

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Badji Mokhtar Annaba

Badji Mokhtar University
Annaba



جامعة باجي مختار
عنابة



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
Laboratoire de Biochimie et de Microbiologie appliquées

Thèse

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD (3^{ème} Cycle)

Option : Biochimie Appliquée

Présentée Par

FATMI WIDED

Thème

**L'effet de la vitamine C et le sélénium sur le
développement de diabète chez les rats alimentés par un
régime alimentaire carencé en zinc.**

Devant le jury :

Président : Mr : SAKA Saad	Prof	Université Badji M - Annaba
Promoteur : Mr : KECHRID Zine	Prof	Université Badji M - Annaba
Examineur : Mr : NECIB Youcef	Prof	Université Mentouri –Constantine
Examineur : Mr : AOUADI Saoudi	MCA	Université Badji M - Annaba
Examineur : Mr : Attalah Salah	MCA	Université Mentouri –Constantine

2013-2014

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

REMERCIEMENTS

J'exprime d'abord mes profonds remerciements à Allah qui m'a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au sein du Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquée, département de Biochimie, Université Badji Mokhtar Annaba, dirigé par le professeur A. LADJAMA. Je le suis tout particulièrement reconnaissante de la confiance qu'il a su me témoigner en m'intégrant dans son équipe de recherche et de l'opportunité qu'il m'a offert de me former à la recherche.

Je tiens à remercier tout particulièrement monsieur Z. KECHRID, Professeur, Université Badji Mokhtar Annaba, pour avoir accepté de diriger cette thèse. Merci de m'avoir guidé pendant ces cinq années. Merci pour votre disponibilité, votre investissement pour nos discussions et votre enthousiasme au cours des réunions qui ont jalonné ce projet et pour tout le temps que vous m'avez consacré pour corriger ce manuscrit.

Mon respect, ma reconnaissance ainsi que mes vifs remerciements vont à Monsieur S. SAKA, Professeur, Université Badji Mokhtar Annaba, d'avoir accepté de juger ce travail et m'honoré par sa présidence de jury.

A Monsieur Y. NECIB, Professeur, Université Mentouri Constantine, pour le grand honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner ce travail. Je le prie de recevoir toute ma gratitude pour avoir accepté de mettre son expertise à contribution afin de juger ce travail et lui adresse mes sentiments les plus respectueux.

A Monsieur S. AOUADI, Maître de conférences, Université Badji Mokhtar Annaba, pour le grand honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner ce travail et de consacrer son temps pour le juger. Je vous prie de croire en mon profond respect.

A Monsieur S. Attalah, Maitre de conférences, Université Mentouri Constantine, pour avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse. Je suis honorée de sa présence, ses compétences reconnues dans le domaine du diabète exposé dans ce mémoire en font un juge pertinent. Qu'il soit assuré de ma sincère gratitude.

A Monsieur N. BOUZERNA, Professeur, Université Badji Mokhtar Annaba, pour son dévouement suivi et ses encouragements durant toute notre formation. Qu'il trouve ici ma gratitude et mes sincères remerciements.

A Monsieur M. MESSAREH, Professeur, Université Badji Mokhtar Annaba, Je souhaite tout particulièrement lui exprimer toute ma reconnaissance de m'avoir fait bénéficier de son expérience, de ses nombreux conseils avisés et de sa grande disponibilité, m'aidant ainsi à faire les premiers pas dans le monde de la recherche.

Je remercie également tous les membres de laboratoire qui sont été généreux et compréhensifs durant tout le parcours.

Je remercie vivement le technicien de notre laboratoire monsieur L. TECHATI pour sa bonne humeur, ses conseils techniques, son aide précieuse, sa disponibilité, sa gentillesse et son confrère. Je lui souhaite bonne chance pour sa carrière professionnelle.

A monsieur R. DELIMI professeur et chef de laboratoire de Traitement des Eaux et Valorisation des Déchets Industriels, Département de chimie, Université Badji Mokhtar Annaba, en m'acceptant dans son laboratoire au sein de son équipe.

Quelle soit remerciée de sa bienveillante attention.

Je tiens à remercier A. TAHAR, Professeur, Université Badji Mokhtar Annaba, pour son amical accueil, sa gentillesse et son aide très importante pour mes analyses statistiques. Eternelle reconnaissance.

Pour finir ; mes pensées vont à ma famille.

A mes parents tout d'abord car c'est avec eux que tout a commencé! Merci pour votre amour, votre soutien et votre confiance. Merci aussi de m'avoir donné la chance de pouvoir faire ce que je voulais dans la vie. Je suis fière d'avoir des parents comme vous...

A mes frères et ma sœur, j'ai beaucoup de chance d'avoir une sœur comme toi.
Merci d'être toujours là pour me soutenir dans les moments difficiles.

Merci mes amis pour votre aide, votre soutien et votre amitié.

Durant l'ensemble de mon cursus, je pense que tous les gens qui m'ont entouré méritent mes remerciements, ne serait-ce que de m'avoir aidé ou tout de moins supporté...

En espérant que cette contribution scientifique sera une étape vers l'amélioration du confort de vie des patients diabétiques.

Résumé

Résumé

Cette étude a été réalisée pour étudier l'effet de la vitamine C et de sélénium sur le statut du zinc, le métabolisme des carbohydrates (glucides, lipides, protéines) et de stress oxydatif chez les rats albino (Wistar) diabétiques alimentés par un régime alimentaire pauvre en zinc.

Quarante-huit mâles rats diabétiques, divisés en six groupes de huit individus chacun ; le premier groupe a reçu un régime normale (54 mg du zinc/kg de diète) (RN), le deuxième groupe a reçu un régime carencé en zinc (1.2 mg du zinc/kg de diète) (RC), le troisième groupe a reçu un régime normal, traité par une dose quotidienne de la vitamine C (1g/l) dans l'eau de boisson (RN + Vit C), le quatrième groupe a reçu un régime carencé en zinc, traité par une dose quotidienne de la vitamine C (RC + Vit C), le cinquième et le sixième groupes ont reçu respectivement, un régime normal, un régime carencé en zinc, simultanément traités par une dose quotidienne de sélénium par voie orale (0.5 mg/g P.C), (RN + Se et RC + Se). Le poids corporel et la consommation alimentaire sont mesurés régulièrement. Après 27 jours de traitement, les rats sont sacrifiés et quelques paramètres sont déterminés.

Selon les résultats obtenus ; la carence en zinc dans l'alimentation a provoqué un déficit pondéral, une diminution de la consommation alimentaire et une diminution de la concentration du zinc dans le sérum et les différents tissus (foie, rein, pancréas et testicule). Ainsi l'insuffisance du zinc a induit une augmentation significative de la concentration sérique du glucose, des lipides totaux, des triglycérides, de l'urée, de la créatinine, de l'acide urique et de la bilirubine totale et directe. Cependant la concentration sérique des protéines totales et d'albumine et le taux du glycogène hépatique sont diminués. De plus, l'activité des transaminases (TGO, TGP) et de l' α -amylase est augmentée, par contre l'activité de l'ALP et LDH sérique est diminuée. En outre, la carence en zinc a augmenté le stress oxydatif qui traduit par une augmentation de la teneur hépatique de malondialdéhyde (MDA) et de l'activité du glutathion-S-transférase (GST), une diminution de taux du glutathion réduit (GSH) hépatique, de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px) et de l'activité du catalase. Par ailleurs, le traitement par la vitamine C ou le sélénium a rétabli tous les paramètres approximativement à leurs niveaux normaux.

Pour conclure, la vitamine C et le sélénium ont probablement joué un rôle clé en tant que puissants facteurs antioxydants contre le stress oxydatif provoqué par la carence en zinc. Par conséquent, ils pourraient être apportés à la réduction du développement de diabète.

Mots clés : rats, carence du zinc, diabète, stress oxydatif, vitamine C, sélénium.

Abstract

This study was carried out to investigate the effect of vitamin C and selenium on zinc status, carbohydrate metabolism and oxidative stress in diabetic albino (Wistar) rats fed zinc deficiency diet.

Forty eights males diabetic rats divided into six groups of eight individuals each; the first group received a diet containing 54 mg zinc/kg (adequate zinc group, AZ), the second group received a diet containing 1.2 mg zinc/kg (zinc deficient group, ZD), the third group received a diet containing 54 mg zinc/kg and supplemented with vitamin C (1g/l) in drinking water (AZ+Vit C), the fourth group received a diet containing 1.2 mg zinc/kg and given vitamin C (ZD + Vit C), the fifth and the sixth group received a diet containing 54 mg zinc/kg and 1.2 mg zinc/kg respectively. Simultaneously both groups administered orally with selenium (0.5 mg/g b.w.) daily, (AZ+Se and ZD + Se). Body weight and food intake were recorded regularly during the experimental period. After 27 days, animals were sacrificed and some parameters were determined.

According to the results which have been obtained, low zinc diet led to a reduction in body weight gain, food intake, serum zinc concentration, and various tissues zinc level (liver, kidney, pancreas and tests) of diabetic rats. Dietary zinc intake significantly also increased glucose, total lipids, triglycerides, urea, creatinine, uric acid and bilirubin concentrations in serum of zinc deficient diabetic group. However liver glycogen, serum total proteins and albumin were diminished. Meanwhile the consumption of zinc deficiency diet resulted an increase of GOT, GPT and α -amylase with a decrease in ALP and LDH activities. In addition, dietary Zn-deficiency increased oxidative stress, which was indicated by a rise of liver MDA level and glutathione-S-transferase (GST) activity. In addition inadequate dietary zinc resulted in a decrease of reduced glutathione (GSH) level, glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase activities in liver. However, the administration of vitamin C or selenium restored all the previous parameters approximately to their normal values.

To conclude, vitamin C and selenium probably played a key role as antioxidant potent factors against oxidative stress provoked by zinc deficiency. Therefore, they might be contributed in reduction of diabetes development.

Key words: rats, zinc deficiency, diabetes, oxidative stress, vitamin C, selenium.

الملخص

أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير فيتامين ج و السيلينيوم على تركيز الزنك، المواد الكربوهيدراتية الأيضية و الاجهاد التأكسدي عند جرذان من سلالة: Albino Wistar، مصابة بالداء السكري و موضوعه على نظام غذائي منقوص لعنصر الزنك.

حوالي 48 جرذ مصابة بالداء السكري قسمت إلى ستة مجموعات، حيث تضم كل مجموعة 8 جرذان؛ المجموعة الأولى موضوعه على نظام غذائي يحتوي على 54 ملغ زنك/كلغ غذاء، و هو يمثل القيمة المثلى لعنصر الزنك في الغذاء بالنسبة للجرذان، المجموعة الثانية موضوعه على نظام غذائي يحتوي على 1.2 ملغ زنك/كلغ غذاء ، و هو الغذاء المنقوص لعنصر الزنك، المجموعة الثالثة موضوعه على النظام الغذائي العادي و معالجة بجرعة يومية من فيتامين ج في ماء الشرب تقدر بـ 1 غ/ل، المجموعة الرابعة موضوعه على النظام الغذائي المنقوص لعنصر الزنك و معالجة بجرعة يومية من فيتامين ج، المجموعة الخامسة و السادسة على التوالي موضوعه على النظام الغذائي العادي و المنقوص لعنصر الزنك و كلتا المجموعتين معالجة بجرعة يومية من السيلينيوم عن طريق الفم تقدر بـ 0.5 ميليغرام/غ من وزن الجسم. بعد انقضاء فترة المعالجة و التي قدرت بـ 27 يوم و التي تم خلالها تتبع وزن الحيوان ات و كمية الغذاء المستهلكة بانتظام، قمنا بذبح الجرذان و قياس عدد من المعايير.

من خلال تحليل النتائج المحصل عليها، لاحظنا أن نقص عنصر الزنك في الغذاء أدى إلى انخفاض كل من معدل النمو و كمية الغذاء المستهلكة و انخفاض واضح في مستوى تركيز الزنك في المصل و في مختلف الأنسجة (الكبد ، الكلية، البنكرياس و الخصية). تبين أيضا أن نقص عنصر الزنك في الغذاء أدى إلى اضطراب في ميتابوليزم المواد الكربوهيدراتية (السكرية، الدهنية و البروتينية) إذ سجلنا ارتفاع معنوي في تركيز كل من سكر الغلوكوز ، الليبيدات الكلية ، الغليسيريدات الثلاثية، اليوريا، الكرياتينين، حامض اليوريك و البيليروبين في المصل، بينما سجلنا انخفاض في تركيز البروتينات الكلية و الألبومين في المصل و كمية الجليكوجين الكبدي عند الجرذان الخاضعة لنظام غذائي منقوص لعنصر الزنك مقارنة بنظيرتها الخاضعة لنظام غذائي عادي ، كما سجلنا ارتفاع في نشاط بعض إنزيمات ناقلات الأمين (TGO,TGP) و α - اميلاز في حين هناك انخفاض في نشاط إنزيم الفوسفاتاز القلوي وإنزيم لاكتات ديهيدروجيناز (LDH) في المصل، من جهة أخرى لاحظنا أن الغذاء المنقوص لعنصر الزنك

أدى إلى زيادة كمية مؤشر الأكسدة الليبيدية (MDA) وزيادة نشاط إنزيم الجلوتاثيون الناقل (GST) في الكبد بالمقابل لاحظنا إنخفاض كمية الجلوتاثيون المختزل (GSH) و نشاط إنزيمي الجلوتاثيون المؤكسد (GSH-Px) و الكاتالاز في الكبد. لكن المعالجة بفيتامين ج أو السيلينيوم عملت على تحسين واستعادة مستوى المؤشرات السالفة الذكر تقريبا إلى قيمها العادية.

إذا ما يمكن استنتاجه أن فيتامين ج و السيلينيوم ربما لعبتا دورا رئيسيا كعوامل قوية مضادة للأكسدة وبالتالي القدرة على خفض حدة الإجهاد التأكسدي الناتج عن نقص عنصر الزنك، و من ثم الوقاية من تطور الداء السكري.

الكلمات الدالة : الجردان، نقص الزنك، الداء السكري، الإجهاد التأكسدي، فيتامين ج، السيلينيوم.

Liste des abréviations

Liste des abréviations

AA	: Acide Ascorbique.
ADA	: Association Américaine de Diabètes.
AGE	: Advanced Glycated End-product (produits terminaux de glycation).
AGI	: Acide Gras Insaturé.
AGPI	: Acide Gras PolyInsaturé.
ANC	: Apport Nutritionnel Conseillé.
DAG	: Diacylglycérol.
DHAP	: Dihydroxyacétone phosphate.
DRO	: Dérivé Réactive de l'Oxygène.
ERN	: Espèce Réactive d'Azote.
ERO	: Espèce Réactive d'Oxygène.
GFAT	: Glutamine Fructose 6 phosphate amido-transférase.
HO [•]	: Radical hydroxyle.
H ₂ Se	: Sélénure d'hydrogène.
HOCl	: Acide hypochloreux.
IL-1	: Interleukine-1.
IL-6	: Interleukine-6.
Na ₂ O ₃ Se	: Sélénite de Sodium.
O ₂ ^{•-}	: anion superoxyde.
¹ O ₂	: Oxygène singulet.
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé.
ONOOH	: Nitroperoxyde.
PKC	: Protéine Kinase C.

PTG	: Produits terminaux de Glycation.
PTP 1B	: Protéine Tyrosine Phosphatase 1B.
NF _κ B	: Nuclear Factor-kappa B ou Facteur nucléaire-kappa B.
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor ou facteur de nécrose tumorale.
RAGE	: Récepteur spécifique des produits terminaux de glycation.
RL	: Radicaux Libres.
R-Se-H	: Sélénol.
R-Se-R	: Sélénoéther.
Se ⁻²	: Sélénure.
Se-Cys	: Sélénocystéine.
Se-Met	: Sélénométhionine.
SeO ₃ ⁻²	: Sélénite.
SeO ₄ ⁻²	: Séléniate.
RO [•]	: Radicaux alkoxy.
ROO [•]	: Radicaux peroxy.
RO ₂ H	: Radicaux Hydroperoxydes.
ROS	: Reactive oxygen species ou Espèces activées de l'oxygène.
TR	: Thiorédoxines réductase.

Liste des Figures

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Mécanisme de destruction auto-immune de la cellule β dans le diabète de type 1.....	3
Figure 2 : Hyperinsulinisme et diabète de type 2	4
Figure 3 : Schéma des flux corporels du zinc	17
Figure 4 : Biosynthèse de l'insuline	19
Figure 5 : Balance entre les pro-oxydants (ERO) et les antioxydants	24
Figure 6 : Source endogènes des espèces réactives	26
Figure 7 : Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde	29
Figure 8 : Conséquences de stress oxydatif	30
Figure 9: Principales circonstances pathologiques s'accompagnant d'un stress oxydatif.....	30
Figure 10 : Etapes du processus de peroxydation lipidique.....	32
Figure 11 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	34
Figure 12 : Principales classes de dommages de l'ADN	35
Figure 13 : Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule	36
Figure 14 : Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques	36
Figure 15 : Régénération de la vitamine E par la vitamine C et le GSH	40
Figure 16 : Rôle des sélénoenzymes dans l'élimination de dérivés réactifs de l'oxygène	43
Figure 17 : Relation entre hyperglycémie et stress oxydant	44
Figure 18 : Réactions à l'origine de la production d'ERO par autoxydation du glucose	45
Figure 19 : Formation des produits avancés de glycations	46
Figure 20 : Déplétion du glutathion par la voie des polyols	47

Figure 21 : Activation des PKC.....	48
Figure 22 : Voie des hexosamines et conséquences	49
Figure 23 : Structure chimique de l'alloxane	52
Figure 24 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	57
Figure 25 : L'hydrolyse de l'amidon au glucose catalysée par l'amyloglucosidase... 	65
Figure 26 : Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique	67
Figure 27 : Réaction d'Ellman.....	69
Figure 28 : Variation du gain de poids corporel des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	74
Figure 29 : Variation de la consommation alimentaire des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	74
Figure 30 : Variation de la concentration du zinc dans le serum des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	77
Figure 31 : Variation de la concentration du zinc dans le foie des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	77
Figure 32 : Variation de la concentration du zinc dans le rein des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	77
Figure 33 : Variation de la concentration du zinc dans le testicule des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	78
Figure 34 : Variation de la concentration du zinc dans le fémur des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	78
Figure 35 : Variation de la concentration du zinc dans le pancréas des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	78
Figure 36 : Variation de la concentration sérique du glucose chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	81
Figure 37 : Variation de la concentration du glycogène hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	81

Figure 38 : Variation de la concentration sérique des lipides totaux chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	82
Figure 39 : Variation de la concentration sérique du cholestérol chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	82
Figure 40 : Variation de la concentration sérique des triglycerides chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	82
Figure 41 : Variation de la concentration sérique des protéines totales chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	86
Figure 42 : Variation de la concentration sérique d'albumine chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	86
Figure 43 : Variation de la concentration sérique d'uree chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	86
Figure 44 : Variation de la concentration sérique de créatinine chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	87
Figure 45 : Variation de la concentration sérique d'acide urique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	87
Figure 46 : Variation de la concentration sérique de bilirubine totale chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	88
Figure 47 : Variation de la concentration sérique de bilirubine directe chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	88
Figure 48 : Variation de l'activite enzymatique de TGO chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	91
Figure 49 : Variation de l'activite enzymatique de TGP chez les rats dibétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	91
Figure 50 : Variation de l'activite enzymatique d'ALP chez les rats dibétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	92
Figure 51 : Variation de l'activite enzymatique de LDH chez les rats dibétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.....	92

Figure 52 : Variation de l'activité enzymatique d' α -amylase chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	92
Figure 53 : Variation de la teneur hépatique de malondialdéhyde (MDA) chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	96
Figure 54 : Variation de la teneur hépatique du glutathion réduit (GSH) chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	96
Figure 55 : Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	97
Figure 56 : Variation de l'activité enzymatique du catalase (CAT) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	97
Figure 57 : Variation de l'activité enzymatique du glutathion-S-transférase (GST) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C	97
Figure 58 : Variation du gain de poids corporel des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	99
Figure 59 : Variation de la consommation alimentaire des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	99
Figure 60 : Variation de la concentration du zinc dans le sérum des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	102
Figure 61 : Variation de la concentration du zinc dans le foie des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	102
Figure 62 : Variation de la concentration du zinc dans le rein des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	102
Figure 63 : Variation de la concentration du zinc dans le testicule des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	103
Figure 64 : Variation de la concentration du zinc dans le fémur des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	103

Figure 65 : Variation de la concentration du zinc dans le pancréas des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	103
Figure 66 : Variation de la concentration sérique du glucose chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	106
Figure 67 : Variation de la concentration du glycogène hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	106
Figure 68 : Variation de la concentration sérique des lipides totaux chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	107
Figure 69 : Variation de la concentration sérique du cholestérol chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	107
Figure 70 : Variation de la concentration sérique des triglycérides chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	107
Figure 71 : Variation de la concentration sérique des protéines totales chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	111
Figure 72 : Variation de la concentration sérique d'albumine chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	111
Figure 73 : Variation de la concentration sérique d'uree chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	112
Figure 74 : Variation de la concentration sérique de créatinine chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	112
Figure 75 : Variation de la concentration sérique d'acide urique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	112
Figure 76 : Variation de la concentration sérique de bilirubine totale chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	113
Figure 77 : Variation de la concentration sérique de bilirubine directe chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	113
Figure 78 : Variation de l'activité enzymatique de TGO chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	116

Figure 79 : Variation de l'activite enzymatique de TGP chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.....	116
Figure 80 : Variation de l'activite enzymatique d'ALP chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.....	117
Figure 81 : Variation de l'activite enzymatique de LDH chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	117
Figure 82 : Variation de l'activite enzymatique de α -amylase chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	117
Figure 83 : Variation de la teneur hépatique de malondialdéhyde (MDA) chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	121
Figure 84 : Variation de la teneur hépatique du glutathion réduit (GSH) chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	121
Figure 85 : Variation de l'activite enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	122
Figure 86 : Variation de l'activité enzymatique du catalase (CAT) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	122
Figure 87 : Variation de l'activite enzymatique du glutathion-S-transférase (GST) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium	122

Liste des Tableaux

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Abondances naturelles relatives des isotopes du zinc	10
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du zinc	11
Tableau 3 : Apports recommandés en zinc.....	13
Tableau 4 : Teneur en zinc des nourritures.....	14
Tableau 5 : Facteurs modifiant l'absorption du zinc.....	15
Tableau 6 : Propriétés de l'alloxane	52
Tableau 7 : La composition de la nourriture.....	54
Tableau 8 : La quantité des métaux dans la nourriture.....	54
Tableau 9 : Variation du poids initial, gain du poids corporel et la consommation alimentaire des rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement	73
Tableau 10 : Variation de la concentration du zinc dans le serum, le foie, le rein, le testicule, le femur et le pancréas des rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement	76
Tableau 11 : Variation de quelques paramètres biochimiques sériques (glucose, lipides totaux, cholestérol, triglycérides) et du glycogène hépatique chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement	80
Tableau 12 : Variation de quelques paramètres biochimiques sériques (protéines totales, albumine, urée, créatinine, acide urique, bilirubine totale, bilirubine directe) chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement	85
Tableau 13 : Variation de l'activité de quelques enzymes sériques (TGO, TGP, ALP, LDH, α -amylase) chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement.....	90

- Tableau 14 :** Variation de la teneur hépatiques de malondialdéhyde (MDA) et du glutathion réduit (GSH) et de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px), du glutathion-S-transférase (GST) et du catalase (CAT) hépatiques chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement95
- Tableau 15 :** Variation du poids initial, gain du poids corporel et la consommation alimentaire des rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement98
- Tableau 16 :** Variation de la concentration du zinc dans le sérum, le foie, le rein, le testicule, le fémur et le pancréas des rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement.101
- Tableau 17 :** Variation de quelques paramètres biochimiques sériques (glucose, lipides totaux, cholestérol, triglycérides) et du glycogène hépatique chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement105
- Tableau 18 :** Variation de quelques paramètres biochimiques sériques (protéines totales, albumine, urée, créatinine, acide urique, bilirubine totale, bilirubine directe) chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement110
- Tableau 19 :** Variation de l'activité de quelques enzymes sériques (TGO, TGP, ALP, LDH, α -amylase) chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement119
- Tableau 20 :** Variation de la teneur hépatique de malondialdéhyde (MDA) et du glutathion réduit (GSH) et de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px), du glutathion-S-transférase (GST) et du catalase (CAT) hépatiques chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement120

Sommaire

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Le diabète sucré

1. Histoire de diabète.....	1
2. Définition de diabète sucré.....	1
➤ L'insuline	2
3. Classification de diabète	2
3.1. Diabète de type 1.....	2
3.2. Diabète de type 2.....	3
3.3. Diabète gestationnel	4
3.4. Diabètes secondaires	4
Diabète expérimental	5
➤ Diabète induit par les substances chimiques.....	5
📖 Diabète induit par l'alloxane.....	5
4. Traitement médicamenteux du diabète	6
4.1. Les différents types d'insulines.....	7
4.1.1. Les insulines d'action rapide	7
4.1.2. Les insulines d'action intermédiaire.....	7
4.1.3. Les insulines biphasiques (mixtes et prémélangées).....	8
4.1.4. Les insulines d'action lente	8

CHAPITRE II : Le Zinc

1. Historique	9
2. Propriétés physico-chimiques	9
3. Apports recommandés et sources alimentaires du zinc.....	11
3.1. Apports quotidiens du zinc.....	11
3.2. Sources alimentaire du zinc.....	12

4. Métabolisme du zinc	14
4.1. Absorption.....	14
4.2. Transport	15
4.3. Métabolisme.....	15
4.4. Excrétion	16
5. Rôle physiologique du zinc	17
5.1. Rôle antioxydant du zinc.....	18
5.2. Relations entre le zinc et l'insuline	18
5.3. Implications du zinc dans le système immunitaire	20
5.4. Autres rôles biologiques du zinc	20
➤ Fonctions neurologiques	20
➤ Croissance et multiplication cellulaire.....	20
➤ Reproduction.....	21
6. Carence en zinc	21
➤ Les symptômes de la carence en zinc	22
7. Apport supplémentaire et toxicité	23

CHAPITRE III : Le stress oxydant

1. Introduction	24
2. Les radicaux libres	25
3. Principales ERO de l'organisme et mécanismes de leur production	25
4. Intérêts des radicaux libres dans la physiologie cellulaire	28
5. Dégâts oxydatifs cellulaires	31
5.1. La peroxydation lipidique	31
5.2. L'oxydation des sucres.....	32
5.3. L'oxydation des protéines	33
5.4. L'oxydation de l'ADN	34
6. Systèmes de défenses antioxydants.....	35
6.1. Systèmes enzymatiques	36
6.1.1. Superoxydes dismutases (SODs)	37
6.1.2. Glutathion peroxydases (GSH-Px)	37
6.1.3. Glutathion réductase (GR).....	37

6.1.4. Catalases (CAT).....	38
6.1.5. Glutathion-S-Transférases (GSTs).....	38
6.2. Systèmes non enzymatiques	39
6.2.1. Glutathion réduit (GSH)	39
6.2.2. Vitamine E (tocophérol)	40
6.2.3. Vitamine C (Acide ascorbique)	40
6.2.4. Vitamine A.....	41
6.2.5. Oligoéléments	41
➤ Le sélénium.....	42
❖ Glutathion peroxydase	42
❖ Thiorédoxine réductase.....	42
❖ Sélénoprotéine P	43

CHAPITRE IV : Le diabète et le stress oxydant

1. Mécanismes impliqués dans la genèse d'un stress oxydant dans le diabète ...	44
1.1. Autoxydation du glucose	45
1.2. Glycation des protéines.....	45
1.3. Voie du polyol.....	47
1.4. Activation des protéines kinases C (PKC).....	48
1.5. Voie de l' hexosamine.....	48
1.6. Augmentation de la production des radicaux libres par la mitochondrie	49
2. Altération des défenses antioxydantes au cours de diabète	50
3. Impact du stress oxydant sur les cellules β et sur l'action de l'insuline	50
4. Effet de la carence en zinc sur le stress oxydant au cours de diabète	51

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I : Matériels et méthodes

1. Matériel biologique et conditions d'élevage.....	52
---	----

2.	Induction du diabète.....	52
3.	Préparation de la nourriture	53
4.	Traitement des animaux.....	55
5.	Sacrifices et prélèvements des échantillons.....	55
5.1.	Prélèvement sanguin	55
5.2.	Prélèvement des organes	56
6.	Dosage du zinc.....	58
7.	Méthodes de dosage des paramètres biochimiques	59
7.1.	Dosage du glucose	59
7.2.	Dosage des lipides totaux.....	59
7.3.	Dosage des triglycérides	59
7.4.	Dosage du cholestérol	60
7.5.	Dosage des protéines totales	61
7.6.	Dosage d'albumine	61
7.7.	Dosage d'urée	61
7.8.	Dosage de créatinine	62
7.9.	Dosage d'acide urique	62
7.10.	Dosage de bilirubine totale et directe.....	62
7.11.	Dosage de l'activité d'aspartate aminotransférase ASAT (TGO).....	63
7.12.	Dosage de l'activité d'alanine aminotransférase ALAT (TGP).....	63
7.13.	Dosage de l'activité de la phosphatase alcaline (ALP)	64
7.14.	Dosage de l'activité de Lactate déshydrogénase (LDH)	64
7.15.	Dosage de l'activité d' α -amylase	64
7.16.	Dosage du glycogène hépatique.....	65
8.	Dosage des paramètres du stress oxydatif	66
8.1.	Préparation de l'homogénat	66
8.2.	Dosage des protéines hépatiques.....	66
8.3.	Dosage de malondialdéhyde (MDA)	67
8.4.	Dosage du glutathion réduit (GSH)	68
8.5.	Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px).....	70
8.6.	Dosage de l'activité du glutathion S-Transférase (GST)	71
8.7.	Dosage de l'activité du catalase (CAT)	72
9.	Traitement statistique des résultats	72

CHAPITRE II. Résultats

1. Effet du traitement par la vitamine C sur les rats diabétiques	73
1.1. Etude de la croissance corporelle et la consommation alimentaire.....	73
1.2. Etude de statut du zinc dans l'organisme	75
1.3. Etude des paramètres biochimiques	79
1.3.1. Profile glucidique (glucose et glycogène)	79
1.3.2. Profile lipidique (lipides totaux, triglycérides, cholestérol)	79
1.3.3. Profile protéique	83
➤ Protéines totales et albumine	83
➤ Urée et créatinine	83
➤ Acide urique	84
➤ Bilirubine totale et directe.....	84
1.3.4. Paramètres enzymatiques	89
➤ Transaminases.....	89
➤ Phosphatase alcaline (ALP) et lactate déshydrogénase (LDH)	89
➤ α -amylase	90
1.4. Etude des paramètres de stress oxydatif.....	93
1.4.1. Malondialdéhyde (MDA)	93
1.4.2. Glutathion réduit (GSH)	93
1.4.3. Glutathion peroxydase (GSH-Px) et catalase	93
1.4.4. Glutathion-S-Transférase (GST)	94
2. Effet du traitement par le sélénium sur les rats diabétiques.....	98
2.1. Etude de la croissance corporelle et la consommation alimentaire.....	98
2.2. Etude de statut du zinc dans l'organisme	100
2.3. Etude des paramètres biochimiques	104
2.3.1. Profile glucidique (glucose et glycogène)	104
2.3.2. Profile lipidique (lipides totaux, triglycérides, cholestérol) ...	104
2.3.3. Profile protéique	108
➤ Protéines totales et albumine	108
➤ Urée et créatinine	108

➤ Acide urique	109
➤ Bilirubine totale et directe.....	109
2.3.4. Paramètres enzymatiques	114
➤ Transaminases.....	114
➤ Phosphatase alcaline (ALP) et lactate déshydrogénase (LDH)	114
➤ α -amylase	114
2.4. Etude des paramètres de stress oxydatif.....	118
2.4.1. Malondialdéhyde (MDA)	118
2.4.2. Glutathion réduit (GSH)	118
2.4.3. Glutathion peroxydase (GSH-Px) et catalase	118
2.4.4. Glutathion-S-Transférase (GST)	119
CHAPITRE III. Discussion.....	123
Conclusion générale et perspective.....	135
Références Bibliographiques.....	137
Annexes	165
Publication Scientifique.....	181
Communications Orales et Affichées	189

Introduction Générale

INTRODUCTION GENERALE

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2011), plus de 220 millions de personnes sont touchées par des troubles du métabolisme glucidique regroupés sous le terme de "diabète". Cette pathologie est devenue un véritable problème de santé publique, considérée comme une pandémie par l'OMS (Wild et al., 2004). Selon l'OMS, l'Algérie en compte 5 millions tout diabète confondu (Guermaz et al., 2008). Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultante d'un défaut de la sécrétion de l'insuline et/ou de l'action de cette hormone (Sharma et al., 2008).

La présence de l'hyperzincurie et la basse absorption intestinale du zinc au cours de diabète ont approuvé la spéculation que les diabétiques sont plus susceptibles au carence du zinc (Shahidul and Loots, 2007). Le zinc (Zn), élément trace essentiel, intervient comme cofacteur de plus de 200 métalloenzymes impliquées dans de différents processus métaboliques (Favier and Favier, 2005). Il est également impliqué dans le métabolisme d'insuline. Par conséquent, la carence en zinc pourrait affecter la production, le stockage et la sécrétion d'insuline (Bellomo et al., 2011).

Il est aujourd'hui bien admis par la communauté scientifique que l'hyperglycémie est l'une des causes majeures de stress oxydant, qui contribue elle-même de façon importante à l'évolution des complications diabétiques (Malardé, 2012).

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des radicaux libres (RL) d'une part et ceux des défenses antioxydantes d'autre part (Browne et al., 2008 ; Powers et al., 2010).

Etant donné l'implication du stress oxydant dans les complications de diabète, on peut offrir une option thérapeutique unique pour le traitement du diabète en employant des antioxydants ou des micronutriments de capacité antioxydante élevée (Taylor, 2005).

La vitamine C, également connue sous le nom d'acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble possède des actions antioxydantes, anticarcinogéniques, et immunomodulatrices (Villacorta et al., 2007). La vitamine C est un important antioxydant, elle participe à la dégradation des radicaux libres oxygénés, ce qui assure une protection contre les dommages oxydatifs moléculaire (Konopacka, 2004).

Le sélénium est un micronutriment d'une grande importance en nutrition humaine. Connu d'abord comme un puissant antioxydant, le sélénium exerce beaucoup d'autres fonctions biologiques, ceci grâce à un éventail des protéines auxquelles il est associé (sélénoprotéines). Il intervient, en particulier, dans la protection antioxydante contre les radicaux libres impliqués dans certaines maladies chroniques, dans la lutte contre certains cancers ou dans la fonction immunitaire. Le sélénium est un élément essentiel de la glutathion peroxydase (GSH-Px), une enzyme antioxydante (Rakotovao, 2009).

Au vu de ces données, dans notre étude nous allons en premier temps présenter quelques connaissances dans la partie bibliographique sur :

Le diabète sucré, le zinc, le stress oxydatif, l'implication du stress oxydatif dans la pathologie du diabète.

Puis dans la partie expérimentale, nous allons nous intéresser aux effets de la vitamine C et de sélénium sur le stress oxydatif provoqué par la carence en zinc dans la nourriture des rats diabétiques en évaluant les aspects suivants :

- ☞ L'étude des paramètres de croissance ;
- ☞ L'étude de statut du zinc dans l'organisme ;
- ☞ L'étude de quelques paramètres biochimiques ;
- ☞ L'exploration du système antioxydant : MDA, GSH, GSH-Px, GST et CAT.

Etude Bibliographique

CHAPITRE I

Le diabète sucré

LE DIABETE SUCRE

1. Histoire de diabète

Le terme diabète vient du grec « dia-baino » qui signifie traverser. Il caractérisait des personnes ayant une maladie dramatique qui entraînait une mort rapide chez des sujets jeunes. Brièvement résumé, l'histoire du diabète commence au XVII^{ème} siècle notamment avec Thomas Willis qui fut l'un des premiers à décrire la présence de sucre dans l'urine des patients diabétiques. Il distingue alors la maladie diabétique en 2 classes : le diabète sucré dit « mellitus » et le diabète insipide dit « insipidus ». En 1869, Paul Langerhans montre que le pancréas contient non seulement des cellules sécrétant du suc pancréatique, mais un autre type de cellules dont il ignore la fonction. Ces cellules porteront plus tard son nom. Ultérieurement, les travaux de Claude Bernard sur la fonction glycogénique du foie permettront à Oscar Minkowski et Joseph Von Mehring d'établir le rôle du pancréas en 1886 à l'université de Strasbourg. En fin, l'insuline sera découverte en 1921 par Frederick Banting et Charles Best (Vivot, 2012).

2. Définition de diabète sucré

Le diabète sucré est aujourd'hui considérée comme une maladie dégénérative majeure dans le monde, menaçant d'une manière croissante, la santé publique (Saha et al., 2012).

Le diabète sucré est un trouble métabolique caractérisé par la présence d'une hyperglycémie attribuable à un défaut de la sécrétion d'insuline et/ou de l'action de l'insuline. L'hyperglycémie chronique liée au diabète est associée à d'importantes séquelles à long terme, particulièrement à des lésions, des anomalies et une insuffisance de divers organes, surtout les reins, les yeux, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins (l'Association canadienne du diabète, 2008).

Le diagnostic de diabète répond à une définition clinico-biologique : soit une glycémie veineuse aléatoire supérieure à 2 g/l et des signes cliniques (amaigrissement, soif intense, fatigue..), soit une glycémie veineuse à jeun supérieure à 1.26g/l à deux reprises (COPIL PRSP MCV, 2009).

➤ L'insuline

L'insuline, la seule hormone hypoglycémiante, est sécrétée par les cellules des îlots de Langerhans du pancréas. Elle stimule l'absorption du glucose sanguin par les tissus dits insulino-dépendants (le foie, le muscle squelettique et le tissu adipeux) et son stockage sous forme de glycogène (glycogénèse). Dans le foie, l'insuline inhibe également les voies métaboliques de la production du glucose (la néoglucogénèse et la glycogénolyse) (Denis, 2002).

3. Classification de diabète

Il existe différents types de diabètes n'ayant pas tous la même origine et ne se soignant donc pas tous de la même façon. En effet, d'après l'ADA (American Diabetes Association), nous pouvons distinguer quatre grands types de diabètes (American Diabetes Association, 2012).

3.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 (DT1), également appelé diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile, qui touche 10% de diabétiques à travers le monde (Gallagher et al., 2011). Le DT1 est une maladie auto-immune se déclarant le plus souvent au cours de l'enfance ou de l'adolescence. Il est caractérisé par une baisse de la sécrétion d'insuline par le pancréas, voire une absence totale de sécrétion. Les causes d'apparition de cette maladie ne sont toujours pas claires : des chercheurs pensent qu'une prédisposition génétique et certains facteurs liés à l'environnement contribuent au développement du DT1 ce qui a pour conséquence la destruction de cellules β du pancréas par des anticorps (figure 1) (Gallagher et al., 2011). D'autres pensent qu'un virus peut être à l'origine de la maladie et inciterait le système immunitaire à attaquer le pancréas. Comme les cellules du pancréas qui secrètent normalement l'insuline sont détruites, une personne atteinte de DT1 devra recevoir de l'insuline toute sa vie, grâce à des injections quotidiennes (Lecompte, 2012).

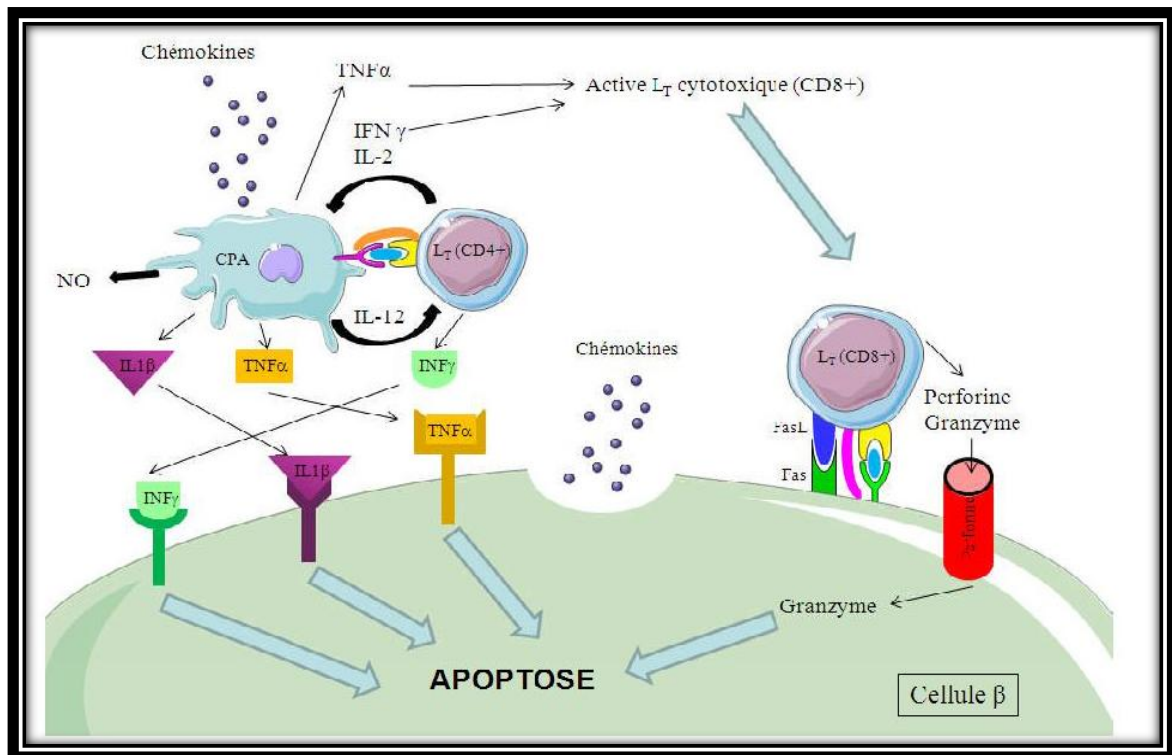


Figure 1: Mécanisme de destruction auto-immune de la cellule β dans le diabète de type 1 (Pirot et al., 2008)

3.2. Diabète de type 2

La majorité des cas de diabète sont de type 2 (DT2) également appelés diabètes non-insulinodépendants ou diabètes de la maturité. Ce type de diabète touche généralement les personnes après 50 ans (Grimaldi, 2004), même si on observe de nos jours une augmentation de l'incidence chez l'enfant (International Diabetes Federation, 2006). Longtemps asymptomatique, des nombreuses personnes ignorent leur état diabétique. En effet, c'est une pathologie qui se développe en deux étapes :

- ✓ Tout d'abord un état d'insulino-résistance s'installe, le pancréas devant produire toujours d'avantage d'insuline pour réguler la glycémie,
- ✓ Puis, après plusieurs années, vient la phase d'insulino-déficience, où le pancréas ne produit plus assez d'insuline (figure 2).

Il est ainsi très difficile d'évaluer la véritable incidence du diabète dans une population. Saudek et al. (2008) estiment à un tiers la proportion de personnes ignorant être diabétique et le temps moyen entre la déclaration de la maladie et le diagnostic à 7 ans.

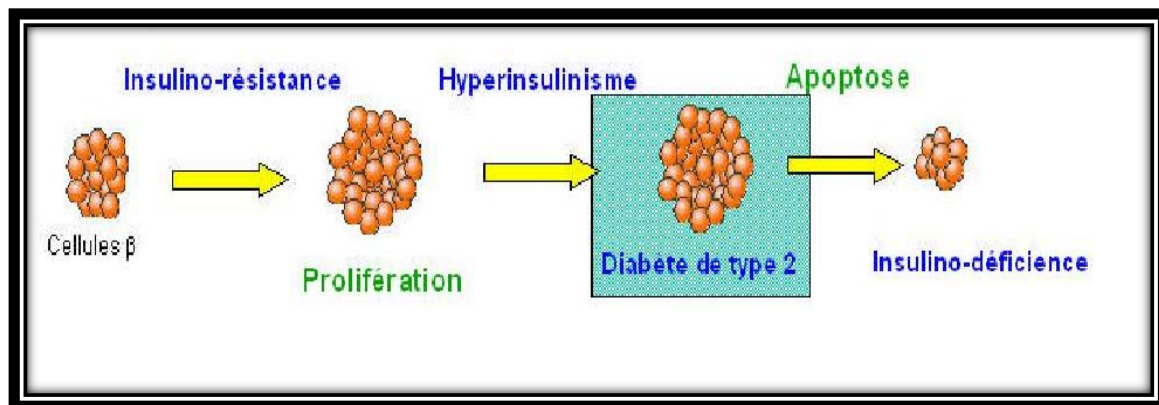


Figure 2: Hyperinsulinisme et diabète de type 2 (Auberval, 2010).

3.3. Diabète gestationnel

Chez certaines femmes enceintes, suite à l'augmentation de l'insulino-résistance au cours de la grossesse, des cas de diabètes gestationnels peuvent être observés. Ces diabètes peuvent être contractés au cours du 2^{ème} trimestre de grossesse et surviennent chez environ 4% des femmes enceintes mais, contrairement aux DT1 et DT2, ils disparaissent après l'accouchement.

Cependant, il est essentiel de surveiller les cas de diabètes gestationnels car à long terme, les femmes ayant contracté cette maladie risquent de développer un DT2 (Buchanan et al., 2012).

3.4. Diabètes secondaires

Il existe des diabètes dits secondaires correspondant à des formes plus rares de diabète. Ils sont dus à des défauts génétiques des cellules β -pancréatiques (tels que les diabètes de type MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) ou de l'action de l'insuline (tels que le syndrome de Rabson Mendenhall ou le diabète lipoatrophique),

des maladies du pancréas exocrines (telles que la pancréatite, la néoplasie, la fibrose kystique ou encore l'hémochromatose), des endocrinopathies (tels que l'acromégalie, l'hyperthyroïdisme, le syndrome de Cushing), des diabètes induits par des drogues, des produits chimiques ou encore des infections (Alberti and Zimmet, 1999).

Diabète expérimental

L'installation du diabète chez les modèles animaux se fait soit spontanément soit par induction chirurgicale, chimique, immunologique ou par sélection ou génie génétique.

➤ Diabète induit par les substances chimiques

L'induction du diabète expérimental chez les animaux par les substances chimiques qui détruisent sélectivement les cellules β pancréatiques est très commode et leur utilisation est simple. Les substances les plus habituelles pour induire le diabète chez le rat sont l'alloxane et le streptozotocine (McLetchie, 2002).

Diabète induit par l'alloxane

L'alloxane est le produit résultant de l'oxydation de l'acide urique par l'acide nitrique. Il est utilisé sous forme d'injections pour induire expérimentalement un diabète de type 1. La dose d'alloxane requise pour induire un diabète dépend de l'espèce animale, de la voie d'administration et du statut nutritionnel. Chez le rat nourri, la dose habituellement utilisée en intra-veineuse est de 65 mg/kg. En intra-péritonéale et en sous-cutanée, cette dose est deux à trois fois plus élevée (Szkudelski, 2001).

La toxicité de l'alloxane sur les cellules bêta du pancréas est le résultat de plusieurs processus complexes, comprenant l'oxydation de groupements thiols, l'inhibition de la glucokinase, des perturbations dans l'homéostasie calcique intracellulaire, et la génération d'ERO et ERN (Cohen and Heikkila, 1974).

4. Le traitement médicamenteux du diabète

Le premier objectif du traitement de diabète consiste à maintenir une glycémie plasmatique aussi près que possible de la normale, sans provoquer d'hypoglycémie. L'atteinte et le maintien d'une maîtrise adéquate de la glycémie permettent de prévenir les complications à long terme de diabète.

Pour atteindre ces objectifs, plusieurs thérapeutiques sont à notre disposition. Un régime alimentaire bien équilibré en glucides, en protéines et en lipides (Gin and Rigalleau, 1999), ainsi que l'exercice physique (Charbonnel and Cariou, 1997) sont des composantes essentielles du traitement de diabète sucré.

Les années 90 ont été marquées par des avancées majeures dans le domaine des médicaments hypoglycémisants oraux, qui peuvent être regroupés en trois classes :

- ✓ Les sulfamides hypoglycémisants (sulfonylurées), qui stimulent la production d'insuline ; par les cellules β du pancréas en les sensibilisant à l'action du glucose. Leur action sur la cellule bêta se fait par le biais de l'inhibition des canaux potassiques et de l'activation des canaux calciques aboutissant à l'insulino-sécrétion (Cozma et al., 2002).

- ✓ Les biguanides classés en deuxième lieu n'agissent pas sur la sécrétion insulinaire, ce sont des potentialisateurs d'effets de l'insuline. La seule metformine représente la famille d'antidiabétiques dont le mode d'action se situe au niveau du foie et des tissus cibles de l'insuline (diminution de la production hépatique du glucose et augmentation de la sensibilité périphérique à l'insuline) (Cheng and Fantus, 2005).

- ✓ L'alpha-glucosidase est une enzyme située dans l'intestin grêle. Elle transforme les polysaccharides en monosaccharides. L'inhibition de cette enzyme ralentit la digestion des glucides et diminue leur absorption, aboutissant à une baisse des glycémies post-prandiales et de l'HbA1c (Cheng and Fantus, 2005 ; Henquin, 2005).

Encore, l'insulinothérapie occupe une place importante dans l'arsenal thérapeutique du diabète de type 1. L'insulinothérapie sous-cutanée adaptée sur les

résultats des glycémies capillaires. La plupart des insulines actuellement utilisées sont des insulines dites "humaines" biosynthétiques, produites par génie génétique dont la structure est identique à celle de l'hormone native (Rodier, 2001).

Dans le cas de diabète de type 2 l'insulinothérapie est donnée en association avec d'autres antidiabétiques oraux, en cas d'obésité morbide, et en cas de carence insulinique (maladie évoluée) (Henquin, 2005).

4.1. Les différents types d'insulines

Les insulines disponibles sur le marché médicamenteux sont classées en fonction de leur durée d'action.

4.1.1. Les insulines d'action rapide

Ce sont des insulines solubles d'action courte. Elles s'injectent avant le repas, dans le tissu sous cutané sous forme d'hexamères avant de se dissocier lentement en dimères puis en monomères. Les hexamères et dimères pénètrent plus lentement dans les parois des vaisseaux capillaires que les monomères, d'où la nécessité d'une injection avant les repas, pour permettre la dissociation des hexamères (Viallette, 2006).

4.1.2. Les insulines d'action intermédiaire

Elles sont représentées par les insulines de type NPH pour Neutral Protamine Hagedorm (nom du chercheur Danois qui en 1935 a permis l'obtention d'une insuline d'action prolongée par combinaison de l'insuline avec la protamine). Ces insulines sont sous forme de suspension, par conséquent la voie intraveineuse est exclue.

La protamine est une protéine extraite de la laitance de poisson. Son adjonction à l'insuline à pH neutre, diminue sa solubilité et le complexe insuline-protamine précipite. Ainsi, on obtient des insulines sous forme de suspension.

Injecté en sous cutané, le complexe subit une protéolyse enzymatique qui libère progressivement l'insuline. Lorsque la protamine et l'insuline sont en quantité égale dans la préparation, autrement dit en proportions isophanes, il se forme en présence de

trace du zinc, un complexe où l'insuline prédomine et cristallise. On parle alors d'insuline isophane ou NPH. Mais quand il existe un excès de protamine, il est nécessaire d'avoir un excès du zinc pour stabiliser le complexe. Dans ce cas, la forme amorphe de l'insuline prédomine, c'est ce que l'on appelle une insuline protamine-zinc (Devos, 2008).

4.1.3. Les insulines biphasiques (mixtes et prémélangées)

Elles associent en proportion fixe une fraction d'insuline rapide en solution permettant une action initiale rapide et une fraction d'insuline intermédiaire en suspension assurant l'effet retard. La stabilité de la fraction rapide de ces insulines biphasiques n'est cependant pas parfaite. Leur aspect est laiteux après remise en suspension. En faisant varier les quantités respectives d'insuline rapide et d'insuline semi-lente, chaque laboratoire peut commercialiser toute une gamme d'insuline biphasique (Halimi, 1994).

