

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA



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

THESE

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

Option : Biochimie Appliquée

THEME :

**L'effet des antioxydants naturels (thérapie nutritionnelle) sur
l'évolution du diabète chez des animaux alimentés par un régime
alimentaire pauvre en zinc**

Présentée par : M^{lle} TEBBOUB Imene

Directeur de thèse : M. KECHRID Zine Professeur, Université Badji Mokhtar-Annaba

Membres du Jury :

Président : M. MESSARAH Mahfoud Professeur, université Badji Mokhtar-Annaba

Examineur : M. AOUADI Saoudi Professeur, université Badji Mokhtar-Annaba

Examineur : M. ATTALAH Salah Professeur, université Frères Mentouri-Constantine

Année universitaire : 2019-2020

Remerciements

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

Un grand Merci à mon directeur de thèse le Professeur **Z. KECHRID**, université Badji Mokhtar-Annaba, pour avoir accepté la direction de cette thèse, de m'avoir fait confiance pour porter ce sujet de thèse et pour m'avoir accompagnée tout au long de ce travail. Veuillez recevoir le témoignage de ma profonde reconnaissance et respect.

J'adresse ensuite mes remerciements à monsieur le Professeur **M. MESSARAH**, université Badji Mokhtar-Annaba, d'avoir accepté la présidence de mon jury de thèse. Je tiens remercier également, monsieur le Professeur **S. ATTALAH**, université Frères Mentouri-Constantine et monsieur le Professeur **S. AOUADI**, université Badji Mokhtar-Annaba, pour avoir accepté d'être les examinateurs de ma thèse. Merci pour le temps alloué à l'évaluation de ce travail ainsi que pour vos précieuses remarques et corrections.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à monsieur le Professeur **A. LADJAMA**, université Badji Mokhtar-Annaba et à monsieur **K. BOULEZAZ**, chef laboratoire-ONAB, El-Harrouche.

Je remercie tout l'équipe de laboratoire de biochimie et microbiologie appliquée, les personnes du "1 et 2^{ème} étage" de département de biochimie, mes collègues et mes amis pour les sympathiques moments partagés ensemble. Grâce à vous je garde un très bon souvenir de cette expérience, non seulement d'un point de vue scientifique mais également humain.

Enfin, je remercie mes **parents** pour leur soutien permanent dans toutes les circonstances. Pour m'avoir permis de devenir ce que je suis aujourd'hui. Aucun mot n'est assez fort pour vous témoigner toute ma reconnaissance et mon amour. Je remercie également mes **frères**, **mes sœurs** et ses petites familles qui ont toujours cru en moi et qui m'ont apporté le soutien moral dont j'avais besoin.

Liste des abréviations

4-HNE : 4-hydroxynonéal
8-OH-dG : 8-hydroxy-2-deoxyguanosine
8-OH-G : 8-hydroxy-Guanosine
ADO : Antidiabétiques oraux
AGE : Produits avancés de glycation
AGL : Acides gras libres
ALAT : Alanine amino-transférase
AMM : Autorisation de mise sur le marché
CAT : Catalase
CDNB : 1-chloro,2,4-dinitrobenzène
CoA : Coenzyme A
COX : Cyclo-oxygénase
DAG : Diacylglycerol
DG : Diabète gestationnel
DMH : 1,2 diméthylhydrazine
DPP-4 : Dipeptidyl peptidase-4
DTNB : Acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque
ERN : Espèces réactives de l'azote
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
F-6-P : Fructose 6-phosphate
GFA : Enzyme glucosamine fructose-amidotransférase
GK : Glycérol kinase
GLP-1 : Glucagon like peptide 1
Glu-6-P : Glucosamine-6-phosphate
GLUT4 : Transporteur de glucose 4
GSSG : Glutathion oxydé
HbA1c : Hémoglobine glyquée
HLA : Human Leucocyte Antigène
HMG-CoA : Réductase β -hydroxyl- β -méthylglutaryl CoA réductase
HO[•] : Radical hydroxyle
LDH : Lactate déshydrogénase
LDL : Low density Lipoprotein
MIDD : Maternally Inherited Diabetes and Deafness

MODY : Maturity Onset Diabetes of the Yong

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

NFκ -B : Nuclear factor kappa-B

NO[•] : Oxyde nitrique

O₂[•] : Oxygène singulet

O₂^{-•} : Anions superoxydes

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONSe : Oxyde nitrique synthétase endothéliale

