in the formation of malondialdehyde, an increase in GSH concentration and an improvement in CAT, GSH-Px, SOD, and GR activities in zinc-deficient diabetic animals treated with *C. azarolus*. In other words, it has been reported that several polyphenolic compounds isolated from *C. azarolus*, such as alkaloids, tannins, and flavonoids, exhibit strong antioxidant properties and play a critical role in inhibiting and scavenging free radicals (Jurikova et al. 2012). Additionally, studies have shown that the extract of *C. azarolus* can increase the expression of several antioxidant genes, including RP-n11, CAT, GSH-Px, SOD, and GR (Zhang et al. 2014). Through a thorough analysis of the results, it is evident that the administration of an aqueous extract of *C. azarolus* presents a potential therapeutic approach for managing the development and complications of diabetes associated with zinc deficiency, as demonstrated by the observed improvement in growth rate, zinc status, carbohydrate metabolism, and antioxidant system in diabetic rats. However, further clinical investigations are required to validate the safety and efficacy of this extract and its bioactive compounds in humans. The findings of this study suggest that *C. azarolus* holds promise as a source for developing new therapeutic strategies for diabetes management, particularly for those with zinc deficiency, opening new avenues for further research in this field.

Acknowledgements The authors express their gratitude to the Algiers Pasteur Institute for providing the rats used in this study and to ONAB EL-Harouch in Skikda, Algeria, for their assistance with diet component supplementation. Their contributions were essential to the successful completion of this research project.

Data availability All data underlying the reported findings are available in a publicly accessible repository. The data presented in this study are openly available in Research Square at <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2262461/v1>.

Compliance with ethical standards

Funding This research was supported by a grant from the Ministry of Higher Education and Scientific Research, Algeria (Grant Number: D01N01UN230120190003).

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical approval All procedures were approved by the Ethical Committee of Annaba University, Algeria (PNR-ANDRS 8/u23/332). The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals was followed.

Informed Consent All the authors read the manuscript and approved for submission.

Consent for publication For this type of study, consent for publication is not required.

References

- Abdulmalek S, Eldala A, Awad D, Balbaa M (2021) Ameliorative effect of curcumin and zinc oxide nanoparticles on multiple mechanisms in obese rats with induced type 2 diabetes. *Sci Rep* 11:20677. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00108-w>
- Abu-Gharbieh E, Shehab NG (2017) Therapeutic potentials of *Crataegus azarolus* var. eu-azarolus Maire leaves and its isolated compounds. *BMC Complement Altern Med* 17:218. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1729-9>
- Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Meth Enzymol* 105:121–126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Aierken A, Buchholz T, Chen C, Zhang X, Melzig MF (2017) Hypoglycemic effect of hawthorn in type II diabetes mellitus rat model. *J Sci Food Agric* 97(13):4557–4561. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8323>
- Alirezalu A, Salehi P, Ahmadi N, Sonboli A, Aceto S, Hatami Maleki H, Ayyari M (2018) Flavonoids profile and antioxidant activity in flowers and leaves of hawthorn species (*Crataegus* spp.) from different regions of Iran. *Int J Food Prop* 21:452–470. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1446146>
- Beloucif A, Kechrid Z, Bekada AM (2021) Effect of zinc deficiency on blood glucose, lipid profile, and antioxidant status in streptozotocin diabetic rats and the potential role of sesame oil. *Biol Trace Elem Res*. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02934-5>
- Bonner-Weir S (1988) Morphological evidence for pancreatic polarity of beta-cell within islets of Langerhans. *Diabetes* 37:616–621. <https://doi.org/10.2337/diab.37.5.616>
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci Technol* 28:25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Buege JA, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. In: Fleischer S, Packer L (eds) *Methods in enzymology*. Academic Press, pp 302–310
- Chen Z, Hu H, Chen M, Luo X, Yao W, Liang Q, Yang F, Wang X (2020) Association of triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio and incidence of diabetes mellitus: a secondary retrospective analysis based on a Chinese cohort study. *Lipids Health Dis* 19:33. <https://doi.org/10.1186/s12944-020-01213-x>
- Choi S, Liu X, Pan Z (2018) Zinc deficiency and cellular oxidative stress: prognostic implications in cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol Sin* 39:1120–1132. <https://doi.org/10.1038/aps.2018.25>
- Daniele C, Mazzanti G, Pittler MH, Ernst E (2006) Adverse-event profile of *Crataegus* spp.: a systematic review. *Drug Saf* 29(6):523–535. <https://doi.org/10.2165/00002018-200629060-00005>
- Dar R, Shah Nawaz M, Qazi P (2019) General overview of medicinal plants: a review. *Phytomorphology* 69:349–351. <https://doi.org/10.31254/phyto.2017.6608>