4.1.4. Les insulines d'action lente

Les insulines d'action lente sont représentées aujourd'hui seulement par la classe des analogues lents. En effet, le principe des préparations d'insuline lente ou ultralente reposait traditionnellement sur l'agent retardant comme le zinc et ne permettaient pas d'obtenir un profil dénué de pic caractéristique de l'insuline endogène (Benammar, 2009).

CHAPITRE II

Le Zinc

LE ZINC

1. Historique

La découverte du zinc dans les milieux biologiques est forte ancienne : en 1869, Raulin montrait la nécessité du zinc pour la croissance d'*Aspergillus niger*. En 1877, cette découverte était confirmée par des travaux chez les végétaux (Lechartier and Bellamy, 1877) et sur le foie humain (Raoult and Breton, 1877). Puis en 1934, on mettait simultanément en évidence le caractère indispensable de cet élément pour la souris et le rat, et que son déficience a eu comme conséquence le retard de croissance, la perte de cheveux, l'épaississement et l'hyperkeratinization de l'épiderme et atrophie testiculaire (Bertrand and Bhattacharjee, 1934 ; Todd et al., 1934).

En 1961, Prasad a montré que l'insuffisance du zinc chez les Iraniens a causé le nanisme, l'hypogonadisme, l'hépatosplénomégalie, la peau sèche et rêche, l'anémie ferriprive (Prasad et al., 1961).

L'US Food and Nutrition Board a finalement déclaré en 1974 que le zinc était un nutriment essentiel et des recommandations officielles ont ensuite été faites sur son apport (Imoberdorf et al., 2010).

Depuis cette date, de nombreux travaux ont été publiés concernant le métabolisme, le rôle ou le lien avec des pathologies humaines de cet élément.

2. Propriétés physico-chimiques

Dans la classification périodique des éléments de Mendeleïev, le zinc est situé dans la colonne II B, à droite des métaux de transition. Il est caractérisé par le remplissage complet de ses couches électroniques externes: configuration $3d^{10}4s^2$. Contrairement aux métaux de transition, le zinc ne peut pas perdre d'électrons situés sur sa couche externe 3d, à cause de son potentiel d'ionisation tertiaire très élevé (40.0 eV). Bien que le potentiel d'ionisation secondaire du zinc soit élevé (17.89 eV) par rapport au potentiel d'ionisation primaire (9.39 eV), le cation doublement chargé est suffisamment inerte pour exister en solution aqueuse, ce qui n'est pas le cas du cation mono chargé. Le zinc ne possède donc que deux états de valence, qui correspondent

aux états d'oxydations: Zn(0) (configuration $3d^{10}4s^2$) et Zn(II) (configuration $3d^{10}$) (Cotton and Wilkinson, 1962).

Le zinc possède cinq isotopes stables (Holden, 1994), dont les abondances naturelles relatives sont reportées dans le tableau 1.

C'est un oligo-élément présent naturellement dans la croûte terrestre. Certains composés du Zn (chlorures ($ZnCl_2$), sulfates ($ZnSO_4$), acétate ($(CH_3COO)_2 Zn \cdot 2H_2O$), nitrate ($ZnNO_3$)) sont plus toxiques que d'autres. En raison de leur solubilité, le taux d'absorption du zinc dépend de la taille des particules et de la solubilité des espèces porteuses et donc de sa spéciation (Adamson et al., 2000).

Le zinc est une poudre grise dont les caractéristiques physico-chimiques sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 1 : Abondances naturelles relatives des isotopes du zinc (Holden, 1994)

Masse	Abondance naturelle relative (%)
64	48.63
66	27.90
67	4.10
68	18.75
70	0.62

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du zinc (Samsonov, 1973).

Propriétés physico-chimiques	
Numéro atomique :	30
Masse atomique :	65.38 g
Aspect :	poudre grise
Structure du cristal :	Hexagonale
Température de fusion :	419.58°C
Température d'ébullition :	907
Densité :	7.14g/cm ³
Rayon ionique Zn ⁺² :	0.74 Å

Le zinc résiste à la corrosion atmosphérique, par formation d'une couche imperméable de carbonate basique $3 \text{ Zn(OH)}_2, 2 \text{ ZnCO}_3$.

Il a des propriétés électrochimiques fortement anodiques, une grande électronégativité par rapport à l'acier, d'où utilisation pour la protection contre la corrosion par revêtement (galvanisation) suivant divers procédés. Il est utilisé à l'état laminé pour la fabrication de plaques de photogravure et couvertures de bâtiment (Dupeux, 2005).

3. Apports recommandés et sources alimentaires du zinc

3.1. Apports quotidiens du zinc

Le zinc est certainement le micronutriment dont la biodisponibilité est la plus sensible aux déficits, en raison des nombreux facteurs alimentaires qui peuvent interférer avec cet élément. Certaines interactions sont bien décrites, notamment avec le fer, le calcium et les phytates qui diminuent son absorption, ou avec le thé, les fructo-oligosaccharides qui la favorisent. La biodisponibilité du zinc varie selon les situations physiologiques. Ainsi, avec l'âge, la capacité d'absorption diminue alors qu'elle augmente au cours du dernier trimestre de la grossesse et en cas d'allaitement (Martin, 2001 ; Seve and Favier, 2002). Certains facteurs environnementaux

augmentent les besoins en zinc ; La consommation de tabac, d'alcool, les polymédications ou la survenue de maladies comme le diabète, qui en augmentant la fuite urinaire de cet élément, diminuent le statut en zinc devraient s'accompagner d'une augmentation des apports en zinc, des efforts physiques importants peuvent également conduire à une forte élimination du zinc par la sueur (13.7 mg/j versus 0.8 mg/j chez les sédentaires) et par l'augmentation de l'excrétion urinaire. Cette perte est prise en considération avec une augmentation des ANC chez les sportifs (Martin, 2001). Les apports quotidiens en zinc sont présentés dans le tableau 3.

3.2. Sources alimentaire du zinc

Le zinc se retrouve à des taux élevées essentiellement dans les viandes et les poissons ainsi que dans les fruits de mer, les céréales et les légumes secs. Les viandes rouges sont toutefois plus riches en zinc que les viandes blanches (Arnoud, 1987; Revy et al., 2003). En revanche les légumes verts, le sucre, les fruits et les boissons sont assez pauvres en zinc. La teneur en zinc de l'eau est variable. Les eaux de sources sont plus pauvres en zinc que les eaux de distribution.

La teneur en zinc du lait est, elle aussi, très variable. Alors que le lait de vache est pauvre en fer et très pauvre en cuivre, sa teneur en zinc est relativement élevée. Quant au lait humain, il est riche en zinc au début de la lactation, le colostrum contenant près de 20 mg/l, soit 306 $\mu\text{mol/l}$ de zinc, mais son taux baisse régulièrement puisqu'il ne contient plus que 0.6 mg/l, soit 9.2 $\mu\text{mol/l}$ au bout de quelques mois (Vallee, 1959). Le tableau 4 représente la quantité du zinc en mg dans 100 g d'aliment.

Tableau 3 : Apports recommandés en zinc (Martin, 2001).

Apport recommandé en zinc		
		mg/jour
Enfant	1-3 ans	6
	4-6 ans	7
	7-9 ans	9
	10-12 ans	12
Adolescent	13-15 ans	13
	16-19 ans	13
Adolescente	13-15 ans	10
	16-19 ans	10
Adulte	Homme	12
	Femme	10
	Femme enceinte	14
	Femme allaitante	19
Personne Agée	> 75 ans	12

Tableau 4 : Teneur en zinc des nourritures (Salgueiro et al., 2000).

Teneur en zinc des nourritures	
	mg de zinc/100g de nourriture
Blé entier *	10.00
Foie	5.10
Viande	3.20
Arachide	2.00-3.00
Caroubes	2.65
Maïs entier *	2.50
Chocolat	1.00-2.00
Poissons et mollusques et crustacés	1.50
Oignon	1.40
œuf	1.35
Seigle entier *	1.30
Céréales raffinées	0.50
Le lait	0.38

* faible biodisponibilité

4. Métabolisme du zinc

4.1. Absorption

Le zinc serait absorbé essentiellement au niveau de la bordure en brosse du jéjunum (bien que cette localisation demeure controversée) (figure 3), tant par voie active que par diffusion. La voie d'absorption active est saturable aux fortes concentrations du zinc dans la lumière intestinale. La seconde voie d'absorption est un procédé non saturable, qui dépend du gradient de concentration du zinc.

L'absorption active du zinc serait réalisée par le biais d'un transporteur de cations divalents au niveau de la bordure en brosse. Il y aurait donc une compétition entre les différents cations, ce qui expliquerait que la présence de calcium, fer, cuivre, magnésium ou manganèse inhibe l'absorption du zinc (Camara and Amaro, 2003). Certains composés, tels que l'acide picolinique sécrété par le pancréas, la vitamine B6 qui augmente les sécrétions d'acide picolinique, l'acide citrique et certains acides aminés (lysine, cystéine, histidine et méthionine), facilitent l'absorption du zinc (tableau 5) (Salgueiro et al., 2000).

Tableau 5: Facteurs modifiant l'absorption du zinc (Imoberdorf et al., 2010).

Facteurs stimulants	Facteurs inhibiteurs
Protéines animales	Hautes doses de fer, cuivre et calcium
Acides organiques (citrate)	Caséine
EDTA	Phytate
Peptides	phosphate
Formateurs de complexes tels qu'acides aminés (histidine, cystéine)	Fibres alimentaires telles que cellulose, hémicellulose, lignine

4.2. Transport

Le transport du zinc dans le sang est effectué par l'albumine, bien que d'autres composants de plasma puissent également lier le métal comme : α_2 -macroglobuline, transferrine, cystéine et histidine (Salgueiro et al., 2000).

La concentration du zinc dans le plasma est d'environ 15 $\mu\text{mol/l}$, dont 84% est lié à l'albumine, 15% est étroitement liée à l'alpha-2-macroglobuline et 1% aux acides aminés (Tapiero and Tew, 2003).

4.3. Métabolisme

La majorité du zinc plasmatique atteint le foie, où il est stocké sous forme de métalloprotéines liées au métallothionéines hépatiques. Les métallothionéines sont les protéines principales impliquées dans le métabolisme du zinc et ils sont des protéines

cytosoliques riche en cystéine, qui peuvent fixés sept atomes du zinc par molécule de protéine, mais ils peuvent également lier le cuivre avec une affinité plus élevée. Les isoformes 1 et 2 de métallothionéine sont fortement exprimés dans le foie, l'intestin, les reins et le pancréas et leur expression peuvent être induite par nombreux facteurs tels que des régimes riches en zinc, IL-1, IL-6, des glucocorticoids, le stress, etc... Leurs rôles biochimiques sont associés à la détoxification des métaux lourds, à la protection contre les radicaux libres, à la redistribution du zinc de corps en cas d'infection aiguë ou de stress et il s'avère que principalement le métallothionéine hépatique peut agir en tant que réservoir du zinc qui peut assurer la protection contre l'insuffisance du zinc. Le métallothionéine intestinal semble agir en tant que régulateur négatif d'absorption du zinc, et peut participer au flux intestinal du zinc de mucosa-lumen (Salgueiro et al., 2000).

L'organisme humain contient entre 2.0 et 2.5 g du zinc, principalement lié à des protéines. Le foie contient environ 5% du zinc total de l'organisme (Arnaud, 1995), c'est l'organe clé dans la régulation de métabolisme du zinc, en enlevant l'oligo-métal à partir du plasma, en le stockant, en métabolisant des ions du zinc et en les insérant dans diverses protéines et en redistribuant le zinc dans diverses formes dans la bile ou de nouveau à la circulation sanguine (Ballatori, 1991).

4.4. Excrétion

La voie fécale est prépondérante dans les conditions physiologiques. Le zinc fécal (environ 10 mg/j) correspond au zinc non absorbé (67%) des aliments et au zinc endogène (33%) (figure 3). L'excrétion fécale participe de façon importante à la régulation de l'homéostasie zincique. L'élimination rénale ne représente qu'environ 5% des apports quotidiens normaux. Le zinc filtré au niveau glomérulaire (2 mg/j) est réabsorbé au niveau du tubule distal et réexcrété au niveau proximal. Les métallothionéines rénales seraient un mécanisme de défense contre les fuites du zinc dans les urines (Arnaud, 1995).

Les autres fluides corporels (sueur, desquamation, sperme, lait) sont également des voies importantes d'élimination du zinc (Faa et al., 2008).

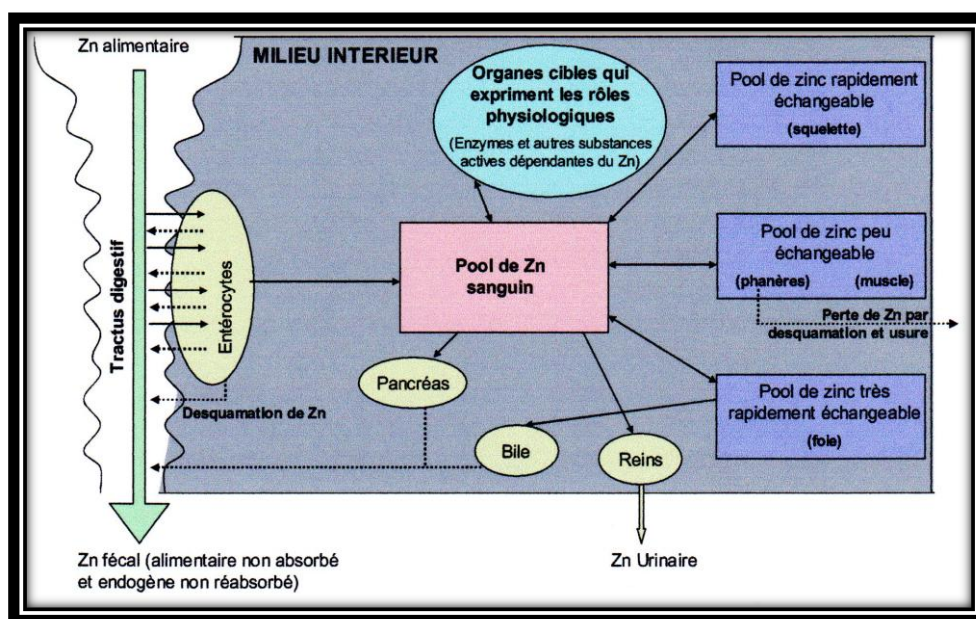


Figure 3 : Schéma des flux corporels du zinc (Schlegel, 2010).

5. Rôle physiologique du zinc

En tant que partie intégrante et cofacteur de plus de 300 enzymes et 2000 facteurs de transcription impliqués dans l'expression génique de différentes protéines, le zinc est impliqué dans pratiquement tous les domaines métaboliques (Prasad, 1993). Le zinc est indispensable à la croissance et au développement, à la maturation testiculaire, à des fonctions neurologiques, à la cicatrisation des plaies et aux défenses immunitaires. Il est nécessaire pour la préservation du goût et de l'odorat. Au niveau moléculaire, le zinc remplit des tâches structurales, régulatrices et catalytiques dans de très nombreux enzymes, il est important pour la configuration des protéines non enzymatiques (Imoberdorf et al., 2010).

Le zinc intervient ainsi dans la plupart des métabolismes (glucides, lipides, protéines et acides nucléiques). Au niveau des hormones (comme l'insuline), le zinc peut agir sur leur synthèse, leur sécrétion, leur activité, leur stabilité ou leur fixation tissulaire (Agett and Favier, 1993).

5.1. Rôle antioxydant du zinc

Le rôle antioxydant du Zn s'exerce indirectement en assurant la stabilisation de la Cu-Zn SOD (Forman and Fridovich, 1973). Le rôle du zinc semble toutefois bien moins important que celui de l'autre cofacteur, le cuivre. Au-delà de cette fonction, le zinc possède d'autres propriétés antioxydantes pour lesquelles le mécanisme précis reste encore incomplètement connu (Powell, 2000 ; Prasad et al., 2004).

➤ Le zinc inhibe la production des espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) par les métaux de transition, en entrant en compétition avec eux dans la réaction de Fenton. Il entrerait en compétition avec le fer et le cuivre, en diminuant, d'une part, leur absorption intestinale et, d'autre part, la chélation de ces derniers par la cystéine. Cependant, le fer lié à celle-ci peut transférer des électrons à l'oxygène et permettre la production d'anion superoxyde (Claeysen, 2009).

➤ Le zinc protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer ou par les ERO, en empêchant la formation des ponts disulfures intramoléculaires (Koukay et al., 1987).

➤ Le zinc joue un rôle important au niveau membranaire en ayant un effet stabilisateur.

➤ Le zinc est un inhibiteur de l'enzyme NADPH oxydase qui catalyse la production d'O₂^{•-} à partir d'O₂ (Prasad, 2008).

➤ Le zinc induit la production des métallothionéines, riches en cystéine, qui peuvent piéger les radicaux hydroxyles. Ceci entraîne la formation de ponts disulfures et ainsi, le relargage de zinc qui pourrait alors être capté par les membranes (Maret, 1995).

5.2. Relations entre le zinc et l'insuline

Il existe une relation physico-chimique entre le zinc et l'insuline, bien connue depuis des décennies. Dans les années 30 et avant l'existence de preuves biochimiques sur la relation entre le zinc et l'insuline dans les cellules β du pancréas, l'ajout du zinc aux doses d'insuline commerciale permettait de prolonger l'action de l'insuline et ainsi de diminuer le nombre d'injections aux diabétiques. Scott, (1934)

découvre la nécessité du zinc pour former les cristaux d'insuline. En effet, au cours de sa maturation, l'insuline est complexée sous forme d'hexamères avec deux atomes de Zn (figure 4). Ce complexe relativement peu soluble se cristallise dans les vésicules sécrétoires (Dunn, 2005). Des analyses en fluorescence ont permis de mettre en évidence que la concentration en Zn dans les îlots de Langerhans était en relation avec la synthèse, le stockage et la sécrétion d'insuline (Zalewski et al., 1994).

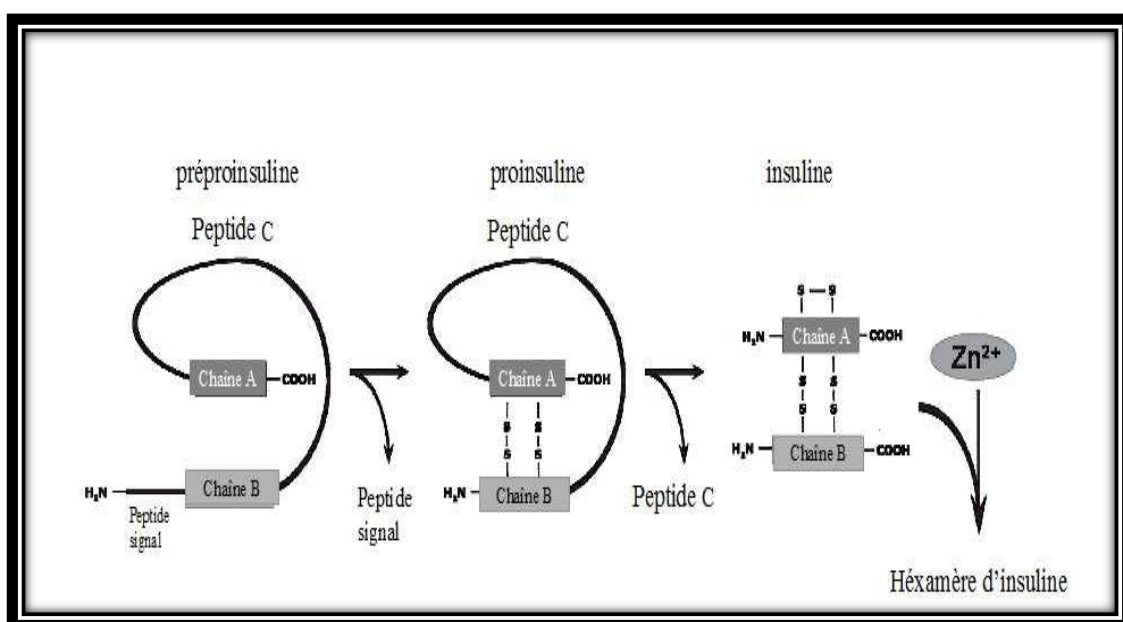


Figure 4: Biosynthèse de l'insuline (Skelin et al., 2010).

Le zinc intervient également dans la sécrétion d'insuline au niveau des îlots pancréatiques. La cascade de signalisation, induite par le glucose et permettant cette sécrétion, fait intervenir des canaux potassium ATP-dépendants (Rutter, 2004). Cependant, le zinc a été identifié comme étant un régulateur intra et extracellulaire de ces canaux potassiums (Prost et al., 2004). De plus, la liaison du Zn sur des résidus histidines des quatre sous-unités régulatrices SUR1 (« SulfonylUrea Receptor 1 ») active le canal (Bancila et al., 2005). Chimienti et al. (2004) découvre un nouveau gène SLC30A8, exclusivement exprimé dans les cellules β du pancréas, qui encode pour un transporteur de Zn, nommé ZnT-8, étroitement lié au processus de stockage et de relargage de l'insuline. D'autres transporteurs du Zn sont également présents tels

que ZnT-1, 2, 5 et Zip4, ZnT-5 est abondant au niveau de l'appareil de Golgi et des vésicules sécrétrices, lieux d'assemblage et de stockage du complexe Zn-insuline (Dufner-Beattie et al., 2004). Au total. Une telle présence de transporteurs membranaires de Zn est le corollaire d'un rôle déterminant du zinc dans le métabolisme d'insuline.

5.3.Implications du zinc dans le système immunitaire

Le zinc joue également un rôle important dans les fonctions immunitaires (Hirano et al., 2008). Il est vraisemblable que les réponses des cellules immunitaires soient régulées par l'homéostasie intracellulaire du Zn (Ibs, 2003). Le zinc joue un rôle important dans la régulation de l'activité du thymus (King et al., 2002) et dans l'expression des gènes des cellules T et dendritiques (Moore et al., 2001). Le zinc régule, également, l'activité de la tyrosine phosphatases qui influencent l'expression des cytokines (Prasad, 2008). Il est présent dans les mastocytes et permet la dégranulation et la production de cytokines (Kabu et al., 2006). Le zinc permet d'inhiber le facteur de transcription NFκB activé par des stimuli tels que les cytokines pro-inflammatoires (IL-1, TNF-α) (Prasad, 2008).

5.4.Autres rôles biologiques du zinc

➤ Fonctions neurologiques

Le zinc est, avec le fer, l'oligoélément le plus concentré dans le cerveau. Il contribue à la structure et participe au bon fonctionnement cérébral. Environ 90 % du zinc présent dans le cerveau est lié à des métalloprotéines (Bhatnagar and Taneja, 2001).

➤ Croissance et multiplication cellulaire

Le zinc joue un rôle important dans la croissance (Brandão-Neto et al., 1995). C'est un élément structural des membranes biologiques et étroitement lié à la synthèse des protéines (Rosado, 1998). Le concept des doigts de zinc explique le rôle du zinc dans l'expression de gènes et la fonction endocrine, et les mécanismes d'action du zinc impliquent les effets de ce métal sur la synthèse d'ADN, d'ARN, et la division

cellulaire (Ploysangam et al., 1997). Le zinc agit également avec des hormones importantes impliquées dans la croissance d'os telle que la somatomedine C, l'ostéocalcine, la testostérone et les hormones thyroïdiennes (Ortega et al., 1999). Le zinc est intimement lié au métabolisme des os, il agit positivement sur la croissance et le développement. La concentration du zinc dans l'os est très importante comparant à celle dans d'autres tissus, et on le considère un composant essentiel de la matrice calcifiée (Brandão-Neto et al., 1995).

➤ **Reproduction**

Le zinc joue un rôle essentiel dans la reproduction des mâles et des femelles. Il est nécessaire pour la synthèse et la sécrétion de l'hormone lutéinisante (LH) et de l'hormone stimulante de follicule (FSH), la différenciation gonadique, la croissance testiculaire, la formation et maturation des spermatozoïdes, la stéroïdogénèse et la fertilisation testiculaires. La supplémentation de zinc s'est avérée bénéfique dans la stérilité et l'impuissance chez les hommes et l'infertilité chez les femmes (Salgueiro et al., 2000).

6. Carence en zinc

Des apports insuffisants et une biodisponibilité diminuée en relation avec des apports riches en phytates (dans les céréales non raffinées) sont la cause la plus fréquente de déficits biologiques en zinc mais ceux-ci peuvent aussi être associés à une pathologie comme l'alcoolisme, l'insuffisance hépatique ou rénale, la malabsorption ou l'ostéoporose (Martin, 2001). Mais aussi les mono-supplémentations en calcium ou en fer sous forme de suppléments ou d'aliments fortifiés, en réduisant l'absorption du zinc, exposent à un risque de carence (Chung et al., 2002). Les sujets âgés en raison d'une insuffisance d'apport associée à des troubles de l'absorption dus au vieillissement des cellules de la muqueuse intestinale, sont particulièrement exposés à un risque de déficit. Dans d'autres situations physiologiques comme la grossesse, l'allaitement, les déficits sont associés à une utilisation accrue (Roussel and Hininger-Favier, 2009).

Les symptômes de la carence en zinc sont:

➤ Des cheveux peuvent être facilement plumés et alopécie évidente ; des cheveux noirs peuvent être changés en brun rougeâtre signés d'insuffisance du zinc (Maret and Sandstead, 2006).

➤ Les déficits en zinc ont été impliqués dans l'altération du goût (la gustine est une hormone à zinc) (Prasad, 2000).

➤ La carence en zinc diminue le renouvellement des entérocytes et la taille des villosités, ce qui peut expliquer une plus grande susceptibilité du système gastro-intestinal au déficit en zinc. Les diarrhées aggravent ce déficit, et entraînent dès les premiers jours une baisse des taux sanguins du zinc proportionnelle à la durée des troubles (Miller et al., 1968 ; Swinkels et al., 1996).

➤ Chez l'enfant et l'adolescent, le risque lié au déficit en zinc concerne surtout le retard de croissance et les troubles de maturation des gonades (Roussel and Hininger-Favier, 2009).

➤ La carence en zinc au cours de la grossesse entraîne des malformations surtout du squelette et du système nerveux central (Roussel and Hininger-Favier, 2009).

➤ les carences en zinc sont associées à une plus grande incidence des infections et à un défaut de cicatrisation des plaies lié aux dysfonctionnements de la fonction immunitaire (Seve and Favier, 2002).

➤ Les déficits en zinc sont également associés à une augmentation de l'apoptose des lymphocytes et à une lymphopénie (Kolenko et al., 2001).

➤ La diminution des activités des désaturases dans le déficit en zinc, en altérant le métabolisme des acides gras oméga 6 et oméga 3 essentiels à la croissance neuronale, pourrait être également le mécanisme, par lequel la carence en zinc a un effet sur les altérations cérébrales (Bhatnagar and Taneja, 2001).

➤ La dermatite semble être une manifestation postérieure à mesure que la sévérité de l'insuffisance du zinc augmente (Neldner et al., 1978 ; Weismann and Hoyer, 1982).

➤ Compte tenu de son rôle d'antioxydant biologique, il est permis de penser que les déficits en zinc peuvent être facteurs de risque de nombreuses pathologies comme les cancers, les maladies cardiovasculaires et le diabète. Le déficit en zinc est un

facteur de risque de dommages oxydatifs de l'ADN et de cancer, en entraînant non seulement des dommages sur l'acide nucléique, mais en diminuant la capacité des cellules à réparer ces dommages (Ho et al., 2003).

➤ Une carence en zinc diminue la capacité du pancréas à sécréter de l'insuline en réponse à une charge en glucose (Quarterman et al., 1966). L'apport faible en Zn aggrave le diabète par une réduction de l'assimilation du glucose par les tissus périphériques et/ou par une diminution de la disponibilité de l'insuline, seraient attribuées, respectivement, à une insulino-résistance périphérique (Faure et al., 1992), et à un dérèglement de la sécrétion de l'insuline et /ou à une dégradation de l'insuline circulante (Huber and Gershoff, 1973).

7. Apport supplémentaire et toxicité

Le zinc est très peu toxique, bien moins que d'autres métaux, nickel, mercure ou cadmium, qui s'accumulent dans les tissus et ont alors des effets délétères.

Des intoxications aiguës au zinc, par ex. après consommation d'aliments et d'eau de conteneurs zingués, provoquent des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements, de la fièvre et des vertiges. Des doses uniques de 225 à 450 mg du zinc induisent des vomissements. Mais de discrets troubles gastrointestinaux se manifestent déjà à des doses journalières du zinc de l'ordre de 50 à 150 mg. La prise chronique de 25 à 50 mg du zinc par jour peut faire diminuer l'absorption du cuivre (La maladie de Wilson, l'anémie Microcytaire et la neutropénie sont habituellement, la manifestation de cette interaction entre le cuivre et le zinc), augmenter la fraction LDL-cholestérol, diminuer la fraction HDL-cholestérol et compromettre le système immunitaire (Imoberdorf et al., 2010). L'inhalation d'oxyde du zinc peut causer ce que l'on appelle la « fièvre des fondeurs », caractérisée par les symptômes suivants : gorge sèche et douloureuse, toux, dyspnée, fièvre, douleurs musculaires, céphalée et goût métallique dans la bouche (Gordon et al., 1992). L'application sur la peau de 1 mg $\text{ZnCl}_2/\text{cm}^2$ à causer des brûlures chez la souris et le lapin (Lansdown, 1991). L'oxyde, le sulfate et le stéarate du zinc ne sont pas irritants. A noter que certaines préparations pharmaceutiques (collyres, crèmes...) et cosmétiques contiennent des composés du zinc à des concentrations allant jusqu'à 50 % (Claeyssen, 2009).

CHAPITRE III

Le stress oxydant

LE STRESS OXYDANT

1. Introduction

La notion de stress oxydant a été évoquée en 1956 par Denham Harman lorsqu'il émit l'hypothèse que le vieillissement serait dû en partie à une accumulation de dommages moléculaires et cellulaires provoqués par les **Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)** (Claeyssen, 2009). Le concept de stress oxydant fut développé par Sies et ses collaborateurs avec des termes synonymes tels que «stress pro-oxydant» ou «stress réducteur», décrivant le stress oxydant comme un déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants en faveur des premiers (figure 5) (Coste et al., 2007). Cette notion était modifiée en se définissant comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des ERO et ceux qui sont responsables de leur contrôle et élimination (Browne et al., 2008 ; Powers et al., 2010). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink et al., 2008). L'équilibre ou homéostasie redox est perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques par les ERO (Mac Laren, 2007).

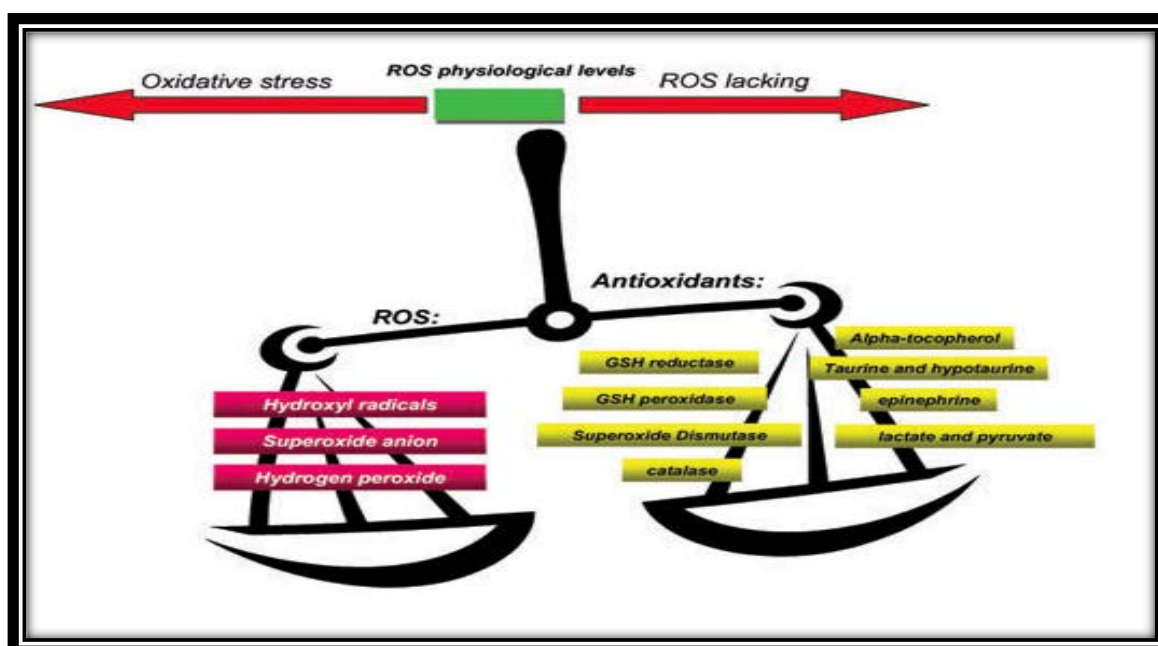


Figure 5 : Balance entre les pro-oxydants (ERO) et les antioxydants (Fontaine, 2007).

2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des composés réactifs qui ont un ou plusieurs électrons non appariés dans leur valence (Halliwell and Gutteridge, 2007). Il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (Exemple : $\cdot\text{OH}$) (Mac Laren 2007, Goto et al., 2008). Leur durée de vie est très courte allant de quelques millisecondes à quelques nanosecondes. Ils peuvent entraîner des lésions tissulaires en captant des électrons d'une molécule stable pour essayer d'apparier leurs propres électrons, laissant ainsi la molécule originale dans un état instable (Filaire and Toumi, 2012). Les DRO (**D**érivés **R**éactifs de l'**O**xygène) constituent la plus importante classe des espèces à radical libre qui soit formé dans les systèmes vivants (Finaud et al., 2006).

On peut distinguer les radicaux primaires, qui ont un rôle physiologique particulier et les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires (lipides, protéines, glucides...) (Favier, 2003 ; Gardès-Albert et al., 2003).

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

- Des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié (l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$, les radicaux hydroxyles $\text{HO}^{\cdot}$, peroxyde $\text{ROO}^{\cdot}$, alkoxyde $\text{RO}^{\cdot}$) (Favier, 2003).
- Des dérivés de l'oxygène non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ et le nitroperoxyde (ONOOH) mais qui sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs des radicaux libres (Favier, 2003).

3. Principales ERO de l'organisme et mécanismes de leur production

La principale source endogène d'ERO est la chaîne de transfert d'électron des mitochondries ; la production d'oxydant par les neutrophiles et les macrophages est également une source importante qui dépend de l'activité enzymatique de la NADPH-oxydase pendant l'emballlement oxydatif «respiratory burst» des cellules inflammatoires (Lamprecht et al., 2004, Wang et al., 2009). D'autres sources

dépendent d'enzymes comme les xanthines oxydases, les oxydases membranaires, les synthétases de l'oxyde nitrique, qui produisent physiologiquement des oxydants (Lamprecht et al., 2004, Radak et al., 2008). La présence de pro-oxydants peut transformer les oxydants en des formes plus réactives, comme par exemple, le fer qui favorise la transformation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en radical hydroxyle ($HO^\bullet$) (figure 6) (Kirschvink et al., 2008). Dans les mitochondries qui produisent en particulier des radicaux superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) et des H_2O_2 , la présence simultanée d'AGPI, des protéines, d'oxygène, d'électrons, et de fer, font des membranes mitochondriales un site particulièrement sensible aux attaques radicalaires (Kehrer, 2000). L'oxygène est l'accepteur final d'électron en provenance des substrats énergétiques, sa réduction ne peut se faire qu'un électron à la fois (réduction univalente) et de ce fait il résulte une production inévitable d'intermédiaires très réactifs. Il est estimé que 2 à 5% de l'oxygène consommé est transformé en $O_2^{\bullet-}$ (Finaud et al., 2006 ; Mac Laren, 2007).

Les Sources exogènes d'espèces réactives de l'oxygène sont surtout d'origine physique et chimique (ex. radiations X ou gamma, UV (315- 400 nm), radiolyse de l'eau, réactions photochimiques) (Belkheiri, 2010).

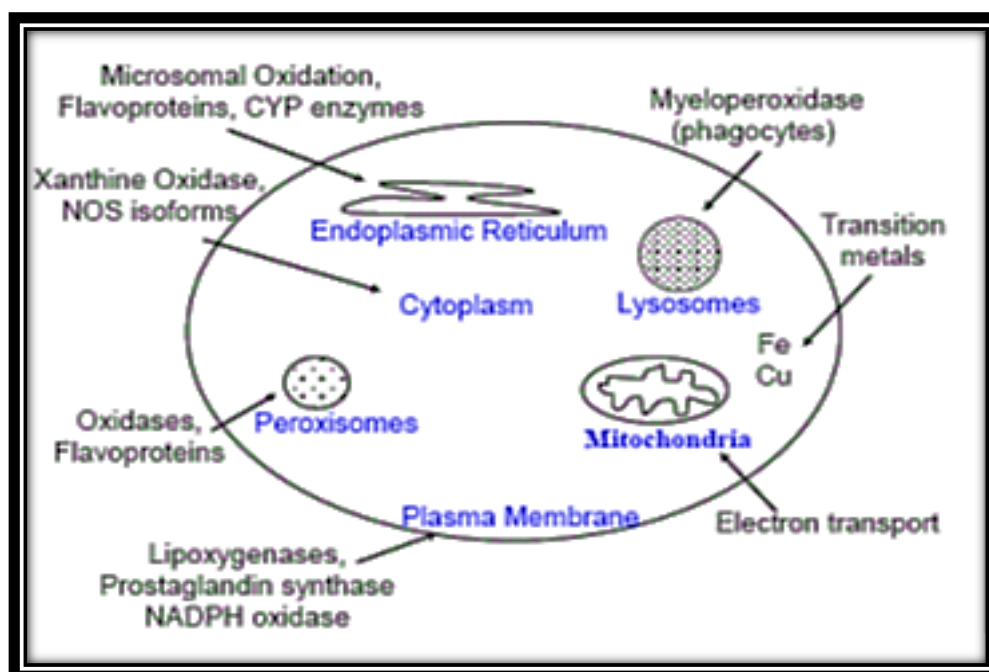
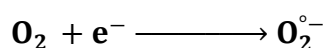


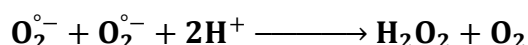
Figure 6 : Source endogènes des espèces réactives (Mercan, 2010).

❖ **L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$** : Il est principalement formé lors de la chaîne de transport des électrons au niveau des complexes I et III de la membrane interne des mitochondries, sous l'influence du coenzyme Q10 réduit, de l'enzyme NADH-déshydrogénase et en présence d'oxygène (Sayre et al., 2008). Le radical superoxyde est également formé sous l'influence de métalloenzymes endommagées ou altérées par mutation génétique et peut être produit par des NADPH oxydases au niveau des membranes des cellules du système immunitaire où il contribue à l'action bactéricide. Les enzymes xanthine oxydases rencontrées dans le cytosol pratiquement de tous les tissus sont capables de produire des radicaux superoxydes à partir de la base purique nucléotide hypoxanthine et d'oxygène (Lamprecht et al., 2004).



La réactivité du $O_2^{\bullet-}$ est limitée et son action sera plus le résultat des produits beaucoup plus agressifs qui en sont dérivés en particulier le radical hydroxyle ($HO^{\bullet}$) (Massart, 2011). Cette faible réactivité permet d'ailleurs son utilisation par l'organisme comme médiateur régulant des fonctions biologiques (Favier, 2003).

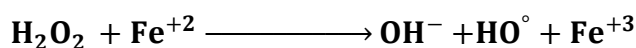
❖ **Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2** : Au niveau de la mitochondrie, sous l'action catalytique du superoxyde dismutase (SOD), le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ est réduit en peroxyde d'hydrogène.



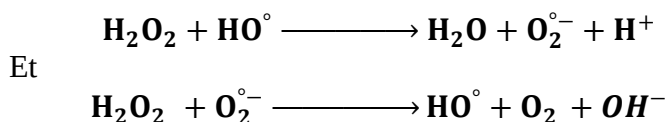
L' H_2O_2 bien que n'étant pas un radical libre joue un rôle important dans le stress oxydant. Il est non ionisé et de faible charge ce qui facilite sa diffusion à travers des membranes mitochondriales et cellulaires, ceci en fait un vecteur important de diffusion du radical hydroxyle ($HO^{\bullet}$), dont il est précurseur par réaction de Fenton/Haber-Weiss (Van Helden et al., 2009). Son rôle facilitateur en fait un des agents les plus actifs des dommages causés par oxydation aux macromolécules (Hempel et al., 2009, Van Helden et al., 2009). Il est également transformé en ERO ($HOCl$, $\bullet OH$) par les myéloperoxydases leucocytaires lors de la réaction inflammatoire qui peut accroître son effet toxique (Finaud et al., 2006).

❖ **Le radical hydroxyle $\text{HO}^\bullet$** : Le radical hydroxyle est extrêmement puissant et réagit indifféremment avec toutes les macromolécules, auxquelles il a un accès facilité par l' H_2O_2 (Duarte and Jones, 2007 ; Hempel et al., 2009 ; Van Helden et al., 2009). Il est produit à partir du H_2O_2 ou de l'oxyde nitrique, la réaction de Fenton/Haber-Weiss et les myéloperoxydases des cellules du système immunitaire en sont les sources principales. Le $\text{HO}^\bullet$ est un des oxydants les plus réactifs du système biologique, toutefois, sa courte demi vie d'approximativement 10^{-9} secondes en réduit considérablement la potentialité (Sayre et al., 2008, Goto et al., 2008).

Il est généralement présenté que l' H_2O_2 serait transformé en $\text{HO}^\bullet$ par une succession de réactions en chaîne initiée par la réaction de Fenton



Suivie de la réaction de Haber-Weiss en deux étapes (Massart, 2011).



❖ **L'oxygène singulet $^1\text{O}_2$** : Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité (Delattre et al., 2005).

Le radical superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et le radical hydroxyle $\text{HO}^\bullet$ sont encore appelés espèce réactive de l'oxygène (ERO) car ces espèces sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance. Toutefois, il existe d'autres ERO tels que les radicaux peroxydes $\text{ROO}^\bullet$, hydroperoxydes RO_2H ainsi que les radicaux alkoxydes $\text{RO}^\bullet$ et des espèces réactives d'azote (ERN) tels que le $^\bullet\text{NO}$ produit par le NO synthétase, qui est un vasodilatateur physiologique et le peroxynitrite ONOO^- issu de la réaction entre $\text{O}_2^{\bullet-}$ et le $^\bullet\text{NO}$ (figure 7), et qui est très néfaste pour les protéines et les gènes (Delattre et al., 2005).

4. Intérêts des radicaux libres dans la physiologie cellulaire

Les RL sont reconnus pour leur caractère ambivalent physiologique et physiopathologique (Lamprecht et al., 2004). Les effets physiologiques des ERO nécessitent de basses concentrations et contribuent à la synthèse de l'ADN, des

hormones stéroïdes, des acides biliaires, des acides gras insaturés, aux réactions dépendantes de la vitamine B12, à la biosynthèse des mitochondries, ... (Koolman and Rohm, 1999). Ils sont les médiateurs de multiples fonctions de signalisation (signaux redox) et de transcription essentielles pour le fonctionnement normal et la survie des cellules, ainsi que de la programmation de leur élimination (Kirschvink et al., 2008). Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire (Bouldjadj, 2009).

En contrepartie, à travers de réactions en chaîne, les ERO peuvent endommager la structure des macromolécules (acides nucléiques, protéines, lipides, hydrates de carbone) (figure 8), générer de nouveaux produits oxydants, provoquer de la toxicité cellulaire et des mutations génétiques (Sayre et al., 2008). Leur impact dépendra de la fréquence et de la durée des attaques, ainsi que des défenses spécifiques présentes dans les tissus attaqués (Bloomer and Fisher-Wellman, 2008). Les biomarqueurs des ERO ont été impliqués par des études cliniques et épidémiologiques dans de nombreuses maladies comme le diabète, les maladies respiratoires, les cancers, l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives, les ischémies reperfusion, l'inflammation, l'arthrite rhumatoïde et l'endométriose (figure 9) (Browne et al., 2008, Radak et al., 2008, Hempel et al., 2009).

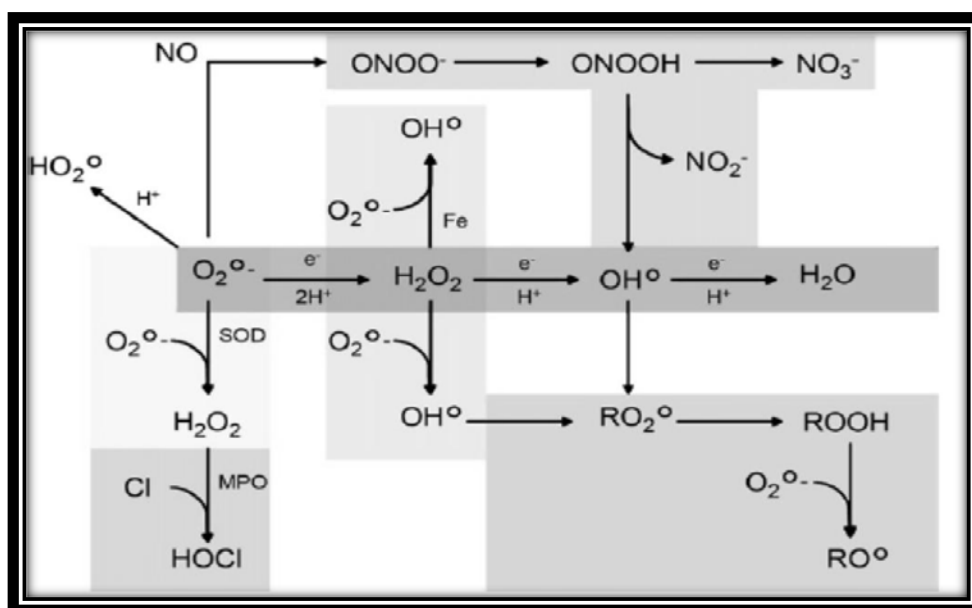


Figure 7: Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

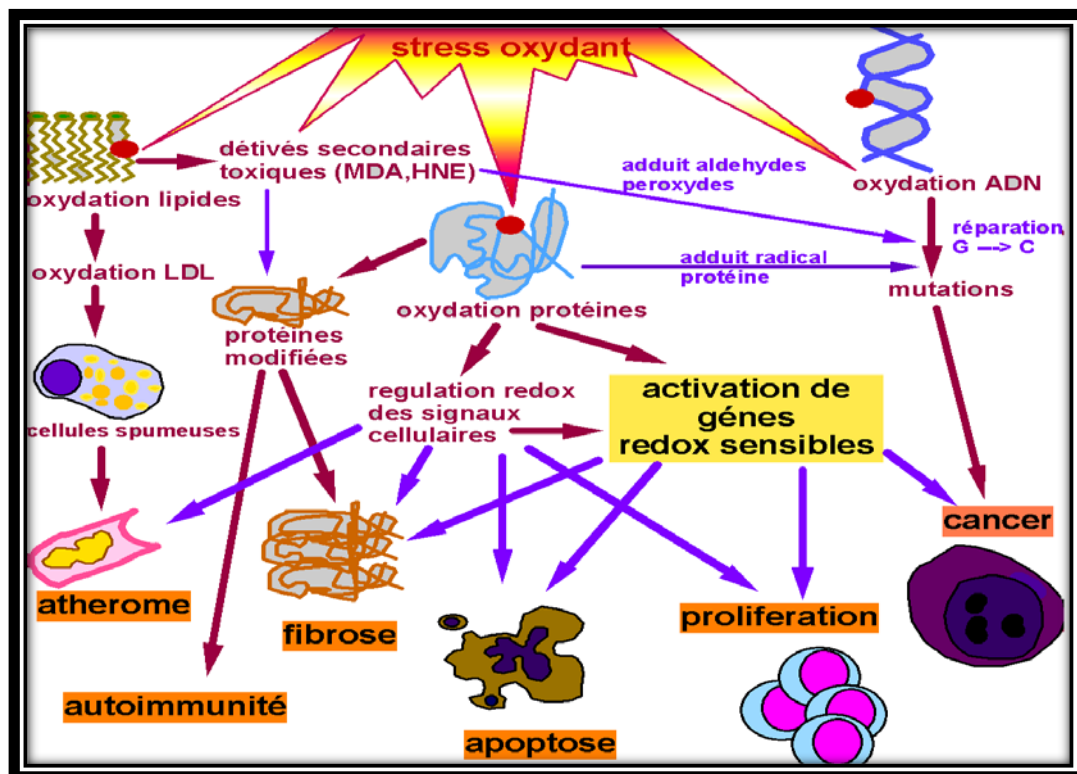


Figure 8: Conséquences de stress oxydatif (Favier, 2003).

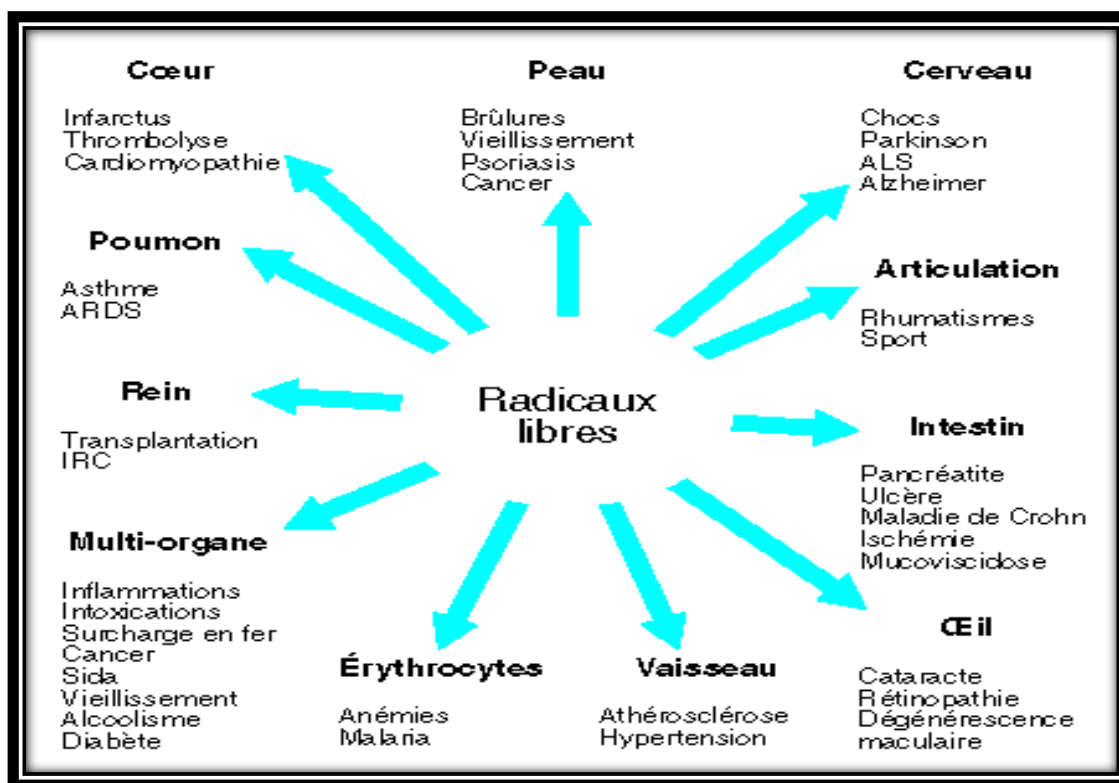


Figure 9: Principales circonstances pathologiques s'accompagnant d'un stress oxydatif (Favier, 1997).

5. Dégâts oxydatifs cellulaires

5.1. La peroxydation lipidique

L'oxydation des lipides ou peroxydation lipidique, correspond à la détérioration oxydative de doubles liaisons d'acides gras insaturés (AGI), qu'ils soient libres ou estérifiés dans des esters de glycérol (tissu adipeux), de phospholipides (membranes), ou de cholestérol (Velasco et al., 2004).

Les AGPI des membranes sont particulièrement vulnérables du fait de leurs multiples doubles liaisons (Spiteller, 2006). Ils peuvent être peroxydés de forme enzymatique ou non enzymatique (autoxydation par RL ou métaux bivalents, photo-oxydation par l'oxygène singulet), et générer des produits primaires de la peroxydation lipidique sous la forme de diènes conjugués (DC) et d'hydroperoxydes lipidiques (ROOH ou LOOH). Par clivage, ils pourront être convertis en produits secondaires de la peroxydation lipidique comme des aldéhydes, des hydrocarbures volatiles (Velasco et al., 2004). Il existe une très grande variété de produits et sous-produits de la peroxydation lipidique, souvent utilisés comme des biomarqueurs et dont les rôles et les interactions seront tant physiologiques que pathologiques (Clarkson and Thompson, 2000 ; Spiteller, 2006 ; Finaud et al., 2006).