PKC : Protéine kinase C

PPAR-γ : Proliferator activated receptor-gamma

R-AGE : Receptor-advanced glycation end products

STZ : Streptozotocine

TCA : Acide trichloroacétique

Liste des figures

Figure 1 : La structure chimique de l'insuline humaine.....	3
Figure 2 : Schéma représentant les 2 grandes familles de transporteurs transmembranaires intervenants dans la régulation de l'homéostasie cellulaire du zinc.....	11
Figure 3 : Participation de zinc dans les mécanismes antioxydants.....	13
Figure 4 : Rôle du zinc dans la sécrétion de l'insuline.....	14
Figure 5 : Production du radical superoxyde par la xanthine oxydase.....	18
Figure 6 : Réaction en chaîne de la peroxydation des acides gras et leur devenir.....	19
Figure 7 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.....	20
Figure 8 : Types des lésions de l'ADN provoquées par les attaques des radicaux libres.....	21
Figure 9 : Rôle de GSH dans la génération de vitamine E et C.....	23
Figure 10 : Les voies métaboliques activées par l'hyperglycémie.....	29
Figure 11 : Représentation de <i>zingiber officinal</i> , la plante, le rhizome et ses composés bioactifs.....	33
Figure 12 : Représentation de la plante de <i>curcuma longa</i> et la formule chimique de curcumine.....	37
Figure 13 : Protocole expérimental.....	44
Figure 14 : Réaction de dialdéhydemalonique avec l'acide thiobarbiturique.....	50
Figure 15 : Réaction d'Ellman.....	51
Figure 16 : Perte du poids corporel des groupes à la fin de traitement.....	59
Figure 17 : Variation de la consommation alimentaire chez les groupes étudiés.....	59
Figure 18 : Pourcentage de variation de la glycémie chez les groupes étudiés.....	61
Figure 19 : Concentration sérique de l'insuline chez les groupes étudiés.....	61
Figure 20 : Concentration sérique de cholestérol chez les groupes étudiés.....	62
Figure 21 : Concentration sérique de triglycérides chez les groupes étudiés.....	63
Figure 22 : Variation de l'activité des enzymes ASAT et ALAT chez les groupes étudiés...	64
Figure 23 : Variation de concentrations de bilirubine totale et directe chez les groupes étudiés.....	65
Figure 24 : Concentration sérique des protéines totales chez les groupes étudiés.....	66

Figure 25 : Concentration sérique d'albumine chez les groupes étudiés	67
Figure 26 : Concentrations sérique de créatinine chez les groupes étudiés	67
Figure 27 : Concentration sérique d'urée chez les groupes étudiés.....	68
Figure 28 : Concentration sérique d'acide urique chez les groupes étudiés	68
Figure 29 : Concentration de zinc dans le foie des groupes étudiés	70
Figure 30 : Concentration de zinc dans le fémur des groupes étudiés	70
Figure 31 : Variation de l'activité enzymatique de PAL chez les groupes étudiés.....	71
Figure 32 : Variation de l'activité enzymatique de LDH chez les groupes étudiés.....	72
Figure 33 : Concentration hépatique de MDA chez les groupes étudiés	73
Figure 34 : Concentration hépatique de GSH chez les groupes étudiés.....	73
Figure 35 : Activité de GSH-Px et de GST hépatiques chez les groupes étudiés.....	75
Figure 36 : Activité de SOD et de catalase hépatiques chez les groupes étudiés	76
Figure 37 : Effet du traitement sur l'histopathologie du pancréas des groupes étudiés.....	78
Figure 38 : Effet du traitement sur l'histopathologie du foie des groupes étudiés	80
Figure 39 : Effet du traitement sur l'histopathologie des reins des groupes étudiés.....	82

Liste des tableaux

Tableau 1 : La composition de la nourriture	41
Tableau 2 : La quantité des métaux dans la nourriture	41
Tableau 3 : Effet du traitement sur la croissance corporelle chez les groupes : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Gg), (DCZ+Cur) et (DCZ+Gg+Cur).....	58
Tableau 4 : Effet du traitement sur la glycémie à jeun chez les groupes : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Gg), (DCZ+Cur) et (DCZ+Gg+Cur).....	60

Table de matière

Introduction	5
---------------------------	----------

Partie bibliographique

Chapitre I: Le diabète

1. Définition du diabète.....	3
2. Epidémiologie du diabète	4
3. Classification du diabète.....	4
3.1. Diabète type 1	4
3.2. Diabète type 2	5
3.3. Diabète gestationnel	6
3.4. Autre formes de diabète.....	6
4. Complications du diabète	6
5. Traitements du diabète	7
5.1. Les biguanides	7
5.2. Les sulfamides	7
5.3. Les glitazones (thiazolidinediones)	7
5.4. Les glinides.....	8
5.5. Les inhibiteurs des alpha-glucosidases.....	8
5.6. Les analogues du glucagon like peptide 1 (GLP1).....	8
5.7. Les inhibiteurs de l'enzyme dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4).....	8

Chapitre II: Le zinc

1. Généralités	9
2. Source, besoins et apports alimentaires	9
3. Métabolisme du zinc.....	10
3.1. Absorption	10
3.2. Transport.....	10
3.3. Régulation de l'homéostasie du zinc	10
3.4. Excrétion.....	11
4. Rôle du zinc.....	12
4.1. Rôle physiologique du zinc	12
4.2. Zinc et stress oxydatif.....	12
4.3. Zinc et métabolisme glucidique.....	13
5. La carence en zinc	14