- Derai EH, Kechrid Z (2014) Combined effect of vitamins C and E on zinc status, carbohydrate metabolism and antioxidant values in diabetic rats fed zinc-deficient diet. *J Metab Nutr* 7:55–65. <https://doi.org/10.3233/MNM-140005>
- Derouiche S, Kechrid Z (2016) Zinc supplementation overcomes effects of copper on zinc status, carbohydrate metabolism and some enzyme activities in diabetic and nondiabetic rats. *Can J Diabetes* 40:342–347. <https://doi.org/10.1016/j.cjcd.2016.02.005>
- El Hendy HA, Yousef MI, Abo El-Naga NI (2001) Effect of dietary zinc deficiency on hematological and biochemical parameters and concentrations of zinc, copper, and iron in growing rats. *Toxicology* 167:163–170. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00373-0](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00373-0)
- Evans WC, Evans D (2009) General methods associated with the phytochemical investigation of herbal products. In: Evans WC, Evans D (eds) *Trease and Evans' pharmacognosy*, 16th ed. W.B. Saunders, pp 135–147
- Flohé L, Günzler WA (1984) Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 105:114–121. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05015-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05015-1)
- Gholamhoseinian A, Shahouzehi B, Mohammadi G (2020) Trace elements content of some traditional plants used for the treatment of diabetes mellitus. *Biointerface Res Appl Chem* 10(6):6167–6173. <https://doi.org/10.33263/BRAC105.61676173>
- Goldberg D, Spooner R (1987) *Methods of enzymatic analysis*. Bergmayer, VCH, New York
- Greeley S, Sandstead HH (1983) Oxidation of alanine and β -hydroxybutyrate in late gestation by zinc-restricted rats. *J Nutr* 113:1803–1810. <https://doi.org/10.1093/jn/113.9.1803>
- Hamdiken M, Bouhalit S, Kechrid Z (2018) Effect of *Ruta chalepensis* on zinc, lipid profile and antioxidant levels in the blood and tissue of streptozotocin-induced diabetes in rats fed zinc-deficient diets. *Can J Diabetes* 42:356–364. <https://doi.org/10.1016/j.cjcd.2017.08.239>
- Hao W, Zhang Z, Guo Y, Sun P, Lv X, Zuo Y (2011) Hawthorn fruit increases the antioxidant capacity and reduces lipid peroxidation in senescence-accelerated mice. *Eur Food Res Technol* 232(4):743–751. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1435-7>
- He K, Song S, Zou Z, Feng M, Wang D, Wang Y, Li X, Ye X (2016) The hypoglycemic and synergistic effect of loganin, morroniside, and ursolic acid isolated from the fruits of *Cornus officinalis*. *Phytother Res* 30:283–291. <https://doi.org/10.1002/ptr.5529>
- Jiménez PG, Martín-Carmona J, Hernández EL (2020) Diabetes mellitus. *Medicine - Programa De Formación Médica Continuada Acreditado* 13:883–890. <https://doi.org/10.1016/j.med.2020.09.010>
- Jollow DJ, Mitchell JR, Zampaglione N, Gillette JR (1974) Bromobenzene-induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3,4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite. *Pharmacology* 11:151–169. <https://doi.org/10.1159/000136485>
- Julkunen-Tiitto R (1985) Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J Agric Food Chem* 33:213–217. <https://doi.org/10.1021/jf00062a013>
- Jurikova T, Sochor J, Rop O, Mlcek J, Balla S, Szekeres L, Adam V, Kizek R (2012) Polyphenolic profile and biological activity of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* BUNGE) fruits. *Molecules* 17:14490–14509. <https://doi.org/10.3390/molecules171214490>
- Kinlaw WB, Levine AS, Morley JE, Silvis SE, McClain CJ (1983) Abnormal zinc metabolism in type II diabetes mellitus. *Am J Med* 75:273–277. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)91205-6](https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)91205-6)
- Kwok CY, Li C, Cheng HL, Ng YF, Chan TY, Kwan YW, Leung GPH, Lee SMY, Mok DKW, Yu PHF, Chan SW (2013) Cholesterol lowering and vascular protective effects of ethanolic extract of dried fruit of *Crataegus pinnatifida*, hawthorn (Shan Zha), in diet-induced hypercholesterolaemic rat model. *J Funct Foods* 5:1326–1335. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.04.020>
- Li YV (2014) Zinc and insulin in pancreatic beta-cells. *Endocrine* 45:178–189. <https://doi.org/10.1007/s12020-013-0032-x>
- Misra HP, Fridovich I (1977) Superoxide dismutase: “positive” spectrophotometric assays. *Anal Biochem* 79:553–560. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90429-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90429-8)
- Neeta M, Mukta N, Bilwa K (2015) Comparative qualitative phytochemical analysis of *Sesamum indicum* L. *Int J Curr Microbiol App Sci* 4(3):172–181. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2015.403.020>
- Ojuade FI, Olorundare OE, Akanbi OB, Afolabi SO, Njan AA (2021) Antidiabetic and antihyperlipidemic effects of aqueous extract of *Parquetina nigrescens* in streptozotocin–nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *Heliyon* 7:e07363. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07363>
- Pal A, Khanum F, Bawa AS (2010) Nutritional, medicinal and industrial uses of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds - an overview. *Agric Conspec Sci* 75(4):159–168
- Rahmati M, Keshvari M, Mirnasouri R, Chehelcheraghi F (2021) Exercise and *Urtica dioica* extract ameliorate hippocampal insulin signaling, oxidative stress, neuroinflammation, and cognitive function in STZ-induced diabetic rats. *Biomed Pharmacother* 139:111577. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111577>
- Shaheen AA, Abd El-Fattah AA (1995) Effect of dietary zinc on lipid peroxidation, glutathione, protein thiols levels and superoxide dismutase activity in rat tissues. *Int J Biochem Cell Biol* 27:89–95. [https://doi.org/10.1016/1357-2725\(94\)00053-0](https://doi.org/10.1016/1357-2725(94)00053-0)
- Shih CC, Lin CH, Lin YJ, Wu JB (2013) Validation of the antidiabetic and hypolipidemic effects of hawthorn by assessment of gluconeogenesis and lipogenesis related genes and AMP-activated protein kinase phosphorylation. *Evid Based Complementary Altern Med* 2013:597067. <https://doi.org/10.1155/2013/597067>
- Southon S, Kechrid Z, Wright AJ, Fairweather-Tait SJ (1988) Effect of reduced dietary zinc intake on carbohydrate and Zn metabolism in the genetically diabetic mouse (C57BL/KsJ db+/db+). *Br J Nutr* 60:499–507. <https://doi.org/10.1079/BJN19880122>
- Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, Stein C, Basit A, Chan JCN, Mbanya JC, Pavkov ME, Ramachandaran A, Wild SH, James S, Herman WH, Zhang P, Bommer C, Kuo S, Boyko EJ, Magliano DJ (2022) IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract* 183:109119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>
- Suryawanshi NP, Bhutay AK, Nagdeote AN, Jadhav AA, Manoorkar GS (2006) Study of lipid peroxide and lipid profile in diabetes mellitus. *Indian J Clin Biochem* 21:126. <https://doi.org/10.1007/BF02913080>
- Tebboub I, Kechrid Z (2021) Effect of curcuma on zinc, lipid profile and antioxidants levels in blood and tissue of streptozotocin-induced diabetic rats fed zinc deficiency diet. *Arch Physiol Biochem* 127:162–169. <https://doi.org/10.1080/13813455.2019.1623820>
- Vélez-Alavez M, Labrada-Martagón V, Méndez-Rodríguez LC, Galván-Magaña F, Zenteno-Savín T (2013) Oxidative stress indicators and trace element concentrations in tissues of mako shark (*Isurus oxyrinchus*). *Comp Biochem Physiol a: Mol Integr Physiol* 165:508–514. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.006>
- Wang SZ, Wu M, Chen KJ, Liu Y, Sun J, Sun Z, Ma H, Liu LT (2019) Hawthorn extract alleviates atherosclerosis through regulating inflammation and apoptosis related factors: an experimental study. *Chin J Integr Med* 25(2):108–115. <https://doi.org/10.1007/s11655-018-3020-4>
- Xin C, Zhao M, Wang J, Wang Z (2021) Hawthorn polyphenols, D-chiro-inositol, and epigallocatechin gallate exert a synergistic hypoglycemic effect. *J Food Biochem* 45:e13771. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13771>
- Yahyaoui A, Arfaoui MO, Rigane G, Hkir A, Amari K, Ben Salem R, Ammari Y (2019) Investigation on the chemical composition