L'interaction entre les ERO et les lipides se fait par un mécanisme de réaction en chaîne et implique 3 étapes : initiation, propagation et terminaison (figure 10).

La phase d'initiation est due à l'attaque d'une espèce radicalaire ($R^\bullet$, $HO^\bullet$, $RO^\bullet$, $ROO^\bullet$, $ONOO^\bullet$) suffisamment réactive pour arracher un hydrogène situé en position α d'une double liaison (hydrogène le plus labile) au niveau d'un acide gras polyinsaturé (LH) pour former un radical lipidique ($L^\bullet$). Ce radical se stabilise par réarrangement intramoléculaire en formant un diène conjugué capable de réagir facilement avec l' O_2 pour donner $LOO^\bullet$ (Ntimbane, 2009). La durée de la phase d'initiation sera prolongée par la présence accrue d'antioxydants (Clarkson and Thompson, 2000). $LOO^\bullet$ peut arracher un hydrogène d'une autre molécule d'acide gras adjacente, créant ainsi une réaction en chaîne (propagation) ou évoluer en peroxyde cyclique qui, au contact d'un autre acide gras donne naissance à un nouveau radical diène. La combinaison de $LOO^\bullet$ avec un atome d'hydrogène conduit à la formation d'un hydroperoxyde

lipidique (LOOH) qui sous l'action des métaux (Fe^{2+} ou Cu^+) formera $\text{LO}^\bullet$ et $\text{HO}^\bullet$. Le radical $\text{LOO}^\bullet$ peut également subir une coupure non enzymatique pour donner naissance à divers produits: aldéhydes (α et β insaturés) plus ou moins toxiques comme le 4-hydroxynonenal (HNE), le malondialdéhyde (MDA) et le 2-propenal (acroléine) (Aldini et al., 2005), ainsi que les isoprostanes (Cracowski, 2006). Une fois que la propagation est lancée par la présence des lipides oxydés, elle est difficile à arrêter, l'ajout de nouveaux antioxydants, n'exerce aucune influence sur la chaîne et les LOOH continuent leur accumulation (Clarkson and Thompson, 2000). La réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Delattre et al., 2005). Dans cette situation, la réaction des $\text{LOO}^\bullet$ avec des antioxydants pourra de nouveau se révéler efficace (Spiteller, 2006).

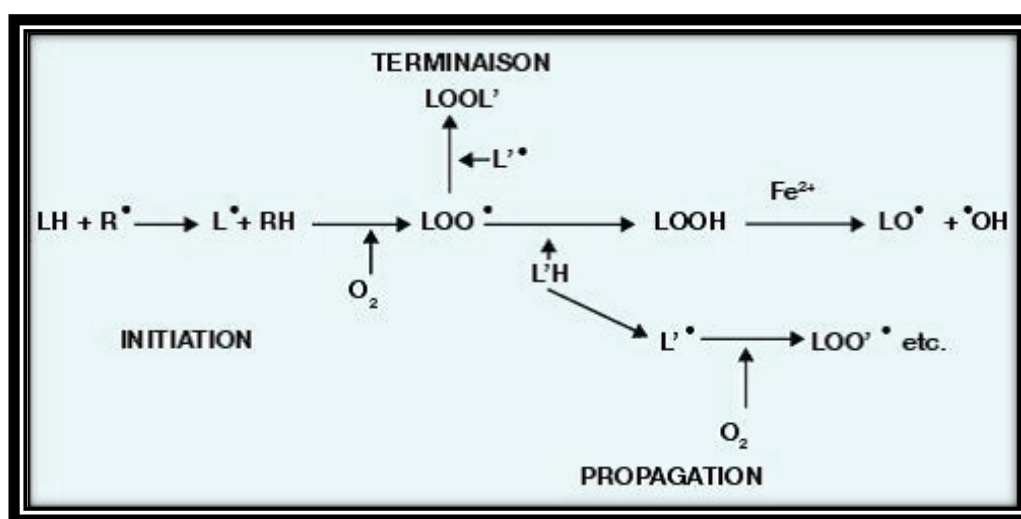


Figure 10: Etapes du processus de peroxydation lipidique (Michel et al., 2008).

5.2. L'oxydation des sucres

Les sucres sont attaqués par les ERO (H_2O_2 , $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{OH}^\bullet$ ou des radicaux peroxydes d'AG), avec abstraction d'hydrogène au niveau d'une des liaisons CH-OH. Le radical alkyles ($\text{C}^\bullet\text{-OH}$) ainsi formé se combine immédiatement avec de l'oxygène pour former un carbonyle (C=O) et expulser un radical hydroperoxyde ($\text{OOH}^\bullet$). L'opération se prolonge jusqu'à former un composé dicarbonylé (Spiteller, 2006). Par

auto-oxydation des sucres comme le glucose forment des composés dicarboxylés (contenant deux C=O), dont les plus connus sont les glycolaldéhydes, qui pourront se lier à des protéines par réaction de Maillard et altérer les propriétés chimiques de celles-ci (Wells-Knecht et al., 1995). Ceci a été démontré chez des diabétiques et a été corrélé avec la sévérité de la maladie à travers des protéines glycosylées (Glomb and Monnier, 1995).

5.3. L'oxydation des protéines

A cause de leur abondance dans l'organisme, les protéines sont une cible importante des ERO. Il a été estimé que les protéines pouvaient piéger la majorité des ERO générés (50– 75%). Leur oxydation affecte la fonction des protéines qui peuvent se fragmenter ou former des agglomérats les rendant susceptibles à la protéolyse et résulte en la formation des protéines carbonylées (PC) dont l'accumulation peut être dosée comme témoin de l'oxydation (Clarkson and Thompson, 2000 ; Bloomer et al., 2008, Fisher-Wellman and Bloomer, 2009). Suivant leur nature les acides aminés subiront des attaques radicalaires présentant des successions de réactions différentes (figure 11). Toutefois l'oxydation des acides aminés est similaire à celle des sucres et implique une attaque radicalaire ($\text{LOO}^{\bullet} \rightarrow \text{LOOH}$, ou autre) sur un des groupes méthyle lié à un atome d'azote. Le radical d'acide aminé obtenu réagira avec l'oxygène pour former un composé avec expulsion d'un radical peroxyde d'hydrogène ou d'un peroxyde d'hydrogène, le composé obtenu étant ensuite transformé en un aldéhyde (Spiteller, 2006).

Les dommages oxydatifs des protéines peuvent provenir de divers ERO comme le radical hydroxyle, le peroxydinitrite, des radicaux d'acides aminés, d'AGI ou de sucres. De plus, tous les acides aminés sont susceptibles à l'oxydation catalysée par les métaux (par réactions de Fenton) (Bloomer et al., 2008). Ainsi des nitrations, glycations et des modifications des protéines par des HNE et MDA ont été mises en évidence et facilitées par la présence des métaux réduits et de H_2O_2 (Sayre et al., 2008).

5.4. L'oxydation de l'ADN

Tant dans les mitochondries que dans le noyau des cellules, des dommages oxydatifs sur les bases de l'ARN, de l'ADN et sur d'autres structures génomiques peuvent se produire par réactions de Fenton, sous l'effet d'aldéhydes de la peroxydation lipidique comme les HNE et les oxo-nonenal (ONE) et par des peroxynitrites (Sayre et al., 2008). Ces altérations peuvent conduire à des scissions d'ADN et avoir une action mutagène (figure 12) (Sayre et al., 2005, Bloomer et al., 2008). La peroxydation lipidique est également capable d'affecter la prolifération des cellules en formant des liaisons intra et intermoléculaires entre les acides aminés sulfurés des ARN, ADN et des protéines (El-Mesery et al., 2009). Les guanines sont préférentiellement attaquées et le produit de leur dégradation peut être détecté par le dosage de la 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) dans le sang et dans l'urine (Lamprecht et al., 2004, Finaud et al., 2006). Des 8-hydroxyguanosine (8OHG) ont également servi de marqueur de l'oxydation de l'ARN (Sayre et al., 2008). Les guanines oxydées de l'ADN est normalement éliminée par les enzymes OGG1 (oxoguanine DNA glycosylase) (Radak et al., 2008).

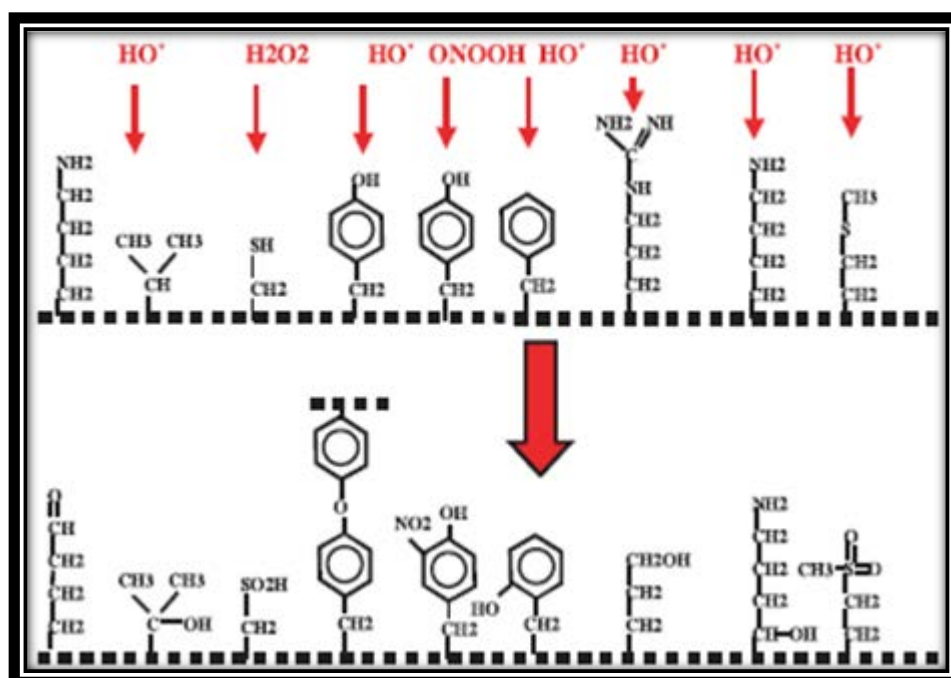


Figure 11: Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

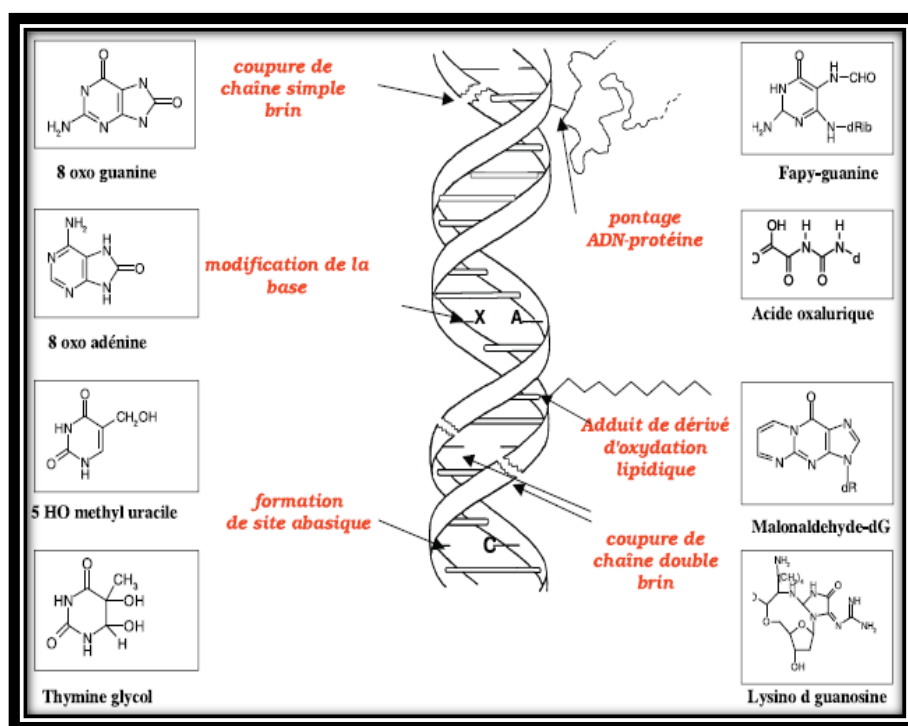


Figure 12: Principales classes de dommages de l'ADN (Favier, 2003).

6. Systèmes de défenses antioxydants

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO.

Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques. Mais aussi à des petites molécules hydro- ou liposolubles.

Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (figure 13) (Delattre et al., 2005).

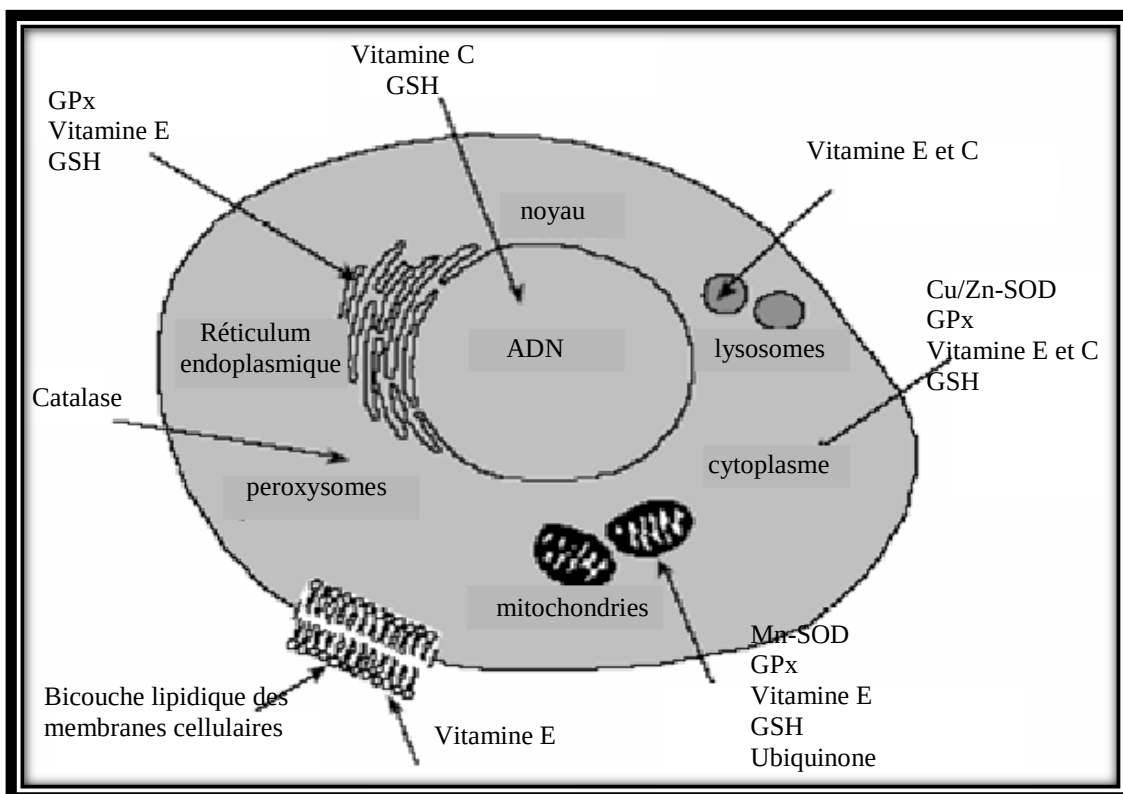


Figure 13: Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule (Garait, 2006).

6.1. Systèmes enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (les superoxydes dismutases, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS (figure 14).

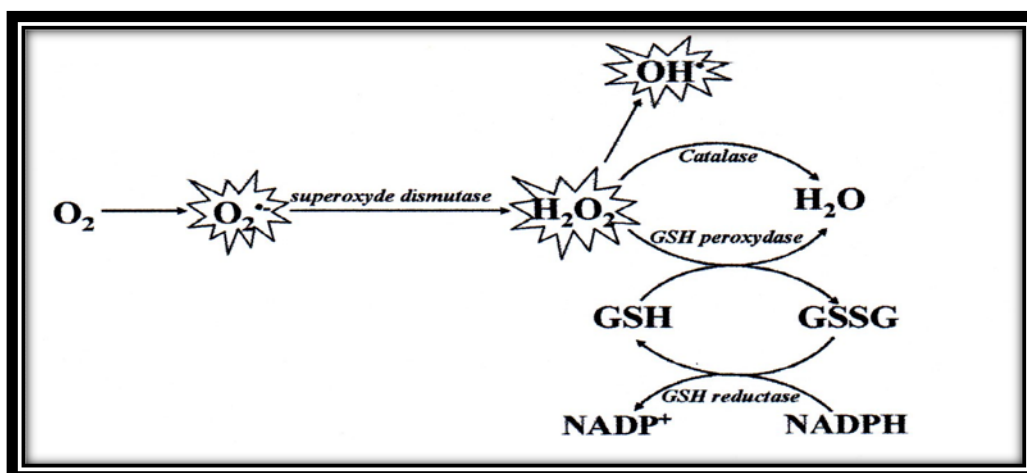


Figure 14: Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques (Garait, 2006).

6.1.1. Superoxydes dismutases (SODs)

La famille des SODs représente un important système d'enzymes contenant des métaux dans leur centre catalytique, favorise la dismutation de $O_2^{\cdot -}$ en H_2O_2 et en O_2 .

Les SODs existent sous trois isoformes dont la structure d'ensemble est restée conservée lors de l'évolution, formant un puits hydrophobe au centre de la protéine dans lequel se glisse l'anion superoxyde (Zelko et al., 2002). Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer les SOD à manganèse (Mn-SOD) protégeant la mitochondrie, des SOD à cuivre-zinc (Cu, Zn-SOD) protégeant le cytosol et la face externe des cellules (ec-SOD). Il est cependant important de noter que la présence de la Cu, Zn-SOD n'est pas exclusive au cytosol car cette dernière présente également une certaine activité au niveau des lysosomes, des peroxysomes, du noyau et de la membrane mitochondriale (Ntimbane, 2009).

6.1.2. Glutathion peroxydases (GSH-Px)

La glutathion peroxydase (GSH-Px) est une enzyme antioxydante du plasma, des fluides extracellulaires et du cytosol, dépendante du sélénium et dont l'action permet d'éliminer le H_2O_2 produit, de mode à éviter sa participation comme pro-oxydant. Elle convertit aussi les hydroperoxydes lipidiques en des alcools non toxiques et de ce fait participe à l'interruption de la chaîne de peroxydation lipidique. L'action des GSH-Px dépend aussi de la disponibilité en GSH, GR et en NADPH, ce qui démontre bien que le système antioxydant endogène agit en interdépendance (Sayre et al. 2005).

6.1.3. Glutathion réductase (GR)

La glutathion réductase, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GSH-Px maintienne sa fonction (Garait, 2006).

6.1.4. Catalase (CAT)

La catalase (CAT) est une protéine ubiquitaire fortement concentrée dans le foie et les érythrocytes. Dans toutes les cellules de mammifères, à l'exception des érythrocytes, elle est localisée presque exclusivement dans les peroxysomes (riches en oxydases) ce qui limite son action par rapport à des peroxydases cytoplasmiques. Cette enzyme métabolise l' H_2O_2 résultant de l'action des SOD ou celui génère par l'action des oxydases pour donner de l'eau. En éliminant l' H_2O_2 , la CAT détoxifie indirectement la cellule des $\text{O}_2^{\cdot-}$ qui sont transformés en H_2O_2 par les SODs. Cette enzyme possède également une activité de peroxydase qui lui permet de réagir avec des peroxydes et des alcools organiques ainsi que toute molécule capable de donner de l'hydrogène à l'eau (Wassmann et al., 2004). La CAT est très efficace en présence d'un stress oxydant élevé et protège les cellules contre la production de H_2O_2 .

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

6.1.5. Glutathion S-Transférases (GSTs)

Les glutathion S-transférases (GSTs) représentent une famille d'enzymes qui jouent un rôle important dans la détoxification de composés électrophiles. La fonction des GSTs la plus connue est leur activité de catalyser des réactions de conjugaison entre le glutathion et des substances nocives pour diminuer leurs réactivités avec les macromolécules intracellulaires.

Les GST complètent l'action des glutathion peroxydases (GSH-Px) dans la seconde ligne de défense enzymatique antioxydante, les GSTs préviennent les dommages cytotoxiques et génétoxiques causés par les composés électrophiles générés comme produits de dégradation des macromolécules suite à leur exposition au stress oxydant (Hayes and Pulford, 1995).

6.2. Systèmes non enzymatiques

6.2.1. Glutathion réduit (GSH)

Le glutathion réduit (GSH) est un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl- L-glycine) synthétisé par deux enzymes qui sont la γ -glutamylcysteine synthétase (γ -GCS) et la glutathion synthétase (Ballatori et al., 2009). Le GSH est considéré comme la molécule non-protéique possédant un groupement thiol, la plus répandue dans la cellule. Ce peptide est retrouvé en grande majorité dans les organes fréquemment exposés aux toxines (reins, foie, poumons et intestins) (Gate et al., 1999) tandis qu'une quantité limitée est retrouvée dans les fluides biologiques (DeLeve and Kaplowitz, 1991).

Sous sa forme réduite, le GSH agit comme antioxydant

- ✖ En tant que piègeur de radicaux, il possède la capacité de lier «scavenger» directement les radicaux libres et de détoxifier indirectement les oxydants à travers des réactions enzymatiques (Fang et al., 2002);
- ✖ En tant que cofacteur de plusieurs enzymes antioxydantes (GSH-Px, GST);
- ✖ En participant à la détoxification des lipides hydroperoxydes par l'action de la peroxyredoxine 6 ;
- ✖ En régénérant l' α -tocopherol et l'acide ascorbique sous leur forme active (Masella et al., 2005).

Au cours de telles réactions, le GSH agit comme un donneur d'électrons en s'oxydant en GSSG. Le GSH est impliqué dans la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et dans la réduction des hydroperoxydes à travers une réaction catalysée par la GSH-Px (Lei, 2002). Deuxièmement, le GSH peut se conjuguer aux xénobiotiques par une liaison directe/spontanée ou via une réaction catalysée par la GST, une réaction qui augmente les propriétés hydrophiles des xénobiotiques favorisant ainsi leur élimination. Troisièmement, le GSH peut se conjuguer au NO pour former un adduit S-nitrosoglutathion, lequel est clivé par le système thioredoxine pour régénérer le GSH et du NO (Fang et al., 2002). Sous sa forme GSH, GSSG et de son ratio GSH/GSSG, le glutathion est utilisé comme marqueur du système antioxydant et du stress oxydant (De Moffarts et al., 2007).

6.2.2. Vitamine E (tocophérol)

La vitamine E est un terme générique pour tous les tocophérols et les tocotriénols, desquels existent 8 dérivatifs et dont l' α -tocophérol est le plus abondant (Shils et al., 2006). La vitamine E agit directement sur une grande variété d'ERO pour former un radical peu réactif. Par la suite la vitamine E oxydée pourra être reconvertie principalement par la vitamine C (figure 15), mais également par d'autres composés comme le GSH, la vitamine A et l'ubiquinol. La vitamine E est liposoluble et a été démontrée comme le principal antioxydant dans les membranes des cellules, en particulier celles des mitochondries (Shils et al., 2006 ; Traber and Atkinson, 2007). Elle pourrait augmenter l'activité des SOD et des CAT (Lyn Patrick, 2006).

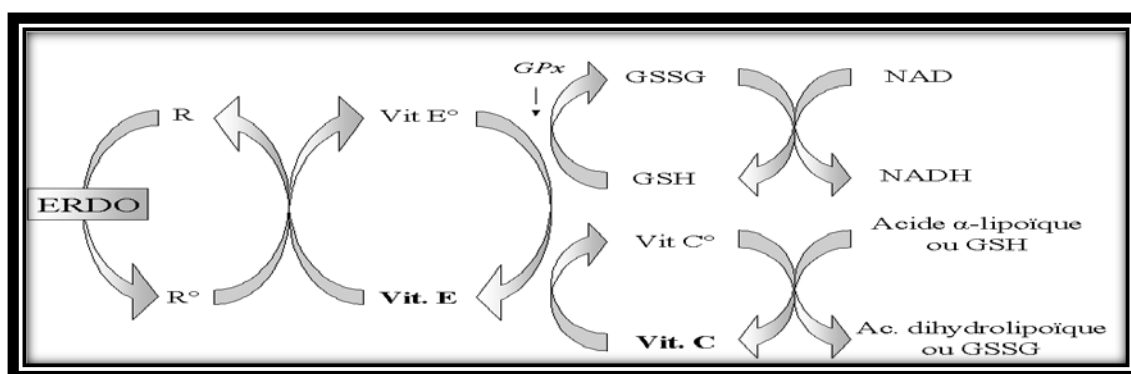


Figure 15: Régénération de la vitamine E par la vitamine C et le GSH (Malardé, 2012).

6.2.3. Vitamine C (Acide ascorbique)

La vitamine C ou acide L-ascorbique est une vitamine hydrosoluble. Elle joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant (Koolman et al., 1999). Son action est directe et indirecte, elle agit directement sur les ERO ($O_2^{\cdot-}$, $HO^{\cdot}$, 1O_2 , radicaux lipidiques) et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH. L'organisation spatiale de la vitamine C lui permet de se lier à la phase aqueuse de la vitamine E oxydée dans la membrane cellulaire et de rapidement lui céder son électron. Après avoir cédé son électron, la vitamine C forme un radical très peu réactif, qui sera ensuite reconverti en vitamine C par une enzyme réductase, qui utilise du GSH (Mac Laren, 2007 ; Duarte and Jones, 2007 ; Fisher-Wellman and Bloomer, 2009).

✓ L'acide ascorbique est un donneur d'atomes d'hydrogène qui réagit avec les radicaux libres, les transforme en molécules non toxiques et est un antioxydant (réducteur). En présence de cuivre et de fer, il favorise la formation de radicaux superoxydes (Smirnoff and Pallanca, 1996; Arrigoni and De Tullio, 2002; Rani et al., 2004).

✓ L'acide ascorbique a un effet protecteur vis à vis de l'atteinte oxydative de l'ADN du sperme humain. En effet, le risque de malformations congénitales pourrait être augmenté dans les populations avec un statut vitaminique C marginal comme les fumeurs (Lemerini, 2006).

✓ Chez les plantes, l'acide ascorbique joue un rôle clé dans la défense contre le stress oxydatif, il est particulièrement abondant dans les tissus photosynthétiques ; plus de 90 % de l'acide ascorbique est localisé dans le cytoplasme. Une proportion substantielle est exportée vers l'apoplaste à une concentration de l'ordre de la millimole. L'acide ascorbique apoplastique des feuilles et des tiges représente la première ligne de défense contre les dommages potentiels dus aux oxydants externes tels l'ozone, le SO₂ et le NO₂ (Pignocchi et al., 2003).

6.2.4. Vitamine A

La vitamine A est responsable de la neutralisation de ¹O₂, O₂^{•-}, de ONOO⁻, de radicaux lipidiques et son action se fait dans les milieux lipidiques (Fisher-Wellman and Bloomer, 2009).

6.2.5. Oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des éléments essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GSH-Px de sélénium (Garait, 2006).

➤ **Le sélénium**

Le sélénium joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire (Breinneisen et al., 2005). Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases et à l'activité biologique anti-radicalaire des sélénoprotéines (figure 16) (Burk, 2002).

❖ **Glutathion peroxydase**

Ce sont les premières sélénoprotéines à avoir été découvertes. Elles sont connues pour catalyser la réduction des peroxydes d'hydrogène et d'hydroperoxydes organiques protégeant ainsi les cellules contre les attaques oxydatives. Chez l'homme, 9 GSH-Px ont été identifiées, seulement 5 sont dépendantes du sélénium. Les membres de cette famille incluent : une forme cytosolique (GSH-Px1) qui est ubiquitaire, une forme spécifique exprimée au niveau de l'intestin (GSH-Px2), une forme plasmatique (GSH-Px3) qui agit particulièrement sur les lipides oxydés, une glutathion peroxydase phospholipidique (GSH-Px4), une forme exprimée spécifiquement au niveau des spermatozoïdes (snGSH-Px4) et une forme exprimée par les tissus embryonnaires et localisée au niveau de l'épithélium olfactif (GSH-Px6) (Rakotovao, 2009).

❖ **Thiorédoxine réductase**

Les membres de cette famille sont des protéines homodimériques, chaque monomère incluant un groupement prosthétique FAD, un site de liaison à la NADPH et deux sites actifs, un formé par un groupement disulfide et un autre constitué par un résidu sélénocystéine. Elle catalyse la réduction de la forme oxydée de la thiorédoxine qui, entre autre, active la thiorédoxine peroxydase, capable de réduire le peroxyde d'hydrogène (Rakotovao, 2009).

L'isoforme mitochondriale (TR2) fournit une défense spécifique contre les ERO produits par la chaîne respiratoire, maintenant ainsi la balance rédox cellulaire, critique pour la survie cellulaire. L'isoforme cytosolique (TR1) quant à elle, est associée plus particulièrement dans la régénération de protéines inactivées par le

stress oxydant dont la vitamine C et la NOS (McKenzie et al., 2002 ; Rakotovao, 2009).

❖ Sélénoprotéine P

La sélénoprotéine P est une sélénoprotéine très particulière (Brigelius-Flohe et al., 2003 ; Burk and Hill, 2005). Elle est la seule à avoir plusieurs résidus cystéine. Elle peut avoir chez l'homme jusqu'à dix sélénoprotéine. Synthétisée par le foie, elle a une durée de vie courte de trois à quatre heures dans le plasma en situation normale chez le rat. Son rôle de transport du sélénium biologiquement actif (Cys) est établi, notamment par le modèle de souris knock out Sel-P (Schomburg et al., 2004). Sa fonction n'est pas bien connue actuellement. Elle pourrait avoir un rôle de protection de l'endothélium. Elle détoxifie in vitro le péroxynitrite (Arteel et al., 1998 ; Li et al., 2007). Sa fixation sur l'endothélium (au niveau des protéoglycannes à héparine sulfate) pourrait être favorisée par un pH bas et une activation de l'endothélium (Arteel et al., 1998).

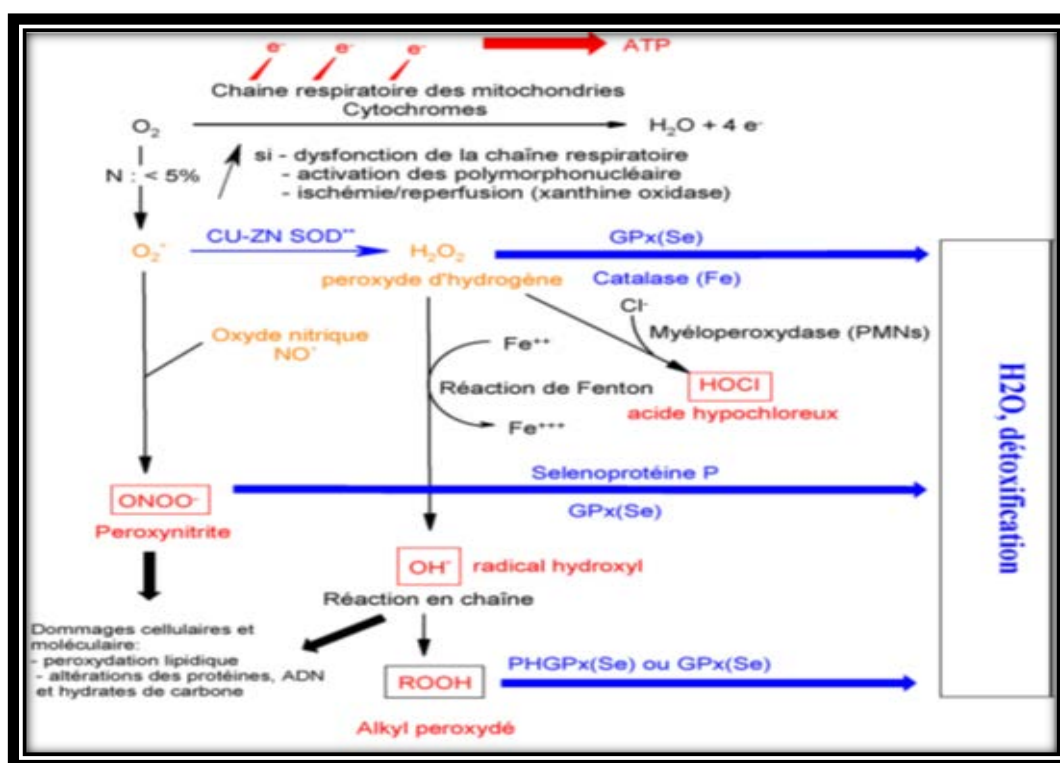


Figure 16 : Rôle des sélénoenzymes dans l'élimination de dérivés réactifs de l'oxygène (Forceville and Vitoux, 1999).

CHAPITRE IV

***diabète
&
stress oxydant***

LE DIABÈTE ET LE STRESS OXYDANT

1. Mécanismes impliqués dans la genèse d'un stress oxydant dans le diabète

Dans des conditions d'hyperglycémie chronique, plusieurs mécanismes peuvent être responsables de l'augmentation de stress oxydant (figure 17) :

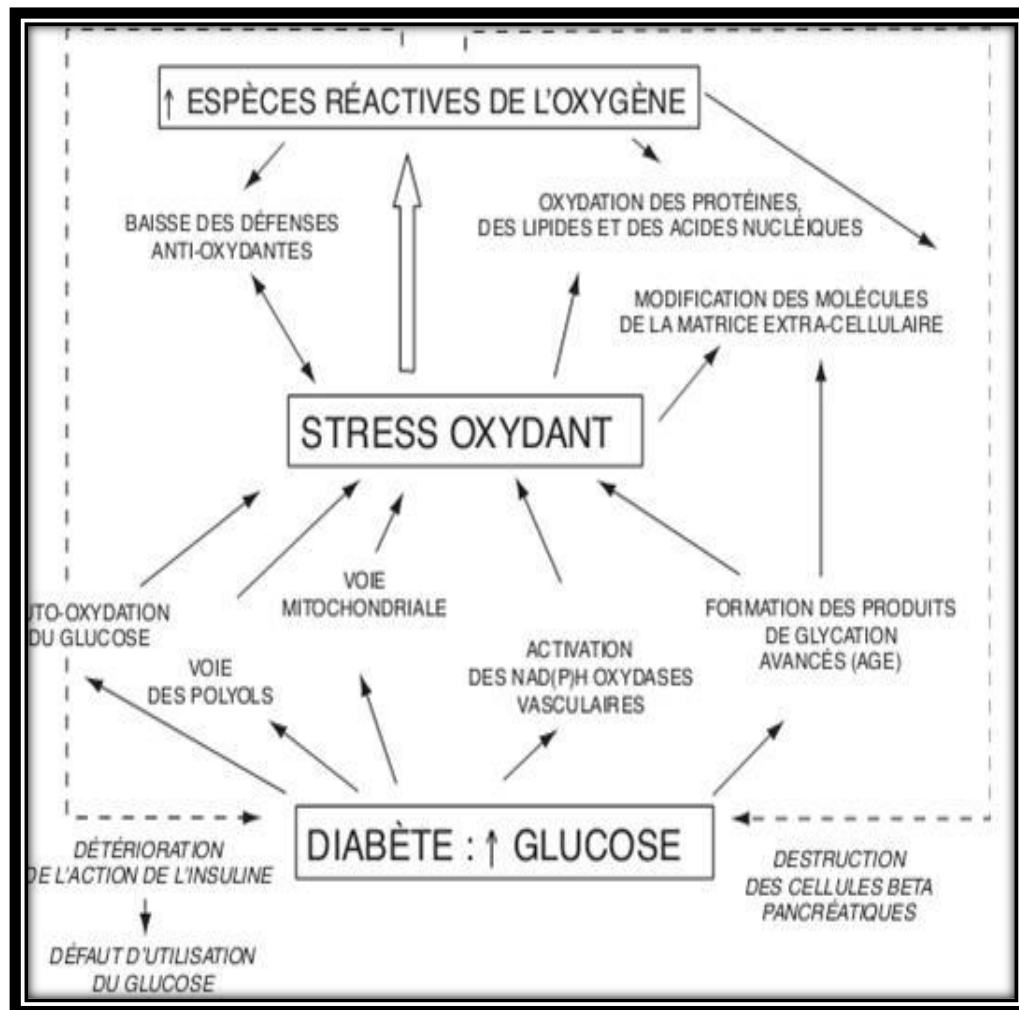


Figure 17: Relation entre hyperglycémie et stress oxydant (Bonnetfont-Rousselot et al., 2004).

1.1. Autoxydation du glucose

Le glucose dans sa forme linéaire (projection de Fischer) possède une fonction aldéhyde et une fonction hydroxyle adjacente en équilibre avec la forme ène-diol. C'est sous cette dernière forme que le glucose est capable de s'oxyder de façon isolée en présence de métaux de transition, aboutissant à la formation d'un radical anionique ène-diol. Ce radical peut ensuite réagir avec l'oxygène pour libérer des anions superoxydes. Au cours de cette réaction, il y a formation d' α -cétoaldéhyde, qui peut réagir avec des métaux de transition via la réaction Fenton pour former des radicaux hydroxyles très réactifs (figure 18) (Wolff, 1991 ; Hunt and Wolff, 1991).

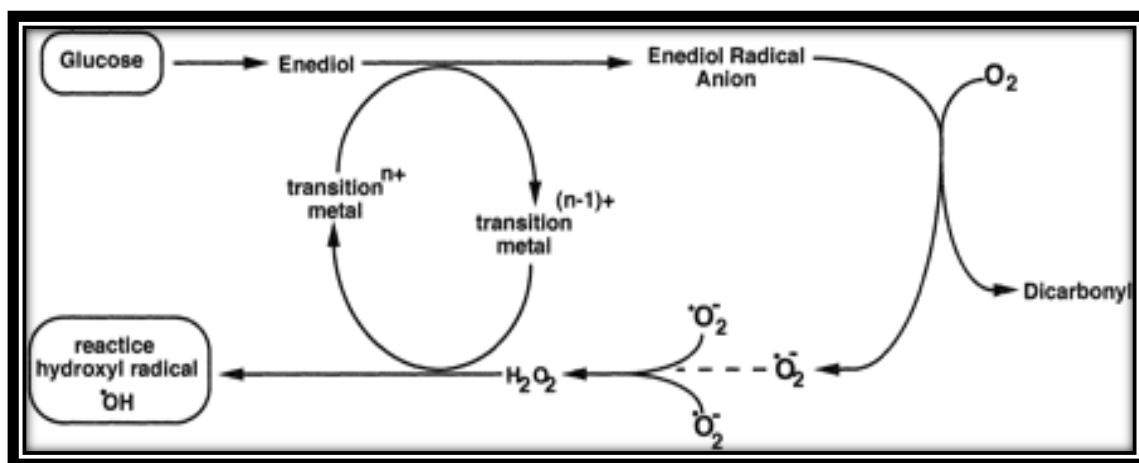


Figure 18: Réactions à l'origine de la production d'ERO par autoxydation du glucose (Ahmed, 2005).

Les produits de l'autoxydation du glucose sont à leur tour, précurseurs d'un autre mécanisme impliqué dans l'élévation du SO en cas d'hyperglycémie : la glycation des protéines et la formation des Produits Terminaux de Glycation (PTG), plus communément appelés AGE (Advanced Glycated End-Product) (Malardé, 2012).

1.2. Glycation des protéines

Une des conséquences essentielles de l'hyperglycémie est la glycosylation non enzymatique ou glycation des protéines. La glycation des protéines est une réaction covalente qui attache sans l'intervention d'enzyme des résidus glucose aux NH_2 libres des protéines (Raccach, 2004).

L'étape initiale de cette réaction se caractérise par la formation non enzymatique d'une liaison covalente entre le groupement carbonyle d'un sucre

réducteur et le groupement amine libre d'un acide aminé. Elle conduit à la formation d'une base de Schiff, qui peut subir des réarrangements intramoléculaires (réarrangements d'Amadori), pour former des composés dicarbonylés. La déshydratation et/ou la condensation de ces composés donnent alors naissance aux produits de fin de glycation AGE (advanced glycation end products) (figure 19) (Guillet, 2010).

Ces AGE forment un groupe hétérogène de molécules qui modifient non seulement la fonction de la protéine glyquée mais forment aussi des agents qui se lient à d'autres protéines, tel le collagène et autres protéines de la matrice extracellulaire dont les fonctions se trouvent ainsi altérées avec des conséquences délétères sur les tissus vasculaires, cardiaques et rénaux (Dali-Youcef, 2010). Les AGE sont capables aussi de produire des radicaux libres oxygénés par interaction avec des récepteurs spécifiques (RAGE) et induire un stress oxydant (Bonnefont-Rousselot et al., 2004).

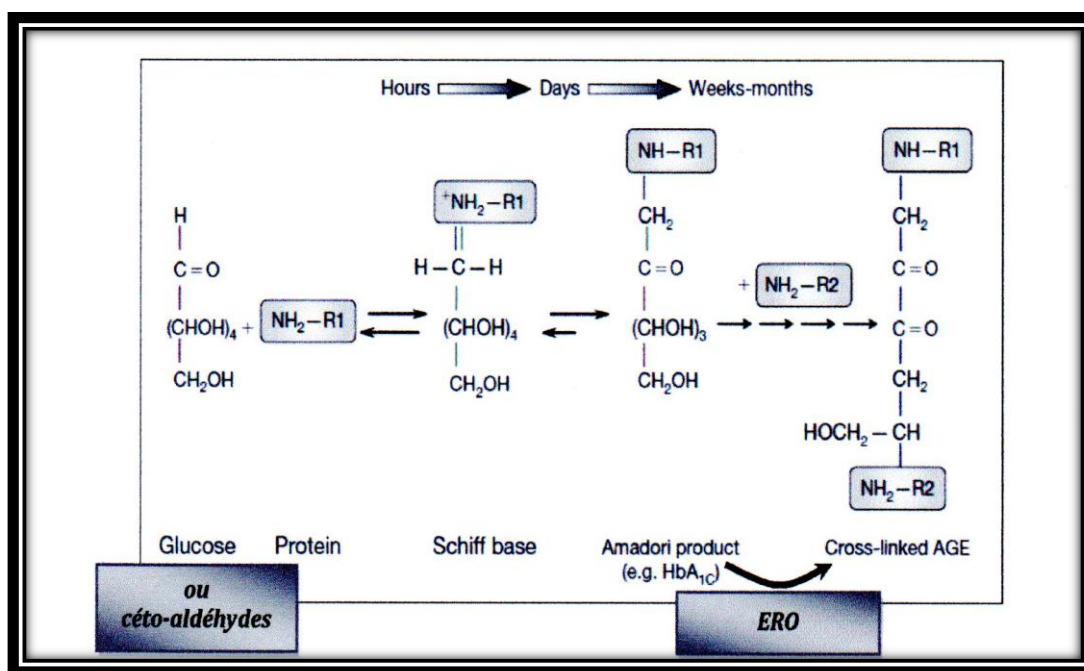


Figure 19: Formation des produits avancés de glycation (Aronson, 2008).

1.3.Voie du polyol

Dans des conditions physiologiques normales (normoglycémique), le glucose est métabolisé en glucose-6-phosphate par l'héxokinase puis dirigé soit dans la voie de la glycolyse, soit dans la voie des pentose-phosphates. Le métabolisme du glucose par la voie des polyols représente un faible pourcentage (3%) de l'utilisation totale du glucose en conditions normoglycémique (Bouldjadj, 2009). Dans le diabète, lorsque le taux du glucose augmente, l'héxokinase est alors saturée et le glucose en excès est en partie métabolisé par la voie des polyols dans les tissus insulino-indépendants (à peu près 30% du glucose), comme les reins, le tissu neuronal ou les microvaisseaux rétinien (Gonzalez et al., 1984). Sous l'effet de l'aldose réductase, le glucose est réduit en sorbitol par le NADPH (figure 20). Le sorbitol est ensuite oxydé en fructose en présence de NAD^+ par la sorbitol-déshydrogénase (Raccach, 2004). Cette voie va conduire à une déplétion intracellulaire de NADPH puisque le NADPH est nécessaire à l'activité de l'aldose réductase. Le déficit intracellulaire de NADPH a pour conséquence une faible régénération du glutathion réduit à partir du glutathion oxydé (Bonfont-Rousselot et al., 2004).

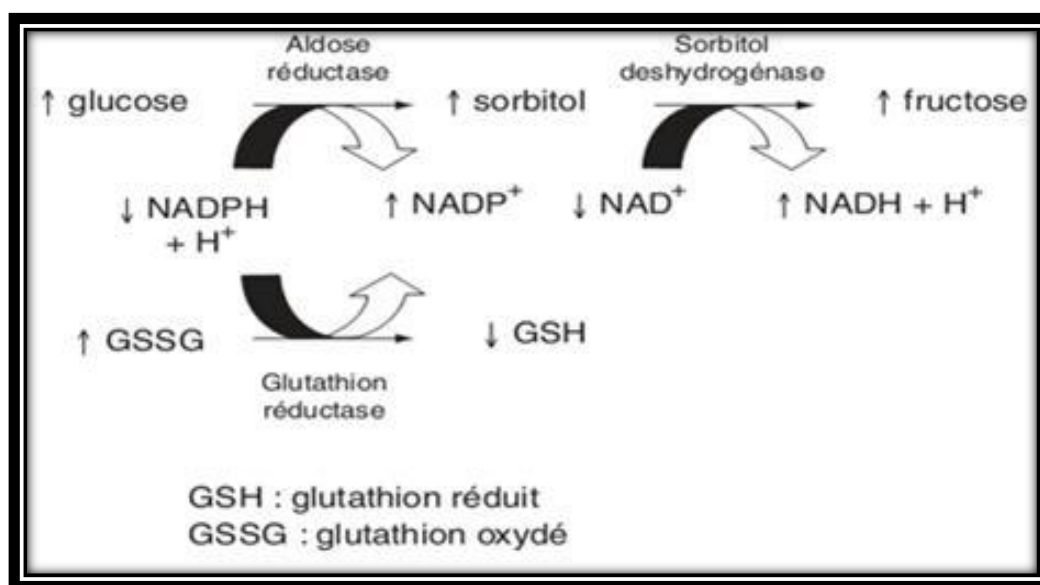


Figure 20: Déplétion du glutathion par la voie des polyols (Bonfont-Rousselot et al., 2004).

1.4. Activation des protéines kinases C (PKC)

Une hyperactivité de la protéine kinase C au cours du diabète dans des nombreux tissus est une des hypothèses avancées (King and Brownlee, 1996). L'hyperglycémie induit une synthèse accrue de diacylglycérol (DAG) à partir des intermédiaires de la glycolyse, qui est un cofacteur activateur des différentes isoformes de la PKC (figure 21) (Xia et al., 1994). L'augmentation de l'activité de l'enzyme induit une augmentation de l'expression des gènes néfastes pour la cellule et au contraire, diminue celle des gènes bénéfiques. En effet, elle augmente l'expression des facteurs vasoconstricteurs (endothéline-1) en diminuant ceux vasodilatateurs (NO). Elle induit également l'expression de gènes pro-inflammatoires et augmente la production de ROS par la NADPH oxydase (Brownlee, 2005).

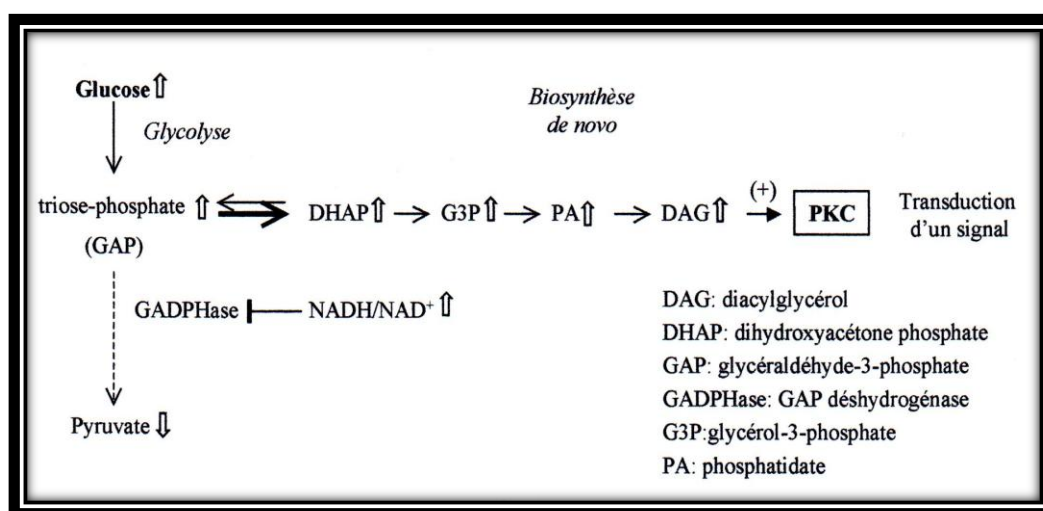


Figure 21: Activation des PKC (Denis, 2002).

1.5. Voie de l'hexosamine

Une autre hypothèse biochimique est formulée pour rendre compte de la glucotoxicité vasculaire dans le développement des complications liées au diabète. L'hyperglycémie génère une augmentation du flux du glucose dans la voie de l'hexosamine en UDP-Nacétylglucosamine. L'augmentation de la concentration intracellulaire du glucose conduit à la formation accrue de fructose 6-phosphate, qui est métabolisé en glucosamine 6-phosphate en présence de glutamine par le GFAT

(glutamine-fructose-6-phosphate amidotransférase) puis transformé en UDP-N-acétylglucosamine (UDP-Glc Nac) (figure 22) (Kolm-Litty et al., 1998).

Dans ces conditions, le fructose 6-phosphate est détourné de la glycolyse et utilisé comme substrat de réactions diverses requérant l'intermédiaire UDP-N acétylglucosamine (Schleicher and Weigert, 2000). L'accumulation de l'intermédiaire métabolique, le fructose 6-phosphate résulterait d'une altération de l'activité GAPDHase par une production mitochondriale de ROS (Du, 2000).

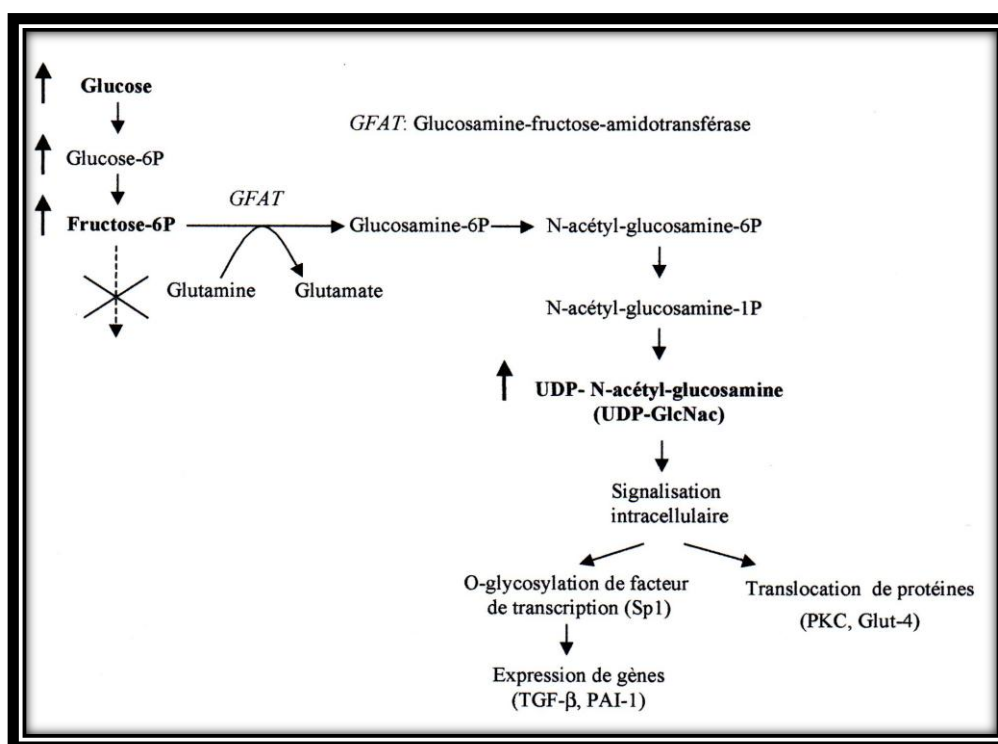


Figure 22: Voie des hexosamines et conséquences (Denis, 2002).