Chapitre III: Le stress oxydatif

1. Généralités	16
2. Les espèces réactives de l'oxygène	16
3. Source des espèces réactives d'oxygène.....	17
3.1. Les sources exogènes.....	17
3.2. Les sources endogènes.....	17
3.2.1. La mitochondrie	17
3.2.2. La NADPH Oxydase.....	17
3.2.3. La xanthine oxydase (XO)	17
3.2.4. Les péroxysomes.....	18
3.2.5. Le réticulum endoplasmique.....	18
4. Les cibles de dommages oxydatifs.....	18
4.1. Oxydation des lipides	19
4.2. Oxydation des protéines	20
4.3. Oxydation de l'ADN	20
5. Système de défense antioxydant.....	21
5.1. Système de défense enzymatiques.....	22
5.1.1. Superoxyde dismutase SOD	22
5.1.2. Catalase CAT	22
5.1.3. Glutathion peroxydase GSH-Px.....	22
5.1.4. Glutathion-S-transférase GST.....	23
5.2. Système de défense non enzymatique	23
5.2.1. Les antioxydants endogènes	23
a. Le glutathion GSH	23
b. L'acide urique.....	24
5.2.2. Les antioxydants exogènes	24
a. Les vitamines	24
b. Les oligo-éléments	24
c. Les polyphénols	25

Chapitre IV: Le stress oxydatif et le diabète

1. Les voies métaboliques impliquées dans la genèse de stress oxydatif au cours du diabète.....	26
1.1. Auto-oxydation du glucose.....	26
1.2. Voie de polyols.....	26

1.3. Voie de hexosamines	27
1.4. Voie de la protéine kinase C	27
1.5. Glycation des protéines	27
1.6. Production mitochondriale d'anions superoxydes.....	28
2. Le diabète et l'altération de la défense antioxydante	29
3. Le stress oxydatif à l'origine de la dysfonction et l'apoptose des cellules β	30
4. L'effet de la carence en zinc sur le stress oxydatif au cours du diabète.....	30

Chapitre V: Le gingembre et le curcuma

1. Phytothérapie.....	31
1.1. Définition.....	31
1.2. Types de phytothérapie.....	31
1.3. Substances actives des plantes.....	32
1.3.1. Composés phénoliques.....	32
1.3.2. Alcaloïdes	32
1.3.3. Terpénoïdes et stéroïdes.....	32
2. Les plantes sélectionnées pour l'étude.....	32
2.1. Le gingembre (<i>Zingiber officinal</i>)	33
2.1.1. Généralités	33
2.1.2. Compositions chimiques et molécules bioactives.....	34
2.1.3. Propriétés pharmacologiques et usages thérapeutiques	34
2.2. Le curcuma (<i>Curcuma Longa</i>)	36
2.2.1. Généralités	36
2.2.2. Compositions chimiques et molécules bioactives.....	37
2.2.3. Propriétés pharmacologiques et usages thérapeutiques	38

Partie pratique

Matériel et méthodes

1. Matériel biologique et conditions d'élevage.....	40
2. Matériel végétal	40
3. Induction du diabète	40
4. Composition de régimes alimentaires.....	40
5. Traitement des animaux	42
6. Sacrifice et prélèvement des organes.....	42
6.1. Prélèvement sanguin.....	42

6.2. Prélèvement des organes	42
7. Dosage du zinc	45
8. Dosage des paramètres biochimiques.....	45
8.1. Dosage du glucose	45
8.2. Dosage de l'insuline	45
8.3. Détermination de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT) (GOT)	46
8.4. Détermination de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT) (GPT).....	46
8.5. Détermination de l'activité de phosphatase alcaline (PAL)	46
8.6. Détermination de l'activité de l'activité de lactate déshydrogénase (LDH)	47
8.7. Dosage de la bilirubine directe et totale	47
8.8. Dosage du cholestérol.....	47
8.9. Dosage des triglycérides (TG).....	47
8.10. Dosage des protéines totales.....	48
8.11. Dosage d'albumine	48
8.12. Dosage de créatinine.....	48
8.13. Dosage d'urée	48
8.14. Dosage d'acide urique	49
9. Dosage des paramètres du stress oxydatif.....	49
9.1. Préparation de l'homogénat.....	49
9.2. Dosage des protéines tissulaires	49
9.3. Dosage de malondialdéhyde (MDA).....	50
9.4. Dosage du glutathion réduit (GSH)	51
9.5. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px).....	52
9.6. Dosage de l'activité du glutathion-S-transférase (GST).....	53
9.7. Dosage de l'activité enzymatique de catalase (CAT).....	54
9.8. Dosage de l'activité enzymatique de superoxyde dismutase (SOD).....	55
10. Etude histologique.....	56
11. Traitement statistique des résultats.....	57
Résultats	
1. Suivi de l'évolution du poids corporel et de la consommation alimentaire des animaux au cours du traitement	58
2. Effet du traitement sur le métabolisme des rattes de différents groupes étudiés.....	60
2.1. Sur le métabolisme glucidique	60
2.2. Sur le métabolisme lipidique	62