- and antioxidant capacity of extracts from *Crataegus azarolus* L.: effect of growing location of an important Tunisian medicinal plant. *Chem Afr* 2(2):361–365. <https://doi.org/10.1007/s42250-019-00054-1>
- Yang B, Liu P (2012) Composition and health effects of phenolic compounds in hawthorn (*Crataegus* spp.) of different origins. *J Sci Food Agric* 92(8):1578–1590. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5671>
- Yousef MI, El-Hendy HA, El-Demerdash FM, Elagamy EI (2002) Dietary zinc deficiency induced-changes in the activity of enzymes and the levels of free radicals, lipids and protein electrophoretic behavior in growing rats. *Toxicology* 175:223–234. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(02\)00049-5](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(02)00049-5)
- Wong SP, Leong LP, Koh WH (2006) Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chem* 99(4):775–783. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.058>
- Wu M, Liu L, Xing Y, Yang S, Li H, Cao Y (2020) Roles and mechanisms of hawthorn and its extracts on atherosclerosis: a review. *Front Pharmacol* 11:118. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00118>
- Zhang B, Yue R, Chen Y, Yang M, Huang X, Shui J, Peng Y, Chin J (2019) Gut microbiota, a potential new target for Chinese herbal medicines in treating diabetes mellitus. *Evid Based Complementary Altern Med* 2019:2634898. <https://doi.org/10.1155/2019/2634898>
- Zhang P, Li T, Wu X, Nice EC, Huang C, Zhang Y (2020) Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Front Med* 14:583–600. <https://doi.org/10.1007/s11684-019-0729-1>
- Zhang Y, Ti S, Liu S, Zhao J, Chen W, Wang H (2014) Effect of hawthorn on *Drosophila melanogaster* antioxidant-related gene expression. *Trop J Pharm Res* 13(3):353. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i3.6>
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64:555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.