1.6. Augmentation de la production des radicaux libres par la mitochondrie

La chaîne respiratoire mitochondriale est le principal site de production de l'anion superoxyde, cette production est accrue en présence de fortes concentrations de glucose (Bonnetfont-Rousselot et al., 2004).

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

2. Altération des défenses antioxydantes au cours de diabète

Différentes études ont rapporté une altération des systèmes antioxydants au cours du diabète. La diminution des activités des enzymes antioxydantes pourrait s'expliquer par la glycation de leur site actif, comme cela a été décrit pour la SOD érythrocytaire (Arai et al., 1987). Des expériences de glycation in vitro ont également montré une altération des activités enzymatiques de la catalase (Yan and Harding, 1997) de la GSH réductase (Blakytyn and Harding, 1992) ou de la GSH-Px (Baldwin et al., 1995), suggérant une modification de ces enzymes au cours du diabète.

3. Impact du stress oxydant sur les cellules β et sur l'action de l'insuline

Le rôle pathogène des radicaux libres sur les cellules β a souvent été évoqué car ces cellules ont des défenses limitées face au stress oxydant (Rigalleau et al., 2007). En effet les espèces réactives de l'oxygène perturbe la sécrétion de l'insuline stimulée par le glucose par la diminution du rapport ATP/ADP intracytosolique, par l'hyperpolarisation anormale de la membrane mitochondriale et une surexpression du complexe I de la chaîne respiratoire ce qui conduit à l'apoptose des cellules β et pourrait expliquer la réduction de la masse des cellules β observée dans le DT2 (Guillausseau et al., 2008). Et selon certains auteurs Bonnefont-Rousselot et al. (2004) ces radicaux libres pourraient être aussi à l'origine du diabète de type 1.

4. Effet de la carence en zinc sur le stress oxydant au cours de diabète

Le stress oxydant joue un rôle important dans la pathologie de diabète et de ses complications. Le zinc est une partie structurale des principales enzymes antioxydantes, les superoxydes dismutases (SOD), et l'insuffisance du zinc altère leur synthèse, conduisant à l'augmentation de stress oxydant (Stumvoll et al., 2005). Le zinc exerce ces effets antioxydants indirectement en maintenant la structure des membranes cellulaires, incluant dans la stabilisation de SOD et augmentant la concentration des métallothionéines. Le diabète est accompagné par l'hypozincémie et l'hyperzincurie (Kelly, 1998 ; Garg et al., 1994, Toma et al., 2013).

Plusieurs complications de diabète peuvent être liées à l'hyperproduction des radicaux libres associé à la diminution de la concentration intracellulaire du zinc et des enzymes antioxydantes dépendantes du zinc (Powell, 2000 ; Brandao-Neto et al., 2003). Le zinc et l'état oxydatif sont interdépendants, de telle manière qu'une déficience en zinc et un stress oxydant sont des facteurs étiologiques potentiels de diabète (Haase and Maret, 2005). La carence en zinc joue un rôle dans la pathogenèse de diabète sucré, qui est accompagné par le stress oxydatif, et par conséquent accélère les dommages cellulaire et vasculaire (kechrid et al., 2007).

Etude expérimentale

CHAPITRE I

Matériels et méthodes

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matériel biologique et conditions d'élevage

Nous avons utilisé 48 rats blancs mâles *Rattus rattus* de la souche Wistar, provenant de l'institut pasteur d'Alger. Agés de 10-12 semaines, pesant 200-250g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation d'une semaine environ, aux conditions de l'animalerie ; à une température de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, une degré hygrométrique de l'ordre de 40 % et une photopériode naturelle (12h/12h).

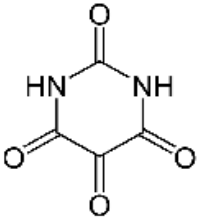
Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont munies par des mangeoires et des biberons d'eau. Les cages tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois, elles sont nettoyées quotidiennement et la litière est changée régulièrement jusqu'à la fin de l'expérience. Les rats ont été nourris par un régime équilibré.

2. Induction du diabète

Le diabète est induit chez les rats par injection intra-péritonéale d'une solution de monohydrate d'alloxane (Sigma) dissout dans le tampon citrate (0.01 M, pH 4.5), à raison de 150 mg/kg du poids corporel (Pathak et al., 2011).

L'alloxane est un composé organique basé sur un squelette de l'hétérocyclique de la pyrimidine (figure 23). Ce composé a une haute affinité pour l'eau existant sous forme monohydratée. Les données caractérisant l'alloxane dans les conditions standards sont présentées dans le tableau 06.

Tableau 06 : Propriétés de l'alloxane (Kebieche, 2009).

Nom chimique :	2, 4, 5,6(1H, 3H)-pyrimidine tétraone monohydrate.	
Structure chimique :	$\text{C}_4\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_4$	
Masse moléculaire :	160,09 g/mol.	
Point fondant :	253°C .	
		Figure 23 : Structure chimique de l'alloxane.

Après 72 heures de l'injection, la glycémie de chaque rat a été mesurée à partir de la veine de la queue par des bandelettes réactives (ACCU-CHEK Active, Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany). Les rats dont la glycémie supérieure à 14 mmol/l sont considérés comme diabétiques. Puis ils ont été répartis en six groupes suivant un régime alimentaire expérimental.

3. Préparation de la nourriture

La préparation de la nourriture est basée sur les matières premières mentionnées dans le tableau 07 selon la méthode suivante:

- ✓ Peser chaque métal et le broyer.
- ✓ Peser les éléments alimentaires (amidon, saccharose, cellulose, protéines (Ovalbumine) et vitamines) et les mélanger pendant 15 minutes.
- ✓ Ajouter les métaux avec les quantités mentionnés dans le tableau 08.
- ✓ Répartir la nourriture préparée en deux parties, ajouter le zinc à la première partie (régime alimentaire normal) et conserver la deuxième partie sans zinc (régime alimentaire carencé en zinc).
- ✓ Ajouter la quantité adéquate de l'huile dans chaque partie et la mélanger pendant 15 minutes.
- ✓ Stocker le régime dans des sacs noirs en plastique marqués et les conserver dans un endroit frais.
- ✓ Prélever des échantillons de 2g de chaque régime pour l'analyse du zinc. Le dosage du zinc dans l'alimentation se fait selon la méthode de Southon et al. (1984), en utilisant le spectrophotomètre d'absorption atomique.

Après le dosage on a trouvé que le régime alimentaire normal contient approximativement 54 mg du zinc par Kg et le régime alimentaire carencé en zinc contient environ 1.2 mg du zinc par Kg.

Tableau 07 : 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 08 : La quantité des métaux dans la nourriture.

Le métal (mg/kg)	Régime alimentaire normale	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	3.68
Potassium	3.34	3.34
Magnésium	0.70	0.70
Sodium	2.39	2.39

4. Traitement des animaux

Les rats mâles diabétiques ont été répartis en 6 groupes de 8 rats, il s'agit de:

- ✱ Groupe 1: rats diabétiques sous un régime alimentaire normal (RN).
- ✱ Groupe 2: rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc (RC).
- ✱ Groupe 3: rats diabétiques sous un régime alimentaire normal, traités par la vitamine C (RN + Vit C).
- ✱ Groupe 4: rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc, traités par la vitamine C (RC + Vit C).

La vitamine C dissoute dans l'eau de boisson à raison de 1g/l pendant 27 jours. (Jariyapongsu et al., 2007).

✱ Groupe 5: rats diabétiques sous un régime alimentaire normal, traités par le sélénite de sodium $\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$ (RN + Se).

✱ Groupe 6: rats diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc, traités par le sélénite de sodium $\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$ (RC + Se).

Le sélénite de sodium est administré aux rats par voie orale à raison de 0.5 mg/kg du poids corporels pendant 27 jours (Tayibeh et al., 2011).

Les animaux sont pesés trois fois par semaine. Cependant la consommation alimentaire est mesurée quotidiennement jusqu'à la fin du traitement.

5. Sacrifices et prélèvements des échantillons

5.1. Prélèvement sanguin

Après 27 jours de traitement les six groupes sont sacrifiés (par décapitation), le sang est immédiatement recueilli dans des tubes secs étiquetés, puis centrifugés à 3000 tours/min pendant 15 minutes. Le sérum est séparé en trois fractions dans des tubes eppendorfs et stockés au congélateur à une température de (-20° C) jusqu'au moment de dosage.

5.2. Prélèvement des organes

Après la dissection, le foie, le rein, le testicule, le pancréas et le fémur sont prélevés, débarrassés de leurs tissus adipeux, rincés dans une solution de chlorure de sodium (Na Cl) à 0.9 % et pesés.

Le rein, le testicule, le pancréas, le fémur et un fragment du foie de chaque animal sont mis dans une étuve à 80°C pendant 16 heures pour les sécher, puis les conservés à température normale dans des tubes polyéthylènes pour le dosage du zinc. Un deuxième fragment du foie est maintenu à (- 20°C) pour le dosage du glycogène et des paramètres de stress oxydatif. La figure 24 schématise les différentes étapes du protocole expérimental utilisé.

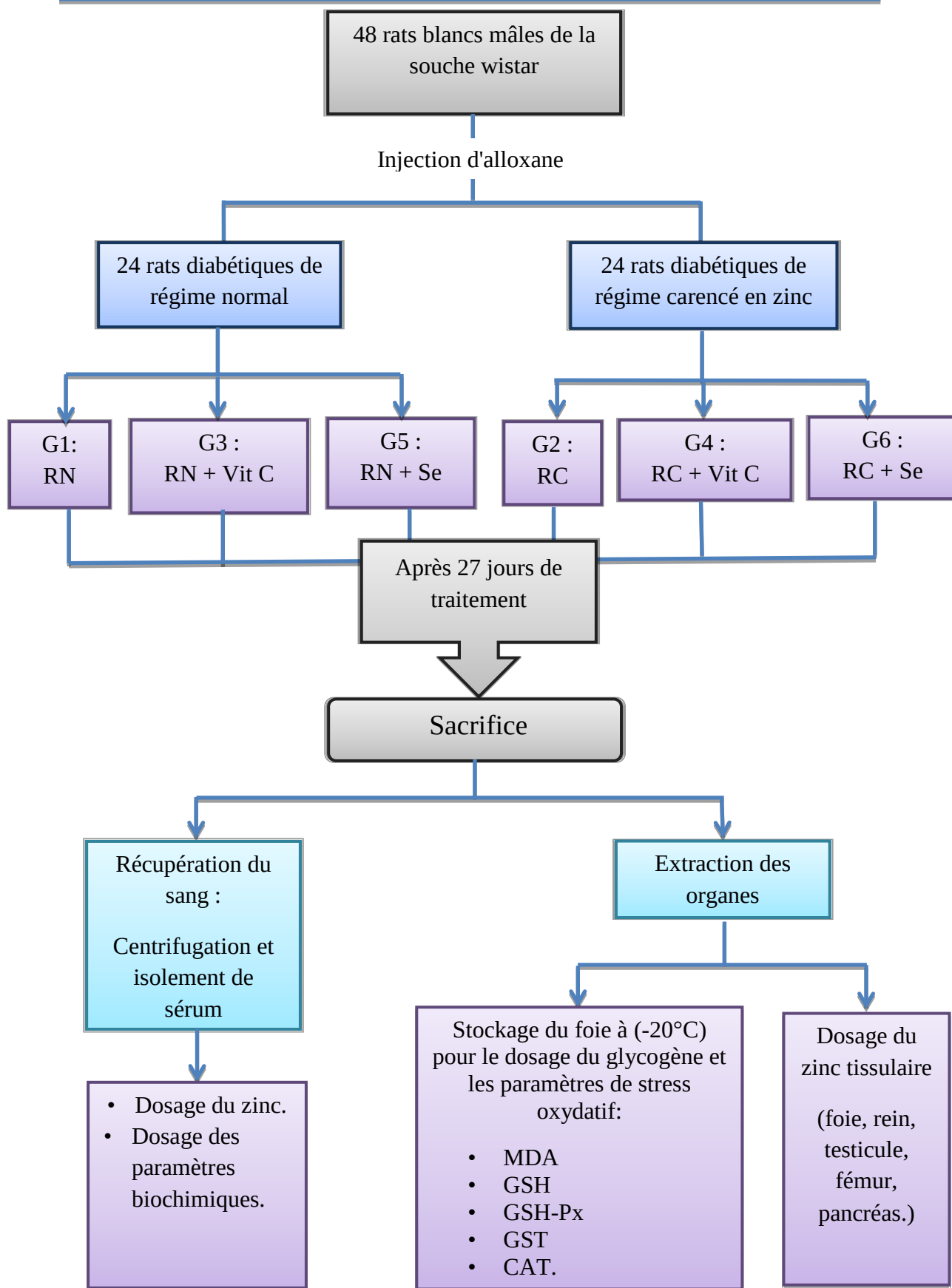


Figure 24 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

6. Dosage du zinc :

Les organes préalablement séchés sont mis au four (moufle furnace) à 480°C après 48 heures ils se sont transformés en cendres. Après les avoir placés sur une plaque chauffante, on leur a ajouté l'acide nitrique. L'ensemble est agité jusqu'à ce qu'il devient homogène. Enfin, les échantillons sont filtrés à l'aide de papier filtre (Whatman N° 542).

Le dosage du zinc dans le sérum et les organes se fait à l'aide de spectrophotomètre d'absorption atomique de flamme (Pye Unicam SP 9000, Hitchin, UK) (Southon et al., 1984).

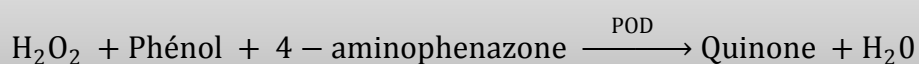
La concentration du zinc est déterminée par comparaison à une gamme étalon de nitrate du zinc (1mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions.

7. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques

7.1. Dosage du glucose

La détermination de la glycémie a été réalisée par la méthode enzymatique au glucose oxydase selon la fiche technique (Spinreact).

Le glucose est transformé par le glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge-violet (quinoneimine) (Trinder, 1996), selon les réactions suivantes :



7.2. Dosage des lipides totaux

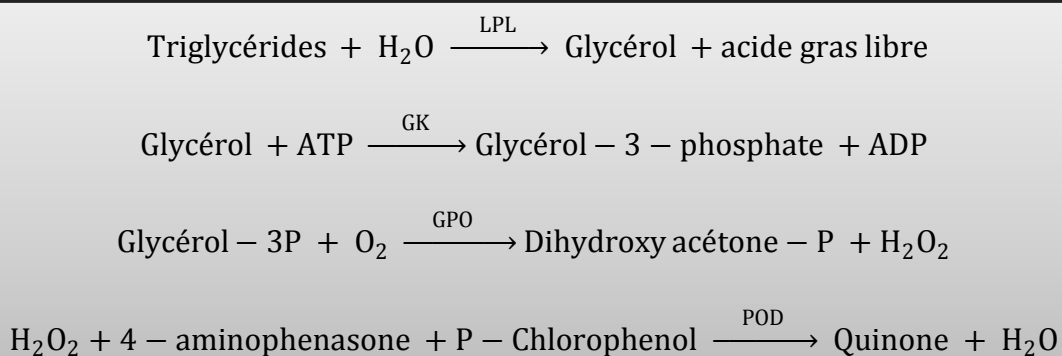
Le dosage des lipides a été réalisé par la méthode colorimétrique selon la fiche technique (Spinreact).

Dans la première étape les lipides insaturés réagissent avec l'acide sulfurique pour former les ions carbonium. Dans la deuxième étape il n'y a que les ions de carbonium qui réagissent avec le phosphovainilline pour donner une couleur rose, L'intensité de la couleur du complexe est proportionnelle à la concentration des lipides totaux dans les échantillons (Kaplan et al., 1984).

7.3. Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique (Spinreact).

Les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol et en acides gras libres par la lipoprotéine-lipase (LPL). Le glycérol sous l'effet du glycérol kinase forme le glycérol -3- phosphate (GTP) qui est oxydé en H_2O_2 . Ce dernier forme avec le 4-aminophénazone et le p-chlorophénol en présence de peroxydase un complexe rouge, selon les quatre réactions suivantes:

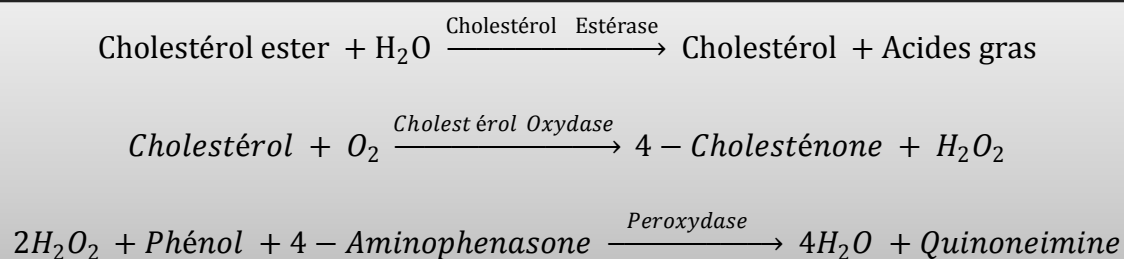


L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans les échantillons (Kaplan et al., 1984).

7.4. Dosage du cholestérol

Le dosage du cholestérol a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique (Spinreact).

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon (Naito, 1984).

7.5. Dosage des protéines totales

Le dosage de protéine a été réalisé par la méthode colorimétrique selon la fiche technique (Spinreact).

Les liaisons peptidiques réagissent avec les sulfates de cuivre en milieu alcalin formant une coloration violette (bleu-violet) dont l'intensité mesurée à 540 est proportionnelle à la quantité de protéines présentes dans le milieu (Burtis et al., 1999).

7.6. Dosage d'albumine

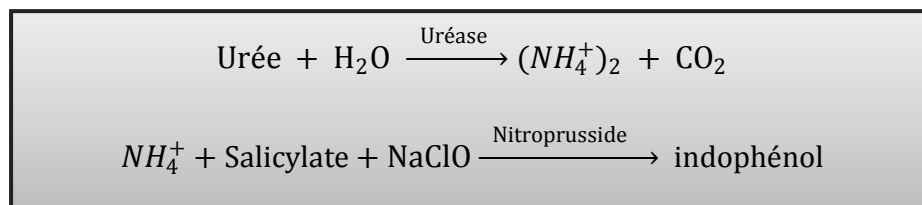
La détermination de la concentration de l'albumine a été réalisée par la méthode colorimétrique selon la fiche technique (Spinréact).

L'albumine réagit avec le vert de bromocrésol (BCG) en milieu acide, pour former un complexe coloré, dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité d'albumine dans l'échantillon (Gendler, 1984).

7.7. Dosage d'urée

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique à l'uréase selon la fiche technique (Spinréact).

L'urée est hydrolysée enzymatiquement à l'ammoniaque (NH_4^+) et le dioxyde de carbone (CO_2). Les ions ammoniacaux ainsi formés réagissent avec du salicylate et l'hypochlorite (NaClO), en présence d'un catalyseur nitroprusside, pour former un indophénol vert, selon les réactions ci-dessous :



L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon (Kaplan, 1984).

7.8. Dosage de créatinine

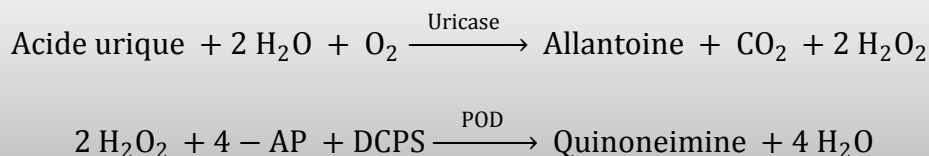
Le dosage de créatinine a été réalisé par la méthode cinétique colorimétrique selon la fiche technique (Spinréact).

L'essai est basé sur la réaction de créatinine avec l'acide picrique : c'est la réaction de JAFFE. La créatinine réagit avec le picrate alcalin pour donner un complexe coloré, mesuré dans un intervalle de temps défini et proportionnel à la concentration en créatinine de l'échantillon (Murray, 1984).

7.9. Dosage d'acide urique

Le dosage de l'acide urique a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique (Spinréact).

L'acide urique est oxydé par l'uricase à allantoïne et eau oxygénée ($2 \text{ H}_2\text{O}_2$) qui sous l'influence de peroxydase (POD), 4-Aminophenase (4-AP) et le 2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS) forme un complexe rouge (quinoneimine).



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon (Schultz, 1984).

7.10. Dosage de bilirubine totale et directe

Le dosage de la bilirubine a été réalisé par la méthode colorimétrique selon la fiche technique (Spinreact).

La bilirubine est convertie en azobilirubine coloré par l'acide sulfanilique diazoté et mesuré par la méthode photométrique. Les deux fractions de bilirubine présents dans le sérum, bilirubine-glucuronide et bilirubine libre sont liés à l'albumine, seulement la bilirubine-glucuronide réagit directement dans la solution aqueuse (la bilirubine directe). Tandis que la bilirubine libre exige la solubilisation avec le diméthylsulfoxyde (DMSO) pour réagir (la bilirubine indirecte). Dans la

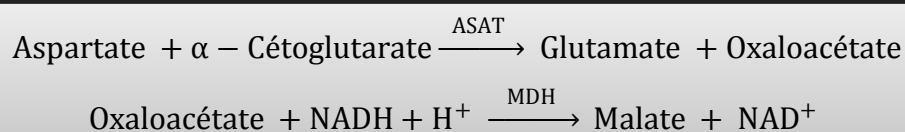
détermination de la bilirubine indirecte, la directe est également déterminée, les résultats correspondent à la bilirubine totale.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de bilirubine dans l'échantillon (Kaplan et al., 1984).

7.11. Dosage de l'activité d'aspartate aminotransférase ASAT (TGO)

Le dosage de l'activité d'aspartate aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique (Spinréact).

L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi L'oxaloacétate de glutamate (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétooglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984).

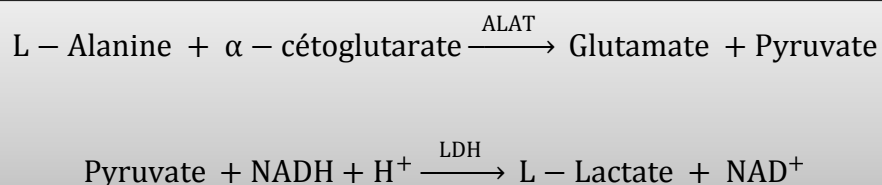


7.12. Dosage de l'activité d'alanine aminotransférase ALAT (TGP)

Le dosage de l'activité d'alanine aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique (Spinréact).

La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine aminotransférase dans l'échantillon (Murray, 1984).

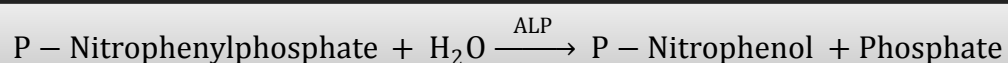
Le principe est présenté selon la réaction suivante :



7.13. Dosage de l'activité de phosphatase alcaline (ALP)

Le dosage de l'activité de phosphatase alcaline a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique (Spinréact).

La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate à pH 10.4 pour donner le p-nitrophénol et le phosphate (Rosalki et al., 1993), selon la réaction suivante :



La formation de p-nitrophénol est mesurée photométriquement, où elle est proportionnelle à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline dans l'échantillon.

7.14. Dosage de l'activité de lactate déshydrogénase (LDH)

Le dosage de l'activité de lactate déshydrogénase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique (Spinréact).

Lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la réduction de pyruvate par NADH selon la réaction suivante :



La diminution de la concentration en NADPH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique de LDH dans l'échantillon (Pesce, 1984).

7.15. Dosage de l'activité de l' α -amylase

Le dosage de l'activité de l' α -amylase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique (Spinréact).

Le 2-chloro-4-nitrophenyl α -D-maltotrioside (CNPG₃) est enzymatiquement hydrolysé par l' α -amylase en 2-chloronitrophenol (CNP) avec la formation de 2-chloro-4-nitrophenyl α -D-maltoside (CNPG₂), maltriose (G₃) et en glucose (G).



L'intensité de la couleur de 2-chloronitrophenol (CNP) formé est proportionnelle à l'activité de l' α -amylase dans l'échantillon (Ying Foo et al., 1998).

7.16. Dosage du glycogène hépatique

Le dosage du glycogène hépatique se fait par la méthode enzymatique de Bergmeyer (1963).

7.16.1. Principe

Le glycogène hépatique s'hydrolyse en glucose par l'amyloglucosidase (EC.3.2.1.3) (figure 25).

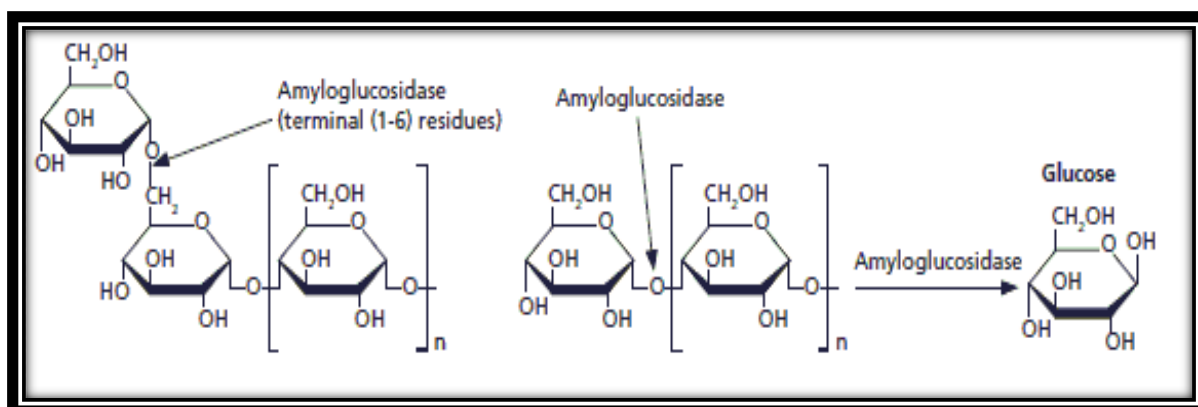


Figure 25: L'hydrolyse de l'amidon au glucose est catalysée par l'amyloglucosidase.

7.16.2. Préparation de l'homogénat

250 mg de foie des rats des différents groupes étudiés, a été homogénéisé dans des tube avec 4 ml l'acide perchlorique (0.6 M) glacé. Les tubes en suit ont été lavé avec l'acide perchlorique (0.6 M) jusqu'à l'obtention de volume de 8 ml.

7.16.3. Mode opératoire

	Blanc	Essai
Homogénat (µl)	100	100
Bicarbonate de potassium (1 M) (µl)	70	70
Tampon (Acide Acétique, Hydroxyde de sodium) pH 4.5 (ml)	1.0	—
Amyloglucosidase (ml)	—	1.0

- laisser les tubes durant la nuit dans un bain marie à 40°C.
- Ajouter à chaque tube 50 µl de l'acide perchlorique (0.6 M).
- Agiter et centrifuger à 10000 tours/min pendant 2 min.
- Ajouter 1 ml de tampon phosphate contient du glucose oxydase (GOD) et peroxydase (POD).
- Lire la densité optique à 420 nm contre le blanc.

Chaque essai est répétée deux fois, la valeur moyenne de l'absorbance est calculée puis convertie en équivalent de concentration glycogène à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie, avec du glucose (0-250 mg/ml), dans les mêmes conditions expérimentales.

8. Dosage des paramètres du stress oxydatif

8.1. Préparation de l'homogénat

Un gramme de foie des rats des différents groupes étudiés a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 trous/min, 4°C, 15 min), le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs puis conservés à (- 20°C) en attendant d'effectuer le dosage des paramètres du stress oxydatif.

8.2. Dosage des protéines hépatiques

Le dosage des protéines est déterminé selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines ($-NH_2$) des protéines pour former un complexe de couleur bleu (L'apparition de la couleur bleu reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.1 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 5 ml de réactif de Bradford.
- ✓ Agiter et laisser reposer 5 minutes.
- ✓ Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions.

8.3. Dosage de malondialdéhyde (MDA)

Le MDA peut être détecté par une réaction colorimétrique à l'acide thiobarbiturique (TBA). La détection de MDA issue de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3 ou 4 doubles liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipopéroxydation in vitro. Le dosage de MDA est réalisé selon la méthode de Buege and Aust (1984).

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose) (figure 26). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

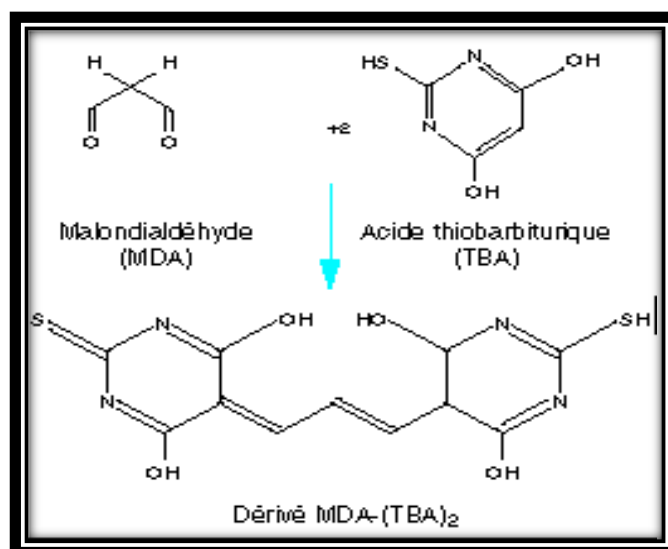


Figure 26 : Réaction de dialdéhydemalonique avec l'acide Thiobarbiturique.

La procédure expérimentale de dosage de MDA, est la suivante :

- ✓ 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%).
- ✓ Vortexer et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min.
- ✓ Prélever 400 µl de surnageant.
- ✓ 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 directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, 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 en nmoles/mg de protéines ;
- DO : Densité optique lue à 530 nm ;
- E : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;
- L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm ;
- X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml) ;
- Fd : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.

8.4. Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode d'Ellman (1959) modifié par Jollow et al. (1974). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela on réalise une déprotéinisation afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du glutathion (figure 27).

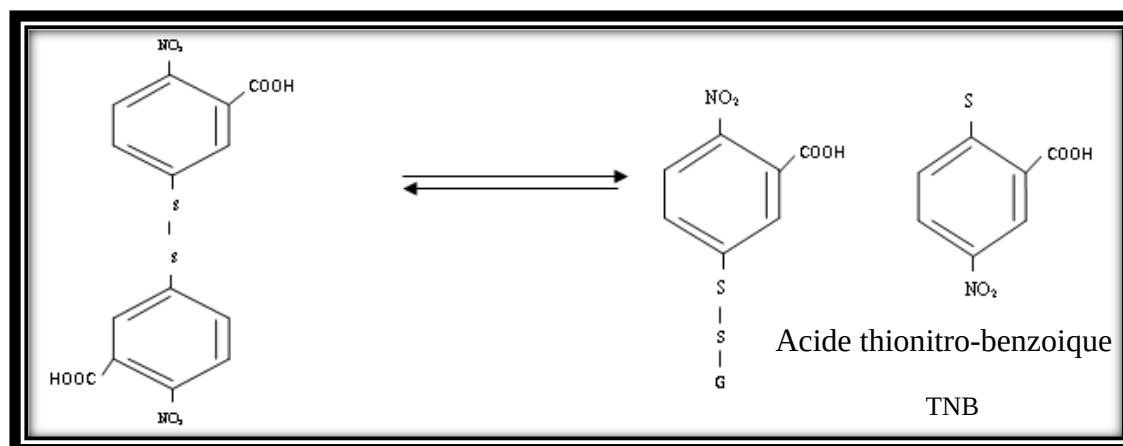


Figure 27: Réaction d'Ellman.

La procédure expérimentale de dosage du glutathion réduit est la suivante :

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat ;
- ✓ 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.

Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc réactif.

La concentration du glutathion réduit est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH (nmol GSH/mg de protéine)} = \frac{D0 \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéine}}$$

- D0 : Densité optique.
- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8 ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau de surnageant (0.5 ml surnageant + 1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement (-SH) à 412 nm.
- 0.8 : Volume de l'homogénat.
- 0.5 : Volume de surnageant.

8.5. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px)

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mesurée par la méthode de Flohe and Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence du glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de GSH-Px selon la réaction suivante :



Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant) ;
- ✓ Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM) ;
- ✓ Ajouter 0.2 ml de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4) ;
- ✓ Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min ;
- ✓ Ajouter 0.2 ml de H_2O_2 (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 un bain de glace pendant 30 minutes ;
- ✓ Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes ;
- ✓ Prélever 0.48 ml de surnageant ;
- ✓ Ajouter 2.2 ml de 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 :

$$GSH-Px (\mu\text{mol GSH/mg protéine}) = \frac{(DO_{\text{échantillon}} \times DO_{\text{étalon}}) \times 0.04}{DO_{\text{étalon}}}$$

- $DO_{\text{échantillon}}$: Densité optique de l'échantillon.
- $DO_{\text{étalon}}$: Densité optique de l'étalon.
- 0.04 : Concentration de substrat (GSH).

8.6. Dosage de l'activité du glutathion-S-transférase (GST)

La mesure de l'activité de GST, consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du (CDNB) 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène, qui réagit facilement avec des nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une nouvelle molécule qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

8.6.1. Protocole expérimental

La méthode utilisée dans cette étude pour doser le GST est celle de Habig et al. (1974) ; celle-ci consiste à faire agir le GST contenue dans l'homogénat sur un mélange (GSH + CDNB) à une température de 37°C et à un pH de 6.5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1 minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm.

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (0.1M) pH 6.5	850	830
CDNB (0.02M)	50	50
GSH (0.1M)	100	100
Homogénat	-	20

La valeur de la densité optique de blanc (conjugaison spontanée du substrat) a été ensuite retranchée à la valeur de chaque essai afin de mesurer la variation due uniquement à l'activité de l'enzyme.

La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GST (nmol GST/min/mg protéine)} = \frac{(DO_{\text{échant}} / \text{min} - DO_{\text{blanc}} / \text{min})}{9.6 \times \text{mg protéine}}$$

- $DO_{\text{échant}} / \text{min}$: Densité optique de l'échantillon /min.
- $DO_{\text{blanc}} / \text{min}$: Densité optique du blanc /min.
- 9.6 : Coefficient d'extinction du GSH-CDNB.

8.7. Dosage de l'activité du catalase (CAT)

L'activité du catalase est déterminée selon la méthode de Clairborne (1985). Le principe repose sur la disparition de l' H_2O_2 à 25°C par la présence du catalase.

8.7.1. Méthode de dosage

Le dosage est réalisé dans un volume final de 3 ml. A 2.9 ml d'une solution d' H_2O_2 (19 mmol/L) (préparée dans un tampon phosphate 0.1M, pH 7.4) nous avons additionné 100 μl de l'homogénat.

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

Calcul de l'activité :

L'activité de l'enzyme est exprimée en Unité/mg de protéine.

$$F = \frac{2.303}{T} \log \frac{A_1}{A_2}$$

- F = Constant de vitesse de la réaction.
- T : Intervalle de temps (min).
- A1 : Absorbance à la première minute.
- A2 : Absorbance à la deuxième minute.

9. Traitement statistique des résultats

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type moyen (Moy $\pm$ SEM), la comparaison entre les différents groupes sont effectuées après une analyse de la variance (ANOVA), les moyennes sont comparées par un test Mann Whitney U.

L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 16).

Les différences sont considérées comme :

- Significatives lorsque ($p < 0.05$).
- Hautement significative lorsque ($p < 0.01$).
- Très hautement significative lorsque ($p < 0.001$).

Avec p : Seuil de signification.

CHAPITRE II

Résultats

RÉSULTATS

1. Effet du traitement par la vitamine C sur les rats diabétiques

1.1. Etude de la croissance corporelle et la consommation alimentaire

Nos résultats montrent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) du poids corporel et de la consommation alimentaire chez le lot de régime carencé en zinc (RC) (- 44.73%, - 18.64%) respectivement, par rapport à celui de régime alimentaire normal (RN), tandis que, on enregistre une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) du poids corporel et une augmentation significative ($p < 0.05$) de la consommation alimentaire chez les rats alimentés par un régime normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) comparant à ceux non traités (RN) et une augmentation significative ($p < 0.05$) du poids corporel, et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la consommation alimentaire chez les rats carencés en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) par rapport à ceux non traités (RC) (tableau 09, figures 28, 29).

Tableau 09 : Variation du poids initial, gain du poids corporel et la consommation alimentaire des rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux			
	RN	RC	RN + Vit C	RC + Vit C
Poids initial (g)	225.00 ± 28.04	224.83 ± 37.39	223.00 ± 16.19	223.00 ± 29.20
Gain du poids (g/jour/rat)	4.750 ± 1.151	2.625 ^b ± 0.661	5.571 ^b ± 0.336	3.150 ^c ± 0.276
%		- 44.73%	+ 17.28%	+ 20.00%
Consommation alimentaire (g/jour/rat)	15.50 ± 1.10	12.61 ^b ± 1.20	17.67 ^a ± 1.55	15.21 ^d ± 0.40
%		- 18.64%	+ 14.00%	+ 20.62%

^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$: différence significative par rapport au groupe RN.

^c $p < 0.05$, ^d $p < 0.01$: différence significative par rapport au groupe RC.

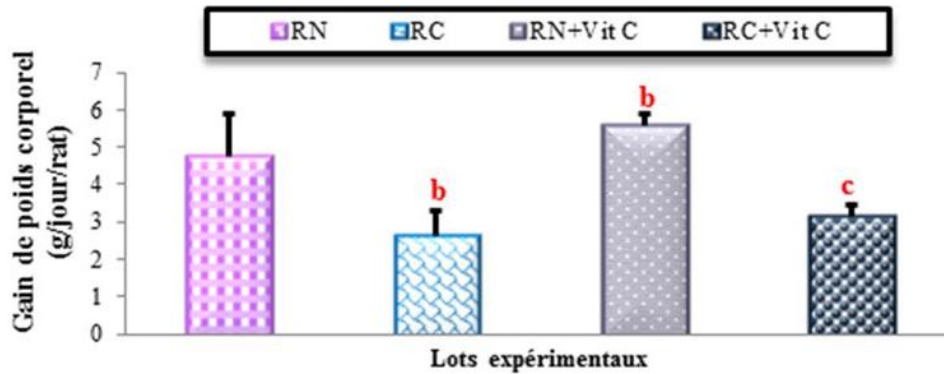


Figure 28: Variation du gain de poids corporel des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

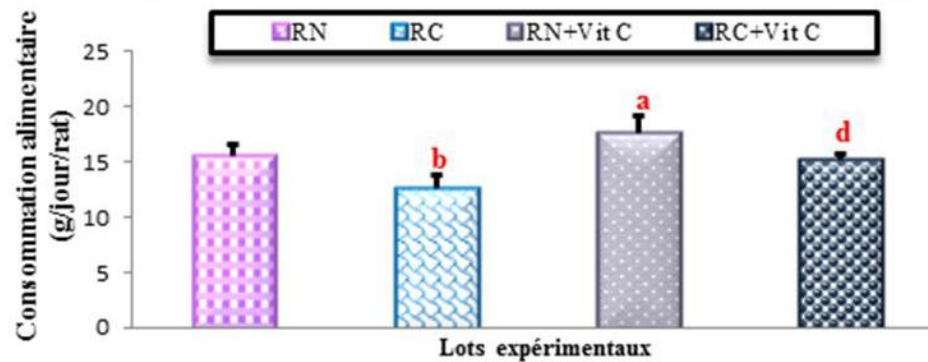


Figure 29: Variation de la consommation alimentaire des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

1.2. Etude de statut du zinc dans l'organisme

Le tableau 10 et les figures (30, 31, 32, 33, 34, 35) présentent une diminution significative de la concentration du zinc dans le sérum et le foie ($p < 0.001$), dans le rein, le testicule et le pancréas ($p < 0.05$) et une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration du zinc dans le fémur chez les rats qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc (RC) par rapport à ceux qui sont sous un régime alimentaire normal (RN).

Après le traitement par la vitamine C des rats alimentés par un régime normal (RN + Vit C), on remarque une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration du zinc dans le sérum, le foie, le testicule et le fémur, et une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration du zinc dans le pancréas comparant à ceux non traités (RN), ainsi pour les rats de régime carencé en zinc qui sont traités par la vitamine C (RC + Vit C), on constate une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration du zinc dans le sérum et le pancréas et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration du zinc dans le foie, le testicule et le fémur par rapport aux rats de régime carencé en zinc non traités (RC).

Tableau 10 : Variation de la concentration du zinc dans le sérum, le foie, le rein, le testicule, le fémur et le pancréas des rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement.

Organes	Lots expérimentaux			
	RN	RC	RN + Vit C	RC + Vit C
Sérum ($\mu\text{g/dl}$)	77.50 ± 0.018	$68.40^c \pm 0.002$	$101.61^b \pm 0.029$	$75.25^d \pm 0.019$
%		- 11.74%	+ 31.11%	+ 10.01%
Foie ($\mu\text{g/g}$)	67.30 ± 2.82	$44.00^c \pm 3.26$	$75.37^b \pm 0.82$	$64.92^e \pm 3.17$
%		- 34.62%	+ 12.00%	+ 47.54%
Rein ($\mu\text{g/g}$)	85.03 ± 4.85	$73.18^a \pm 2.08$	$56.57^b \pm 6.69$	$34.67^e \pm 9.20$
%		-13.93%	- 33.5%	+ 52.62%
Testicule ($\mu\text{g/g}$)	124.90 ± 10.40	$103.04^a \pm 1.74$	$153.44^b \pm 4.51$	$145.90^e \pm 15.40$
%		-17.50%	+ 22.85%	+ 41.59%
Fémur ($\mu\text{g/g}$)	82.25 ± 3.23	$144.02^a \pm 2.02$	$219.20^b \pm 21.40$	$193.10^e \pm 17.40$
%		+ 75.10%	+ 166.50%	+ 34.08%
Pancréas ($\mu\text{g/g}$)	55.76 ± 2.03	$40.85^a \pm 0.81$	$63.05^a \pm 3.20$	$50.19^d \pm 1.49$
%		- 26.74%	+ 13.07%	+ 22.86%

^ap < 0.05, ^bp < 0.01, ^cp < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RN.

^dp < 0.05, ^ep < 0.01 : différence significative par rapport au groupe RC.

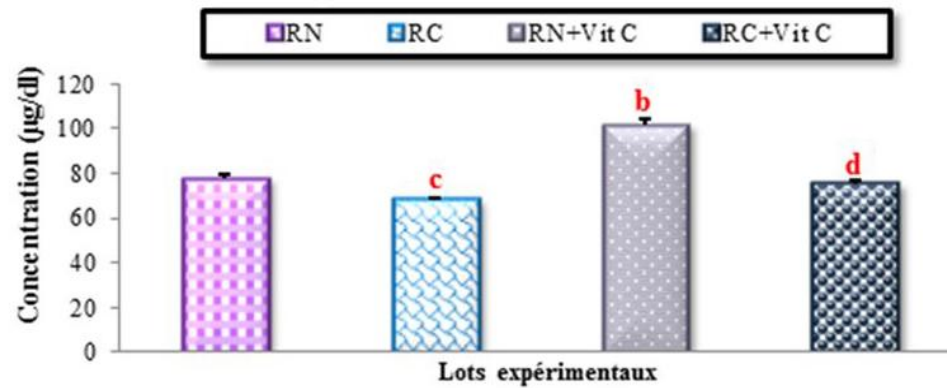


Figure 30: Variation de la concentration du zinc dans le sérum des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

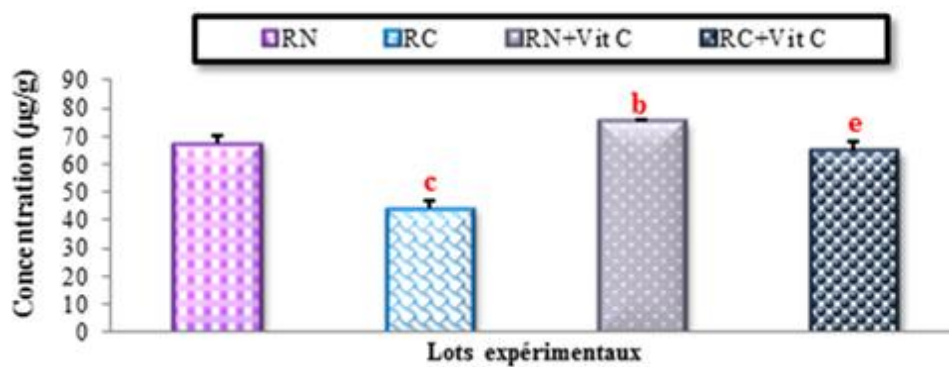


Figure 31: Variation de la concentration du zinc dans le foie des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

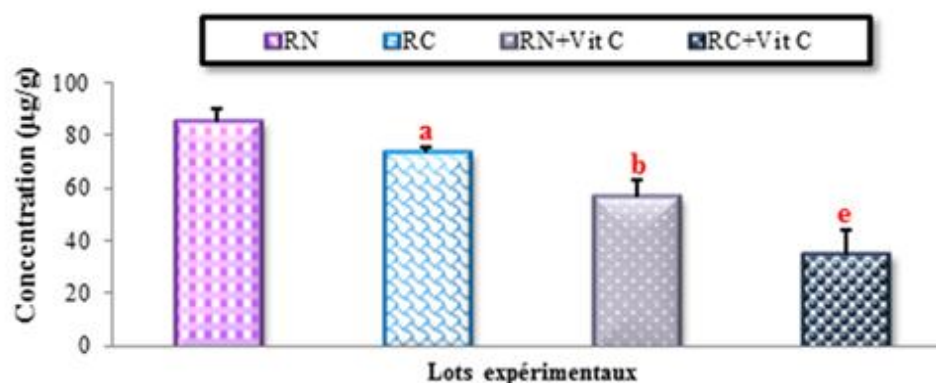


Figure 32: Variation de la concentration du zinc dans le rein des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

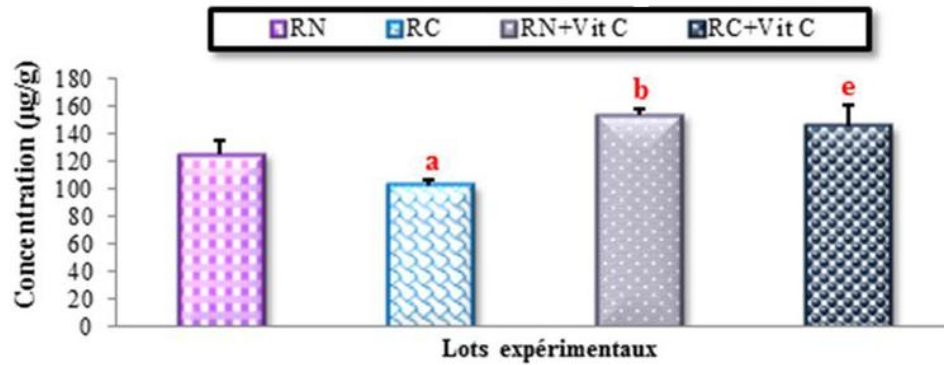


Figure 33: Variation de la concentration du zinc dans le testicule des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

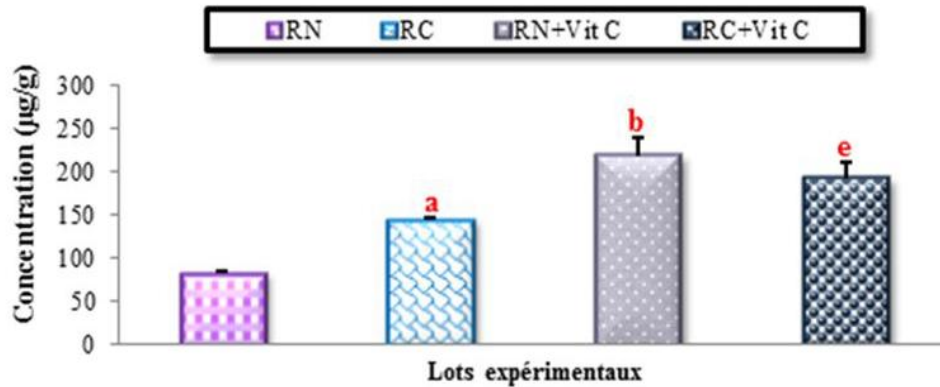


Figure 34: Variation de la concentration du zinc dans le fémur des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

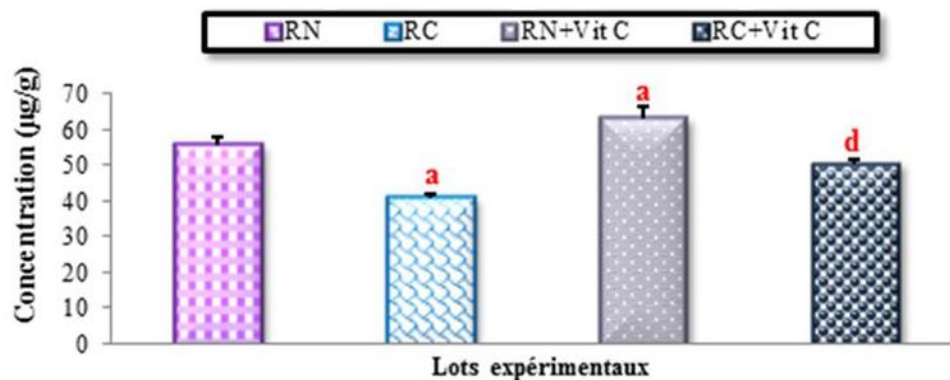


Figure 35: Variation de la concentration du zinc dans le pancréas des rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

1.3. Etude des paramètres biochimiques

1.3.1. Profile glucidique (glucose et glycogène)

Les statistiques exposent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique du glucose (+ 41.53%) chez les rats carencés en zinc (RC) comparant aux rats consommés un régime normal (RN). En revanche, on enregistre chez le lot nourri par un régime normal traité par la vitamine C (RN + Vit C) une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique du glucose (- 09.21%) par rapport au lot non traité (RN). D'autre part on note chez les rats alimentés par un régime pauvre en zinc supplémentés par la vitamine C (RC + Vit C) une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique du glucose (- 14.94%) comparant aux rats carencés en zinc non traités (RC) (tableau 11, figure 36).

Par ailleurs, on constate une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la teneur hépatique du glycogène (- 25.84%) chez les rats sous un régime carencé en zinc (RC) confrontant aux rats sous un régime normal (RN). Le traitement par la vitamine C (RN + Vit C) et (RC + Vit C) a augmenté significativement la teneur hépatique du glycogène ($p < 0.001$; $p < 0.01$) respectivement, par rapport aux lots non traités (RN) et (RC) (tableau 11, figure 37).

1.3.2. Profile lipidique (lipides totaux, triglycérides, cholestérol)

L'interprétation des résultats démontre une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique des triglycérides (+ 213.04%) et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique des lipides totaux (+ 116.61%) chez le groupe carencé en zinc (RC) comparant au groupe qui a consommé un régime riche en zinc (RN). Par contre, on constate une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique des lipides totaux (- 16.46%) et une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique du cholestérol (- 21.75%) et des triglycérides (- 17.75%) chez le lot nourri par une diète normale traité par la vitamine C (RN + Vit C) par rapport au groupe nourri par une diète normale (RN). Par ailleurs, on remarque une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique des lipides totaux (- 51.41%)

et des triglycérides (- 70.47%) et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique du cholestérol (- 30.59%) des rats alimentés par un régime pauvre en zinc supplémentés par la vitamine C (RC + Vit C) comparant aux rats carencés en zinc non traités (RC) (tableau 11, figures 38, 39, 40).