2.3. Sur l'activité des transaminases (ASAT et ALAT) et le taux de la bilirubine chez les groupes : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Gg), (DCZ+Cur) et (DCZ+Gg+Cur).....	63
2.4. Sur le métabolisme protéique	66
3. Effet du traitement sur le statut du zinc et les enzymes dépendantes au zinc chez des rattes de différents groupes étudiés.....	69
3.1. Sur le statut du zinc	69
3.2. Sur l'activité des enzymes dépendantes au zinc	71
4. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif chez les rattes de différents groupes étudiés	72
4.1. Concentration de malondialdéhyde (MDA) et de glutathion réduit (GSH)	72
4.2. L'activité enzymatique de GSH-Px, de GST, de catalase et de SOD.....	74
5. Etude histologique	77
5.1. L'effet du traitement sur l'histologie de pancréas	77
5.2. L'effet du traitement sur l'histologie de foie.....	79
5.3. L'effet du traitement sur l'histologie des reins.....	81
Discussion.....	83
Conclusion et perspectives.....	93
Références bibliographiques	
Annexes	

Abstract

Due to the crucial role of zinc in various metabolic processes and its importance for insulin synthesis, its deficiency could aggravate diabetes complications. Ginger and curcuma are the subject of several researches and have shown their benefits as potent antioxidants. Therefore, this study aims to modulate the deleterious effects of zinc deficiency in diabetic state using these spices, more particularly, by evaluating their effects on carbohydrate metabolism, zinc status and antioxidant system in diabetic rats receiving zinc deficient diet.

After induction of diabetes, rats were divided into 6 groups: two groups were received adequate zinc diet containing 54 mg Zn/kg diet, the first was non-diabetic group and the second was diabetic group. The other four groups were diabetics and given zinc deficient diet containing 1.2 mg Zn/kg diet, one was untreated and the other three groups were received a diet supplemented with ginger 2%, curcuma 1% and ginger plus curcuma respectively.

After four weeks of the experiment, zinc deficiency resulted in high body weight loss, an increase of glucose, triglycerides, bilirubin and creatinine concentrations. Meanwhile, total protein and albumin concentrations were decreased. Furthermore, tissue zinc level and the activity of zinc dependent enzymes including alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) were decreased in zinc deficient diabetic rats. Moreover, zinc deficiency induced also a decrease in reduced glutathione (GSH) concentration and glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) activities. However, the previous mentioned parameters were restored after supplementation of ginger and curcuma.

In conclusion, these results suggest that supplementation of these spices in diet could actually strength the antioxidant system, via their richness with actives components such as gingerol and curcumin, against zinc deficiency severity in diabetes.

Key Words: Diabetes, zinc deficiency, oxidative stress, ginger, curcuma.

Résumé

En raison du rôle crucial du zinc dans divers processus métaboliques ainsi que de son importance pour la synthèse de l'insuline, sa carence pourrait aggraver les complications du diabète. Le gingembre et le curcuma font l'objet de plusieurs recherches et ont montré leurs potentiels bénéfiques en tant qu'antioxydants puissants. Cette étude vise donc à moduler les effets délétères de la carence en zinc chez les diabétiques à l'aide de ces épices, plus particulièrement, en évaluant leurs effets sur le métabolisme des glucides, des lipides, des protéines, le statut en zinc et le système antioxydant chez des ratte diabétiques recevant un régime pauvre en zinc.

Après l'induction du diabète, les ratte ont été réparties en 6 groupes: deux groupes ont reçu un régime adéquat en zinc contenant 54 mg Zn/kg d'aliment, le premier non-diabétique et l'autre diabétique. Les autres quatre groupes sont diabétiques et ont reçu un régime pauvre en zinc contenant 1.2 mg Zn/kg d'aliment, un groupe non traité tandis que les autres trois groupes ont reçu une nourriture supplémentée en gingembre 2%, en curcuma 1% et en gingembre et en curcuma ensemble respectivement.

Après quatre semaines de l'expérience, la carence en zinc a entraîné une perte énorme du poids corporel, une augmentation des concentrations de glucose, de triglycérides, de bilirubine et celle de créatinine. Tandis que, les concentrations de protéines totales et d'albumine ont diminué. De plus, le taux de zinc tissulaire et l'activité des enzymes dépendantes au zinc, y compris la phosphatase alcaline (ALP) et le lactate déshydrogénase (LDH), ont diminué chez les ratte diabétiques alimentées avec un régime carencé en zinc. De plus, la carence en zinc a également induit une diminution de concentration de glutathion réduit (GSH) et de l'activité de glutathion peroxydase (GSH-Px) et de catalase (CAT). Cependant, les paramètres mentionnés précédemment ont été restaurés après la supplémentation en gingembre et en curcuma.

En conclusion, ces résultats suggèrent que la supplémentation de ces épices dans l'alimentation pourrait effectivement renforcer le système antioxydant, via leurs richesses en composants actifs tels que le ginguérol et la curcumine, contre la sévérité de la carence en zinc dans le cas de diabète.

Mots clés : Diabète, carence en zinc, stress oxydatif, gingembre, curcuma.

الملخص

نظراً للدور الهام الذي يلعبه الزنك في عمليات الأيض المختلفة وكذا أهميته في تخليق الأنسولين، يمكن أن يؤدي نقصه إلى تفاقم مضاعفات مرض السكري. يعد الزنجيل والكرم موضوعا للعديد من الأبحاث وقد أظهرنا فوائدهما كمضادات قوية للأكسدة. لذلك، تهدف هذه الدراسة لتعديل الآثار الضارة الناتجة عن نقص الزنك في حالة مرض السكري باستخدام هذه التوابل، بشكل خاص، من خلال تقييم فعاليتها على استقلاب المواد الكربوهيدراتية (السكريات، الليبيدات، البروتينات) وتركيز الزنك والنظام المضاد للأكسدة لدى جردان مصابة بمرض السكري وموضوعة تحت نظام غذائي منقوص من الزنك.

بعد إحداث مرض السكري، تم تقسيم الجردان إلى 6 مجموعات: تم إعطاء مجموعتان نظاماً غذائياً متزنًا من الزنك يحتوي على 54مغ زنك/كلغ غذاء، المجموعة الأولى غير مصابة بالسكري والثانية مصابة بالسكري. المجموعات الأربعة الأخرى مصابة بداء السكري وموضوعة على نظام غذائي منقوص من الزنك يحتوي على 1.2مغ زنك/كلغ غذاء، المجموعة الأولى لم تتلقى علاجاً، بينما المجموعات الثلاثة الأخرى قد تلقت تغذية معززة بالزنجيل بنسبة 2% وبالكرم 1% وبالزنجيل والكرم معاً على التوالي.

بعد أربعة أسابيع من التجربة، أدى نقص الزنك إلى فقدان ملحوظ في وزن الجردان، زيادة في تركيزات الجلوكوز، الدهون الثلاثية، البيليريبيين والكرياتينين، بينما انخفض تركيز البروتينات والألبومين. علاوة على ذلك، انخفضت مستويات الزنك في الأنسجة ونشاط الإنزيمات التي تعتمد على الزنك بما في ذلك الفوسفاتيز القلوي (ALP) ودهيدروجيناز اللاكتات (LDH) لدى الجردان التي تعاني من مرض السكري ونقص الزنك. بالإضافة إلى ذلك، فقد تسبب نقص الزنك في انخفاض تركيز الجلوتاثيون المخفض (GSH) ونشاط الجلوتاثيون بيروكسيداز (GSH-Px) والكاتالاز (CAT). لكن بعد إضافة كل من الزنجيل والكرم فقد تحسنت المؤشرات السالفة الذكر.

خلاصة، تشير هذه النتائج إلى أن إضافة هذه التوابل إلى النظام الغذائي يمكن أن يقوي بالفعل النظام المضاد للأكسدة، من خلال غناها بالجزئيات النشطة مثل الجندول والكرمين، وهذا ضد خطورة تأثير نقص الزنك في حالة مرض السكري.

الكلمات الدالة: مرض السكري، نقص الزنك، الإجهاد التأكسدي، الزنجيل، الكرم.

Introduction Générale

Introduction

Le diabète est une maladie chronique dont l'incidence ne cesse de croître au sein de la population mondiale. L'organisation mondiale de la santé (**OMS, 2017**) précise qu'en 2014, 8.5 % de la population adulte était touchée par cette maladie et prévoit, qu'en 2030, le diabète sera la 7^{ème} cause de décès dans le monde. Le diabète est une maladie évolutive, il se caractérise par une perturbation du métabolisme glucidique suite à un défaut d'action et/ou de sécrétion de l'insuline. Il en résulte une hyperglycémie chronique qui correspond à un taux élevé du glucose dans le sang et qui témoigne de la rupture de l'homéostasie énergétique. Cette pathologie prédispose l'individu atteint à des complications macro- et micro-vasculaires invalidantes et/ou mortelles, qui affectent de nombreux organes (dont les yeux, les reins, les nerfs et le cœur) (**Dal et Sigrist, 2016**). A ce titre, le diabète constitue un enjeu majeur de santé publique.

Au cours du diabète, l'hyperglycémie chronique provoque un dysfonctionnement de la mitochondrie et une production excessive des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Nishikawa et Araki, 2007**).

Le zinc est un métal physiologique connu pour être essentiel pour la santé humaine. Il intervient dans les grandes voies métaboliques, notamment celles liées au métabolisme de l'insuline et des glucides (**Ruz et al., 2016**). Ce métal agit à la fois comme régulateur dans la production d'insuline, comme antioxydant cellulaire et comme constituant de la structure d'enzymes telles que la phosphatase alcaline, la glutamate déshydrogénase ou la superoxyde dismutase (**Cruz et Oliveira, 2015**).