Tableau 11 : Variation de quelques paramètres biochimiques sériques (glucose, lipides totaux, cholestérol, triglycérides) et du glycogène hépatique chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux			
	RN	RC	RN + Vit C	RC + Vit C
Glucose (mg/dl)	220.79 ± 0.072	312.50 ^c ± 0.190	200.46 ^a ± 0.032	265.8 ^d ± 0.127
%		+ 41.53%	- 09.21%	- 14.94%
Glycogène hépatique (mg/g poids sec)	37.57 ± 1.91	27.86 ^c ± 0.54	52.04 ^c ± 2.11	43.51 ^e ± 2.47
%		- 25.84%	+ 38.51%	+ 56.16%
Lipides totaux (mg/dl)	411.8 ± 25.80	892.0 ^b ± 12.00	344.0 ^b ± 10.50	433.4 ^f ± 8.36
%		116.61%	- 16.46%	- 51.41%
Cholestérol (mg/dl)	78.87 ± 7.25	94.27 ± 5.04	61.71 ^a ± 2.59	65.43 ^e ± 3.14
%		+ 19.52%	- 21.75%	- 30.59%
Triglycerides (mg/dl)	110.88 ± 2.18	347.10 ^c ± 20.5	91.19 ^a ± 6.14	102.50 ^f ± 21.7
%		+ 213.04%	- 17.75%	- 70.47%

^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$: différence significative par rapport au groupe RN.

^d $p < 0.05$, ^e $p < 0.01$, ^f $p < 0.001$: différence significative par rapport au groupe RC.

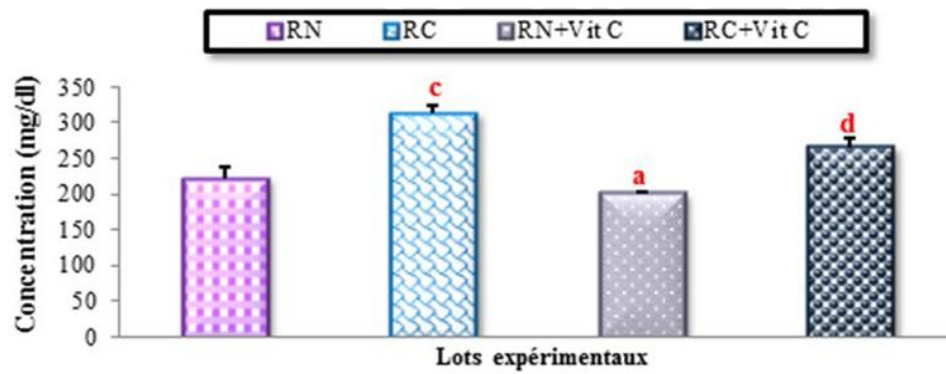


Figure 36: Variation de la concentration sérique du glucose chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

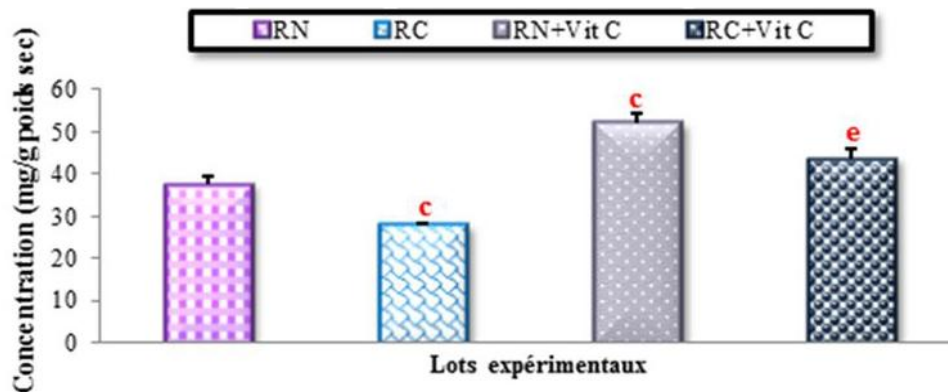


Figure 37 : Variation de la concentration du glycogène hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

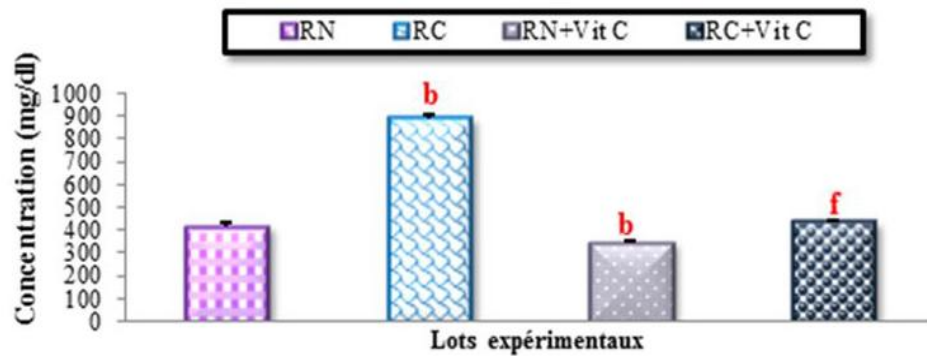


Figure 38: Variation de la concentration sérique des lipides totaux chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

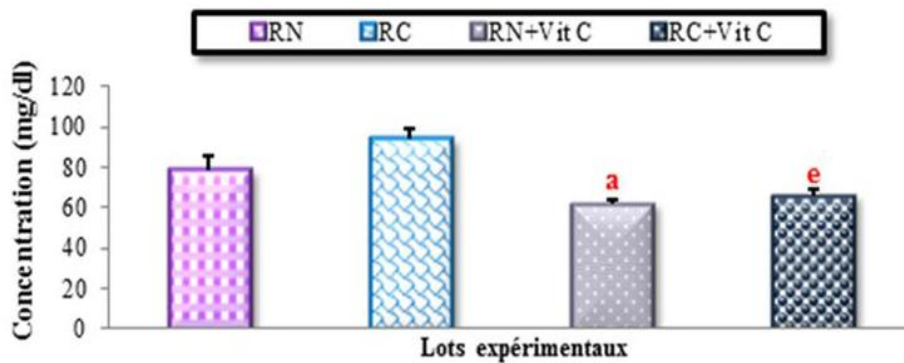


Figure 39 : Variation de la concentration sérique du cholestérol chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

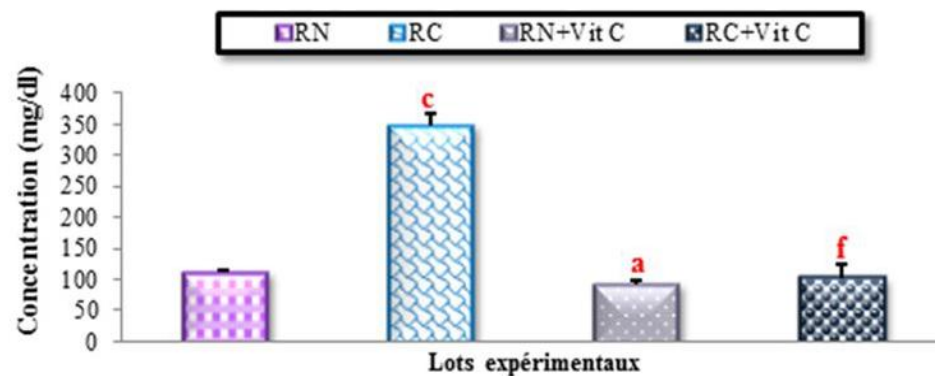


Figure 40 : Variation de la concentration sérique des triglycérides chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

1.3.3. Profile protéique

➤ Protéines totales et albumine

Le tableau 12 et les figures (41, 42) illustrent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique des protéines totales (- 20.88%) et une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique d'albumine (- 17.31%) des rats nourris par une nourriture pauvre en zinc (RC) par rapport aux rats nourris par une nourriture normale (RN). Par ailleurs, nos résultats indiquent une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique des protéines totales (+ 32.13%) et une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique d'albumine (+ 33.14%) chez les rats qui sont sous un régime alimentaire normal supplémentés par la vitamine C (RN + Vit C) par rapport à ceux non traités (RN) et une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique des protéines totales (+ 17.32%) et d'albumine (+ 28.18%) de lot carencé en zinc traité par la vitamine C (RC + Vit C) comparé au lot carencé en zinc non traité (RC).

➤ Urée et créatinine

Nos résultats indiquent une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique d'urée (+ 07.97%) et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique de créatinine (+ 90.70%) des rats alimentés par un régime pauvre en zinc (RC) comparé aux rats alimentés par un régime riche en zinc (RN). En revanche l'administration de la vitamine C chez les rats alimentés par une nourriture normale (RN + Vit C) a provoqué une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique d'urée (- 20.44%) par rapport aux rats alimentés par un régime normal (RN), mais pour les rats de régime pauvres en zinc le traitement par la vitamine C (RC + Vit C) a causé une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique d'urée (- 16.31%) et de créatinine (- 39.86%) par rapport aux rats carencés en zinc (RC) (tableau 12, figures 43, 44).

➤ **Acide urique**

Les statistiques exposent une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique d'acide urique (+ 32.39%) chez les rats alimentés par un régime pauvre en zinc (RC) comparé aux rats de régime normal (RN). D'autre part, l'administration de la vitamine C chez les groupes ; de régime normal (RN + Vit C) et de régime carencé en zinc (RC + Vit C) a provoqué une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique d'acide urique par rapport aux deux groupes non traités (RN) et (RC) (tableau 12, figure 45).

➤ **Bilirubine totale et directe**

Le tableau 12 et les figures (46, 47) présentent une augmentation significative ($p < 0.001$; $p < 0.05$) respectivement, de la concentration sérique de bilirubine totale (+ 46.50%) et directe (+ 31.87%) des rats alimentés par un régime pauvre en zinc (RC) comparé aux rats alimentés par un régime alimentaire riche en zinc (RN). Par ailleurs, le traitement par la vitamine C des rats alimentés par une nourriture normale (RN + Vit C) a provoqué une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique de bilirubine totale (- 17.55%) par rapport aux rats alimentés par un régime normal (RN), ainsi, pour les rats de régime pauvre en zinc l'addition de la vitamine C (RC + Vit C) a causé une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique de bilirubine totale et directe (- 17.22% ; - 21.95%) respectivement, par rapport aux rats de régime carencé en zinc (RC).

Tableau 12: Variation de quelques paramètres biochimiques sériques (protéines totales, albumine, urée, créatinine, acide urique, bilirubine totale, bilirubine directe) chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux			
	<i>RN</i>	<i>RC</i>	<i>RN + Vit C</i>	<i>RC + Vit C</i>
<i>Protéines totales (g/dl)</i>	6.13 ± 0.310	4.85 ^b ± 0.110	8.10 ^b ± 0.517	5.69 ^e ± 0.113
%		- 20.88%	+ 32.13%	+ 17.32%
<i>Albumine (g/dl)</i>	3.304 ± 0.210	2.732 ^a ± 0.053	4.399 ^a ± 0.268	3.502 ^e ± 0.116
%		- 17.31%	+ 33.14%	+ 28.18%
<i>Urée (mg/dl)</i>	54.68 ± 1.20	59.04 ^a ± 1.51	43.50 ^b ± 2.21	49.41 ^e ± 1.78
%		+ 07.97%	- 20.44%	- 16.31%
<i>Créatinine (mg /dl)</i>	0.538 ± 0.136	1.026 ^b ± 0.069	0.447 ± 0.041	0.617 ^e ± 0.058
%		+ 90.70%	- 16.91%	- 39.86%
<i>Acide urique (mg/dl)</i>	2.797 ± 0.13	3.703 ^b ± 0.350	2.277 ^a ± 0.178	2.762 ^d ± 0.189
%		+ 32.39%	- 18.59%	- 25.41%
<i>Bilirubine totale (mg/dl)</i>	0.729 ± 0.036	1.068 ^c ± 0.058	0.601 ^b ± 0.024	0.884 ^d ± 0.094
%		+ 46.50%	- 17.55%	- 17.22%
<i>Bilirubine directe (mg/dl)</i>	0.411 ± 0.029	0.542 ^a ± 0.043	0.375 ± 0.007	0.423 ^d ± 0.009
%		+ 31.87%	- 08.76%	- 21.95%

^ap < 0.05, ^bp < 0.01, ^cp < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RN.

^dp < 0.05, ^ep < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RC.

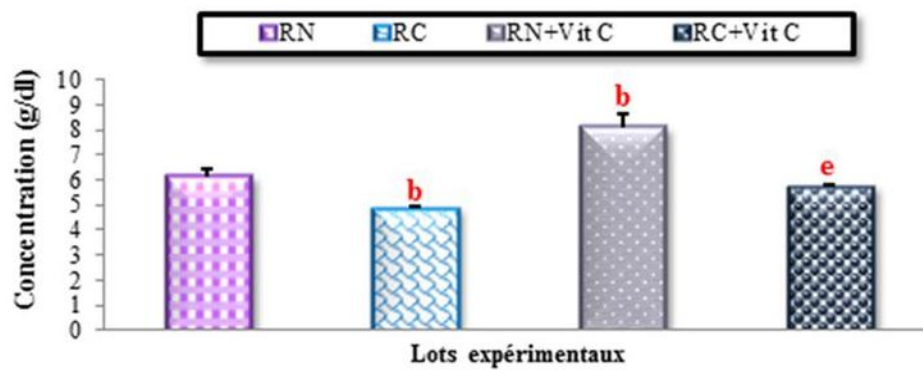


Figure 41: Variation de la concentration sérique des protéines totales chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

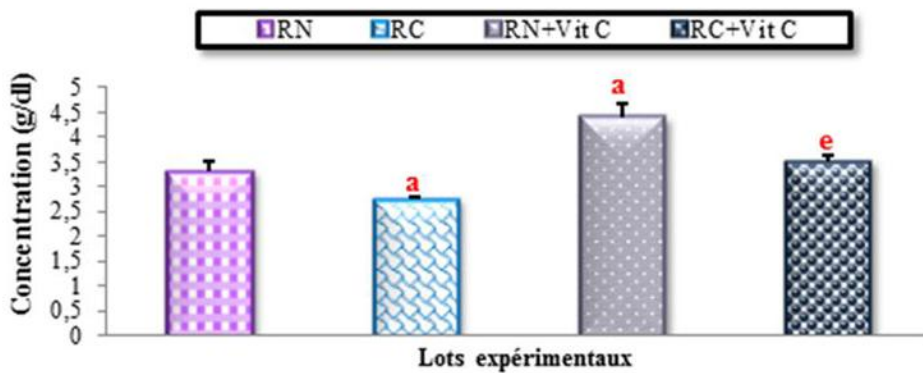


Figure 42 : Variation de la concentration sérique d'albumine chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

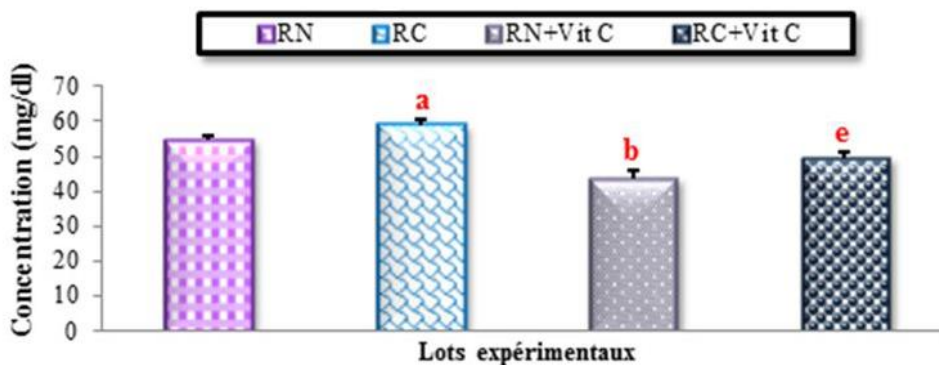


Figure 43 : Variation de la concentration sérique d'urée chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

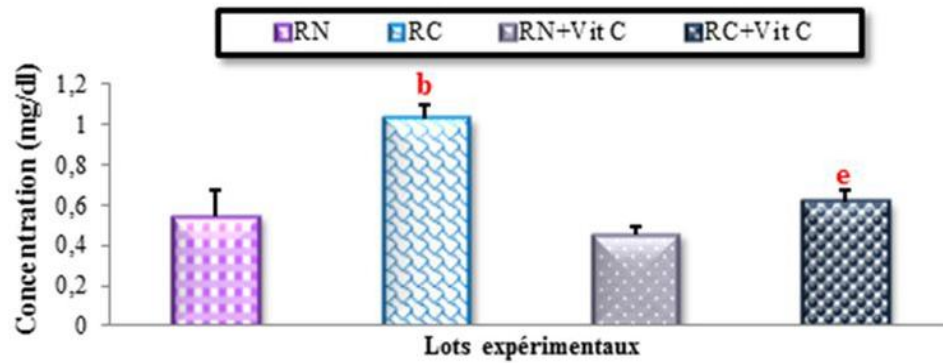


Figure 44 : Variation de la concentration sérique de créatinine chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

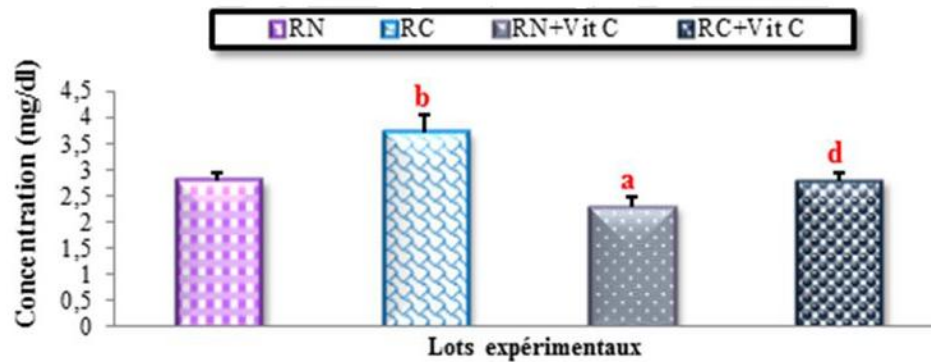


Figure 45 : Variation de la concentration sérique d'acide urique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

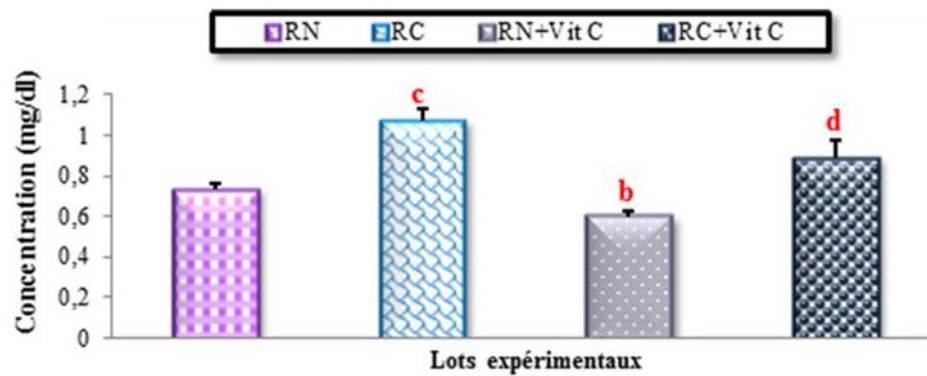


Figure 46 : Variation de la concentration sérique de bilirubine totale chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

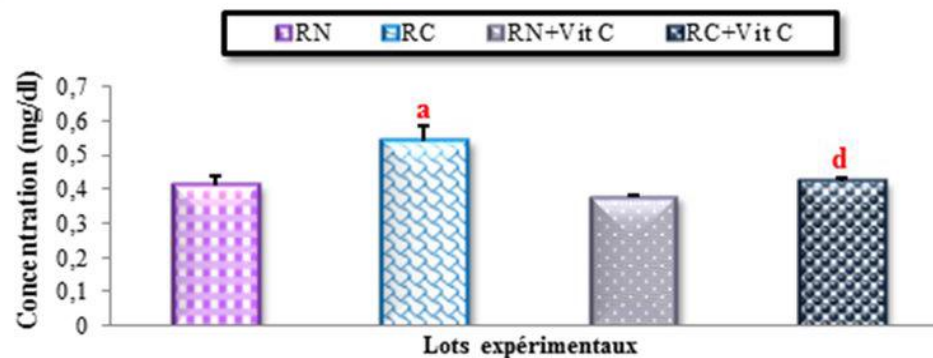


Figure 47 : Variation de la concentration sérique de bilirubine directe chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

1.3.4. Paramètres enzymatiques

➤ Transaminases

Nos résultats révèlent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique de TGO (+ 42.80%) et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de TGP (+ 38.12%) chez les rats carencés en zinc (RC) comparé aux rats de diète normale (RN). Par conséquent, les résultats indiquent que l'administration de la vitamine C chez le groupe de régime normal (RN + Vit C) a provoqué une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique de TGO (- 13.58%) et de TGP (- 33.54%) par rapport à celui non traité (RN). D'autre part on enregistre une diminution significative ($p < 0.05$; $p < 0.01$) respectivement, de l'activité enzymatique de TGO et de TGP chez les rats diabétiques traités par la vitamine C et qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc (RC + Vit C) par rapport aux autres non traités (RC) (tableau 13, figures 48, 49).

➤ Phosphatase alcaline (ALP) et lactate déshydrogénase (LDH)

Les résultats obtenus indiquent que la carence en zinc dans l'alimentation (RC) est accompagnée par une diminution significative ($p < 0.001$; $p < 0.01$) respectivement, de l'activité enzymatique d'ALP (- 61.19%) et de LDH (- 22.14%) par rapport au groupe de régime normal (RN). Alors que, l'activité enzymatique d'ALP montre une augmentation significative ($p < 0.05$) chez les deux lots traités par la vitamine C (RN + Vit C) et (RC + Vit C) par rapport aux deux groupes non traités (RN) et (RC). Cependant, l'activité enzymatique de LDH présente une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) chez le lot carencé en zinc traité par la vitamine C (RC + Vit C) par rapport à celui non traité (RC) (tableau 13, figures 50, 51).

➤ **α -amylase**

D'après le tableau 13 et la figures 52 on observe une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité de l' α -amylase (+ 48.95%) chez le groupe carencé en zinc (RC) comparé au groupe alimenté par une diète normale (RN). En revanche, les résultats démontrent que l'administration de la vitamine C chez les rats carencés en zinc (RC + Vit C) a causé une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité de l' α -amylase (- 10.43%) par rapport à ceux non traités (RC).

Tableau 13: Variation de l'activité de quelques enzymes sériques (TGO, TGP, ALP, LDH, α -amylase) chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement.

Enzymes	Lots expérimentaux			
	RN	RC	RN + Vit C	RC + Vit C
<i>TGO (UI/L)</i>	71.12 ± 0.55	101.56 ^c ± 4.30	61.46 ^c ± 2.35	83.69 ^d ± 6.99
%		+ 42.80%	- 13.58%	- 17.59%
<i>TGP (UI/L)</i>	72.69 ± 1.55	100.40 ^b ± 5.67	48.31 ^c ± 1.74	81.13 ^e ± 0.69
%		+ 38.12%	- 33.54%	- 19.19%
<i>ALP (UI/L)</i>	171.39 ± 5.75	66.51 ^c ± 4.59	191.46 ^a ± 5.65	100.4 ^d ± 16.00
%		- 61.19%	+ 11.71%	+ 50.95%
<i>LDH (UI/L)</i>	697.8 ± 40.1	543.3 ^b ± 28.1	745.7 ± 18.4	701.2 ^e ± 24.3
%		- 22.14%	+ 06.86%	+ 29.06%
<i>α-amylase (UI/L)</i>	652.4 ± 25.9	971.8 ^c ± 17.1	632.0 ± 49.2	870.4 ^e ± 26.8
%		+ 48.95%	- 03.12%	- 10.43%

^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$: différence significative par rapport au groupe RN.

^d $p < 0.05$, ^e $p < 0.01$: différence significative par rapport au groupe RC.

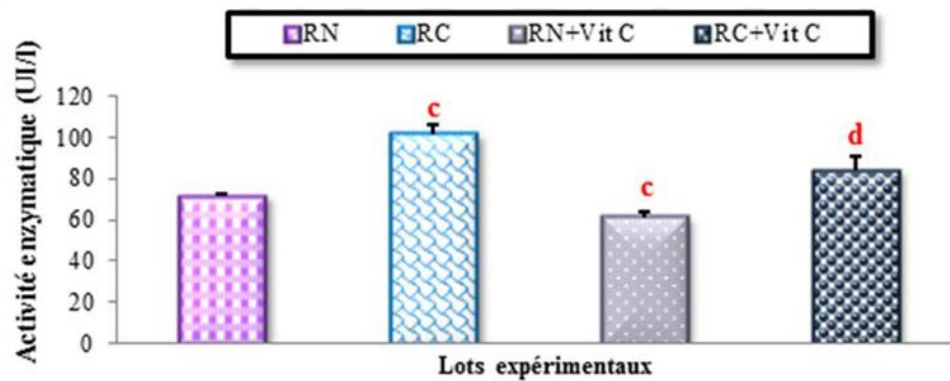


Figure 48: Variation de l'activité enzymatique de TGO chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

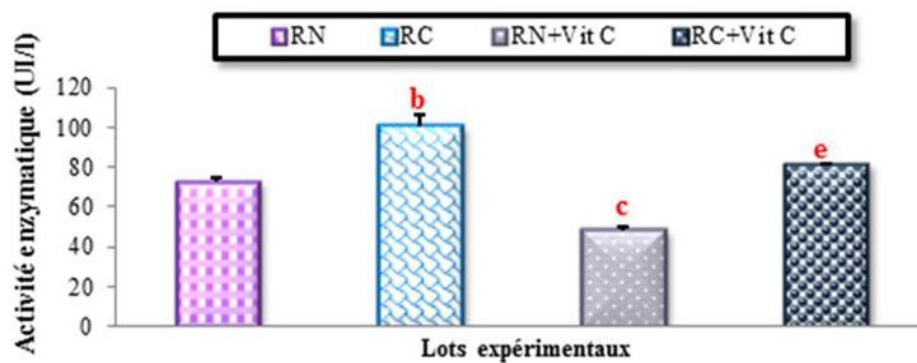


Figure 49: Variation de l'activité enzymatique de TGP chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

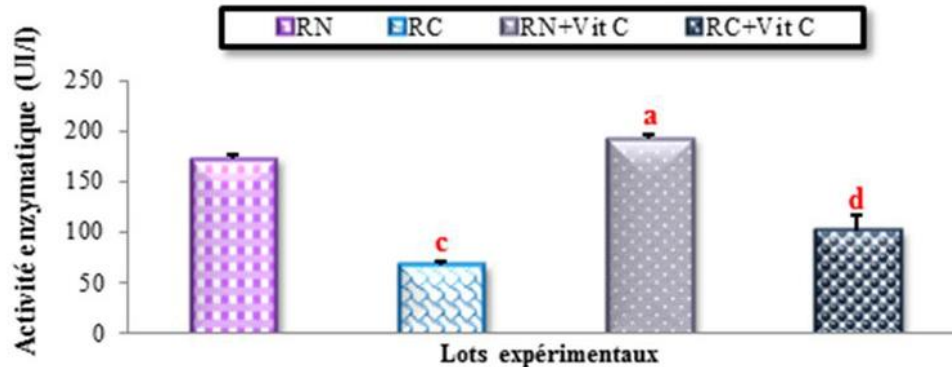


Figure 50: Variation de l'activité enzymatique d'ALP chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

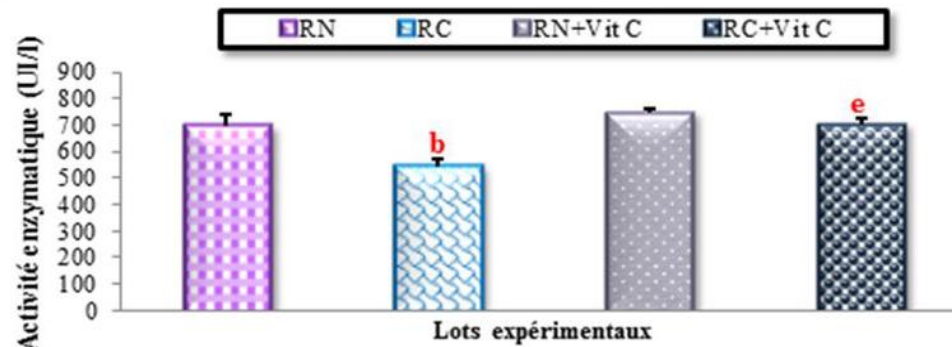


Figure 51: Variation de l'activité enzymatique de LDH chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

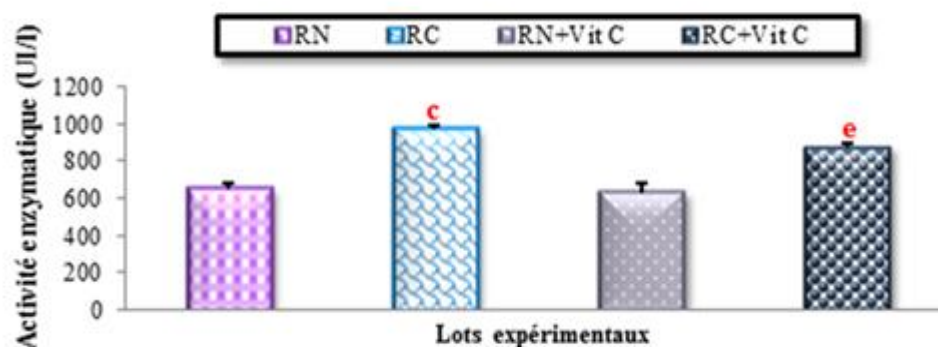


Figure 52: Variation de l'activité enzymatique d' α -amylase chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

1.4. Etude des paramètres de stress oxydatif

1.4.1. Malondialdéhyde (MDA)

L'interprétation de tableau 14 et la figure 53 indique une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de taux hépatique de MDA (+ 45.23%) chez le groupe de régime pauvre en zinc (RC) comparé au groupe de régime normal (RN). En contrepartie, on remarque une diminution significative ($p < 0.05$) de taux hépatique de MDA (- 20.63%) chez le lot sous un régime normal traité par la vitamine C (RN + Vit C) par rapport à celui non traité (RN) et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de taux hépatique de MDA (- 19.12%) chez le groupe carencé en zinc traité par la vitamine C (RC + Vit C) par rapport à celui non traité (RC).

1.4.2. Glutathion réduit (GSH)

Le déficit du zinc dans l'alimentation des rats diabétiques (RC) entraîne d'après les résultats obtenus, une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la teneur hépatique du glutathion réduit (-13.14%) par rapport aux rats diabétiques alimentés par un régime normal (RN). Par contre, chez les deux groupes traités par la vitamine C (RN + Vit C) et (RC + Vit C) on enregistre une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la teneur hépatique du glutathion réduit en comparaison avec les deux groupes non traités (RN) et (RC) (tableau 14, figure 54).

1.4.3. Glutathion peroxydase (GSH-Px) et catalase

Nos résultats illustrent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de GSH-Px (- 11.30%) et une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique du catalase (- 36.89%) chez les rats déficients en zinc (RC) par rapport aux rats alimentés par un régime riche en zinc (RN). D'autre part, chez les rats sous un régime normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) on enregistre une augmentation significative ($p < 0.01$; $p < 0.05$) respectivement, de l'activité enzymatique de GSH-Px (+ 12.5%) et du catalase (+ 21.17%), en comparaison avec ceux non traités (RN), ainsi, chez les rats qui sont

sous un régime carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) on enregistre une augmentation significative ($p < 0.05$; $p < 0.001$) respectivement, de l'activité enzymatique de GSH-Px (+ 09.61%) et du catalase (+ 30.67%) en comparaison avec ceux non traités (RC) (tableau 14, figures 55, 56).

1.4.4. Glutathion-S-Transférase (GST)

Les résultats démontrent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique de GST (+ 54.81%) chez le groupe de régime pauvre en zinc (RC) comparé à celui de régime normal (RN). Par contre, après l'addition de la vitamine C (RN + Vit C) et (RC + Vit C) on remarque une diminution significative ($p < 0.05$; $p < 0.01$) de l'activité enzymatique de GST respectivement, par rapport aux groupes non traités (RN) et (RC) (tableau 14, figure 57).

Tableau 14 : Variation de la teneur hépatique de malondialdéhyde (MDA) et du glutathion réduit (GSH) et de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px), du glutathion-S-transférase (GST) et du catalase (CAT) hépatiques chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par la vitamine C (RN + Vit C) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par la vitamine C (RC + Vit C) après 27 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux			
	<i>RN</i>	<i>RC</i>	<i>RN + Vit C</i>	<i>RC + Vit C</i>
<i>MDA</i> (<i>n mol/mg prot</i>)	0.504 ± 0.051	0.732 ^b ± 0.027	0.400 ^a ± 0.015	0.592 ^e ± 0.029
%		+ 45.23%	- 20.63%	- 19.12%
<i>GSH</i> (<i>n mol/mg prot</i>)	15.861 ± 0.190	13.776 ^c ± 0.290	18.307 ^c ± 0.291	16.821 ^f ± 0.372
%		- 13.14%	+ 15.42%	+ 22.10 %
<i>GSH-Px</i> (<i>μ mol GSH /min/mg prot</i>)	0.176 ± 0.003	0.156 ^b ± 0.003	0.198 ^b ± 0.006	0.171 ^d ± 0.007
%		- 11.30%	+ 12.5%	+ 09.61%
<i>CAT</i> (<i>μmolH₂O₂/min/mg prot</i>)	29.19 ± 2.40	18.42 ^c ± 0.32	35.37 ^a ± 1.09	24.07 ^f ± 1.19
%		- 36.89%	+ 21.17%	+ 30.67%
<i>GST</i> (<i>nmol GST/min/mg prot</i>)	1.642 ± 0.097	2.542 ^c ± 0.112	1.131 ^a ± 0.145	1.749 ^e ± 0.086
%		+ 54.81%	- 31.12%	- 31.19%

^ap < 0.05, ^bp < 0.01, ^cp < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RN.

^dp < 0.05, ^ep < 0.01, ^fp < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RC.

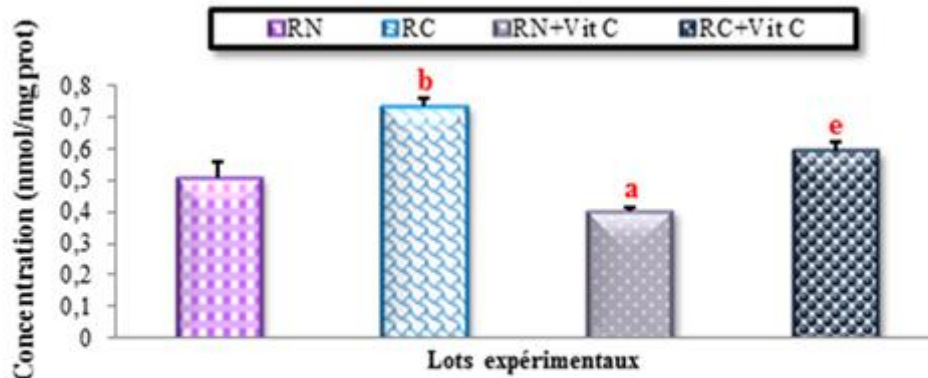


Figure 53 : Variation de la teneur hépatique de malondialdéhyde (MDA) chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

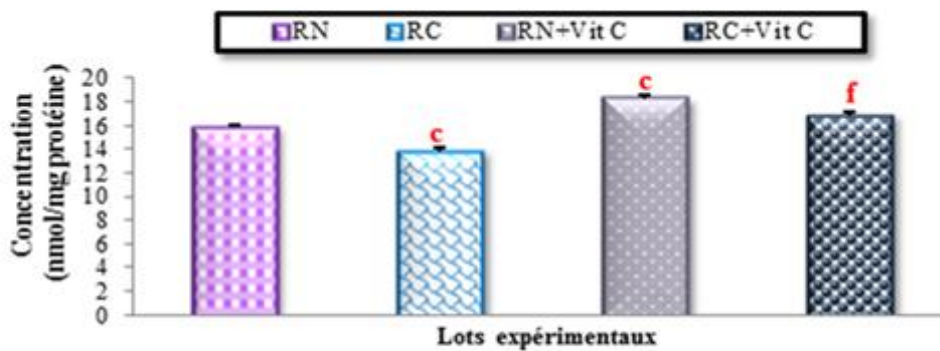


Figure 54: Variation de la teneur hépatique du glutathion réduit (GSH) chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

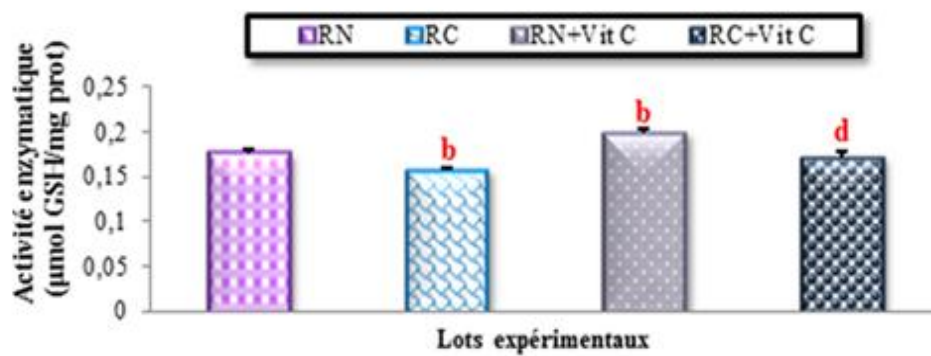


Figure 55: Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

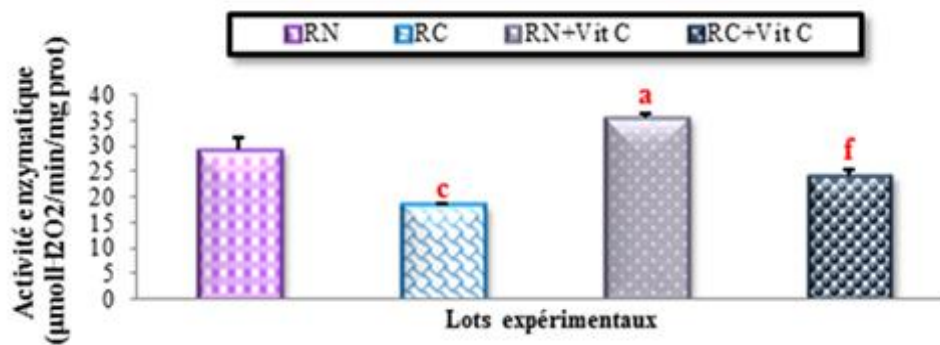


Figure 56: Variation de l'activité enzymatique du catalase (CAT) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

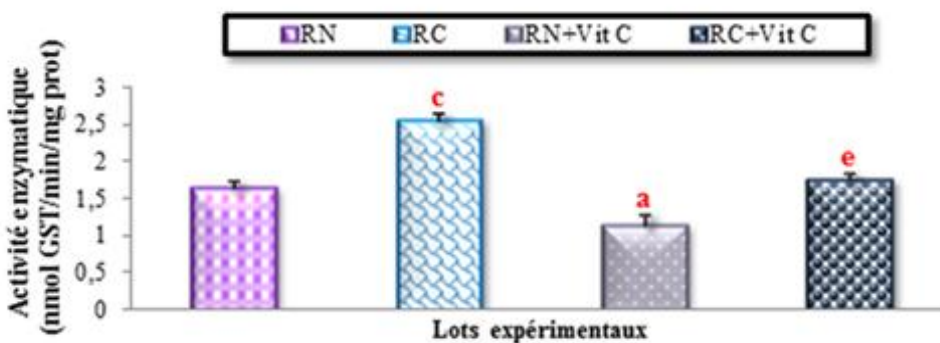


Figure 57: Variation de l'activité enzymatique du glutathion-S-transférase (GST) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par la vitamine C.

2. Effet du traitement par le sélénium sur les rats diabétiques

2.1. Etude de la croissance corporelle et la consommation alimentaire

Nos résultats montrent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) du poids corporel et de la consommation alimentaire chez le lot alimenté par un régime alimentaire carencé en zinc (RC) (- 44.73% ; - 18.64%) respectivement, par rapport à celui alimenté par un régime alimentaire normal (RN), tandis que, on enregistre une augmentation significative ($p < 0.05$) du poids corporel et de la consommation alimentaire chez le lot alimenté par un régime normal traité par le sélénite de sodium (RN + Se) par rapport à celui alimenté par un régime alimentaire normal (RN) et une augmentation significative ($p < 0.05$) du poids corporel et de la consommation alimentaire chez les rats carencés en zinc traités par le sélénite de sodium (RC + Se) par rapport à ceux alimentés par un régime alimentaire carencé en zinc (RC) (tableau 15, figures 58, 59).

Tableau 15 : Variation du poids initial, gain du poids corporel et la consommation alimentaire des rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux			
	RN	RC	RN + Se	RC + Se
<i>Poids initial (g)</i>	225.00 ± 28.04	224.83 ± 37.39	222.20 ± 27.84	228.33 ± 6.71
<i>Gain du poids (g/jour/rat)</i>	4.75 ± 1.151	2.625 ^b ± 0.661	5.075 ^a ± 0.714	3.416 ^c ± 0.745
<i>%</i>		- 44.73 %	+ 06.84 %	+ 30.13 %
<i>Consommation alimentaire (g/jour/rat)</i>	15.50 ± 1.10	12.61 ^b ± 1.20	15.71 ^a ± 0.60	14.25 ^c ± 1.37
<i>%</i>		- 18.64%	+ 01.35%	+ 13.00%

^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$: différence significative par rapport au groupe RN.

^c $p < 0.05$: différence significative par rapport au groupe RC.

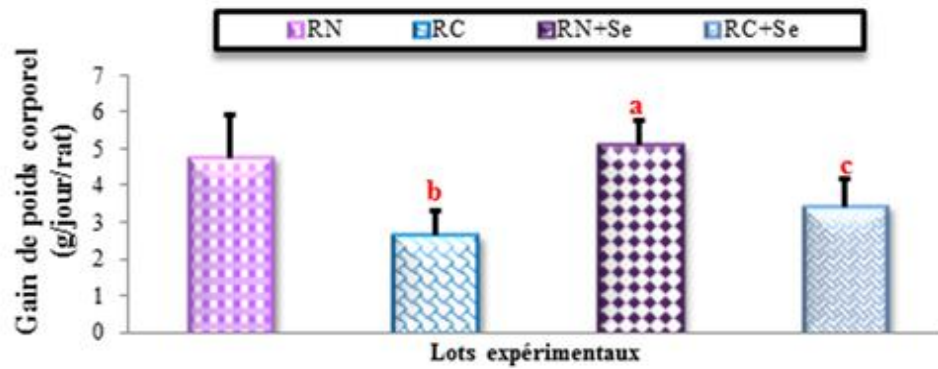


Figure 58: Variation du gain de poids corporel des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

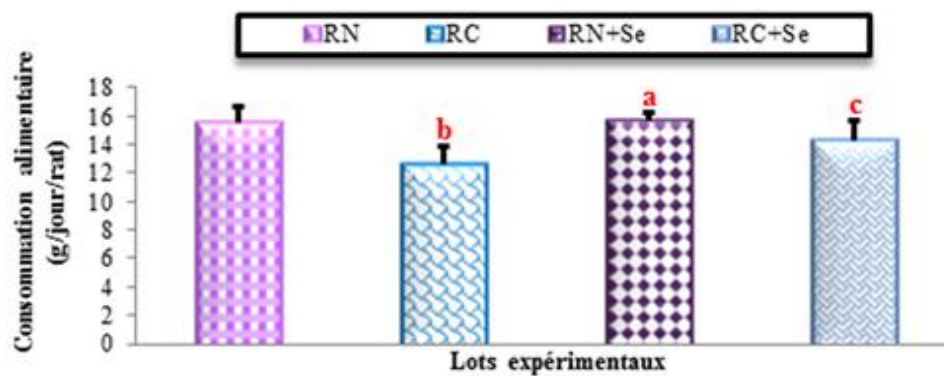


Figure 59: Variation de la consommation alimentaire des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

2.2. Etude de statut du zinc dans l'organisme

Le tableau 16 et les figures (60, 61, 62, 63, 64, 65) présentent une diminution significative de la concentration du zinc dans le sérum et le foie ($p < 0.001$), dans le rein, le testicule et le pancréas ($p < 0.05$) et une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration du zinc dans le fémur des rats qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc (RC) par rapport à ceux qui sont sous un régime alimentaire normal (RN).

Après le traitement par le sélénium des rats alimentés par un régime normal (RN + Se), on remarque une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration du zinc dans le rein, le testicule, le fémur et le pancréas comparant à ceux non traités (RN), ainsi pour les rats alimentés par un régime alimentaire carencé du zinc qui sont traités par le sélénium (RC + Se), on constate une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration du zinc dans les différents organes par rapport aux rats carencés en zinc non traités (RC).

Tableau 16 : Variation de la concentration du zinc dans le sérum, le foie, le rein, le testicule, le fémur et le pancréas des rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement.

Organes	Lots expérimentaux			
	<i>RN</i>	<i>RC</i>	<i>RN + Se</i>	<i>RC + Se</i>
<i>Sérum (μg/dl)</i>	77.50 ± 0.018	68.40 ^b ± 0.002	83.20 ± 0.018	63.10 ^c ± 0.004
%		- 11.74%	+ 07.35%	- 07.74%
<i>Foie (μg/g)</i>	67.30 ± 2.82	44.00 ^b ± 3.26	71.59 ± 1.03	66.59 ^c ± 2.29
%		- 34.62%	+ 06.37%	+ 51.34%
<i>Rein (μg/g)</i>	85.03 ± 4.85	73.18 ^a ± 2.08	144.40 ^a ± 22.10	82.25 ^c ± 3.23
%		- 13.93%	+ 69.82%	+ 12.39%
<i>Testicule (μg/g)</i>	124.90 ± 10.4	103.04 ^a ± 01.74	170.90 ^a ± 17.1	146.17 ^c ± 02.88
%		- 17.50%	+ 36.83%	+ 34.72%
<i>Fémur (μg/g)</i>	82.25 ± 3.23	144.02 ^a ± 2.02	180.14 ^a ± 4.06	167.48 ^c ± 1.82
%		+ 75.10%	+ 119.01%	+ 16.29%
<i>Pancréas (μg/g)</i>	55.76 ± 2.03	40.85 ^a ± 0.81	58.89 ^a ± 5.14	42.15 ^c ± 1.57
%		- 26.74%	+ 05.61%	+ 03.18%

^ap < 0.05, ^bp < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RN.

^cp < 0.01 : différence significative par rapport au groupe RC.

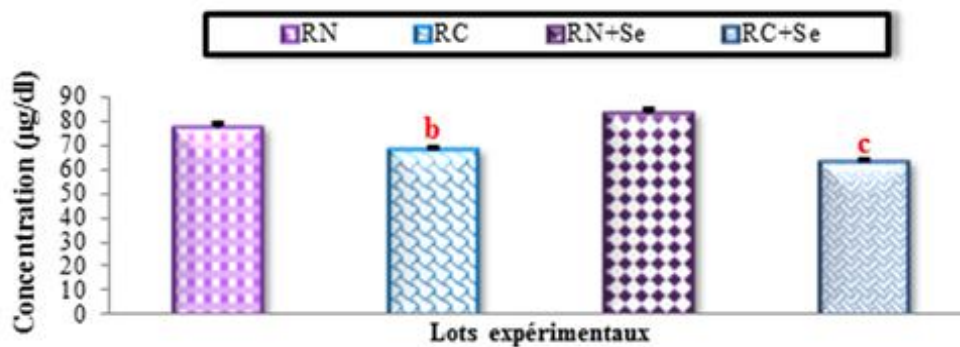


Figure 60: Variation de la concentration du zinc dans le sérum des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

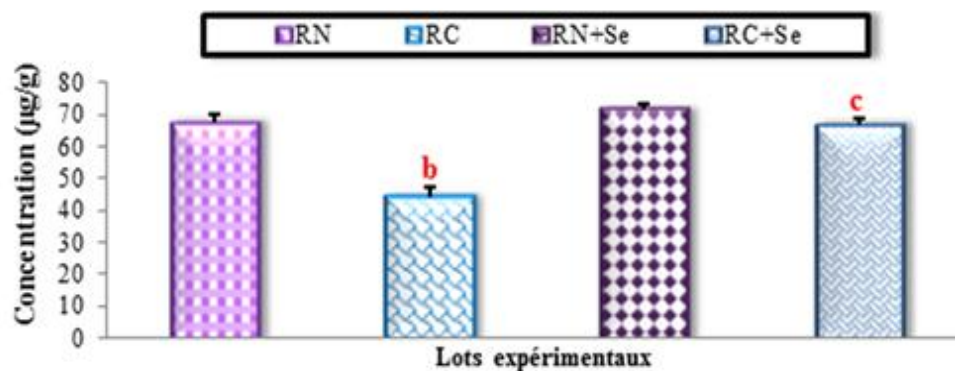


Figure 61: Variation de la concentration du zinc dans le foie des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

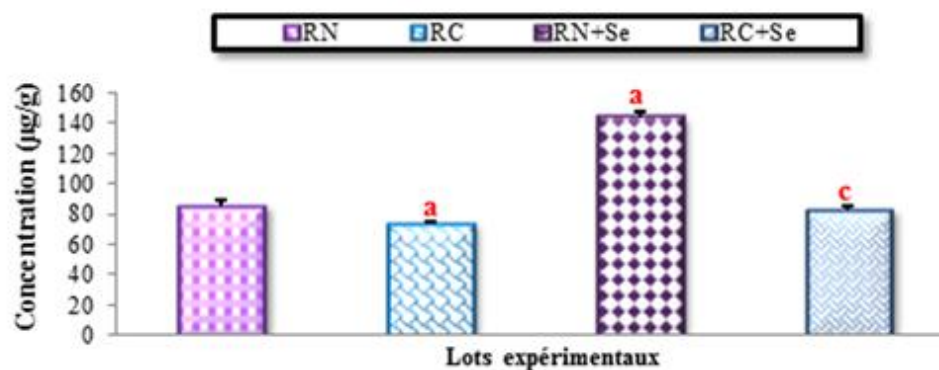


Figure 62: Variation de la concentration du zinc dans le rein des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

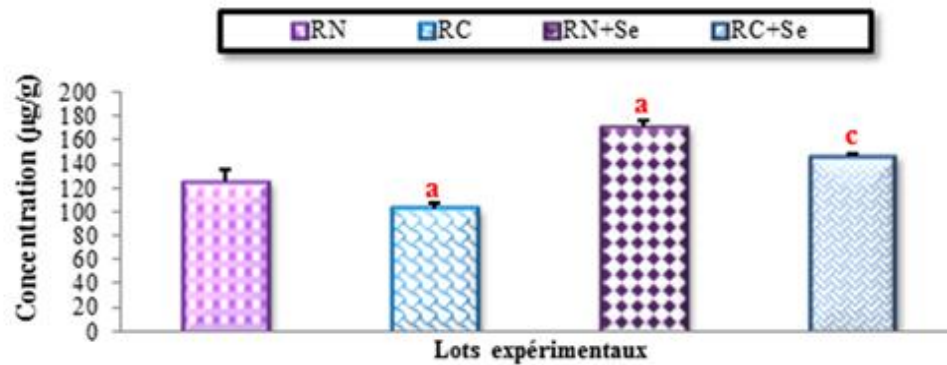


Figure 63: Variation de la concentration du zinc dans le testicule des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

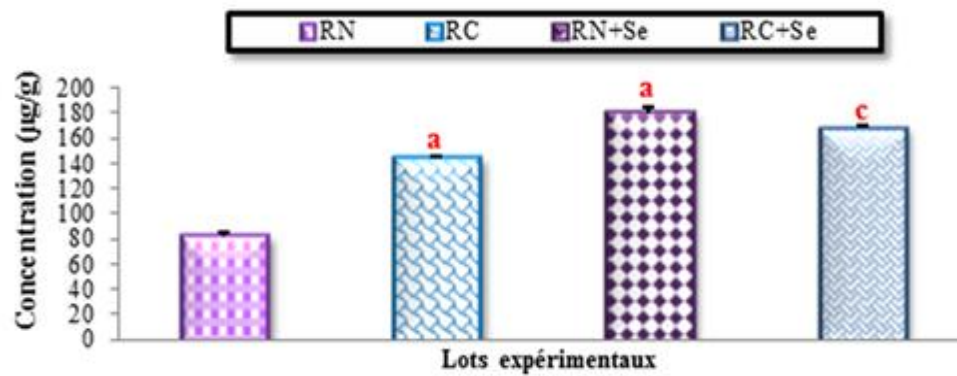


Figure 64: Variation de la concentration du zinc dans le fémur des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

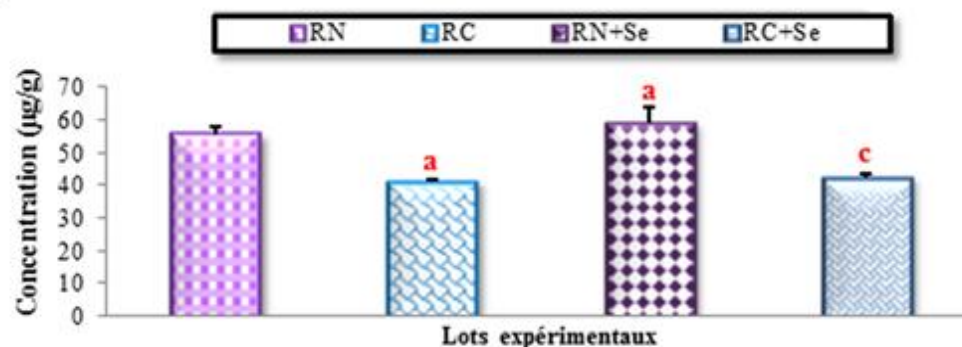


Figure 65: Variation de la concentration du zinc dans le pancréas des rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

2.3. Etude des paramètres biochimiques

2.3.1. Profile glucidique (glucose et glycogène)

Les statistiques exposent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique du glucose (+ 41.53%) chez les rats carencés en zinc (RC) comparé aux rats consommés un régime normal (RN). En revanche, on enregistre chez le lot nourri par un régime normal traité par le sélénium (RN + Se) une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique du glucose (- 09.09 %) par rapport au lot non traité (RN). D'autre part on note chez les rats alimentés par un régime pauvre en zinc supplémentés par le sélénium (RC + Se) une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique du glucose (- 21.37%) comparant aux rats carencés en zinc non traités (RC) (tableau 17, figures 66).

Par ailleurs, on constate une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la teneur hépatique du glycogène (- 25.84%) chez les rats sous un régime carencé en zinc (RC) par rapport aux rats sous un régime normal (RN). Le traitement par le sélénium (RN + Se) et (RC + Se) a augmenté significativement la teneur hépatique du glycogène ($p < 0.01$; $p < 0.001$) respectivement, par rapport aux lots non traités (RN) et (RC) (tableau 17, figures 67).

2.3.2. Profile lipidique (lipides totaux, triglycérides, cholestérol)

L'interprétation des résultats démontre une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique des lipides totaux (+ 116.61%) et une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique des triglycérides (+ 213.04%) chez le groupe carencé en zinc (RC) comparant au groupe qui a consommé un régime normal (RN). Par contre, on constate une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique du cholestérol (- 26.18%) et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique des triglycérides (- 17.06%) chez le lot nourri par une diète normale traité par le sélénium (RN + Se) par rapport au groupe nourri par une diète normale (RN). Par ailleurs, on remarque une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique des lipides totaux (- 52.82%) et du cholestérol (- 35.73%) et une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique

des triglycérides (- 69.93%) des rats alimentés par un régime pauvre en zinc supplémentés par le sélénium (RC + Se) comparant aux rats carencés en zinc (RC) (tableau 17, figures 68, 69, 70).

Tableau 17 : Variation de quelques paramètres biochimiques sérique (glucose, lipides totaux, cholestérol, triglycérides) et du glycogène hépatique chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux			
	RN	RC	RN + Se	RC + Se
Glucose (mg/dl)	220.79 ± 0.07	312.50 ^c ± 0.19	200.70 ^a ± 0.04	245.70 ^d ± 0.04
%		+ 41.53%	- 09.09%	- 21.37%
Glycogène hépatique (mg/g poids sec)	37.57 ± 1.91	27.86 ^c ± 0.54	56.82 ^b ± 3.50	40.77 ^e ± 1.72
%		- 25.84%	+ 51.23%	+ 46.33%
Lipides totaux (mg/dl)	411.8 ± 25.8	892.0 ^b ± 12.0	404.2 ± 36.8	420.8 ^d ± 39.7
%		+ 116.61%	- 01.84%	- 52.82%
Cholestérol (mg/dl)	78.87 ± 7.25	94.27 ± 5.04	58.22 ^a ± 2.24	60.58 ^d ± 3.86
%		+ 19.52%	- 26.18%	- 35.73%
Triglycerides (mg/dl)	110.88 ± 2.18	347.10 ^c ± 20.50	91.96 ^b ± 5.48	104.36 ^e ± 5.73
%		+ 213.04%	- 17.06%	- 69.93%

^ap < 0.05, ^bp < 0.01, ^cp < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RN.

^dp < 0.01, ^ep < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RC.

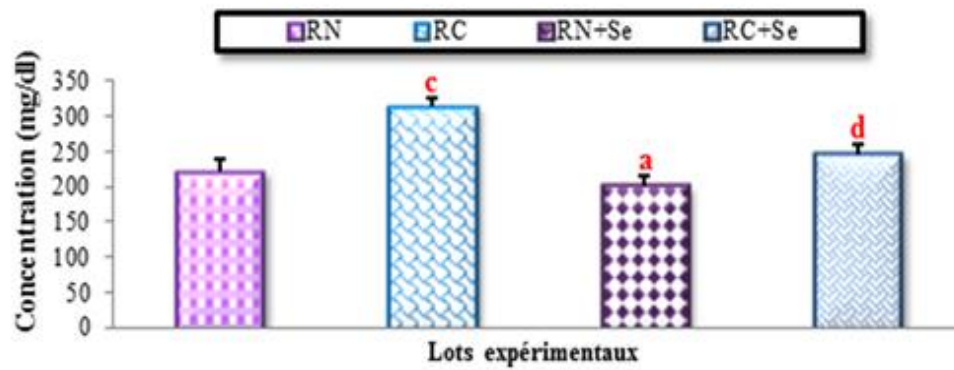


Figure 66: Variation de la concentration sérique du glucose chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

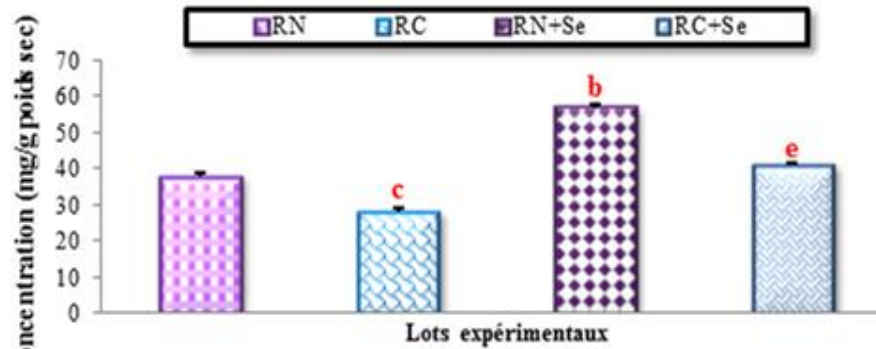


Figure 67: Variation de la concentration du glycogène hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

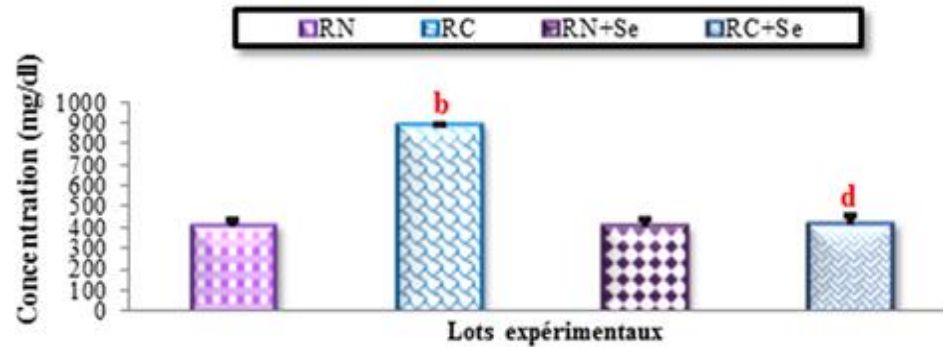


Figure 68: Variation de la concentration sérique des lipides totaux chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

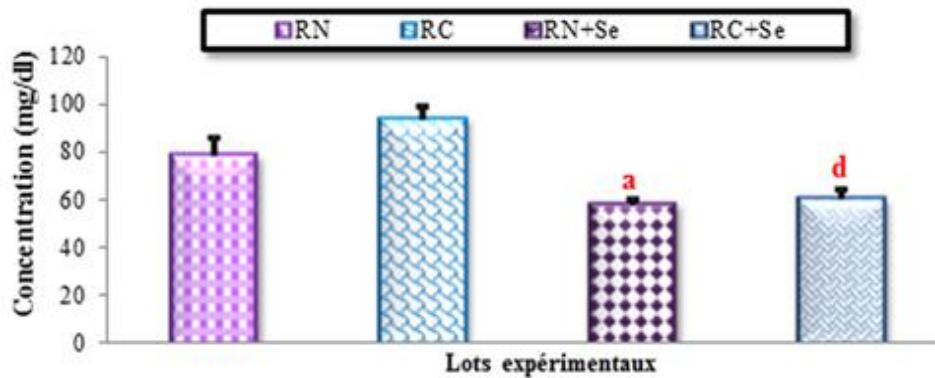


Figure 69: Variation de la concentration sérique du cholestérol chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

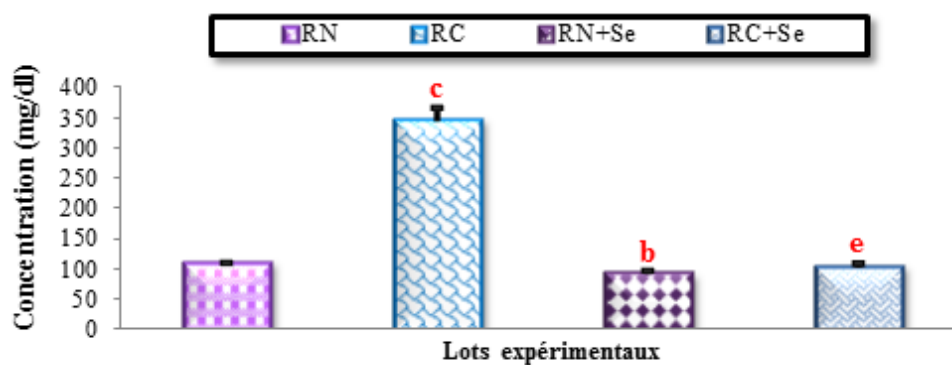


Figure 70: Variation de la concentration sérique des triglycérides chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

2.3.3. Profile protéique

➤ Protéines totales et albumine

Le tableau 18 et les figures (71, 72) illustrent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique des protéines totales (- 20.88%) et une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique d'albumine (- 17.31%) des rats de régime pauvres en zinc (RC) par rapport aux rats de diète normale (RN). Par ailleurs, nos résultats indiquent une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique des protéines totales (+ 37.68%) et d'albumine (+ 27.75%) chez les rats de régime normal supplémentés par le sélénium (RN + Se) par rapport à ceux non traités (RN) et une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique des protéines totales (+ 17.93%) et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique d'albumine (+ 12.08%) de lot carencé en zinc traité par le sélénium (RC + Se) comparé au lot carencé en zinc (RC).

➤ Urée et créatinine

Nos résultats indiquent une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique d'urée (+ 07.97%) et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique de créatinine (+ 90.70%) des rats alimentés par un régime pauvre en zinc (RC) comparé aux rats alimentés par un régime normal (RN). En revanche l'administration de sélénium chez les rats alimentés par une nourriture normale (RN + Se) a provoqué une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique d'urée (- 33.46%) par rapport aux rats alimentés par un régime normal (RN), mais pour les rats de régime pauvre en zinc le traitement par le sélénium (RC + Se) a causé une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique d'urée (- 21.95%) et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique de créatinine (- 38.40%) par rapport aux rats carencés en zinc (RC) (tableau 18, figures 73, 74).

➤ **Acide urique**

Les statistiques exposent une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique d'acide urique (+ 32.39%) chez les rats alimentés par un régime pauvre en zinc (RC) comparé aux rats alimentés par un régime normal (RN) (tableau 18, figure 75).

➤ **Bilirubine totale et directe**

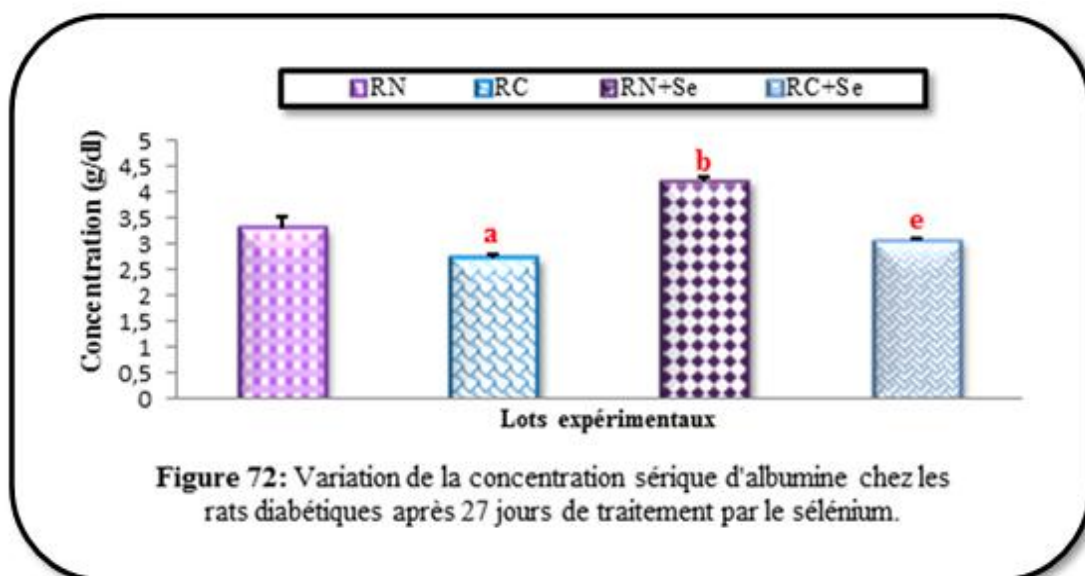
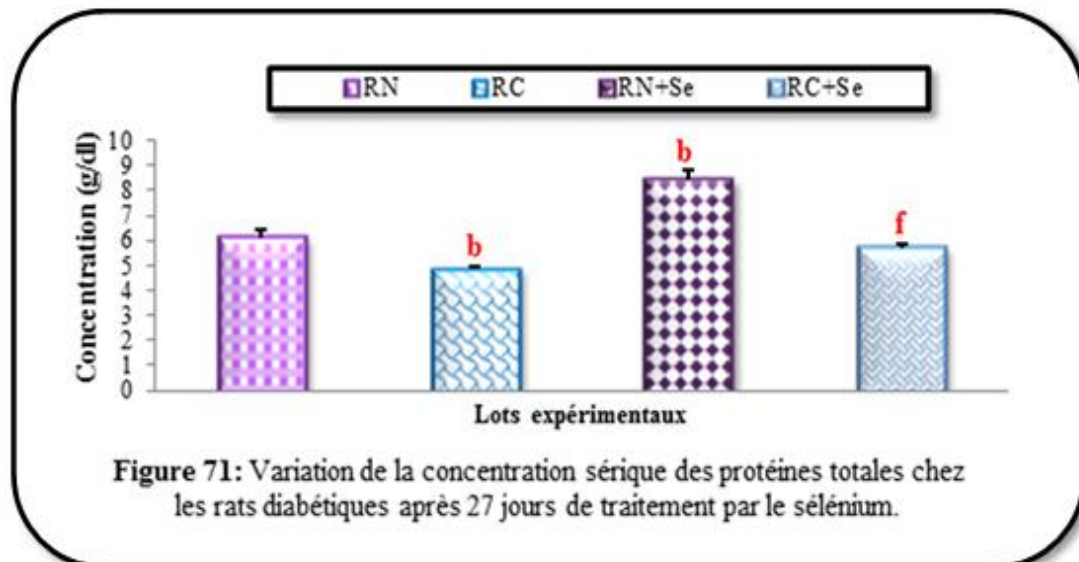
Le tableau 18 et les figures (76, 77) présentent une augmentation significative ($p < 0.001$; $p < 0.05$) respectivement, de la concentration sérique de bilirubine totale et directe chez les rats alimentés par un régime pauvre en zinc (RC) comparé aux rats alimentés par un régime normal (RN). Par ailleurs, le traitement par le sélénium des rats alimentés par une nourriture normale (RN + Se) a provoqué une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique de bilirubine totale (- 29.76%) et directe (- 32.53%) par rapport aux rats alimentés par un régime normal (RN), ainsi pour les rats de régime pauvre en zinc l'addition de sélénium (RC + Se) a causé une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration sérique de bilirubine totale (- 25.46%) et une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique de bilirubine directe (- 36.04%) par rapport aux rats de régime carencé en zinc (RC).

Tableau 18 : Variation de quelques paramètres biochimiques sériques (protéines totales, albumine, urée, créatinine, acide urique, bilirubine totale, bilirubine directe) chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux			
	RN	RC	RN + Se	RC + Se
<i>Protéines totales (g/dl)</i>	6.13 ± 0.31	4.85 ^b ± 0.11	8.44 ^b ± 0.36	5.72 ^f ± 0.03
%		- 20.88%	+ 37.68%	+ 17.93%
<i>Albumine (g/dl)</i>	3.304 ± 0.210	2.732 ^a ± 0.053	4.221 ^b ± 0.074	3.062 ^e ± 0.053
%		- 17.31%	+ 27.75%	+ 12.08%
<i>Urée (mg/dl)</i>	54.68 ± 1.20	59.04 ^a ± 1.51	36.38 ^c ± 2.75	46.08 ^f ± 1.01
%		+ 07.97%	- 33.46%	- 21.95%
<i>Créatinine (mg/dl)</i>	0.538 ± 0.136	1.026 ^b ± 0.069	0.398 ± 0.011	0.632 ^e ± 0.046
%		+ 90.70%	- 26.02%	- 38.40%
<i>Acide urique (mg/dl)</i>	2.797 ± 0.13	3.703 ^b ± 0.35	2.265 ± 0.31	3.075 ± 0.22
%		+ 32.39%	- 19.02%	- 16.95%
<i>Bilirubine totale (mg/dl)</i>	0.729 ± 0.036	1.068 ^c ± 0.058	0.512 ^b ± 0.117	0.796 ^e ± 0.063
%		+ 46.50%	- 29.76%	- 25.46%
<i>Bilirubine directe (mg/dl)</i>	0.411 ± 0.029	0.542 ^a ± 0.043	0.253 ^b ± 0.035	0,346 ^d ± 0.063
%		+ 31.87%	- 32.53%	- 36.04%

^ap < 0.05, ^bp < 0.01, ^cp < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RN.

^dp < 0.05, ^ep < 0.01, ^fp < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RC.



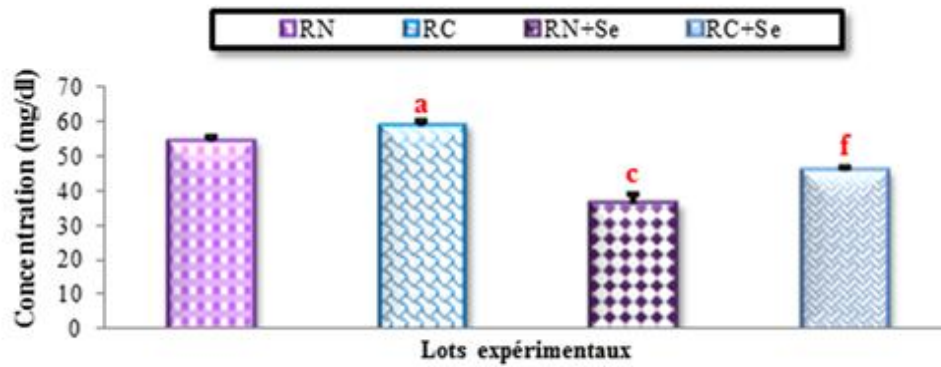


Figure 73: Variation de la concentration sérique d'urée chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

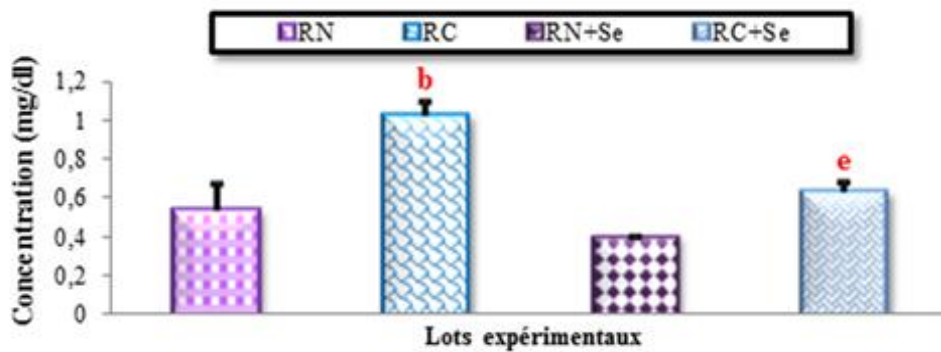


Figure 74: Variation de la concentration sérique de créatinine chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

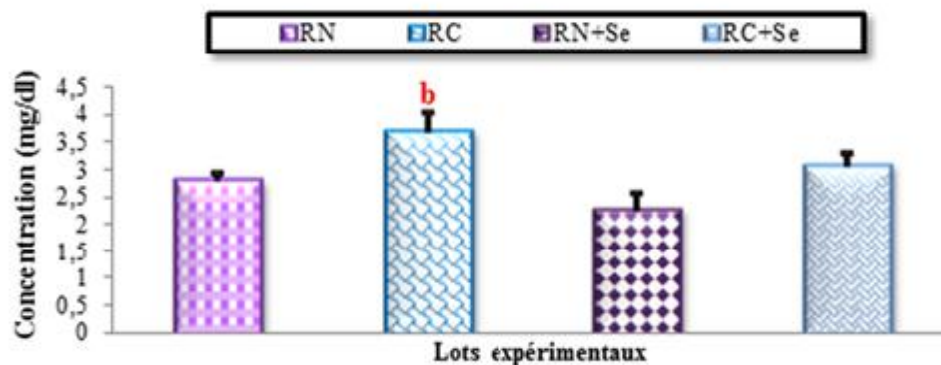


Figure 75: Variation de la concentration sérique d'acide urique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

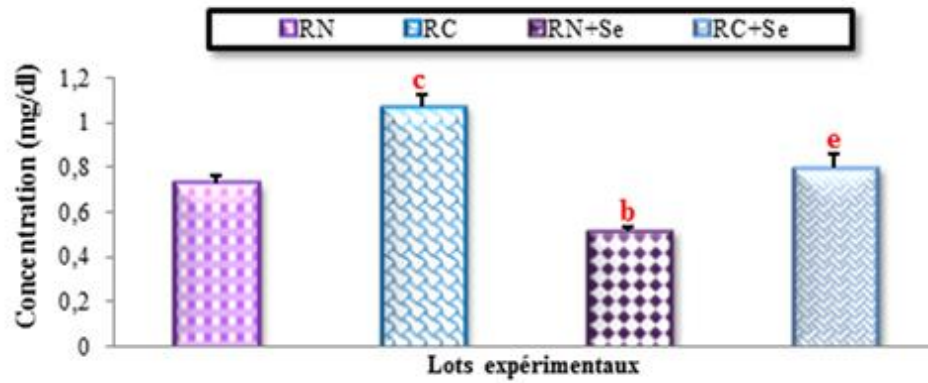


Figure 76: Variation de la concentration sérique de bilirubine totale chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

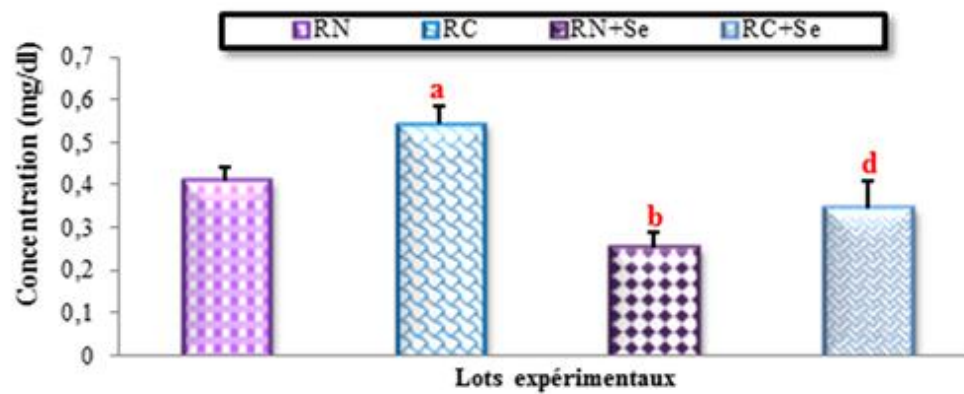


Figure 77: Variation de la concentration sérique de bilirubine directe chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

2.3.4. Paramètres enzymatiques

➤ Transaminases

Nos résultats révèlent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique de TGO (+ 42.80%) et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de TGP (+ 38.12%) chez les rats carencés en zinc (RC) comparé aux rats de diète normale (RN). Par conséquent, les résultats indiquent que l'administration de sélénium chez le groupe de régime normal (RN + Se) a provoqué une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de TGO (- 20.78%) et une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique de TGP (- 52.92%) par rapport à celui non traité (RN). D'autre part on enregistre une diminution significative ($p < 0.001$; $p < 0.05$) respectivement, de l'activité enzymatique de TGO et de TGP chez les rats diabétiques traités par le sélénium et qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc (RC + Se) par rapport aux autres non traités (RC) (tableau 19, figures 78, 79).

➤ Phosphatase alcaline (ALP) et lactate déshydrogénase (LDH)

Les résultats obtenus indiquent que la carence en zinc dans l'alimentation (RC) est accompagnée par une diminution significative ($p < 0.001$; $p < 0.01$) respectivement, de l'activité enzymatique d'ALP (- 61.19%) et de LDH (- 22.14%) par rapport au groupe alimenté par un régime riche en zinc (RN). Alors que, l'activité enzymatique de LDH montre une augmentation significative ($p < 0.05$; $p < 0.01$) respectivement, chez les deux lots traités par le sélénium (RN + Se) et (RC + Se) par rapport aux deux groupes non traités (RN) et (RC) (tableau 19, figures 80, 81).

➤ α -amylase

D'après le tableau 19 et la figure 82 on observe une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité d' α -amylase (+ 48.95%) chez le groupe carencé en zinc (RC) comparé au groupe alimenté par une diète normale (RN). En revanche, on remarque une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité d' α -amylase (+ 32.08%) chez les rats alimentés par un régime normal traités par le sélénium (RN + Se) comparant aux rats alimentés par un régime normal (RN). Par contre, les résultats démontrent que l'administration de sélénium chez le

groupe de régime carencé en zinc (RC + Se) a provoqué une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité d' α -amylase (- 12.19%) par rapport à celui non traité (RC).

Tableau 19 : Variation de l'activité de quelques enzymes sériques (TGO, TGP, ALP, LDH, α -amylase) chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement.

Enzymes	Lots expérimentaux			
	RN	RC	RN + Se	RC + Se
<i>TGO (UI/L)</i>	71.12 $\pm$ 0.55	101.56 ^c $\pm$ 4.30	56.34 ^a $\pm$ 5.79	78.51 ^f $\pm$ 2.55
%		+ 42.80%	- 20.78%	- 22.69%
<i>TGP (UI/L)</i>	72.69 $\pm$ 1.55	100.40 ^b $\pm$ 5.67	34.22 ^c $\pm$ 5.67	80.49 ^d $\pm$ 3.75
%		+ 38.12%	- 52.92%	- 19.83%
<i>ALP (UI/L)</i>	171.39 $\pm$ 5.75	66.51 ^c $\pm$ 4.59	189.4 $\pm$ 16.30	97.4 $\pm$ 19.00
%		- 61.19%	+ 10.50%	+ 46.44%
<i>LDH (UI/L)</i>	697.8 $\pm$ 40.1	543.3 ^b $\pm$ 28.1	869.8 ^a $\pm$ 79.3	668.4 ^e $\pm$ 25.6
%		- 22.14%	+ 24.64%	+ 23.02%
<i>α-amylase (UI/L)</i>	652.4 $\pm$ 25.9	971.8 ^c $\pm$ 17.1	861.7 ^c $\pm$ 67.5	853.3 ^f $\pm$ 27.1
%		+ 48.95%	+ 32.08%	- 12.19%

^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$: différence significative par rapport au groupe RN.

^d $p < 0.05$, ^e $p < 0.01$, ^f $p < 0.001$: différence significative par rapport au groupe RC.

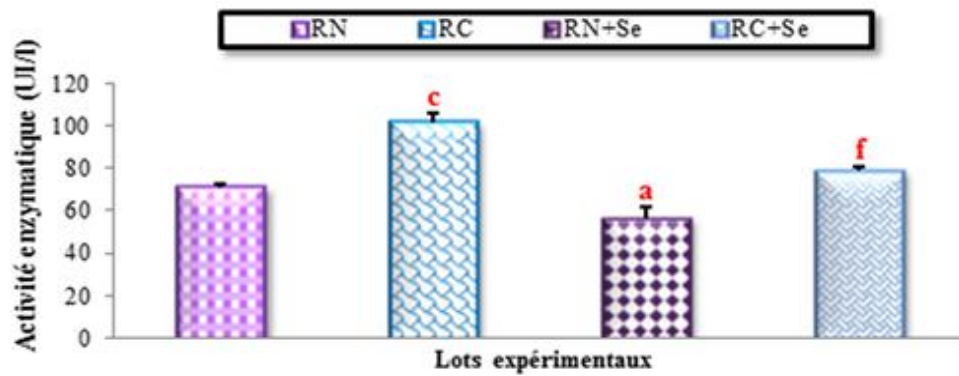


Figure 78: Variation de l'activité enzymatique de TGO chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

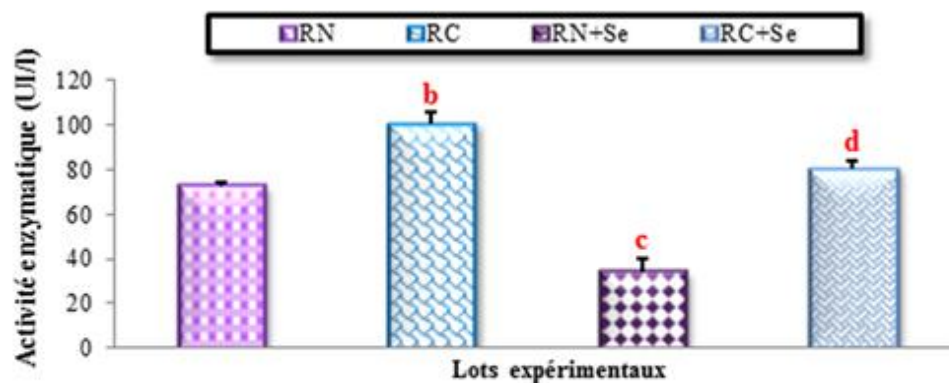


Figure 79: Variation de l'activité enzymatique de TGP chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

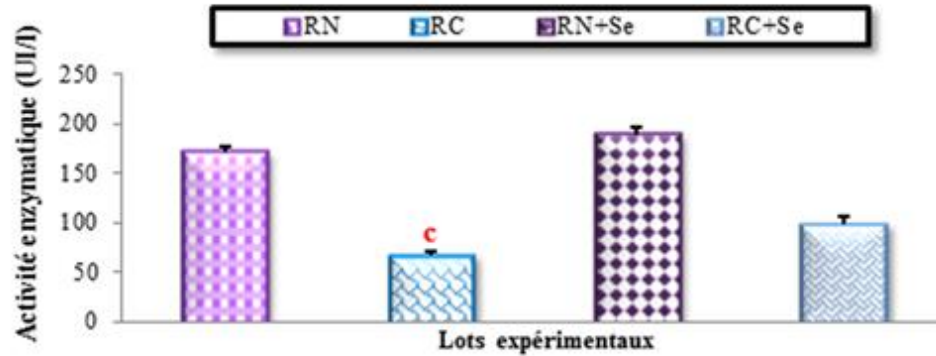


Figure 80: Variation de l'activité enzymatique d'ALP chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

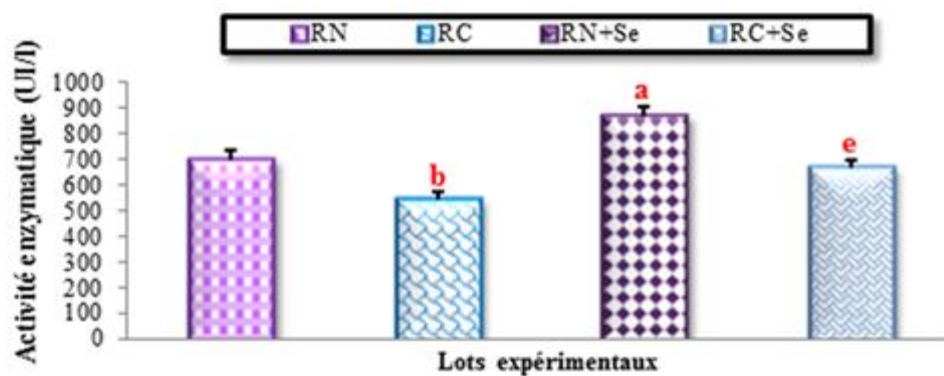


Figure 81: Variation de l'activité enzymatique de LDH chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

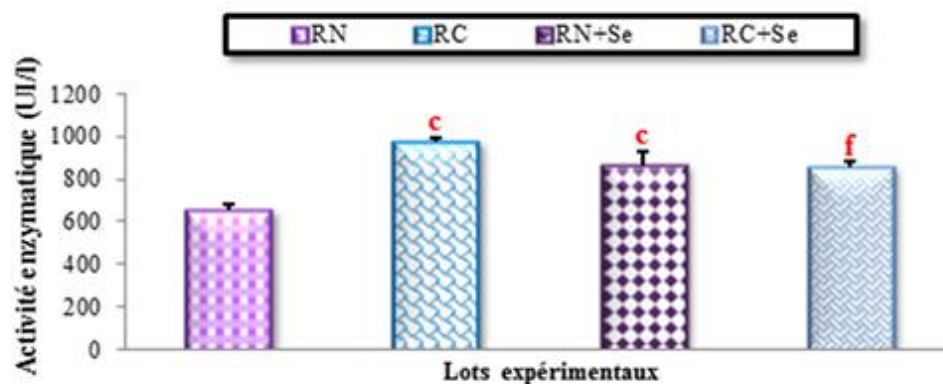


Figure 82: Variation de l'activité enzymatique d' α -amylase chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

2.4. Etude des paramètres de stress oxydatif

2.4.1. Malondialdéhyde (MDA)

L'interprétation du tableau 20 et la figure 83 indique une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de taux hépatique de MDA (+ 45.23%) chez le groupe de régime pauvre en zinc (RC) comparé au groupe de régime normal (RN). En contrepartie, on remarque une diminution significative ($p < 0.05$) de taux hépatique de MDA (- 23.21%) chez le lot sous un régime normal traité par le sélénium (RN + Se) par rapport à celui non traité (RN) et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de taux hépatique de MDA (- 25.95%) chez le group carencé en zinc traité par le sélénium (RC + Se) par rapport à celui non traité (RC).

2.4.2. Glutathion réduit (GSH)

Le déficit du zinc dans l'alimentation des rats diabétiques (RC) entraine d'après les résultats obtenus, une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de la teneur hépatique en glutathion réduit (-13.14%) par rapport aux rats diabétiques alimentés par un régime riche en zinc (RN). Par contre, chez les deux groupes traités par le sélénium (RN + Se) et (RC + Se) on enregistre une augmentation significative ($p < 0.001$; $p < 0.05$) respectivement, de la teneur hépatique du glutathion réduit en comparaison avec les deux groupes non traités (RN) et (RC) (tableau 20, figure 84).

2.4.3. Glutathion peroxydase (GSH-Px) et catalase

Nos résultats illustrent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de GSH-Px (- 11.30%) et une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique du catalase (- 36.89%) chez les rats carencés en zinc (RC) par rapport aux rats alimentés par un régime normal (RN). D'autre part, chez les rats sous un régime normal traités par le sélénium (RN + Se), on enregistre une augmentation significative ($p < 0.01$; $p < 0.05$) respectivement, de l'activité enzymatique de GSH-Px (+ 24.47%) et de l'activité enzymatique du catalase (+ 24.46%) en comparaison avec ceux non traités (RN), ainsi chez les rats qui sont sous un régime carencé en zinc traités par le sélénite de sodium (RC + Se), on enregistre une augmentation significative ($p < 0.01$; $p < 0.05$) respectivement, de

l'activité enzymatique de GSH-Px (+19.46%) et de l'activité enzymatique du catalase (+ 24.48%) en comparaison avec ceux non traités (RC) (tableau 20, figures 85, 86).

2.4.4. Glutathion-S-Transférase (GST)

Les résultats démontrent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique de GST (+ 54.81%) chez le groupe de régime pauvre en zinc (RC) comparé à celui de régime normal (RN). Par contre, après l'addition de sélénium chez les rats de régime normal (RN + Se), on remarque une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de GST (- 26.49%) par rapport aux rats non traités (RN). D'autre part, on enregistre une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique de GST (- 38.10%) chez le lot de régime carencé en zinc traité par le sélénium (RC + Se) par rapport au lot non traité (RC) (tableau 20, figure 87).

Tableau 20 : Variation de la teneur hépatique de malondialdéhyde (MDA) et du glutathion réduit (GSH) et de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px), du glutathion-S-transférase (GST) et du catalase (CAT) hépatiques chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal (RN), un régime alimentaire carencé en zinc (RC), un régime alimentaire normal traités par le sélénium (RN + Se) et un régime alimentaire carencé en zinc traités par le sélénium (RC + Se) après 27 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux			
	<i>RN</i>	<i>RC</i>	<i>RN + Se</i>	<i>RC + Se</i>
<i>MDA</i> (<i>n mol/mg prot</i>)	0.504 ± 0.051	0.732 ^b ± 0.027	0.387 ^a ± 0.024	0.542 ^e ± 0.023
%		+ 45.23%	- 23.21%	- 25.95%
<i>GSH</i> (<i>n mol/mg prot</i>)	15.861 ± 0.19	13.776 ^c ± 0.29	17.607 ^c ± 0.14	14.835 ^d ± 0.34
%		- 13.14%	+ 11.00%	+ 07.68%
<i>GSH-Px</i> (<i>μ mol GSH /min/mg prot</i>)	0.176 ± 0.003	0.156 ^b ± 0.003	0.219 ^b ± 0.014	0.186 ^e ± 0.006
%		- 11.30%	+ 24.47%	+ 19.46%
<i>CAT</i> (<i>μmolH₂O₂/min/mg prot</i>)	29.19 ± 2.40	18.42 ^c ± 0.32	36.33 ^a ± 1.35	22.93 ^d ± 1.18
%		- 36.89%	+ 24.46%	+ 24.48%
<i>GST</i> (<i>nmol GST/min/mg prot</i>)	1.642 ± 0.097	2.542 ^c ± 0.112	1.209 ^b ± 0.080	1.573 ^f ± 0.075
%		+ 54.81%	- 26.49%	- 38.10%

^ap < 0.05, ^bp < 0.01, ^cp < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RN.

^dp < 0.05, ^ep < 0.01, ^fp < 0.001 : différence significative par rapport au groupe RC.

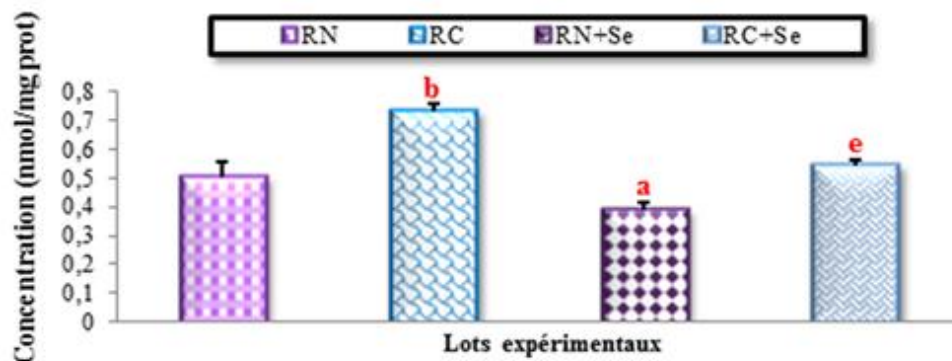


Figure 83: Variation de la teneur hépatique de malondialdéhyde (MDA) chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

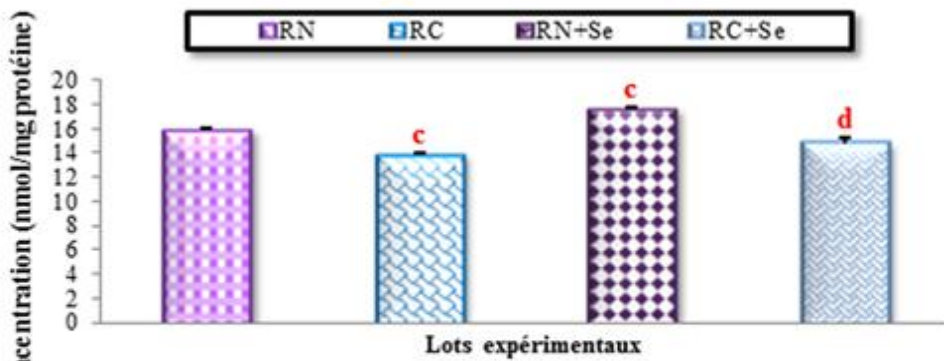


Figure 84: Variation de la teneur hépatique du glutathion réduit (GSH) chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

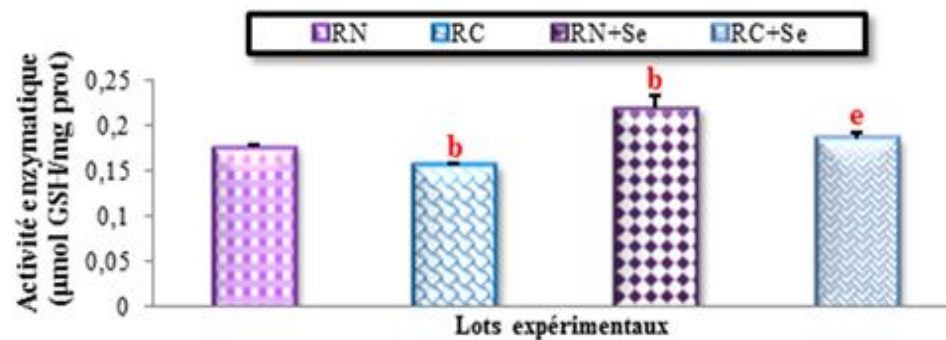


Figure 85: Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

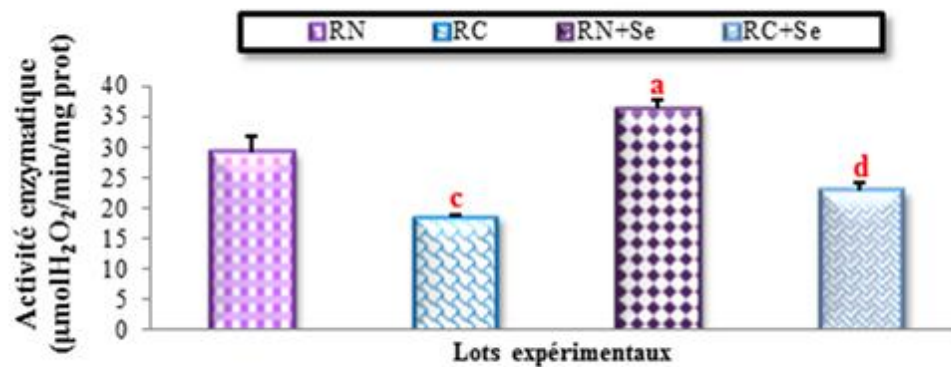


Figure 86: Variation de l'activité enzymatique du catalase (CAT) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

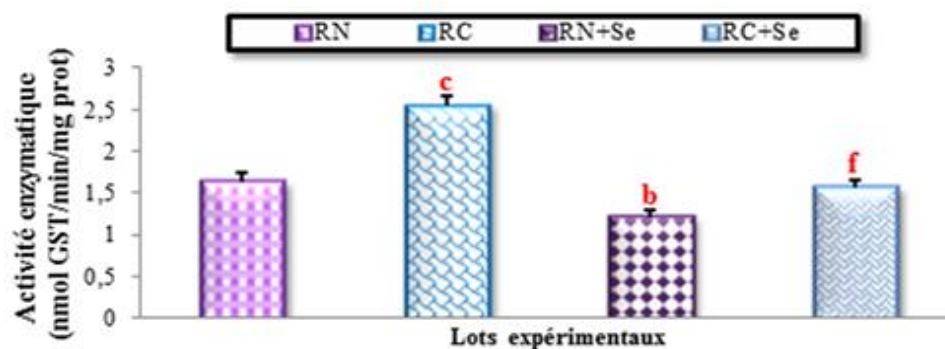


Figure 87: Variation de l'activité enzymatique du glutathion-S-transférase (GST) hépatique chez les rats diabétiques après 27 jours de traitement par le sélénium.

CHAPITRE III

Discussion

DISCUSSION

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique qui touche 5 à 7% de la population mondiale (Singh and Kakkar, 2009 ; Zhou et al., 2009).

Le diabète est relié au stress oxydant ; le diabète augmente la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des radicaux libres qui causent le développement et la progression des complications diabétiques (Barbosa et al., 2008).

Le zinc est un oligoélément essentiel joue un rôle important dans la croissance, le métabolisme des protéines, l'expression des gènes, le système immunitaire et dans la prévention de l'apoptose (Al-Marroof and Al-Sharbatti, 2006). Il est également impliqué dans le métabolisme d'insuline. Par conséquent, la carence en zinc pourrait affecter la production, le stockage et la sécrétion d'insuline (Bellomo et al., 2011).

Au cours de diabète le stress oxydant peut être réduit par la supplémentation des antioxydants. Et pour cela, nous avons étudié l'effet antioxydant de la vitamine C et de sélénite de sodium administrés par voie orale sur le développement de diabète chez des rats diabétiques alimentés par un régime carencé en zinc.

Dans nos conditions expérimentales, nous avons remarqué un déficit pondéral et une diminution de la consommation alimentaire chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc (RC) par rapport à ceux alimentés par une nourriture normale (RN). Ceci est en accord avec les constations de Kumari et al. (2011) ; Kechrid et al. (2012), qui ont remarqué que la carence du zinc dans l'alimentation des rats est accompagnée par une réduction du gain de poids corporel en comparaison avec le groupe de régime normal.

L'insuffisance du zinc est associé avec des troubles de l'ingestion de nourriture, particulièrement l'anorexie chez l'animal et l'homme (Ploysangam et al., 1997 ; Lee et al., 2003). Levin et al, (1992) ont également justifié l'anorexie par le rôle central du zinc dans l'activation des nombreux systèmes enzymatiques qui synthétisent et dégradent certains peptides biologiquement actifs, également appelés les neuropeptides qui sont impliqués dans le règlement de l'ingestion de nourriture tels que (Choecystokinine (CCK), Ghrelin, sérotonine). Ces peptides sont synthétisés par

l'hypothalamus (Williams et al., 2004). Il a été signalé que l'hypophyse est responsable de moduler l'ingestion de nourriture ; elle reçoit des signaux de l'hypothalamus puis elle transmet ces signaux à d'autres tissus ou organes périphériques cibles (Song et al., 2000 ; Bjursell et al., 2005).

D'autre façon l'insuffisance du zinc mène invariablement aux désordres digestifs graves comme l'appétit, la perte du poids, principalement dus à la détérioration du goût et de l'odorat (Shay and Mangian, 2000). Le dispositif semblable a été observé par plusieurs auteurs dans différentes espèces animales et on a suggéré que l'insuffisance du zinc a été associée avec beaucoup de désordres de développement comprenant l'appétit, le manque de prospérer et le retardement de croissance (Merrells et al., 2009).

D'autre part, nous avons remarqué une augmentation du poids corporel des rats traités par la vitamine C avec une augmentation de la consommation alimentaire. Ceci est confirmé par les travaux de Badr et al. (2012) qui ont montré que l'administration de la vitamine C chez les rats diabétiques a augmenté significativement son poids corporel. Ainsi, Zhou et al. (2012) ont indiqué que la vitamine C pourrait améliorer l'utilisation de l'alimentation et la croissance du cobia juvénile.

Par ailleurs, le traitement des rats par le sélénium a entraîné une restauration du gain de poids corporel. Le sélénium est un élément essentiel pour la croissance des animaux et un important facteur structural pour l'enzyme 5'-désiodases qui synthétise le triiodothyronine (T3), une hormone principale règle la croissance en contrôlant l'anabolisme des protéines (Yanyan et al., 2011).

Les résultats de notre expérimentation suggèrent que la carence en zinc dans l'alimentation a provoqué une diminution importante de sa concentration dans le sérum et les différents organes : le foie, le rein, le testicule et le pancréas. Ces résultats sont en accord avec les études de Kechrid et al. (2006). Cette diminution peut s'expliquer par la sensibilité de ces tissus à la quantité du zinc dans l'alimentation (Williams and Mills, 1970). D'autre part, la présence de l'hyperzincurie et la baisse absorption intestinale du zinc au cours de diabète ont approuvé la spéculation que les

diabétiques sont plus susceptibles à la carence du zinc (Shahidul and Loots, 2007 ; Vidović et al., 2013). Par contre, nos résultats indiquent que la carence en zinc dans l'alimentation des rats est accompagnée par une augmentation de sa concentration dans le fémur. Cet organe est généralement considéré comme l'un des plus sensibles à la variation d'apport alimentaire en zinc (Huber and Gershoff, 1970). Il est apparu, par conséquent, que ces rats ont un mécanisme efficace pour retenir le zinc du corps, qui résulte d'une réaction homéostatique aux besoins accrus du à faible prise alimentaire du zinc, un tel mécanisme conduit à l'augmentation de la concentration du zinc dans le fémur chez le groupe carencé en zinc, malgré que cette dernière soit de cinquante fois inférieure à celle de régime normal. Il est bien connu que les animaux et les êtres humains soumis à l'épuisement alimentaire des minéraux sont souvent en mesure de conserver le minéral dans certains tissus, même dans l'état d'une carence sévère (Kechrid et al., 2001).

Nous avons remarqué une augmentation significative de la concentration du zinc dans le sérum et les différents organes étudiés chez les rats diabétiques qui sont sous les deux régimes alimentaires (normal et pauvre en zinc) traités par la vitamine C. Ceci est en accord avec les résultats d'Ayinde et al. (2012) qui ont trouvé que la vitamine C a rétabli significativement la concentration du zinc dans le testicule des rats affectés par le plomb.

On constate, en même temps, que le traitement par le sélénite de sodium a augmenté significativement la concentration du zinc dans tous les tissus ce qui est en accord avec les suggestions de Maret, (2003) qui a rapporté que le sélénium et les sélénoprotéines contribuent à la régulation de métabolisme du zinc.

L'analyse des résultats a montré que la carence en zinc a induit une augmentation de la concentration sérique du glucose chez les rats diabétiques. Cette hyperglycémie est due à des troubles dans l'utilisation du glucose par les tissus, ce qui a interprété l'effet positif du zinc sur le métabolisme glucidique (Hendricks and Mahoney, 1972 ; Schauder et al., 1983). Hall et al. (2005) ont indiqué que l'insuffisance du zinc induit une hyperglycémie. Cependant, la carence du zinc est liée à l'insulinorésistance (Yaghmaei et al., 2013).

D'après nos résultats on remarque que la teneur hépatique du glycogène des rats carencés en zinc est significativement inférieure que dans le groupe de régime normal, ceci est en accord avec l'étude de Baltaci et al. (2003).