La carence en zinc est impliquée dans la pathologie du diabète. En d'autre terme, une carence en zinc pourrait affecter la synthèse et la libération d'insuline et altérer le métabolisme glucidique (**Brender et al., 2010**). La carence en zinc a également comme conséquence une altération de la fonction de certaines enzymes antioxydantes dépendantes au zinc, cette situation expliquerait alors la génération accrue des radicaux libres observée chez les sujets diabétiques (**Chasapis et al., 2012**).

Les épices riches en polyphénols, notamment le gingembre et le curcuma sont recommandées pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine et en particulier dans la prévention du développement des maladies métaboliques tel que le diabète.

Les propriétés antioxydantes donnent au gingembre et au curcuma de puissantes vertus préventives anti-cancers, anti-inflammatoires et antidiabétiques (**Shanmugam et al., 2010; Madkor et al., 2011; Li et al., 2017; Syarifah-Noratiqah et al., 2018**). En effet, plusieurs

études ont révélé leur puissance inhibitrice de la progression tumorale dans l'organisme. De plus, leurs composés bioactifs, le gingérol et la curcumine, ont montré un effet thérapeutique en tant qu'agents antihyperglycémiant (Bi et al., 2017). Ces épices pourraient donc prévenir plusieurs types de maladies dont le diabète sucré.

Cette étude a été menée pour examiner les effets modulateurs de la supplémentation en gingembre et en curcuma en vue de prévenir le développement de la pathologie de diabète chez des rattes sous un régime alimentaire carencé en zinc en évaluant le statut du zinc, le métabolisme des glucides, des protéines, des lipides et le système antioxydant.

Chapitre I

[Le Diabète]

1. Définition du diabète

Le diabète sucré correspond à un groupe de désordres métaboliques, qui affecte environ 8.6% de la population mondiale (OMS, 2016). Cette maladie est caractérisée par une hyperglycémie chronique due à une déficience, relative ou absolue, en insuline associée ou non à une résistance à celle-ci. En condition physiologique, l'individu sain présente une glycémie à jeun comprise entre 0,70 g/L et 1,10 g/L. Lors d'un diabète installé et non contrôlé, l'individu présente une hyperglycémie persistante supérieure à 1,26 g/L à jeun (American Diabetes Association, 2016).

L'insuline est une hormone très essentielle produite dans le pancréas (Figure 1). Elle est en effet, la seule hormone hypoglycémisante impliquée dans l'absorption du glucose sanguin par les tissus cibles (muscles et tissus adipeux) de l'organisme. La production insuffisante de l'insuline ou l'incapacité à l'utiliser de manière efficace se traduit par une hyperglycémie chronique, qui peut provoquer des lésions affectant plusieurs systèmes et conduire à son tour au développement de certaines complications comme une néphropathie, une neuropathie, ainsi qu'une rétinopathie (American Diabetes Association, 2016 ; IDF, 2017).

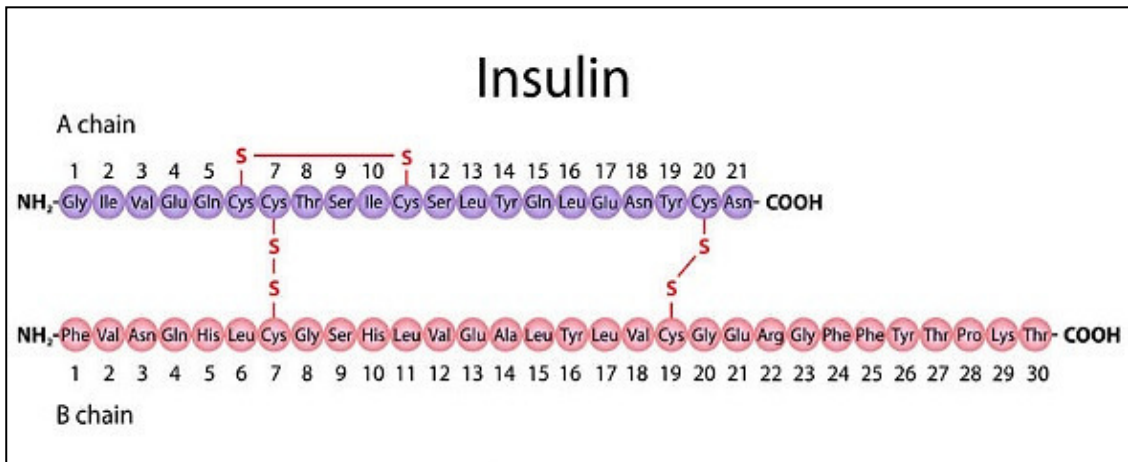


Figure 1: La structure chimique de l'insuline humaine (Magnan et Ktorza, 2005).