Dans cette étude la concentration sérique du glucose est diminuée chez les rats diabétiques traités par la vitamine C par rapport aux rats non traités. Ce résultat confirme les recherches de Badr et al. (2012). Toutefois la vitamine C pourrait interférer avec les récepteurs d'insuline au niveau des muscles et des tissus adipeux en augmentant la mobilité des membranes (Ambali et al., 2011). D'autre part, nos résultats indiquent que le traitement par la vitamine C a augmenté la concentration du glycogène hépatique. Bulduk et al. (2006) ont démontré une augmentation de la teneur du glycogène musculaire des diabétiques avec la supplémentation d'AA. Ainsi que Russell et al. (2000) ont également suggéré que l'ascorbate empêche la glycolyse, et augmente le stockage du glycogène dans les muscles.

Nos résultats révèlent une diminution de la concentration sérique du glucose et une augmentation de taux du glycogène hépatique chez les rats diabétiques traités par le sélénium. Ce résultat est en accord avec celui de Ghosh et al. (1994), qui ont prouvé que l'administration par voie orale du sélénite de sodium aux souris diabétiques a rétabli la teneur hépatique du glycogène, la concentration plasmatique du glucose et d'insuline et l'activité du glucose-6-phosphatase aux valeurs normales. Ersoz et al. (2003) ont montré que l'administration du sélénite de sodium chez les souris et les rats diabétiques restaure également le taux plasmatique du glucose, le taux hépatique du glycogène et renforce la sécrétion d'insuline. Par ailleurs, Sheng et al. (2005) ont démontré que le sélénite de sodium a un effet hypoglycémiant sur les souris diabétiques non dues à l'augmentation de la sécrétion pancréatique d'insuline, suggérant que le sélénite de sodium possède des propriétés mimétiques à l'insuline (Liu et al., 2013). D'autre part, Zeng et al. (2009) ont rapporté également que la concentration sérique du glucose est significativement diminuée par la dose pharmacologique du sélénite de sodium.

Les résultats obtenus ont révélé une augmentation bien claire de la concentration sérique des lipides totaux et des triglycérides chez les rats qui sont sous un régime pauvre en zinc (kechrid et al., 2012). Cette augmentation peut s'expliquer par la dégradation intense des composés lipidiques des tissus adipeux. D'autre part, l'hyperglycémie provoque un désordre métabolique traduit par des changements de la voie normale du glucose ; où une partie du glucose est transformée en acides gras et glycérol puis la synthèse des triglycérides et du cholestérol (Patricia et al., 1995 ; Valdiguié, 2000). Une autre étude a confirmé que la carence en zinc dans l'alimentation des rats a induit une augmentation de l'absorption du glucose marqué par le carbone radioactif (C^{14}) dans les tissus adipeux et transformé en acides gras (O'dell and Reeves, 1982). Reiterer et al. (2005) ont rapporté une augmentation de la concentration du cholestérol et des triglycérides dans les fractions de VLDL et de HDL chez les souris alimentées par un régime carencé en zinc et ont indiqué que la supplémentation du zinc a diminué ces perturbations.

Il y a également une diminution significative de la concentration sérique des lipides totaux, du cholestérol et des triglycérides chez les rats carencés en zinc supplémentés par la vitamine C (RC + Vit C) par rapport aux rats non traités (RC). La supplémentation de la vitamine C améliore le profil lipidique chez les rats diabétiques en agissant sur la synthèse biliaire du cholestérol sous l'effet du cholestérol 7 α -hydroxylase (Badr et al., 2012). En outre, la vitamine C diminue les dommages oxydatifs des lipides par leur rôle antioxydant (Owu et al., 2006).

Nos résultats démontrent également une réduction significative de la concentration sérique des lipides totaux, du cholestérol et des triglycérides après le traitement des rats diabétiques carencés en zinc par le sélénium. Ce dernier possède des propriétés mimétiques à l'insuline comprenant la stimulation de l'absorption du glucose et la régulation de la glycolyse, la néoglucogenèse, la synthèse des acides gras et la voie de pentose phosphate (Stapleton, 2000).

Par ailleurs, nos résultats ont montré une diminution significative de la concentration sérique des protéines totales et d'albumine mais une augmentation significative de la concentration sérique d'urée, de créatinine et d'acide urique

chez les rats diabétiques de régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux de régime normal. Ce qui explique la dégradation des protéines en acides aminés puis en urée et créatinine (Prangthip et al., 2012) et la dégradation des acides nucléiques en acide uriques, ce qui induira une diminution des composés protéiques du corps (Valdigué, 2000). A ce titre, Asayama et al. (1993) ont montré que la diminution des protéines chez les animaux diabétiques est due à la réduction de leur synthèse dans le foie. Oteiza et al. (1996) ont démontré que la carence du zinc chez les rats pourrait être associée aux dommages oxydatifs des protéines et de l'ADN. Sandstead et al. (2000) ont rapporté que le zinc est indispensable pour la synthèse des coenzymes qui sont responsables du métabolisme et de la biosynthèse d'amine.

Simultanément, nos résultats indiquent une augmentation significative de la concentration sérique des protéines totales, d'albumine et une diminution de la concentration sérique d'urée, de créatinine et d'acide urique après le traitement des rats par la vitamine C. Ces résultats peuvent refléter l'effet de la vitamine C en stimulant la sécrétion d'insuline (Hannan et al., 2007). Cette augmentation de la concentration d'insuline diminue le catabolisme des protéines, la dégradation des acides aminés et favorise la synthèse des protéines (Moller and Nair, 2008). D'autre part la vitamine C peut concurrencer le glucose pour être liée à la protéine et empêcher sa glycation (Manal, 2006). En outre, Davie et al. (1992) et Oian et al. (1998) ont approuvé que la vitamine C a empêché la glycosylation des protéines, celui-ci semble dû à la similitude structurale au glucose.

D'autre part, nos résultats ont montré une augmentation remarquable de la concentration sérique des protéines totales, d'albumine et une diminution de la concentration sérique d'urée, de créatinine et d'acide urique après le traitement par le sélénium. Ceci est en accord avec les résultats de Sarada et al. (2002) qui ont enregistré que la supplémentation de sélénium a empêché le catabolisme des protéines.

Pour l'augmentation de la concentration sérique de bilirubine chez les rats qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc, elle peut s'expliquer par la diminution de la synthèse des protéines particulièrement l'albumine, qui est le principal

transporteur de bilirubine. Donc la carence de cette protéine (l'albumine) a induit une accumulation de bilirubine libre dans le sang. Mais, le traitement par la vitamine C ou le sélénium a rétabli sa valeur par l'augmentation de la concentration d'albumine.

TGO et TGP sont des importantes enzymes dans les processus biologiques. Ces enzymes sont impliqués dans la dégradation des acides aminés en acide α -cétonique qui complète son métabolisme à travers le cycle de Krebs et la chaîne de transport d'électron (Osuna et al., 1977; Shakoori et al., 1994).

Nos résultats montrent une augmentation importante de l'activité des transaminases (TGO et TGP) dans le sérum des rats carencés en zinc (RC) par rapport à ceux de régime normal (RN) (Kechrid and Bouzerna, 2004). Ce qui explique l'accumulation des acides aminés comme l'alanine et l'acide glutamique dans le sérum, provenant de la dégradation des composés protéiques. Ainsi ces acides aminés peuvent se transformer sous l'action des transaminases sériques en composés carboxyliques tels que l'acide α -céto glutamique et l'acide pyruvique puis en glucose, qui est confirmé par l'augmentation de sa concentration sérique chez les rats qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc. Alors, dans ce cas on peut suggérer que la forte activité des transaminases c'est pour fournir une nouvelle source d'énergie spécialement à partir des acides aminés (Kechrid et al., 2007). A ce titre Grefly and Sandstead, (1993) ont observé que la carence en zinc dans l'alimentation des rats a provoqué une diminution de l'oxydation d'alanine, ce qui induit son accumulation dans le sang.

Au contraire, l'activité des transaminases (TGO et TGP) est diminuée après le traitement des rats par la vitamine C. Cette diminution est expliquée par son effet sur l'augmentation de la sécrétion d'insuline par les îlots de Langerhans (Hannan et al., 2007 ; Al-Mousawi, 2013). L'insuline diminue le catabolisme des protéines (Moller and Nair, 2008), l'accumulation des acides aminés dans le sang et par conséquence, l'activité enzymatique des transaminases diminue.

Nous résultats indiquent aussi une diminution significative de l'activité des transaminases (TGO et TGP) après la supplémentation de sélénium, car le sélénite de sodium possède des propriétés mimétiques à l'insuline (Sheng et al., 2005),

comprenant la stimulation de l'absorption du glucose et la régulation de la glycolyse, la néoglucogenèse et la diminution de catabolisme des protéines.

L'analyse des résultats a montré une diminution importante de l'activité de phosphatase alcaline et de LDH chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc (RC) par rapport à ceux qui sont sous un régime alimentaire normal (RN). Ceci s'explique par la diminution de la concentration sérique du zinc. Uchiyama and Yamaguchi, (2003) ont signalé que le zinc intervient dans la structure de plusieurs métalloenzymes comme la phosphatase alcaline et joue également un rôle important dans leur activité. En général la mesure de l'activité de la phosphatase alcaline sérique est très utilisée comme marqueur de la carence en zinc (Kasarskis, 1980 ; Donangelo and Chang, 1981).

Cependant, nos résultats montrent qu'après le traitement par la vitamine C ou le sélénium des rats diabétiques, il y a une augmentation significative de l'activité de phosphatase alcaline et de LDH. C'est probablement le résultat de l'augmentation de la concentration sérique du zinc.

Pour l' α -amylase, nos résultats ont montré une augmentation bien claire de l'activité de cette enzyme chez les rats alimentés par une nourriture pauvre en zinc. Ce résultat est en accord avec les constatations de Sun et al. (2005). On peut expliquer cette augmentation par des changements dans la synthèse et la sécrétion de cette enzyme au niveau des cellules acineuses du pancréas résultants à des troubles de la fonction de cet organe (Majumdar and Dubick, 1991; Kim et al., 1992).

Au contraire, après le traitement par la vitamine C ou le sélénium des rats qui sont sous un régime carencé en zinc, on a constaté une diminution significative de l'activité enzymatique de l' α -amylase. Cette diminution peut être expliquée par l'amélioration des fonctions pancréatiques.

MDA, c'est le produit de la peroxydation des acides gras insaturés, utilisé comme indicateur des dommages oxydatifs (Zhang et al., 2008).

Notre recherche montre une augmentation significative de la teneur hépatique de MDA chez le lot de régime pauvre en zinc par rapport au lot de régime normal. Ce résultat est similaire à celui de Chen and Young, (1998), qui ont démontrés que l'insuffisance du zinc induit une génération accrue des radicaux libres et de la peroxydation des lipides dans le sang et le foie des souris et des rats. D'autre part, Duzguner and Kaya, (2007) ont constaté une diminution du niveau de MDA après le traitement des lapins diabétiques par le zinc (Yin et al., 2013).

Les résultats de cette investigation indiquent une diminution de la concentration de MDA après le traitement par la vitamine C. Ils ont constaté une diminution de la peroxydation lipidique d'érythrocyte par la supplémentation de l'acide ascorbique, ceci suggère que ce dernier exerce des propriétés antioxydantes chez les diabétiques par sa capacité de piéger les radicaux libres. D'ailleurs, l'AA peut régénérer la vitamine E et combattre HOCl-résultant de l'épuisement cellulaire du glutathion (Li and Schellhorn, 2007 ; Lapenna et al., 2012).

La diminution de la concentration de MDA observé après le traitement par le sélénium est soutenue par d'autres investigateurs (Ognjanovic et al., 2008). Ça peut être expliqué par le rôle important du sélénium pour empêcher la peroxydation lipidique et dans la protection de l'intégrité et le fonctionnement des tissus et des cellules (Klotz et al., 2003).

GSH est un puissant antioxydant, important pour la protection cellulaire, la désintoxication des ROS, la conjugaison et l'excrétion des molécules toxiques (Brown et al., 2004).

Les résultats obtenus ont montré une diminution de la concentration du glutathion réduit hépatique (GSH) chez les rats diabétiques de régime pauvre en zinc par rapport à ceux de régime alimentaire normal. Ceci est accordé par Sayed, (2012) qui a démontré une diminution de la concentration de GSH chez les rats diabétiques. La diminution des taux tissulaires de GSH chez les rats diabétiques a clairement

suggéré son utilisation accrue par les cellules hépatiques qui pourrait être le résultat de la réduction de la synthèse ou de le renforcement de la dégradation de GSH par l'augmentation de stress oxydant au cours de diabète (Furfaro et al., 2012) et par la carence en zinc (Kechrid et al., 2007 ; Miao et al., 2013). D'après Jia et al. (2009), le taux élevé de superoxyde et des radicaux libres, convertissent le GSH soit en glutathion oxydé ou en H_2S , ce qui provoque la diminution de taux hépatique du glutathion.

Nous avons remarqué après le traitement des rats diabétiques par la vitamine C une augmentation de taux du glutathion hépatique, qui est en accord avec Ahna et al. (2006).

Par ailleurs, On a signalé que la supplémentation par le sélénium des rats diabétiques carencés en zinc a empêché la diminution de taux de GSH hépatique, ce qui est important pour la réduction de la formation de superoxyde pendant le diabète (Mukherjee et al, 1998). Le sélénium peut inhiber la production des radicaux libres, diminuer la peroxydation lipidique et régénérer le GSH (Gan et al., 2002).

GSH-Px, c'est une enzyme dépendante de sélénium, elle décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire par l'oxydation du glutathion réduit (Ewis and Abdel-Rahman, 1995).

Dans notre étude expérimentale, on a constaté une diminution significative de l'activité de GSH-Px hépatique des rats carencés en zinc par rapport aux rats alimentés par un régime alimentaire normal (Tomat et al., 2013). La baisse activité de GSH-Px pourrait être directement expliquée par la faible concentration du glutathion ; car ce dernier est un substrat et cofacteur de GSH-Px (Ramachandran and Saravanan, 2013). D'autre part l'hyperglycémie peut produire les ROS et empêcher également l'activité des enzymes antioxydantes telles que le SOD, le CAT et le GSH-Px par glycosylation (Sindhu et al., 2004).

Par contre, l'administration de la vitamine C chez les rats entraine une augmentation de l'activité de GSH-Px. Elle s'explique par l'effet antioxydant de l'AA dans le blocage des oxydants qui sont capables d'inactiver la GSH-Px tel que HOCl,

les radicaux hydroxyles et les espèces réactives d'azote (ERN) (Miyamoto et al., 2003).

D'autre part, on a enregistré une augmentation de l'activité de GSH-Px chez les rats diabétiques après le traitement par le sélénium. Cette augmentation peut être expliquée par l'élévation de la concentration de sélénium suivant le traitement par le sélénite du sodium comme suggéré par l'étude de Ben Amara et al. (2011). Cependant, la supplémentation de Se a augmenté l'activité des sélénoprotéines, en favorisant l'incorporation de sélénocystéine dans les sélénoprotéines (Saito and Takahashi, 2002).

En ce qui concerne la glutathion-S-transférase (GST), cette enzyme joue un rôle important dans l'intoxication des xénobiotiques et/ou dans la protection contre des métabolites nocifs générés après la dégradation des macromolécules suite à leur exposition aux RL (Hayes and Pulford, 1995).

D'après nos résultats on constate une augmentation significative de l'activité de GST hépatique des rats alimentés par un régime pauvre en zinc en comparaison avec ceux alimentés par un régime riche en zinc. Il est intéressant de signaler que l'insuffisance du Zn provoque un stress oxydant, pendant lequel les cellules tendent à compenser ce déséquilibre en activant les éléments du système de défense antioxydant comme la GST (Yousef et al., 2002).

En outre, nous avons remarqués une diminution significative de l'activité de GST après la supplémentation de la vitamine C ou de sélénium. Ceci est dû à l'effet antioxydant de ces derniers.

La catalase est un antioxydant enzymatique, qui décompose le radical hydroxyle, il est largement distribué dans tous les tissus avec une activité importante dans les globules rouges et le foie (Maritim et al., 2003). La réduction de l'activité enzymatique de CAT est la conséquence de divers effets délétères dus à l'accumulation des radicaux superoxydes et hydroxyles (Ramachandran and Saravanan, 2013).

Dans la présente étude, on a observé une activité réduite de CAT chez les rats diabétiques de diète pauvre en zinc par rapport au groupe de diète normale.

Le SOD, enzyme dépendante du zinc, favorise la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 qui est ensuite métabolisé par la catalase pour donner de l'eau (Carlos et al., 2011). La réduction de l'activité de CAT peut être expliquée par l'abaissement de l'activité de SOD et par conséquent, l'accumulation de l'anion superoxyde qui peut inactiver la CAT. Bien que le Zn ne soit pas un cofacteur exigé dans l'activité de CAT, la raison de la diminution de l'activité de CAT est le résultat de son inhibition par l' $O_2^{\bullet-}$ suite à l'insuffisance du Zn (Cakmak and Marschner, 1988 ; Saeed et al., 2013). D'autre part dans le diabète, la production non contrôlée de peroxyde d'hydrogène due à l'autooxydation du glucose, la glycation des protéines et l'oxydation des lipides ont mené à une diminution marquée de l'activité de CAT (Rajasekaran et al., 2005).

Dans nos expériences on a remarqué que l'addition de la vitamine C a augmenté de manière significative l'activité de CAT hépatique chez les rats diabétiques. Ceci peut être dû à la capacité antioxydante de la vitamine de piéger les radicaux libres, et par conséquent la dégradation de l' $O_2^{\bullet-}$. L' $O_2^{\bullet-}$ réduit empêche les dommages au groupe d'hème de CAT, reconstituant de ce fait l'activité enzymatique (Schneider and Oliveira, 2004 ; Sadi et al., 2008).

On a également signalé dans cette étude que l'activité de CAT a été augmentée après le traitement par le sélénium. Barbosa et al. (2008) et Reddi and Bollineni, (2001) ont démontré que l'activité de catalase devient normale ou augmente avec l'administration de sélénium. Ceci signifie que le Se peut probablement réduire la glycation des enzymes ou éliminer les ROS et améliorer l'activité des enzymes antioxydantes (Ukperoro et al., 2010).

Conclusion & Perspectives



CONCLUSION GENERALE

En conclusion, on constate que:

- La carence en zinc dans l'alimentation est clairement influée sur le poids pondéral et la consommation alimentaire mais le traitement par la vitamine C ou le sélénium a amélioré ces paramètres d'aspect physiologique.
- La concentration du zinc dans le sérum et les différents organes (le foie, le rein, le testicule et le pancréas) est diminuée en cas de déficit en zinc dans la nourriture. Alors que le traitement par la vitamine C ou le sélénium a rétabli sa concentration presque à la valeur normale.
- La carence en zinc dans l'alimentation a induit des troubles dans le métabolisme glucidique et lipidique traduisant par une hyperglycémie, une diminution de la teneur du glycogène hépatique et une augmentation de la concentration sérique des lipides totaux et des triglycérides, mais le traitement par la vitamine C ou le sélénium a réduit ces troubles.
- En ce qui concerne le métabolisme protéique, le manque du zinc a conduit à une diminution de la concentration des protéines sériques et d'albumine accompagné d'une augmentation de la concentration sérique de l'urée, la créatinine, l'acide urique et la bilirubine. Alors que la vitamine C et le sélénium ont joué un effet positif dans l'amélioration de ces paramètres.
- Pour l'activité enzymatique, la carence en zinc dans l'alimentation a provoqué une augmentation de l'activité des transaminases (TGO et TGP) et de l' α -amylase et une diminution de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL) et de lactate déshydrogénase (LDH). Par contre le traitement par la vitamine C ou le sélénium a réparé l'activité de ces enzymes.
- En ce qui concerne les paramètres de stress oxydatif, nos résultats montrent que l'insuffisance du zinc dans la nourriture des rats diabétiques a provoqué:
 - ✓ Une augmentation de taux de peroxydation lipidique (MDA) ;
 - ✓ Une diminution de la concentration du glutathion réduit (GSH) ;

- ✓ Une diminution de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) et du catalase (CAT) ;
- ✓ Une augmentation de l'activité enzymatique du glutathion-S-transférase (GST).

Le traitement par la vitamine C ou le sélénium a protégé les cellules contre l'attaque radicalaire en :

- ✓ Diminuant le taux de peroxydation lipidique (MDA) et l'activité enzymatique du glutathion-S-transférase (GST);
- ✓ augmentant la concentration du glutathion réduit (GSH), et l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) et du catalase (CAT).

Enfin, nous pouvons dire que la carence du zinc au cours de diabète a provoqué des sérieux perturbations ; affecté le taux de croissance, le statut du zinc, le métabolisme des carbohydrates, le taux de l'MDA, le niveau du glutathion et l'activité des enzymes antioxydantes. L'administration de la vitamine C ou de sélénium a diminué la sévérité de ces troubles, suggérant que la vitamine C et le sélénium exercent un effet antioxydant important contre l'hyperproduction des radicaux libres, ce qui contribue à la réduction des complications diabétiques.

PERSPECTIVES

Vu l'importance de ces résultats, il serait intéressant de poursuivre la recherche, en prenant en considération les recommandations suivantes :

- Doser d'autres paramètres du stress oxydant (le glutathion réductase, SOD, le rapport GSH /GSSG, les radicaux libres,...).
- Etudier l'histologie du pancréas.
- Réaliser une étude in vitro sur les cellules pancréatiques.
- Tester l'effet de la combinaison de la vitamine C et le sélénium sur le développement de diabète chez les rats alimentés par un régime alimentaire carencés en zinc.

Annexes

1. Fiches techniques « Spinreact » pour le dosage des paramètres biochimiques

1.1. Dosage du glucose

❖ Echantillon : **Sérum**

1.1.1. Réactifs utilisés

Réactif 1 : tampon	Tris pH 7.4 Phénol	92 mmol/L 0.3 mmol/L
Réactif 2 : Enzymes	Glucose oxydase (GOD) Peroxidase (POD) 4- aminophenazone (4-AP)	15000 U/L 1000 U/L 2.6 mmol/L
Glucose calibrant	Glucose aqueous (standard)	100 mg/dl

❖ Réactif de travail: dissoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1 et mélanger légèrement. Ce réactif de travail est stable un mois à 2-8 °C, ou 7 jours à 15-25 °C.

1.1.2. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	—	10	—
Echantillon (µl)	—	—	10

✓ Mélanger, incubé pendant 10 min à 37°C, ou 15-20 min à une température ambiante. Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 505 nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

1.1.3. Calcul de la concentration

La concentration du glucose dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Glucose (mg/dl)} = \frac{DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{étalon}}} \times \text{Concentration de l'étalon (100mg/dl)}$$

1.2. Dosage des lipides totaux

❖ Echantillon : **Sérum**

1.2.1. Réactifs utilisés

Réactif (A)	Phosphovainilline	235 mmol/L
Réactif (B) (Etalon)	Lipides totaux	750 mg/dl
Réactif optionnel	Acide sulfurique (H ₂ O ₂)	80 %

1.2.2. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Acide sulfurique (ml)	2.5	2.5	2.5
Etalon (µl)	–	100	–
Echantillon (µl)	–	–	100

✓ Mélanger, incuber pendant 10 min dans un bain- marie à 100 °C

✓ Refroidir les tubes dans l'eau congelée.

Surnagent (µl)	–	50	50
Phosphovainiline (ml)	1.0	1.0	1.0

✓ Agiter et incuber pendant 15 min à 37 °C. Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 520 nm. La coloration finale est stable pendant une heure.

1.2.3. Calcul de la concentration

La concentration des lipides totaux dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Lipides totaux (mg/dl)} = \frac{DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{étalon}}} \times \text{Concentration de l'étalon (750mg/dl)}$$

1.3. Dosage des triglycérides

❖ Echantillon : **Sérum**

1.3.1. Réactifs utilisés

Réactif (R1)	GOOD pH 7.5	50 mmol /L
Tampon	P-Chlorophenol	2 mmol /L
Réactif (R2) (enzymes)	Lipoprotéine lipase (LPL)	150000 U/L
	Glycérol kinase (GK)	500 U/L
	Glycérol-3-oxidase (GPO)	2500 U/L
	Peroxydase (POD)	440 U/L
	4-Aminophénazone (4-AP)	0.1 mmol/L
	ATP	0.1 mmol/L
Etalon	Triglycéride aqueux primaire standardisé	200 mg/dl

❖ Réactif de travail: dissoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1 et mélanger légèrement. Ce réactif (RT) est stable pendant 6 semaines à 2-8°C ou une semaine à 15-25°C.

1.3.2. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (RT) (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	—	10	—
Echantillon (µl)	—	—	10

✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37°C ou 10 min à 15-25°C. Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 505 nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

1.3.3. Calcul de la concentration

La concentration des triglycérides dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Triglycérides (mg/dl)} = \frac{DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{étalon}}} \times \text{Concentration de l'étalon (200mg/dl)}$$

1.4. Dosage du cholestérol

❖ Echantillon : **Sérum**

1.4.1. Réactifs utilisés

Réactif (R1)	Pipes pH 6.9	90 mmol /L
Tampon	Phénol	26 mmol /L
Réactif (R2) (enzymes)	Cholestérol estérase.	300 U/L
	Cholestérol oxydase.	300 U/L
	Peroxydase.	1250 U/L
	4-Aminophenasone (4-AP)	0.4 mmol/L
Etalon	Cholestérol aqueux primaire standardisé.	200 mg/dl

❖ Réactif de travail : dissoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1 et mélanger légèrement. Ce réactif (RT) est stable pendant 4 mois à 2-8 °C ou 40 jours à 15-25 °C.

1.4.2. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (RT) (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	—	10	—
Echantillon (µl)	—	—	10

✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 °C ou 10 min à 15-25°C. Lire les densités optiques des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 505 nm. La coloration finale est stable au moins 60 minutes.

1.4.3. Calcul de la concentration

La concentration du cholestérol dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Cholestérol (mg/dl)} = \frac{DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{étalon}}} \times \text{Concentration de l'étalon (200mg/dl)}$$

1.5. Dosage des protéines totales

❖ Echantillon : **Sérum**

1.5.1. Réactifs utilisés

Réactif (R)	Tartrate de potassium sodium	15 mmol /L
	Iodure de sodium	100 mmol/L
	Iodure de potassium	5mmol/L
	Sulfate de cuivre	19 mmol/L
Etalon	Sérum Bovin Albumine	7 g/dl

1.5.2. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (R) (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	—	25	—
Echantillon (µl)	—	—	25

✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 °C ou 10 min à 15-25°C. lire les densités optiques des échantillons et de l'étalon contre le blanc à 540 nm. La couleur est stable pendant 30 min.

1.5.3. Calcul de la concentration

La concentration des protéines totales dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$Protéine\ totale\ (g/dl) = \frac{DO_{échantillon}}{DO_{étalon}} \times \text{Concentration de l'étalon (7g/dl)}$$

1.6. Dosage d'albumine

❖ Echantillon : **Sérum**

1.6.1. Réactifs utilisés

Réactif (R)	Vert de bromocrésol pH 4.2	0.12 mmol /L
Etalon	Sérum albumine bovin	5 g/dl

1.6.2. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (RT) (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	–	5	–
Echantillon (µl)	–	–	5

✓ Mélanger, incuber pendant 10 min à 25° C. Lire les densités optiques contre le blanc à 630 nm.

1.6.3. Calcul de la concentration

La concentration d'albumine dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Albumine (g/dl)} = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}}}{\text{DO}_{\text{étalon}}} \times \text{Concentration de l'étalon (5 g/dl)}$$

1.7. Dosage d'urée

❖ Echantillon : **Sérum**

1.7.1. Réactifs utilisés

Réactif (R1)	Phosphate pH 6.7	50 mmol /L
Tampon	EDTA	2 mmol /L
	Salicylate de sodium	400 mmol/L
	Nitroprusside de sodium	10 mmol/L
Réactif (R2)	Hypochlorite de sodium (NaClO)	140 mmol/L
NaClO	Hydroxyde de sodium	150 mmol/L
Réactif (R3) (enzymes)	Uréease	30000 U/L
Etalon	Urée aqueux primaire standardisé	50 mg/dl

❖ Réactif de travail : Dissoudre un comprimé de R3 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement. Ce réactif (RT) est stable pendant 4 semaines à 2-8 °C ou 7 jours à 15-25 °C.

1.7.2. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (RT) (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	—	10	—
Echantillon (µl)	—	—	10

✓ Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C.

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (R2) (ml)	1.0	1.0	1.0

✓ Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C. Lire les densités optiques contre le blanc à 580 nm. La coloration est stable pendant 30 minutes.

1.7.3. Calcul de la concentration

La concentration de l'urée est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Urée (mg/dl)} = \frac{DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{étalon}}} \times \text{Concentration de l'étalon (50 mg/dl)}$$

1.8. Dosage de créatinine

❖ Echantillon : **Sérum**

1.8.1. Réactifs utilisés

Réactif (R1)	Acide picrique	17.5 mmol/L
Réactif (R2)	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/L
Etalon	Créatinine aqueux (solution)	2 mg/dl

❖ Réactif de travail : dissoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1 et mélanger légèrement. Ce réactif (RT) est stable pendant 10 jours à 15-25 °C.

1.8.2. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (RT) (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	—	100	—
Echantillon (µl)	—	—	100

✓ Mélanger, déclencher le chronomètre. Lire à 492 nm la densité optique (DO₁) après 30 secondes et la densité optique (DO₂) après 90 secondes.

1.8.3. Calcul de la concentration

La concentration de la créatinine est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Créatinine (mg/dl)} = \frac{\Delta DO_{\text{échantillon}} - \Delta DO_{\text{blanc}}}{\Delta DO_{\text{étalon}} - \Delta DO_{\text{blanc}}} \times \text{Concentration de l'étalon (2 mg/dl)}$$

$$\Delta DO = (DO_2 - DO_1)$$

1.9. Dosage d'acide urique

❖ Echantillon : **Sérum**

1.9.1. Réactifs utilisés

Réactif (R1) (Tampon)	Phosphate pH 7.4 2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS)	50 mmol /L 4 mmol/L
Réactif (R2) (Enzymes)	Uricase Peroxydase(POD) Ascorbate oxydase 4-Aminophenase (4-AP)	60 U/L 660 U/L 200 U/L 1 mmol/L
Etalon	Acide urique aqueux	6 mg/dl

❖ Réactif de travail : Mélanger un volume de réactif 1 avec un volume de réactif 2.
Ce réactif (RT) est stable pendant un mois à 2-8 °C ou 10 jours à 15-25 °C.

1.9.2. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (RT) (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	—	25	—
Echantillon (µl)	—	—	25

✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 °C ou 10 min à 15-25°C. Lire les densités optiques des échantillons et de l'étalon contre le blanc à 520 nm. La couleur est stable pendant 30 min.

1.9.3. Calcul de la concentration

La concentration de l'acide urique est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Acide urique (mg/dl)} = \frac{DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{étalon}}} \times \text{Concentration de l'étalon (6 mg/dl)}$$

1.10. Dosage de bilirubine totale et directe

❖ Echantillon : **Sérum**

1.10.1. Réactifs utilisés

Réactif (R1)	Acide sulfanilique	30 mmol/L
	Acide chlorhydrique (HCl)	150 mmol/L
Réactif (R2)	Acide sulfanilique	30 mmol/L
	Acide chlorhydrique (HCl)	50 mmol/L
	Diméthylsulfoxyde (DMSO)	7 mol/L
Réactif (R3)	Nitrite de sodium	29 mmol/L
Etalon	Bilirubine aqueux primaire standardisé	Ref : 1002250

1.10.2. Mode opératoire

	Blanc	Bilirubine (T)	Blanc	Bilirubine (D)
R1 (ml)	–	–	1.5	1.5
R2 (ml)	1.5	1.5	–	–
R3 (µl)	–	50	–	50
Echantillon/Etalon (µl)	100	100	100	100

✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 15-25°C. Lire les densités optiques à 555 nm.

1.10.3. Calcul de la concentration

Les concentrations de la bilirubine totale et de la bilirubine directe sont calculées selon la formule suivante :

- Avec étalon :

$$\text{Bilirubine (mg/dl)} = \frac{DO_{\text{échantillon}} - DO_{\text{blanc de l'échantillon}}}{DO_{\text{étalon}} - DO_{\text{blanc de l'étalon}}} \times \text{Concentration de l'étalon}$$

- Avec facteur :

$$\text{Bilirubine (mg/dl)} = DO_{\text{échantillon}} - DO_{\text{blanc de l'échantillon}} \times \text{facteur}$$

$$\text{Facteur} = \frac{\text{Concentration de l'étalon}}{DO_{\text{étalon}} - DO_{\text{blanc de l'étalon}}}$$

Facteur théorique: Bilirubine totale = 19.1 ; Bilirubine directe = 14.

1.11. Dosage de l'activité d'aspartate aminotransférase ASAT (TGO)

❖ Echantillon : **Sérum**

1.11.1. Réactifs utilisés

Réactif (R ₁) (Tampon)	Tris pH 7.8	80 mmol/L
	L-Aspartate	200 mmol/L
Réactif (R ₂) (substrat)	NADH	0.18 mmol/L
	Lactate déhydrogenase (LDH)	800 U/L
	Malate déhydrogenase (MDH)	600 U/L
	α-cétoglutarate	12 mmol/L

❖ Réactif de travail (RT) : Dissoudre un comprimé de R2 dans un flacon de R1. Ce réactif est stable pendant 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à 15-25°C.

1.11.2. Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (μl)	100

✓ Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 340 l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes (Δ DO/min) pour l'utiliser dans les calculs.

1.11.3. Calcul de l'activité

L'activité enzymatique d'aspartate aminotransférase est calculée par la formule suivante:

$$\text{ASAT (UI/L)} = \Delta \text{DO/min} \times 1750$$

1.12. Dosage de l'activité d'alanine aminotransférase ALAT (TGP)

❖ Echantillon : **Sérum**

1.12.1. Réactifs utilisés

R1 Tampon	Tris pH 7.8	100 mmol/L
	L- alanine	500 mmol/L
R2 Substrat	NADH	0.18 mmol/L
	Lactate déhydrogenase (LDH)	1200 U/L
	Oxoglutarate	15 mmol/L

❖ Réactif de travail (RT) : Dissoudre le contenant du R2 dans le flacon de R1. Ce réactif est stable pendant 2 jours à 2-8°C ou 72 heures à 15-25°C.

1.12.2. Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (µl)	100

✓ Mélanger, incuber pendant une minute à température ambiante et lire l'absorbance initiale à 340 nm. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes (Δ DO/min) pour l'utiliser dans les calculs.

1.12.3. Calcul de l'activité

L'activité enzymatique d'alanine aminotransférase est calculée par la formule suivante :

$$\text{ALAT (UI/L)} = \Delta \text{DO/min} \times 1750$$

1.13. Dosage de l'activité de phosphatase alcaline (ALP)

❖ Echantillon : **Sérum**

1.13.1. Réactifs utilisés

Réactif (R1) (Tampon)	Diethanolamine (DEA) pH 10.4	1 mmol /L
	Chlorure de magnésium	0.5 mmol /L
Réactif (R2) (Substrat)	P-nitrophényl-phosphate (pNPP)	10 mmol/L

❖ Réactif de travail (RT): Dissoudre une tablette de réactif 2 (substrat) dans le tampon (réactif 1). Ce réactif (RT) est stable pendant 21 jours à 2-8 °C ou 5 jours à 15-25 °C.

1.13.2. Mode opératoire

Réactif (RT) (ml)	1.2
Echantillon (µl)	20

✓ Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 405 nm l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes ($\Delta DO/min$) pour l'utiliser dans les calculs.

1.13.3. Calcul de l'activité

Pour calculer l'activité enzymatique de PAL, on utilise la formule suivante :

$$PAL (UI/L) = \Delta DO/min \times 3300$$

1.14. Dosage de l'activité de lactate déshydrogénase (LDH)

❖ Echantillon : **Sérum**

1.14.1. Réactifs utilisés

Réactif (R1) (Tampon)	Pyruvate	0.6 mmol /L
	Imidazole	65 mmol /L
Réactif (R2) (Substrat)	NADH	0.18 mmol/L

❖ Réactif de travail (RT): Dissoudre le contenant du R2 dans le flacon de R1. Ce réactif est stable pendant 2 jours à 2-8°C ou 12 heures à 15-25 °C.

1.14.2. Mode opératoire

	25-30°C
Réactif (RT) (ml)	3.0
Echantillon (µl)	100

✓ Mélanger, et incuber pendant une minute. Lire à 340 nm l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes ($\Delta DO/min$) pour l'utiliser dans les calculs.

1.14.3. Calcul de l'activité

Pour calculer l'activité enzymatique de LDH, on utilise la formule suivante :

$$\text{LDH (UI/L)} = \Delta DO / \text{min} \times 4925$$

1.15. Dosage de l'activité de l' α -amylase

❖ Echantillon : **Sérum**

1.15.1. Réactifs utilisés

Réactif (R)	Tampon MES pH 6.0	100 mmol /L
	CNPG ₃	2.25 mmol/L
	Chloride de Sodium (NaCl)	350 mmol /L
	Acétate de calcium	6 mmol/L
	Thiocyanate de Potassium	900 mmol/L
	Azoture de sodium	0.95 gr/L

1.15.2. Mode opératoire

Réactif (R) (ml)	1.0
Echantillon (μl)	20

✓ Mélanger, incuber pendant une minute à 37°C. Lire à 405 nm l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes ($\Delta DO/\text{min}$) pour l'utiliser dans les calculs.

1.15.3. Calcul de l'activité

Pour calculer l'activité enzymatique de l' α -amylase, on utilise la formule suivante :

$$\alpha\text{-amylase (UI/L)} = \Delta DO / \text{min} \times 3954$$

2. Préparation de réactif de Bradford

- Dissoudre 100 mg de bleu de coomassie dans 50 ml d'éthanol (95%).
- Agiter le mélange pendant 2 heures avec un agitateur à l'abri de la lumière.
- Ajouter 100 ml de l'acide orthophosphorique (H_3PO_4) (85%).
- Compléter le volume jusqu'à 1 litre avec l'eau distillée.
- Filtrer la solution obtenue avec un papier filtre.

Ce réactif est stable pendant 2 semaines à 4°C.

3. Courbes d'étalonnage

3.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage du zinc

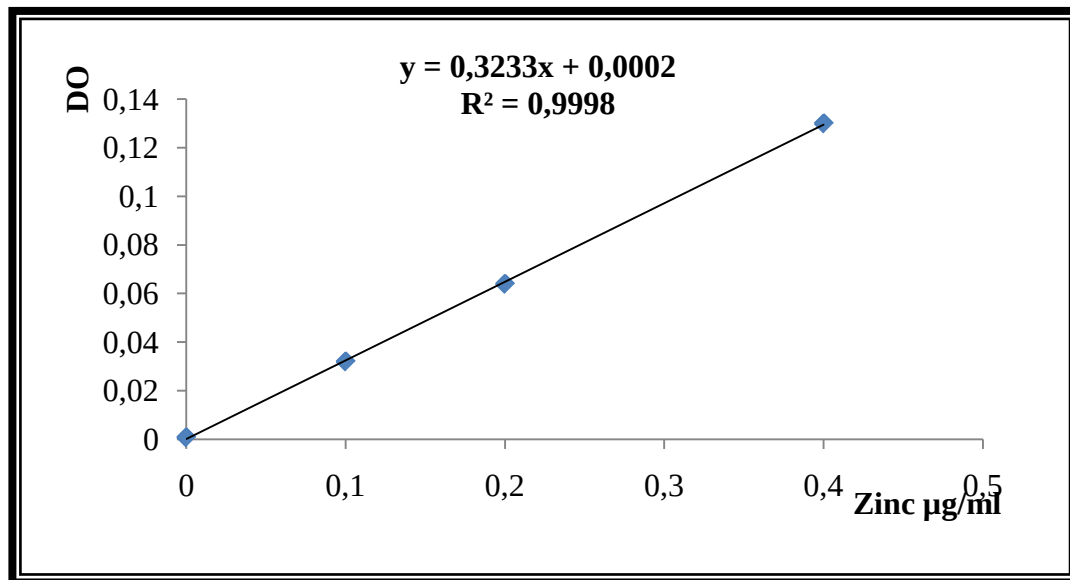


Figure : Courbe d'étalonnage du zinc.

3.2. Courbe d'étalonnage pour le dosage du glycogène

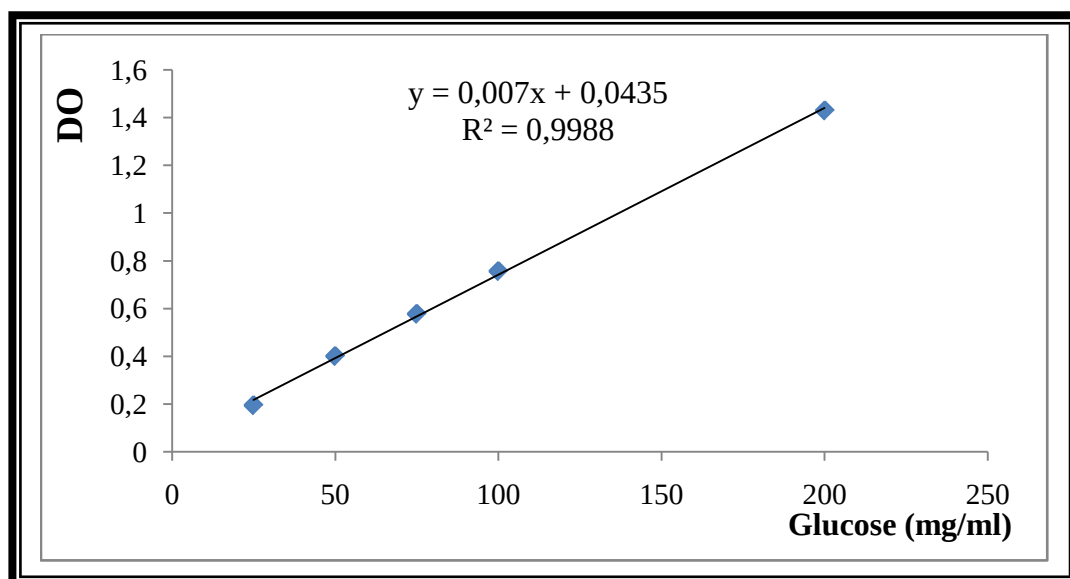


Figure : Courbe d'étalonnage du glucose.

3.3. Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines hépatiques

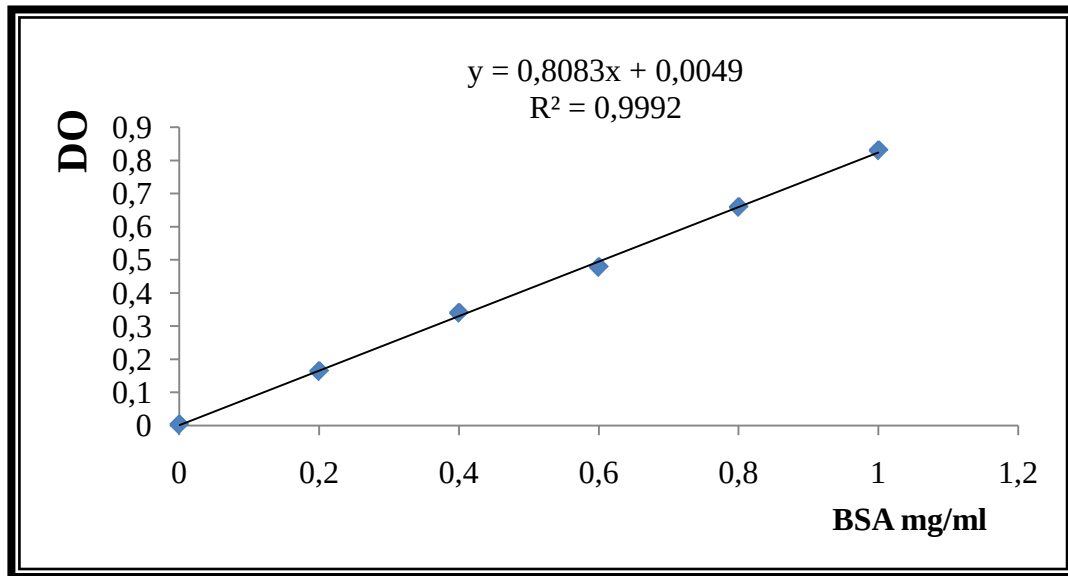


Figure : Courbe d'étalonnage de BSA.

Références Bibliographiques

F

damson, I., Frieditis, H., Hedgecock, C., Vincent, R. (2000). Zinc is the toxic factor in the lung response to an atmospheric particulate sample. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **166**: 111-119.

Agett, P.J., Favier, A. (1993). Zinc. *Vitamin and Nutrition Research* **63**: 247-316.

Ahmed, N. (2005). Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **67**(1): 3-21.

Ahna, T., Yun, C.H., Oh, D.B. (2006). Tissue-specific effect of ascorbic acid supplementation on the expression of cytochrome P450 2E1 and oxidative stress streptozotocin-induced diabetic rats. *Toxicology Letters* **166**: 27-36.

Alberti, K.G., Zimmet, P.Z. (1999). Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *World Health Transplantation WHO/NCD/NCS/99.2*.

Aldini, G., le-Donne, I., Vistoli, G., Maffei, F.R., Garini, M. (2005). Covalent modification of action by 4-hydroxy-trans-2-nonenal (HNE): LC-ESI8MS/MS evidence for Cys 374 Michael adduction. *Mass Spectrom.* **40**: 946-954.

Al-Marroof, R.A., Al-Sharbatti, S.S. (2006). Serum zinc levels in diabetic patients and effect of zinc supplementation on glycemic control of type 2 diabetes. *Saudi Med.* **27**: 344-350.

Al-Mousawi, Z.A.H. (2013). Effect of vitamin c and zinc on some biochemical parameter in alloxan induced diabetic rabbits. *Bas. Vet. Res.* **12**(1): 77-86.

Ambali, S.F., Shuaib, K., Edeh, R., Orieji, B.C., Shittu, M., Akande, M. (2011). Hyperglycemia induced by subchronic co-administration of chlorpyrifos and lead in Wistar rats: Role of pancreatic lipoperoxidation and alleviating effect of vitamin C. *Biology and Medicine* **3** (1): 6-14.

American Diabetes Association (2012). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* **35**: S64-S71.

Arai, K., Maguchi, S., Fujii, S., Ishibashi, H., Oikawa, K., Taniguchi, N. (1987). Glycation and inactivation of human Cu-ZN-Superoxide dismutase. Identification of the in vitro glycated sites. *Biol. Chem.* **15** (35): 16969-16972.

Arnoud, J. (1987). Etude du zinc du lait maternel. Thèse de doctorat, Science pharmaceutiques. *Grenoble*.

Arnaud, J. (1995). Zinc. Dans : Dossier Scientifique de l'IFN n°7, Les minéraux. *Institut Français pour la Nutrition. Paris.* pp : 59-64.

Aronson, D. (2008). Hyperglycemia and the pathobiology of diabetic complications. *Adv. Cardiol.* **45**: 1-16.

Arrigoni, O., De Tullio, M. (2002). Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochim. Biophys. Acta.* **1569**: 1-9.

Arteel, G.E., Mostert, V., Oubrahim, H., Briviba, K., Abel, J., Sies, H. (1998). Protection by selenoprotein P in human plasma against peroxynitrite-mediated oxidation and nitration. *Biol. Chem.* **379** (8-9): 1201-1205.

Asayama, K., Uchida, N., Nakane, T., Hayashibe, H., Dobashi, K., Amemiya, S., Kato, K., Nakazawa, S., Dobashi, K., Amemiya, S., Kato, K., Nakazawa, S. (1993). Antioxidant in the serum of children insulin dependent diabetes mellitus. *Free Radic. Biol. Med.* **15** : 597-602.

Association canadienne du diabète. (2008). Lignes directrices de pratique clinique pour la prévention et le traitement du diabète au Canada. *Canadian Journal of Diabetes* **32**: 1.

Auberval, N. (2010). Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse de doctorat, Science de la vie et de la santé. *Strasbourg*.

Ayinde, O.C., Ogunnowo, S., Ogedegbe, R.A. (2012). Influence of vitamin C and vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats. *Pharmacology and Toxicology* **13**: 17.

adr, G., Bashandy, S., Ebaid, H., Mohany, M., Sayed, D. (2012). Vitamin C supplementation reconstitutes polyfunctional T cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur. Nutr.* **51**: 623-633.

Baldwin, J.S., Lee, L., Leung, T.K., Muruganandam, A., Mutus, B. (1995). Identification of the site of non-enzymatic glycation of glutathione peroxidase: rationalization of the glycation-related catalytic alterations on the basis of three-dimensional protein structure. *Biochim. Biophys. Acta.* **1247**: 60-64.

Ballatori, N. (1991). Mechanisms of metal transport across liver cell plasma membranes. *Drug. Metab.* **23**: 83- 132.

- Ballatori, N., Krance, S.M., Notenboom, S., Shi, S., Tieu, K., Hammond, C.L. (2009). Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biol. Chem.* **390**: 191-214.
- Baltaci, A.K., Ozyurek, K., Mogulkoc, R., Kurtoglu, E., Ozkan, Y., Celik, I. (2003). Effects of Zinc Deficiency and Supplementation on the Glycogen Contents of Liver and Plasma Lactate and Leptin Levels of Rats Performing Acute Exercise. *Biological Trace Element Research* **96** (1-3): 227-236.
- Bancila, V., Cens, T., Monnier, D., Chanson, F., Faure, C., Dunant, Y., Bloc, A. (2005). Two SUR1-specific histidine residues mandatory for zinc-induced activation of the rat KATP channel. *Biol. Chem.* **280**: 8793-8799.
- Barbosa, N.B., Rocha, J.B., Soares, J.C., Wondracek, D.C., Goncalves, J.F., Schetinger, M.R., Nogueira, C.W. (2008). Dietary diphenyl diselenide reduces the STZ-induced toxicity. *Food and Chemical Toxicology* **46** (1): 186-94.
- Belkheiri, N. (2010). Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de doctorat, Chimie-Biologie-Santé. *Toulouse III*.
- Bellomo, E.A., Meur, G., Rutter, G.A. (2011). Glucose regulates free cytosolic Zn²⁺ concentration, Slc39 (ZiP), and metallothionein gene expression in primary pancreatic islet β -cells. *Biol. Chem.* **286**: 25778–25789.
- Ben Amara, I., Soudani, N., Troudi, A., Bouaziz, H., Boudawara, T., Zeghal, N. (2011). Antioxidant effect of vitamin E and selenium on hepatotoxicity induced by dimethoate in female adult rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **74** : 811-819.
- Benammar E., Chatouani H. (2009). L'insulinothérapie chez les diabétiques de type 2. Thèse de doctorat, faculté de pharmacie. *Grenoble*.
- Bergmeyer, H.U. (1963). Methods of enzymatic analysis. *Academic Press*. **3**: 434.
- Bertrand, G., Bhattacharjee, R.C. (1934). L'action combinée du zinc et des vitamines dans l'alimentation des animaux. *CR. Acad. Sci. Pris.* **198**: 1823-1827.
- Bhatnagar, S., Taneja, S. (2001). Zinc and cognitive development. *Br. Nutr.* **85** (supl2): S139-S145.
- Bjursell, M., Egecioglu, E., Gerdin, A.K., Svensson, L., Oscarsson, J., Morgan, D., Snaith, M., Törnell, J., Bohlooly-Y, M. (2005). Importance of melanin-concentrating hormone receptor for the acute effects of ghrelin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **326**: 759-765.

Blakytyn, R., Harding, J.J. (1992). Glycation (non-enzymic glycosylation) inactivates glutathione reductase. *Biochem.* **15**: 303-307.

Bloomer, R.J., Fisher-Wellman, K.H. (2008). Blood oxidative stress biomarkers: influence of sex, training status, and dietary intake. *Gender Medicine* **5** (3): 218-28.

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

Bouldjadj, R. (2009). Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*artemisia herba alba* asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. Thèse de magister, Sciences de la Nature et de la Vie. *Constantine*.

Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.

Brandao-Neto, J., Silva, C.A.B., Rezende, A.A., Almeida, M.G., Sales, V.S.P., Marchini, J.S. (2003). Zinc pharmacokinetics in insulindependent diabetes mellitus patients after oral zinc tolerance test. *Nutr. Res.* **23**: 141-150.

Brandão-Neto, J., Stefan, V., Mendonça, B.B., Bloise, W., Castro, A.V. (1995). The essential role of zinc in growth. *Nutr. Res.* **15**: 335.

Breinneisen, P., Steinbrenner, H., Sies, H. (2005). Selenium, oxidative stress and health aspects. *Mol. Aspects Med.* **26**: 256-267.

Brigelius-Flohe, R., Banning, A., Schnurr, K. (2003). Selenium-dependent enzymes in endothelial cell function. *Antioxid. Redox. Signal.* **5** (2): 205-215.

Brown, L.A., Harris, F.L., Ping, X.D., Gauthier, T.W. (2004). Chronic ethanol ingestion and the risk of acute lung injury: A role for glutathione availability. *Alcohol* **33**: 191-197.

Browne, R.W., Bloom, M.S., Schisterman, E.F., Hovey, K., Trevisan, M., Wu, C., Liu, A., Wactawski-Wende, J. (2008). Analytical and biological variation of biomarkers of oxidative stress during the menstrual cycle. *Biomarkers* **13** (2): 160-83.

Brownlee, M. (2005). The pathobiology of diabetic complications. A unifying mechanism. *Diabetes* **54**: 1615-1625.

Buchanan, T.A., Xiang, A.H., Page, K.A. (2012). Gestational diabetes mellitus: risks and management during and after pregnancy. *Nat. Rev. Endocrinol.* **8** (11): 639-649.

Buege, J.A., Aust, S.D. (1984). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* **105**: 302-310.

Bulduk, E., Gönül, B., Özer, Ç. (2006). Effects of vitamin C on muscle glycogen and oxidative events in experimental diabetes. *Molecular and Cellular Biochemistry* **292**: 131-137.

Burk, R.F. (2002). Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutr. Clin. Care* **5**: 47-49.

Burk, R.F., Hill, K.E. (2005). Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. *Annu. Rev. Nutr.* **25**: 215-235.

Burtis, A., Ashwood, E., Bruns, D. (1999). Tiets textbook of clinical chemistry, 3rd edition. Saunders Company. p: 1917.

Takmak, I., Marschner, H. (1988). Zinc-dependent changes in ESR signals,

NADPHoxidase and plasma membrane permeability in cotton roots. *Physiol. Plant.* **73**: 182–186.

Camara, E., Amaro, M.A. (2003). Nutritional aspect of zinc availability. *International Journal of Food Science and Nutrition.* **54**: 143-151.

Carlos, R.R., Craig, D.W., Clive, R. (2011). Synthesis and characterization of SOD-, CAN- and JBW-type structures by hydrothermal reaction of kaolinite at 200°C. *Dyna. rev. fac. nac. minas.* **78** (166): 38-47.

Charbonnel, B., Cariou, B. (1997). Diabète non insulino-dépendant: indications thérapeutiques. *Médecine Thérapeutique* **3**: 103-111.

Chen, S.M., Young, T.K. (1998). Effects of zinc deficiency on endogenous antioxidant enzymes and lipid peroxidation in glomerular cells of normal and five-sixths nephrectomized rats. *Formos. Med. Assoc.* **97** (11): 750-756.

Cheng, A.Y.Y. Fantus, I. G. (2005). Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Canadian Medical Association* **172** (2): 213-226.

Chimienti, F., Devergnas, S., Favier, A., Seve, M. (2004). Identification and cloning of a beta-cell-specific zinc transporter, ZnT-8, localized into insulin secretory granules. *Diabetes* **53** : 2330-2337.

Chung, C.S., Najey, D.A., Veillon, C., Patterson, K.Y., Jackson, R.T., Moser-Veillon, P.B. (2002). A single sixteen mg iron dose decrease zinc absorption in lactating women. *Nutr.* **132** : 1903-1905.

Claeyssen, R. (2009). Zinc et brûlure : Etude du statut en zinc et de l'influence de la supplémentation sur un modèle animal de brûlure sévère. Approche métabolique et moléculaire. Thèse de doctorat, Ingénierie pour la sante, la cognition et l'environnement. *Grenoble*.

Claiborne, A. (1985). Catalase activity. In: Greenwald, R. A. (ed), CRC Handbook of Methods of Oxygen Radicals Research. *CRC. Press Boca. Raton. FL*. 283-284.

Clarkson, P.M., Thompson, H.S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *American Clinical Nutrition* **72**(2): 637- 646.

Cohen, G., Heikkila, R. E. (1974). The generation of hydrogen peroxide, superoxide radical, and hydroxyl radical by 6-hydroxydopamine, dialuric acid, and related cytotoxic agents. *Biol. Chem.* **249** (8): 2447-2452.

COPIL PRSP MCV. (2009). Le Diabète. CHU service endocrinologie, maladie métaboliques. pp :1-16.

Coste, T.C., Armand, M., Lebacq, J., Lebecque, P., Wallemacq, P., Leal, T. (2007). An overview of monitoring and supplementation of omega 3 fatty acids in cystic fibrosis. *Clin. Biochem.* **40**: 511-520.

Cotton, F. A., Wilkinson, G. (1962). Advanced inorganic chemistry, a comprehensive text, Intersci. *Publ. John. Wiley and Sons. U.S.A.* pp: 470-489.

Cozma, L. S., Luzio, S.D., Dunseath, G.J., Langendorg, K .W., Pieber, T., Owens, D.R. (2002). Comparison of the effects of three insulinotropic drugs on plasma insulin levels after a standard meal. *Diabetes Care* **25** (8): 1271-1276.

Cracowski, J.L. (2006). Isoprostanes as a tool to investigate oxidative stress in scleroderma spectrum disorders-advantages and limitations. *Rheumatology* (Oxford) **45** : 922-923.

D

ali-Youcef, N. (2010). Les produits de fin de glycation des protéines et leur récepteur en pathologie. *Médecine des maladies Métaboliques* **4** (6): 623-632.

Davie, S.J., Gould, B.J., Yudkin, J.S. (1992). Effect of vitamin C on glycosylation of proteins. *Diabetes* **41**: 167-173.

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

DeLeve, L.D., Kaplowitz, N. (1991). Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacol. Ther.* **52**: 287-305.

De Moffarts, B., Portier, K., Kirschvink, N., Coudert, J., Fellmann, N., Van Erck, E., Letellier, C., Motta, C., Pincemail, J., Art, T., Lekeux, P. (2007). Effects of exercise and oral antioxidant supplementation enriched in (n-3) fatty acids on blood oxidant markers and erythrocyte membrane fluidity in horses. *Vet.* **174** (1): 113-121.

Denis, U. (2002). Etude pharmacologique de la voie de signalisation impliquée dans l'apoptose des péricytes rétiens induite par les produits avancés de glycation (albumine bovine modifiée par le méthylglyoxal). Thèse de doctorat, L'institut National des Sciences Appliquées. Lyon I.

Devos, P. (2008). Effets propres de l'insuline par rapport au contrôle glycémique. *Réanimation* **2** : 8-11.

Donangelo, C.M., Chang, G.W. (1981). An enzymatic assay for available zinc in plasma and serum. *Clin. Chim. Acta.* **1130** : 201-206.

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

Duarte, T.L., Jones, G.D.D. (2007). Vitamin C modulation of H₂O₂-induced damage and iron homeostasis in human cells. *Free Radical Biology and Medicine* **43**: 1165-1175.

Dufner-Beattie, J., Kuo, Y.M., Gitschier, J., Andrews, G.K. (2004). The adaptive response to dietary zinc in mice involves the differential cellular localization and zinc regulation of the zinc transporters ZIP4 and ZIP5. *Biol. Chem.* **279**: 49082-49090.

Dunn, M.F. (2005). Zinc-ligand interactions modulate assembly and stability of the insulin hexamer -- areview. *Biometals* **18** (4): 295-303.

Dupeux, M. (2005). Aide-mémoire science des matériaux, Dunod, Paris, ISBN 2 10 005458 9.

Duzguner, V., Kaya, S. (2007). Effect of zinc on the lipid peroxidation and the antioxidant defense systems of the alloxan-induced diabetic rabbits. *Free Radical Biology and Medicine* **42**: 1481-1486.

L

Ilman, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* **82** (1): 70-77.

El-Mesery, M.E., Al-Gayyar¹, M.M., Salem, H.A., Darweish, M.M., El- Mowafy, A.M. (2009). Chemopreventive and renal protective effects for docosahexaenoic acid (DHA): implications of CRP and lipid peroxides. *Cell Division* **4**: 6.

Ersoz, G., Yakaryılmaz, A., Turan, B. (2003). Effect of sodium selenite treatment on platelet aggregation streptozotocin-induced diabetic rats. *Thrombosis Research* **111**: 363–367.

Ewis, S.A., Abdel-Rahman, M.S. (1995). Effect of metformin on glutathione and magnesium in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Applied Toxicology* **15**: 387–390.

F

aa, G., Nurchi, V.M., Ravarino, A., Fanni, D., Nemolato, S., Gerosa, C., Van

Eyken, P., Geboes, K. (2008). Zinc in gastrointestinal and liver disease. *Coordination Chemistry* **252**: 1257–1269.

Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidant, and nutrition. *Nutrition* **18** : 872-879.

Faure, P., Roussel, A., Coudray, C., Richard, M.J., Halimi, S., Favier, A. (1992). Zinc and insulin sensitivity. *Biol. Trace Elem. Res.* **32** : 305-310.

Favier, A. (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin.* **55** (1) : 9-16.

Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique* 108-115.

Favier, M., Favier, I.H. (2005). Zinc et grossesse. *Gynécologie Obstétrique and Fertilité* **33**: 253-258.

Filaire, E., Toumi, H. (2012). Rôle des dérivés réactifs de l'oxygène et de l'exercice physique sur le métabolisme osseux: amis ou ennemis ?. *rhumatisme* **79** : 387-392.

Finaud, J., Lac, G., Filaire, E. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med.* **36** : 327-358.

Fisher-Wellman, K., Bloomer, R.J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine* **8**: 1-25.

Flohe, L., Gunzler, W.A. (1984). Analysis of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* **105** : 114–121.

Fontaine, É. (2007). Radicaux libres - Stress oxydatif. *Cah. Nutr. Diét.* **42** : 2.

Forceville, X., Vitoux, D. (1999). Selenium et sepsis. *Nutr. Clin. Metab.* **13**: 177-186.

Forman, H.J., Fridovich, I. (1973). On the stability of bovine superoxide dismutase. The effects of metals. *Biol. Chem.* **248**: 2645-2649.

Furfaro, A.L., Nitti, M., Marengo, B., Domenicotti, C., Cottalasso, D., Marinari, U.M., Pronzato, M.A., Traverso, N. (2012). Impaired synthesis contributes to diabetes-induced decrease in liver glutathione. *Molecular Medicine* **29**: 899-905.

allagher, M.P., Goland, R.S., Greenbaum, C.J. (2011). Making progress: preserving beta cells in type 1 diabetes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1243** : 119-134.

Gan, L., Liu, Q., Xu, H.B., Zhu, Y.S., Yang, X.L. (2002). Effects of selenium overexposure on glutathione peroxidase and thioredoxin reductase gene expressions and activities. *Biol. Trace Elem.* **89** (2): 165-175.

Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. Thèse de Doctorat, Sciences-technologie-sante. *Grenoble*.

Gardès-Albert, M., Bonne font-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. *L'actualité chimique* 91-95.

Garg, V.K., Gupta, R., Goyal, R.K. (1994). Hypozincemia in diabetes mellitus. *Assoc. Physicians India* **42**: 720–721.

Gate, L., Paul, J., Ba, G.N., Tew, K. D., Tapiero, H. (1999). Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomed. Pharmacother.* **53**: 169-180.

Gendler, S. (1984). Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. pp: 1268-1273 and 425.

Ghosh, R., Mukherjee, B., Chatterjee, M. (1994). A novel effect of selenium on streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes Res.* **25** (4): 165-171.

Gin, H., Rigalleau, V. (1999). Diabétiques et diabète. *EMC- Endocrinology Nutrition* 10-366-R.10: 6.

Glomb, M.A., Monnier, V.M. (1995). Mechanism of protein modification by glyoxal and glycolaldehyde, reactive intermediates of the Maillard reaction. *Biol. Chem.* **270** (17): 10017-10026.

González, R.G.P., Barnett, J., Aguayo, H.M., Cheng, L.T., Chylack, J. (1984). Direct measurement of polyol pathway activity in the ocular lens. *Diabetes* **33**:196-199.

Gordon, T., Chen, L.C., Fine, J.M., Schlesinger, R.B., Su, W.Y., Kimmel, T.A., Amdur, M.O. (1992). Pulmonary effects of inhaled zinc oxide in human subjects, guinea pigs, rats, and rabbits. *Am. Ind. Hyg. Assoc.* **53**: 503-509.

Goto, M., Ueda, K., Hashimoto, T., Fujiwara, S., Matsuyama, K., Kometani, T., Kanazaw, K. (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine* **45**: 1318-1325.

Grefley, S., Sandstead, H. (1993). Oxidation of alanine and Bhydroxybutyrate in late gestation by zinc restricted in rats. *Nutr.* **113** :1803-1810.

Grimaldi, A. (2004). Diabète de type 2: Guide à l'usage des patients et de leur entourage. Bash, éditions médicales. p :199.

Guermaz, R., Zekri, S., Hatri, A., Kessal, F., Brouni, M. (2008). Le diabète de type 2 en Algérie : poids actuel et à venir. *Medecine Interne* **29** (1) : 49-50.

Guillausseau, P.J, Meas, T., Virally, M., Laloi-Michelin, M., Ambonville, C., Kevorkian, J.P. (2008). Insulinosécrétion et diabète de type 2, *Médecine des maladies Métaboliques* **1** : s21-s24.

Guillet, C., (2010). Implication des produits terminaux de glycation dans les complications liées au diabète. *Nutrition clinique et métabolisme* **24** : 109-114.

H

ase, H., Maret, W. (2005). Protein tyrosine phosphatases as targets of the combined insulinomimetic effects of zinc and oxidants. *Biometals* **18**: 333-338.

Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. (1974). Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Biol. Chem.* **249** (22): 7130-7139.

Halimi, S. (1994). Traitement du diabète 2. L'insulinothérapie, *Grenoble*. Site web: <http://www-sante.ujf-grenoble.fr/SANTE/alfediam/Traitement/ttt-insuline-2.html>.

Hall, A.G., Kelleher, S.L., Lonnerdal, B., Philipps, A.F. (2005). A graded model of dietary zinc deficiency: effects on growth, insulin-like growth factor-I, and the glucose/insulin axis in weanling rats. *Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **4**: 72-80.

Halliwell, B., Gutteridge, J. (2007). Free radicals in biology and medicine. 4th edn. New York: Oxford Univ. Press Inc. p: 187.

Hannan, J.M., Ali, I., Rokeya, B., Khaleque, J., Khater, M., Flatt, P.R., Abdel Wahab, H.A. (2007). Soluble dietary fiber fraction of fenugreek seed improve glucose homeostasis in animal models of type 1 and type 2 diabetes by delaying carbohydrate digestion and absorption, and enhancing insulin action. *Br. J. Nutr.* **97**: 514-521.

Hayes, J.D., Pulford, D.J. (1995). The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Biochemistry and Molecular Biology* **30**: 445-600.

Hempel, N., Ye, H., Abessi, B., Mian, B., Melendez, J.Á. (2009). Altered redox status accompanies progression to metastatic human bladder cancer. *Free Radical Biology and Medicine* **46**: 42-50.

Hendricks, D.G., Mahoney, A.W. (1972). Glucose tolerance in zinc-deficient rats. *Nutr.* **102**: 1079-1084.

Henquin, J.C. (2005). Le traitement pharmacologique du diabète de type 2 : Mode d'action des médicaments d'aujourd'hui et demain. *Louvain Médical*. 124: 39-46.

Hirano, T., Murakami, M., Fukada, T., Nishida, K., Yamasaki, S., Suzuki, T. (2008). Roles of zinc and zinc signaling in immunity: zinc as an intracellular signaling molecule. *Adv. Immunol.* **97C**: 149-176.

Ho, B., Courtemanche, C., Ames, B.N. (2003). Zinc deficiency induces oxidative DNA damages and increases p53 expression in human lung fibroblasts. *Nutr.* **133**: 2543-2546.

Holden, N. E. (1994). Table of the Isotopes. In CRC Handbook of Chemistry and Physics, 74th edition, Lide, D. R. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, U.S.A. pp: 11-46 and 11-47.

Huber, A.M., Gershoff, S.N. (1970). Effect of dietary zinc and calcium on the retention and distribution of zinc in rats fed semi-purified diets. *Nutr.* **100**: 949-954.

Huber, A.M., Gershoff, S.N. (1973). Effect of zinc deficiency in rats on insulin release from the pancreas. *Nutr.* **103**: 1739-1744.

Hunt, J.V., Wolff, S.P. (1991). Oxidative glycation and free radical production: a causal mechanism of diabetic complications. *Free Radic. Res. Commun.* **12** (Pt1): 115-123.

Jbs, K.H., Rink, L. (2003). Zinc-altered immune function. *Nutr.* **133**:1452S-1456S.

Imoberdorf, R., Rühlin, M., Ballmer, P.E. (2010). Zinc – un oligoélément vital à grand potentiel. *Forum Med. Suisse* **10** (44): 764–768.

International Diabetes Federation. (2006). The Diabetes Atlas. Third Edition.

Lariyapongskul, A., Rungjaroen, T., Kasetsuwan, N., Patumraj, S., Seki, J., Niimi,

H. (2007). Long-term effects of oral vitamin C supplementation on the endothelial dysfunction in the iris microvessels of diabetic rats. *Microvasc. Res.* **74** (1): 32-38.

Jia, J., Zhang, X., Hua, Y.S., Wua, Y., Wang, Q.Z., Li, N.N., Guo, Q.C., Dong, X.C.

(2009). Evaluation of in vivo antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats. *Food Chemistry* **115** (1): 32-36.

Jollow, D.J., Mitchell, J.R., Zampaglione, Z., Gillette, J.R. (1974). Bromobenzene induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3, 4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolites. *Pharmacology* **11** (3): 151–159.

Kabu, K., Yamasaki, S., Kamimura, D., Ito, Y., Hasegawa, A., Sato, E.,

Kitamura, H., Nishida, K., Hirano, T. (2006). Zinc is required for Fc epsilon RI-mediated mast cell activation. *Immunol.* **177**: 1296-1305.

Kaplan, L.A et al. (1984). Bilirubin. Clin. Chem. 1238-1241. 436 and 650.

Kaplan, L.A et al. (1984). Lipids. Clin. Chem. 918-919.

Kaplan, L.A. (1984). Urea. Clin. Chem. 1257-1260 and 437-418.

Kasarskis, E.J. (1980). Serum alkaline phosphatase after treatment of zinc in adolescent femal. *Am. Clin. Nutr.* **39** : 446-451.

Kebieche M, (2009). Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de doctorat, Sciences de la Nature et de la Vie. *Constantine*.

Kechrid, Z., Amamra, S., Bouzerna, N. (2006). The effect of zinc deficiency on zinc status, carbohydrate metabolism and progesterone level in pregnant rats. *Turk. Med. Sci.* **36**: 337–342.

Kechrid, Z., Bouzerna, N., Zio, M.S. (2001). Effect of low zinc diet on ⁶⁵Zn turnover in non-insulin dependent diabetic mice. *Diabetes Metab.* **27**: 580-583.

Kechrid, Z., Bouzerna, N. (2004). Effect of zinc deficiency and experimental diabetes on glutamate oxaloacetate, glutamate pyruvate aminotransferases and alkaline phosphatase activities in rats. *Int. Diab. Metab.* **11**: 14-18.

Kechrid, Z., Derai, E.H., Layachi, N. (2007). The beneficial effect of vitamin E supplementation on zinc status, carbohydrate metabolism, transaminases and alkaline phosphatase activities in alloxan-diabetic rats fed on zinc deficiency diet. *Int. Diab. Metab.* **15**: 46-50.

Kechrid, Z., Hamdi, M., Nazıroğlu, M., Flores-Arce, M. (2012). Vitamin D supplementation modulates blood and tissue zinc, liver glutathione and blood biochemical parameters in diabetic rats fed on a zinc-deficient diet. *Biol. Trace Elem. Res.* **148**: 371–377.

Kehrer, J.P. (2000). The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* **149**: 43–50.

Kelly, F. (1998). Use of antioxidants in the prevention and treatment of disease. *Int. Fed. Clin. Chem.* **10**: 21–23.

Kim, S.K., Cuzzort, L.M, Mc Keam, R.K. (1992). Amylase mRNA synthesis and ageing in rat parotid glands following isoproterenol-stimulated secretion. *Arch. Oral Biol.* **37**: 349-354.

King, G.L., Brownlee, M. (1996). The cellular and molecular mechanisms of diabetic complications. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* **25** (2): 255-270.

King, L.E., Osati-Ashtiani, F., Fraker, P.J. (2002). Apoptosis plays a distinct role in the loss of precursor lymphocytes during zinc deficiency in mice. *Nutr.* **132**: 974-979.

Kirschvink, N., De Moffarts, B., Lekeux, P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary* **177**: 178–191.

Klotz, L.O., Kroncke, K.D., Buchczyk, D.P., Sies, H. (2003). Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. *Nutr.* **133** (5 Suppl 1): 1448-1451.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* **20** (4) :165-177.

Kolenko, V.M., Uzzo, R.G., Dulin, N., Hauzman, E., Bukowski, R., Finke, J.H. (2001). Mechanism of apoptosis induced by zinc deficiency in peripheral blood T lymphocytes. *Apoptosis* **6**: 419-429.

Kolm-Litty, V., Sauer, U., Nerlich, A., Lehmann, R., Schleicher, E.D. (1998). High glucose induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *Clin. Invest.* **101**:160- 169.

Konopacka, M. (2004). Role of vitamin C in oxidative DNA damage. *Postepy Higieny i. Medycyny Doswiadczalnej* **58**: 343-348.

Koolman, J., Rohm, K.H. (1999). Atlas de Poche de Biochimie. *Flammarion*: Paris. p : 462.

Koukay, N., Laporte, F., Favier, A. (1987). Zinc et radicaux libres (étude in vitro). In : Le zinc en médecine et biologie. Favier, A., Arnaud, J., Faure, H. eds. Paris: Editions Médicales Internationales. pp :64-68.

Kumari, D., Nair, N., Bedwal, R.S. (2011). Effect of dietary zinc deficiency on testes of Wistar rats: Morphometric and cell quantification studies. *Trace Elements in Medicine and Biology* **25**: 47–53.

Lamprecht, M., Greilberger, J., Oettl, K. (2004). Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. *Nutrition* **20** (7-8): 728-730.

Lansdown, A.B. (1991). Interspecies variations in response to topical application of selected zinc compounds. *Food Chem. Toxicol.* **29**: 57-64.

Lapenna, D., Ciofani, G., Cuccurullo, C., Pierdomenico, S.D., Cuccurullo, F. (2012). Ascorbic acid supplementation reduces oxidative stress and platelet biochemical function in type 2 diabetic patients. Relevance of ascorbic acid dosage and formulation. *e-SPEN*. **7** : e245-e248.

Lechartier, G., Bellamy, F. (1877). Sur la présence du zinc dans le corps des animaux et dans les végétaux. *CR. Acad. Sci. Pris.* **84**: 687-690.

Lecompte, S. (2012). Etude du rôle du gène PROX1 dans le diabète de type 2. Thèse de doctorat, Sciences de la Vie et de la Santé. *Lille 2*.

Lee, S.L., Kwak, E.H., Kim, Y.H., Choi, J.Y., Kwon, S.T., Beattie, J.H., Kwun I.S. (2003). Leptin gene expression and serum leptin levels in zinc deficiency: implications for appetite regulation in rats. *Med. Food* **6** (4): 281-289.

Lei, X.G. (2002). In vivo antioxidant role of glutathione peroxidase: evidence from knockout mice. *Methods Enzymol.* **347**: 213-225.

Lemerini, W. (2006). Contribution à l'étude des paramètres cinétiques de l'ascorbate oxydase de courgette verte (*Cucurbita pepo medullosa*). Ebauche d'un capteur optique pour le dosage de l'acide ascorbique. Thèse de doctorat, Sciences. *Tlemcen*.

Levin, G., Cogan, U., Mokady, S. (1992). Food restriction and membrane fluidity. *Mech. Ageing Dev.* **62**: 137-141.

Li, N., Gao, Z., Luo, D., Tang, X., Chen, D., Hu, Y. (2007). Selenium level in the environment and the population of Zhoukoudian area, Beijing, China. *Sci. Total Environ.* **381**: 105-111.

Li, Y., Schellhorn, H.E. (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *Nutr.* **37**: 2171-2184.

Liu, Z.W., Zhu, H.T., Chen, K.L., Qiu, C., Tang, K.F., Niu, X.L. (2013). Selenium attenuates high glucose-induced ROS/TLR-4 involved apoptosis of rat cardiomyocyte. *Biol. Trace Elem. Res.* **156** (1-3): 262-270.

Lyn Patrick, N.D. (2006). Lead Toxicity Part II: The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Altern. Med.* **11** (2): 114-127.



Mac Laren, D. (2007). Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier.

- Majumdar, A., Dubick, M.A. (1991). Gastrin affects enzymes activity and gene expression in the aging rat pancreas. *Exp. Gerontol.* **26** : 57-64.
- Malardé, L. (2012). Activité physique et produits dérivés du soja : intérêts dans la prise en charge du stress oxydant associé au diabète de type 1. Thèse de doctorat, Sciences Humaines et Sociales. *L'Université européenne de Bretagne*.
- Manal, A. H. (2006). Effect of vitamin C on serum protein profile in mice after aluminumsulphate intoxication. *Pol. Food Nutr. Sci.* **15/56** (2): 339-348.
- Maret, W. (1995). Metallothionein/disulfide interactions, oxidative stress, and the mobilization of cellular zinc. *Neurochem. Int.* **27**: 111-117.
- Maret, W. (2003). Cellular zinc and redox states converge in the metallothionein/thionein pair. *Nutr.* **133** (5 Suppl 1): 1460s–1462s.
- Maret, W., Sandstead, H.H. (2006). Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *Trace Elements in Medicine and Biology* **20**: 3-18.
- Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B. (2003). Effects of alipoic acid on biomarkers of oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **14**: 288-294.
- Martin, A. (2001). CNERNA-CNRS. In: Les apports nutritionnels conseillés pour la population française. 3^{ème} édition: Tec et Doc Lavoisier. Paris. pp : 168-70.
- Masella, R., Di, B.R., Vari, R., Filesi, C., Giovannini C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Nutr. Biochem.* **16** : 577-586.
- Massart, A. (2011). Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo. Thèse de doctorat, Sciences et Technologies. *Orléans*.
- McKenzie, R.C., Arthur, J.R., Beckett, G.J. (2002). Selenium and the regulation of cell signaling, growth, and survival: molecular and mechanistic aspects. *Antioxid. Redox Signal.* **4** (2): 339-351.
- McLetchie, N.G.B. (2002). Alloxan diabetes: A discovery, albeit a minor one. *R. Coll. Physicians Edinb.* **32**: 134-142.
- Mercan, D. (2010). Le stress oxydatif. A.R.L., Lausanne.
- Merrells, K.J., Blewett, H., Jaamieson, J.A., Taylor, C.G., Suh, M. (2009). Relationship between abnormal sperm physiology induced by dietary zinc deficiency and lipid composition in testes of growing rats. *Br. Nutr.* **102**: 226-232.

Miao, X., Sun, W., Miao, L., Fu, Y., Wang, Y., Su, G., Liu, Q. (2013). Zinc and Diabetic Retinopathy. *Diabetes Research* **42**: 1-8.

Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Drai, J. (2008). The role of P. Biomarkers of lipid peroxidation : analytical aspects. *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. **66**: 605-620.

Miller, E.R., Luecke, R.W., Ullrey, D.E., Baltzer, B.V., Bradley, B.L., Hoefer, J.A. (1968). Biochemical, skeletal and allometric changes due to zinc deficiency in the baby pig. *Nutrition* **95**: 278-286.

Miyamoto, Y., Koh, Y.H., Park, Y.S., Fujiwara, N., Sakiyama, H., Misonou, Y., Ookawara, T., Suzuki, K., Honke, K., Taniguchi, N. (2003). Oxidative stress caused by inactivation of glutathione peroxidase and adaptive responses. *Biol. Chem.* **384**: 567-574.

Moller, N., Nair, K.S. (2008). Diabetes and protein metabolism. *Diabetes Res.* **57**:3-4.

Moore, J.B., Blanchard, R.K., McCormack, W.T., Cousins, R.J. (2001). cDNA array analysis identifies thymic LCK as upregulated in moderate murine zinc deficiency before T-lymphocyte population changes. *Nutr.* **131**: 3189-3196.

Mukherjee, B., Anbazhagan, S., Roy, A., Ghosh, R., Chatterjee, M. (1998). Novel implications of the potential role of selenium on antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **52** (2): 89-95.

Murray, R. (1984). Alanine aminotransferase. Kaplan A et al .Clin chem. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton . pp :1088-1090.

Murray, R. (1984). Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al .Clin chem. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. pp:1112-1116.

Murray, R.L. (1984). Creatinine. Clin. Chem.1261-1266 and 418.



Naito, H.K. (1984). Cholesterol. Clin. chem. 1194-11206 and 437.

Neldner, K.H., Hambidge, K.M., Walravens, P.A. (1978). Acrodermatitis enteropathica. *Int. Dermatol.* **17**: 380-387.

Ntimbane, T. (2009). Importance du stress oxydant dans le diabète secondaire à la fibrose kystique. Thèse de doctorat, Faculté de Médecine. *Montréal*.



'Dell, B., Reeves, P. (1982). The effect of zinc deficiency on glucose metabolism in meal-fed rats. *Brit. Nutr.* **49**: 441-452.

Ognjanovic, B.I., Markovic, S.D., Pavlovic, S.Z., Zikic, R.V., Stajn, A.S., Saicic, Z.S. (2008). Effect of chronic cadmium exposure on antioxidant defense system in some tissues of rats: protective effect of selenium. *Physiol. Res.* **57** (3): 403-411.

Oian, M., Liu, M., Eaton, J.W. (1998). Transition metals bind to glycated protein forming redox active glycochelates implications for the pathogenesis of certain diabetic complications. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **256**: 385-389.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2011). Journée mondiale du diabète. Centre des médias.

Ortega, R.M., Quintas, M.E., Andre's, P., Martínez, R.M., López-Sobaler, A.M., Requejo, A.M. (1999). Zinc status of a group of pregnant Spanish women: effects on anthropometric data and Apgar score of neonates. *Nutr. Res.* **19** (9):1423-1428.

Osuna, O., Edds, G.T., Blakespoor, H.D. (1977). Toxic effect of aflatoxin B1 in male Holstein calves with prior infection by flukes (*Fasciola hepatica*). *Am. Vet. Res.* **38**: 341-349.

Oteiza, P.L., Olin, K.L., Fraga, C.G., Keen, C.L. (1996). Oxidant defense systems in testes from zinc-deficient rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **213** (1):85-91.

Owu, D.U., Antai, A.B., Udofia, K.H., Obembe, A.O., Obasi, K.O., Eteng, M.U. (2006). Vitamin C improves basal metabolic rate and lipid profile in alloxan-induced diabetes mellitus in rats. *Biosci.* **31**: 575-579.



Pathak, A., Sharma, V., Kumar, S., Dhawan, D.K. (2011). Supplementation of zinc mitigates the altered uptake and turnover of ⁶⁵Zn in liver and whole body of diabetic rats. *Biometals* **24** (6): 1027-1034.

Patricia, I.O., Wtherine, L.O., Cesar, C.F., Carl, L.K. (1995). Zinc deficiency causes oxidative damage to protein, lipids and DNA in rats testes. *Nutr.* **125**: 823-829.

Pesce, A. (1984). Lactate dehydrogenase. *Clin. Chem.* 1117-1124, 438.

Pignocchi, C., Fletcher, J., Wilkinson, J., Barnes, J., Foyer, C. (2003). The function of ascorbate oxidase in tobacco. *Plant Physiology* **132**: 1631-1641.

Références Bibliographiques

Pirot, P., Cardozo, A.K., Eizirik, D.L. (2008). Mediators and mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 diabetes. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* **52** (2): 156-165.

Ploysangam, A., Falciglia, G.A., Brehm, B.J. (1997). Effect of marginal zinc deficiency on human growth and development. *Trop. Pediatr.* **43**: 192-197.

Powell, S.R. (2000). The antioxidant properties of zinc. *Nutr.* **130**: 1447S-1454S.

Powers, S.K., Smuder, A.J., Kavazis, A.N., Hudson, M.B. (2010). Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *Sport Nutrition and Exercise Metabolism* **20**: 2-14.

Prangthip, P., Surasiang, R., Charoensiri, R., Leardkamolkarn, V., Komindr, S., Yamborisut, U., Vanavichit, A., Kongkachuichai, R. (2012). Amelioration of hyperglycemia, hyperlipidemia, oxidative stress and inflammation in streptozotocin-induced diabetic rats fed a high fat diet by riceberry supplement. *Functional Foods* **5** (1): 195-203.

Prasad, A.S. (1993). Zinc and gene expression. In: Prasad AS. *Biochemistry of Zinc*. Plenum Press, New York. pp: 55-76.

Prasad, A.S. (2000). Effects of Zinc deficiency on immune functions. *Trace Elem. Exp. Med.* **13**: 1-20.

Prasad, A.S. (2008). Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidant roles of zinc. *Experimental Gerontology* **43**: 370-377.

Prasad, A.S., Bao, B., Beck, F.W., Kucuk, O., Sarkar, F.H. (2004). Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radic. Biol. Med.* **37**: 1182-1190.

Prasad, A.S., Halsted, J.A., Nadimi, M. (1961). Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am. Med.* **31**: 532-546.

Prost, A.L., Bloc, A., Hussy, N., Derand, R., Vivaudou, M. (2004). Zinc is both an intracellular and extracellular regulator of KATP channel function. *Physiol.* **559**: 157-167.

Quarterman, J., Mills, C.F., Humphries, W.R. (1966). The reduced secretion of, and sensitivity to insulin in zinc-deficient rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **25** (3) : 354-358.



Raccah, D. (2004). Épidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie* **1**: 29-42.

Radak, Z., Chung, H.Y., Goto, S. (2008). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology Medicine* **44**: 153-159.

Rajasekaran, S., Sivagnanam, K., Subramanian, S. (2005). Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin induced diabetic rats. *Pharmacological Reports* **57** : 90-96.

Rakotovo, A. (2009). Sélénium et cardiopathies ischémiques: effets d'une supplémentation nutritionnelle chez le rat. Thèse de doctorat, Chimie et Sciences du Vivant. *Grenoble*.

Ramachandran, V., Saravanan, R. (2013). Asiatic acid prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Functional Foods* **5**: 1077-1087.

Rani, P., Unni, K., Karthikeyan, J. (2004). Evaluation of antioxidant properties of berries. *Indian Clinical Biochemistry* **19** (2): 103-110.

Raoult, F., Breton, M. (1877). Sur la présence ordinaire du cuivre et du zinc dans le corps de l'homme. *CR. Acad. Sci. Pris.* **85** : 40-42.

Raulin, J. (1869). Etudes chimiques sur la végétation. *Ann. Sci. Natle. Bot. Biol. Végèt.* **11** : 93-299.

Reddi, A.S., Bollineni, J.S. (2001). Selenium-deficient diet induces renal oxidative stress and injury via TGF-beta1 in normal and diabetic rats. *Kidney International* **59** (4):1342-1353.

Reiterer, G., MacDonald, R., Browning, J.D., Morrow, J., Matveev, S.V., Daugherty, A., Smart, E., Toborek, M., Hennig, B. (2005). Zinc deficiency increases plasma lipids and atherosclerotic markers in LDL-receptor-deficient mice. *Nutr.* **135** (9): 2114-2118.

Revy, P.S., Jondreville, C., Dourmad, J.Y., Nys, Y. (2003). Le zinc dans l'alimentation du porc. *INRA. Prod. Anim.* **16** : 3-18.

Rigalleau, V., Lang, J., Gin, H. (2007). Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. *Endocrinologie-Nutrition* 10-366-D-10. Doi:10.1016/S1155-1941(07)46586-6.

Rodier, M. (2001). Le diabète de type 1. *Médecine Nucléaire – Imagerie fonctionnelle et métabolique* **25** (2): 95-101.

Rosado, J.L. (1998). Zinc deficiency and its functional implications. *Salud. Publica. Mex.* **40**: 181.

Rosalki, S., et al. (1993). *Clin. Chem.* **39** (4): 648-652.

Roussel, A.M., Hininger-Favier, I. (2009). Éléments-trace essentiels en nutrition humaine : chrome, sélénium, zinc et fer. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). *Endocrinologie-Nutrition* 10-359-B-10.

Russell, P.J., Williams, A., Austin, T.A. (2000). Inhibition of rabbit muscle isozymes by vitamin C. *Enzym. Inhib.* **15**: 283-296.

Rutter, G.A. (2004). Visualising insulin secretion. *The Minkowski lecture. Diabetologia* **47**: 1861-1872.

adi, G., Yilmaz, Ö., Güray, T. (2008). Effect of vitamin C and lipoic acid on streptozotocin-induced diabetes gene expression: mRNA and protein expressions of Cu-Zn SOD and catalase. *Mol. Cell Biochem.* **309**: 109-116.

Saeed, T., Hassan, I., Jilani, G., Abbasi, N. A. (2013). Zinc augments the growth and floral attributes of gladiolus, and alleviates oxidative stress in cut flowers. *Scientia Horticulturae* **164**: 124–129.

Saha, S.k., Haque, E., Islam, D., Matiar, R., Islam, R., Parvin, A., Rahman, S. (2012). Comparative study between the effect of Momordica charantia (wild and hybrid variety) on hypoglycemic and hypolipidemic activity of alloxan induced type 2 diabetic long-evans rats. *Diabetes Mellitus* **2** (1): 131-137.

Saito, Y., Takahashi, K. (2002). Characterization of selenoprotein P as a selenium supply protein. *Eur. Biochem.* **269** (22): 5746-5751.

Salgueiro, M.J., Zubillaga, M., Lysionek, A., Sarabia, M.I., Care, R., De Paoli, T., Hager, A., Weill, R., Boccio, J. (2000). Zinc as an essential micro nutrient: A REVIEW. *Nutrition Research* **20** (5): 737-755.

Samsonov. (1973). The oxide handbook edited by G V. 1st edition. Plenum Press, New York. p: 183.

Sandstead, H.H., Frederickson, C.J., Penland, J.G. (2000). History of zinc as related to brain function. *Nutr.* **130** (2S Suppl): 496s-502s.

- Sarada, S.K.S., Sairam, M., Dipti, P., Anju, B., Pauline, T., Kain, A.K., Sharma, S.K., Bagawat, S., Ilavazhagan, G., Kumar, D. (2002). Role of selenium in reducing hypoxia-induced oxidative stress: an in vivo study. *Biomed Pharmacother.* **56**: 173-178.
- Saudek, C.D., Herman, W.H., Sacks, D.B, Bergenstal, R.M., Edelman, D., Davidson, M.B. (2008). A new look at screening and diagnosing diabetes mellitus. *Clin. Endocrinol. Metab.* **93**: 2447-2453.
- Sayed, A.A. (2012). Ferulsinaic acid modulates SOD, GSH, and antioxidant enzymes in diabetic kidney. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **58**: 01-04.
- Sayre, L.M., Moreira, P.I., Smith, M.A., Perry, G. (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann. Ist. Super. Sanità.* **41** (2):143-164.
- Sayre, L.M, Perry, G., Smith, M.A. (2008). Oxidative stress and neurotoxicity. *Chem. Res. Toxicol.* **21** (1): 172-188.
- Schauder, P., Schroder, K., Matthaei, D., Henning, H.V., Langenbeck, U. (1983). Influence of insulin on blood levels of branched chain keto and amino acids in man. *Metabolism* **32** (4) : 323-327.
- Schlegel, P. (2010). Facteurs de variation de la biodisponibilité du zinc, ajouté sous forme organique ou inorganique, chez deux espèces monogastriques en croissance (poulet et porcelet). Thèse de Doctorat, Agro Paris Tech. Paris.
- Schleicher, E.D., Weigert, C. (2000). Role of the hexosamine biosynthetic pathway in diabetic nephropathy. *Kidney Int. Suppl.* **77**: S13-S18.
- Schneider, C.D., Oliveira, A.R. (2004). Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. *Rev. Bras. Med.* **10**: 314-318.
- Schomburg, L., Schweizer, U., Kohrle, J. (2004). Selenium and selenoproteins in mammals: extraordinary, essential, enigmatic. *Cellular Mol. Life Sci.* **61** (16): 1988-1995.
- Schultz, A. (1984). Uric acid. *Clin. Chem.* 1261-1266 and 418.
- Scott, D.A. (1934). Crystalline insulin. *Biochem.* **28** : 1592-1602.
- Seve, M., favier, A. (2002). Métabolisme de zinc. *Encycl. Méd. Chir. (éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, paris, tous droits réservés).* *Endocrinologie-nutrition.* 10-359-D-10, 16.
- Shahidul, M.I., Loots, D.T. (2007). Diabetes, metallothionein and zinc interactions: a review. *Biofactors* **29**: 203-212.

Shakoori, A.R., Butt, U., Riffat, R., Aziz, F. (1994). Hematological and biochemical effects of danitol administered for two months on the blood and liver of rabbits. *Zeitschrift fuer Angewandte Zoologie* **80**: 165-180.

Sharma, S.B., Balomajumder, C., Roy, P. (2008). Hypoglycemic and hypolipidemic effect of flavonoide rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetics rats. *Food and Chemical Toxicology* **46**: 2376-2383.

Shay, N.F., Mangian, H.F. (2000). Neurobiology of zinc-influenced eating behavior. *Nutr.* **130**: 1493S-1499S.

Sheng, X.Q., Huang, K.X., Xu, H.B. (2005). Influence of alloxan-induced diabetes and selenite treatment on blood glucose and glutathione levels in mice. *Trace Elem. Med. Biol.* **18** (3): 261-267.

Shils, M.E., Shike, M., Ross, A.C., Caballero, B., Cousins, R.J. (2006). Modern Nutrition in Health and Disease. Tenth Edition. Lippincott Williams & Wilkins. p: 582.

Sindhu, R.K., Koo, J.R., Roberts, C.K., Vaziri, N.D. (2004). Dysregulation of hepatic SOD, CAT and GSH-Px in diabetes: response to insulin and antioxidant therapy. *Clin. Exp. Hypertens.* **26**: 43-53.

Singh, J., Kakkar, P. (2009). Antihyperglycemic and antioxidant effect of *Berberis aristata* root extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. *Ethnopharmacol.* 123(1): 22-6 doi:10.1016/j.jep.02.038.

Skelin, M., Rupnik, M., Cencic, A. (2010). Pancreatic beta cell lines and their applications in diabetes mellitus research. *ALTEX* **27**: 105-113.

Smirnoff, N., Pallanca, J. (1996). Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochemical Society Transactions* **24**: 472-478.

Song, H.D., Hu, R.M., Peng, Y., Huang, Q.H et al. (2000). Study on the gene expression profiling in the normal human pituitary. *Chin. Endocrinol. Metab.* **16**: 292-296.

Southon, S., Gee, J., Johnson, I.T. (1984). Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. *Brit. Nutr.* **58**: 371-380.

Southon, S., Kechrid, Z., Wright, A.J.A., Fairweather-Tait, S. (1988). Effect of reduced dietary zinc intake on carbohydrate and zinc metabolism in the genetically diabetic mouse (C57BL/KsJ db+/db+). *Brit. Nutr.* **60** (3): 499-507.

Spiteller, G. (2006). Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radical Biology Medicine* **41** (3): 362-387.

Stapleton, S.R. (2000). Selenium: an insulin mimetic. *Cell Mol. Life Sci.* **57** (13-14): 1874-1879.

Stumvoll, M., Goldstein, B.J., Van Haeften, T.W. (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet* **365**: 1333–1346.

Sun, J.Y., Jing, M.Y., Wang, J.F et al. (2005). Effect of zinc on biochemical parameters and changes in related gene expression assessed by cDNA microarrays in pituitary of growing rats. *Nutrition* **22**: 187-196.

Swinkels, J.W.G.M., Kornegay, E.T., Zhou, W., Lindemann, M.D., Webb, K.E. Verstegen, M.W.A. (1996). Effectiveness of a zinc amino acid chelate and zinc sulfate in restoring serum and soft tissue zinc concentrations when fed to zinc depleted pigs. *Animal Science* **74**: 2420-2430.

Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* **50** (6): 537-546.

T

apiro, H., Tew, K.D. (2003). Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed. Pharmacother.* **57** (9): 399- 411.

Tayibeh, G., Mohammad, N., Ebrahim, I., Mohammad-Reza, R. (2011). Effect of vitamin E and selenium supplement on paraoxonase-1 activity, oxidized low density lipoprotein and antioxidant defense in diabetic rats. *BioImpacts* **1** (2): 121-128.

Taylor, C.G. (2005). Zinc, the pancreas and diabetes; insights from rodent studies and future directions. *Biometals* **18**: 305-312.

Todd, W.R., Elvelyem, C.A., Hart, E.B. (1934). Zinc nutrition in the rat. *Am. Physiol.* **107**: 146-156.

Toma, A., Makonnen. E., Yimer, G. (2013). Role of zinc in diabetes mellitus, oxidative stress and other human healthy: a review article. *American Research Communication* **1**(11): 411-426.

Tomat, A.L., Veiras Miss, L.C., Aguirre Miss, S., Fasoli, H., Elesgaray, R., Caniffi Miss, C., Costa, M.A., Arranz, C.T. (2013). Mild zinc deficiency in male and female rats: Early postnatal alterations in renal nitric oxide system and morphology. *Nutrition* **29**: 568-573.

Traber, M.G., Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology Medicine* **43**: 4-15.

Trinder, P. (1996). *Ann. Clin. biochem.* **6**: 24-33.

U

chiyama, S., Yamaguchi, M. (2003). Alteration in serum and bone component findings induced in streptozotocin-diabetic rats is restored by zinc acexamate. *Int. Mol. Med.* **12**: 949-954.

Ukperoro, J. U., Offiah, N., Idris, T., Awogoke, D. (2010). Antioxidant effect of zinc, selenium and their combination on the liver and kidney of alloxan-induced diabetes in rats. *Mediterr. Nutr. Metab.* **3**: 25–30.

V

aldiguié P. (2000). Biochimie Clinique. Edition Médicales internationales (2^{ème} édition). Paris. p: 340.

Vallee, B.L. (1959). Biochemistry, physiology and pathology of zinc. *Physiol. Rev.* **39**: 443-490.

Van Helden, Y.G.J., Keijer, J., Knaapen, A.M., Heil, S.G., Briedé, J.J., van Schooten, F.J., Godschalk, R.W.L. (2009). β -Carotene metabolites enhance inflammation-induced oxidative DNA damage in lung epithelial cells. *Free Radical Biology Medicine* **46**: 299-304.

Velasco, J., Marmesat, S., Marquez-Ruiz, G., Dobarganes, M.C. (2004). Formation of short-chain glycerol-bound oxidation products and oxidised monomeric triacylglycerols during deep-frying and occurrence in used frying fats. *Eur. Lipid Sci. Technol.* **106** (11): 728-735.

Vialette, R. (2006). Les analogues de l'insuline. John Libbey Eurotext, Paris.

Vidović, B., Dorđević, B., Milovanović, S., Škrivanj, S., Pavlović, Z., Stefanović, A., Kotur-Stevuljević, J. (2013). Selenium, Zinc, and Copper Plasma Levels in Patients with Schizophrenia: Relationship with Metabolic Risk Factors. *Biol. Trace Elem. Res.* **156** (1-3): 22-28.

Villacorta, L., Azzi, A., Zingg, J.M. (2007). Regulatory role of vitamins E and C on extracellular matrix components of the vascular system. *Mol. Aspects Med.* **28** : 507-537.

Vivot, K. (2012). Identification des mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine de la perte précoce des ilots pancréatiques au cours de la transplantation. Thèse de doctorat, Centre Européen d'étude de Diabète. *Strasbourg*.

W

ang, H.J., Pan, Y.X., Wang, W.Z., Zucker, I.H., Wang, W. (2009). NADPH

Oxidase- Derived Reactive Oxygen Species in Skeletal Muscle Modulates the Exercise Pressor Reflex. *Appl. Physiol.* **107** (2): 450-459.

Wassmann, S., Wassmann, K., Nickenig, G. (2004). Modulation of oxidant antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension* **44**: 381-386.

Weismann, K., Hoyer, H. (1982). Zinc deficiency dermatoses. *Etiology clinical aspects and treatment Hautarzt.* **33**: 405-410.

Wells-Knecht, K.J., Zyzak, D.V., Litchfield, J.E., Thorpe, S.R., Baynes, J.W. (1995). Mechanism of autoxidative glycosylation: identification of glyoxal and arabinose as intermediates in the autoxidative modification of proteins by glucose. *Biochemistry* **34** (11): 3702-3709.

Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* **27** (5): 1047-1053.

Williams, A.R and Mills, C.E. (1970). The experimental production of zinc deficiency in the rats. *Brit. Nutr.* **24**: 989-1003.

Williams, G., Cai, X.J., Elliott, J.C., Harold, J.A. (2004). Anabolic neuropeptides. *Physiol. Behav.* **81**: 211-222.

Wolff, S.P. (1991). Is hyperglycemia risky enough to justify the increased risk of hypoglycemia linked with tight diabetes control?. *Biochem. Med. Metab. Biol.* **46** (2):129-139.

X

Xia, P., Inoguchi, T., Kern, T.S., Engerman, R.L., Oates, P.J., King, G.L.

(1994). Characterization of the mechanism for the chronic activation of diacylglycerol-protein kinase C pathway in diabetes and hypergalactosemia. *Diabetes* **43** (9): 1122 - 1129.

Y

Yaghmaei, P., Esfahani-Nejad, H., Ahmadi, R., Hayati-Roodbari, N., Ebrahim-

Habibi, A. (2013). Maternal zinc intake of Wistar rats has a protective effect in the alloxan-induced diabetic offspring. *Physiol. Biochem.* **69**: 35-43.

Yan, H., Harding, J.J. (1997). Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase. *Biochem.* **328** (Pt 2): 599-605.

Yanyan, Z., Suzhen, Z., Xuepeng, W., Chunyang, W., Fuchang, L. (2011). The effect of dietary selenium levels on growth performance, antioxidant capacity and glutathione peroxidase 1 (GSHPx1) mRNA expression in growing meat rabbits. *Animal Feed Science and Technology* **169**: 259-264.

Yin, L. L., Zhang, Y., Guo, D. M., Ann K., Yin, M. S., Cui, X. Effects of Zinc on Interleukins and Antioxidant Enzyme Values in Psoriasis-Induced Mice. *Biol. Trace Elem. Res.* **155**: 411–415.

Ying Foo A et al., (1998). Amylase measurement with 2-chloro-4 nitrophenyl maltotrioxide as substrate. *Clin. Chim.* **272**: 137-147.

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**: 223-234.

Z

Zalewski, P.D., Millard, S.H., Forbes, I.J., Kapaniris, O., Slavotinek, A., Betts,

W.H., Ward, A.D, Lincoln, S.F., Mahadevan, I. (1994). Video image analysis of labile zinc in viable pancreatic islet cells using a specific fluorescent probe for zinc. *Histochem. Cytochem.* **42**: 877-884.

Zelko, I.N., Marian, I.T.J., Folz, R.J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the Cu Zn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic. Biol. Med.* **33**: 337-349.

Zeng, J., Zhou, J., Huang, K. (2009). Effect of selenium on pancreatic pro-inflammatory cytokines in streptozotocin-induced diabetic mice. *Journal of Nutritional Biochemistry* **20** (7): 530-536.

Zhang, F., Xu, Z., Gao, J., Xu, B., Deng, Y. (2008). In vitro effect of manganese chloride exposure on energy metabolism and oxidative damage of mitochondria isolated from rat brain. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **26**: 232-236.

Zhou, I., Zhou, S., Tang, J., Zhang, K., Guang, L., Huang, Y., Xu, Y., Ying, Y., Zhang, L., Li, D. (2009). Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin and high-carbohydrate/ high-fat diet-induced diabetic rats. *European Pharmacology* **606**: 262-268.

Zhou, Q., Wang, L., Wang, H., Xie, F., Wang, T. (2012). Effect of dietary vitamin C on the growth performance and innate immunity of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Fish and Shellfish Immunology* **32**: 969-975.