2. Epidémiologie du diabète

Le diabète est une maladie chronique dont l'incidence ne cesse de croître au sein de la population mondiale. L'organisation mondiale de la santé (OMS, 2017) estime qu'en 2014, dans le monde, 422 millions de personnes étaient atteintes de diabète ce qui correspond, chez les adultes de plus de 18 ans, à une prévalence mondiale de 8.5 %. Le diabète de type 1 représente 6 à 10 % des cas de diabète. Son incidence ne cesse de progresser (3 à 4 % chaque année) dans la population mondiale depuis 20 ans, avec notamment une forte augmentation du nombre de cas diagnostiqués avant l'âge de 5 ans (Barat et Lévy-Marchal, 2013 ; INSERM, 2014).

En Algérie, une étude menée par le ministère de la santé, en coordination avec l'OMS, entre 2016 et 2017 a révélé que 14,4% des algériens âgés de 18 à 69 ans sont atteints de diabète. Le taux de prévalence du diabète est passé de 8% en 2003, à 10% en 2012 et à 14% en 2017.

Ces chiffres sont révélateurs d'une forte progression du diabète parmi les algériens. En 2017, un diabétique sur deux n'était pas connu (ou diagnostiqué) alors qu'en 2003, pour chaque diabétique connu, deux ne l'étaient pas (STEPwise Algérie, 2016-2017).

3. Classification du diabète

La majorité des cas de diabète sont représentés par deux principales formes cliniques correspondant à deux mécanismes pathologiques différentes : le diabète de type 1 et le diabète de type 2. Il existe également d'autres formes de diabète tel que le diabète gestationnel et des autres types plus rares telles que le diabète MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young).

3.1. Diabète type 1

Également appelé le diabète insulino-dépendant, cette forme touche 10 à 20 % des cas de diabétiques, et se manifeste habituellement de manière aiguë au cours de l'enfance ou de l'adolescence. Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune caractérisée par une diminution ou une absence de production de l'insuline en raison d'une destruction sélective et totale des cellules β de Langerhans, dû initialement à une filtration des cellules-ci par des macrophages et des lymphocytes (Efart, 2008).

Ce type de diabète est subdivisé en type 1 auto-immune (environ 10% des cas), résulte d'une destruction d'origine auto-immune des cellules- β pancréatiques, qui se caractérise par la

présence de cellules inflammatoires intervenant par étape et aboutissant à la fabrication d'auto-anticorps. Certaines formes de DT1 sont nommées idiopathiques car ils n'ont pas d'étiologie connue (absence de signes d'auto-immunité notamment) (**Delattre et al., 2003**).

Le DT1 est une maladie polygénique qui se développe chez les patients présentant un facteur de risque génétique (**Craig et al., 2009**), il existe au moins 10 gènes potentiellement en cause, ayant une implication plus au moins forte. Seuls deux gènes sont actuellement clairement identifiés : le gène de l'insuline et certaines combinaisons particulières des gènes du système HLA (Human Leucocyte Antigène) de classe II (**Bouhours-Nouet et Coutant, 2005**). Ces derniers expliqueraient approximativement 50% des risques génétiques de survenu de DT1 (**Steck et al., 2005**).

Les patients atteints de cette forme de diabète en besoin d'insuline quotidiennement pour maintenir leur glycémie sous contrôle (**IDF, 2017**).

3.2. Diabète type 2

Le diabète de type 2 (précédemment appelé diabète non insulino-dépendant) est la forme la plus fréquente du diabète soit 80 à 90% des cas de diabète. Il est caractérisé par une hyperglycémie chronique, celle-ci s'explique par une résistance à l'insuline, liée à des anomalies de la liaison de l'insuline à son récepteur ainsi qu'à une baisse de l'efficacité de transmission du signal poste-récepteur (**Delattre et al., 2003**).

Chez la majorité des patients diabétiques de type 2, tout particulièrement ceux qui sont obèses, l'insulino-résistance des tissus cibles (foie, muscles, tissus adipeux et myocarde) représente le facteur majeur de physiopathologie du DT2 (**Golden et al., 2002**).

Ce type de diabète est observé généralement chez les adultes plus âgés (40 ans ou plus), mais est de plus en plus souvent observé chez les adultes les plus jeunes et même chez les adolescents (**IDF, 2017**).

L'étiologie du DT2 n'est pas totalement comprise, mais elle est fortement associée avec les prédispositions génétiques (les antécédents familiaux), de même qu'avec l'obésité, l'âge et l'ethnicité (**Malik et al., 2010**).

3.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel c'est un type de diabète qui se développe généralement chez les femmes enceintes pendant le deuxième et troisième trimestre de grossesse (IDF, 2017). Le diabète gestationnel apparaît suite à un trouble de l'insulino-sécrétion, associé à une insulino-résistance (du fait de statut hormonal) conduisant ainsi, à une hyperglycémie de sévérité variable (World Health Organization, 2013). D'autres facteurs peuvent être impliqués dans l'aggravation de ce type de diabète qui sont notamment l'âge avancé, les antécédents familiaux, la prise de poids excessive pendant la grossesse et l'obésité (Corps, 2004).

Le DG peut être considéré comme un stade précoce de DT2 à cause de la similarité des facteurs de risques de ces deux formes de diabète, cela peut expliquer la susceptibilité des patientes atteintes de diabète gestationnel de développer un DT2 (Regnault et al., 2016 ; Pirson et al., 2016).

3.4. Autre formes de diabète

Les formes rares de diabète sont regroupées sous le terme de diabète monogénique qui englobent désormais les MODY, les diabètes neo-nataux et les MIDD (Maternally Inherited Diabetes and Deafness) d'origine mitochondriale.

Certaines formes monogéniques sont extrêmement rare composant ainsi 1 à 2% des cas de diabète, elles sont dues à des altérations génétiques fortes, le plus souvent sur un seul gène conduisant ainsi à une altération de la fonction des cellules β pancréatiques et un défaut de sécrétion d'insuline (Beaudeau et Durand, 2011).

4. Complications du diabète

La gravité de diabète réside dans la survenue des complications chroniques dégénératives responsable d'une surmortalité chez les diabétiques (Yang et al., 2012). Ces complications résultent de plusieurs facteurs mais surtout de l'hyperglycémie chronique. À long terme, les diabètes sucrés sont caractérisés par la survenue de deux types de complications chroniques : la microangiopathie touchant principalement les yeux, les reins et le système nerveux, et la macroangiopathie qui se manifeste par une athérosclérose, une atteinte cardiovasculaire et une arthrite des membres inférieurs (Beaudeau et Durand, 2011).

5. Traitements du diabète

Le diabète est une maladie chronique progressive, cela implique de gérer non seulement la glycémie, mais aussi les complications associées à cette maladie au moyen d'un régime alimentaire équilibré et sain, la pratique d'une activité physique régulière et de l'utilisation correcte des médicaments prescrits par un médecin afin de diminuer la morbidité et la mortalité liées au diabète (**Herman et al., 2015**).

L'insulinothérapie continue est essentielle pour la survie des patients diabétiques de type 1 et s'adresse même aux diabétiques de type 2 devenus insulino-requérants. Les antidiabétiques oraux (ADO) sont les plus utilisés pour le maintien d'une normoglycémie des diabétiques de type 2. Il existe sept classes d'ADO, classés selon leur mode d'action :

5.1. Les biguanides

Les biguanides agissent essentiellement en diminuant la production hépatique du glucose (inhibition de la voie de néoglucogenèse et de glycogénolyse), ils augmentent la sensibilité à l'insuline, en favorisant l'action de l'insuline sur les tissus cibles musculaires. Les biguanides entraînent également un ralentissement de l'absorption intestinale du glucose (**Stora, 2007**).

5.2. Les sulfamides

Contrairement aux biguanides, les sulfamides stimulent la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques. Ces médicaments se lient à des récepteurs protéiques (Sulfonyl urée) des canaux potassiques dépendant de l'ATP au niveau de la membrane de la cellule β , entraînant ainsi la fermeture de ces canaux potassiques, cet effet provoque une dépolarisation membranaire, une augmentation de l'entrée du calcium dans les cellules β par ouverture des canaux calciques et enfin la libération de l'insuline par exocytose (**Krentz et Bailey, 2005**).

5.3. Les glitazones (thiazolidinediones)

Les glitazones améliorent la sensibilité à l'insuline au niveau des tissus adipeux, du muscle et du foie, en diminuant l'insulino-résistance par action sur les récepteurs PPAR γ (Proliferator activated receptor-gamma). La stimulation de ces récepteurs par ces médicaments favorise la lipogenèse, le stockage des graisses et la diminution du taux d'acide gras libres. Ceci améliore l'effet et la sensibilité à l'insuline (**Yki-Jarvinen, 2004**).

5.4. Les Glinides

Les Glinides sont des insulino-sécréteurs dont le mode d'action est similaire à celui des sulfamides, Ils agissent en se liant aux récepteurs SUR-1 (sulfonylurea receptor-1) de la membrane cytoplasmique des cellules β pancréatiques mais sur un site différent que celui des sulfamides (**Vaubourdolle, 2007**).

5.5. Les inhibiteurs des alpha-glucosidases

Les inhibiteurs des alpha-glucosidases agissent en inhibant de manière compétitive les alpha-glucosidases intestinales. Ils ralentissent la digestion des glucides complexes dans l'intestin, ce qui induit un passage lent du glucose dans le sang (**Krentz et Bailey, 2005**).

5.6. Les analogues du glucagon like peptide 1 (GLP1)

Le GLP-1 agit par l'intermédiaire d'un récepteur exprimé au niveau des cellules β et de certains tissus périphériques. L'activation des récepteurs par le GLP-1 stimule la sécrétion d'insuline mais aussi active la transcription du gène de l'insuline, augmente la biosynthèse d'insuline, stimule la prolifération et la survie des cellules et diminue la mort cellulaire. Enfin, le GLP-1 inhibe la sécrétion du glucagon, ralentit la vidange gastrique et augmente le sentiment de satiété (**Nauck, 2016**).

5.7. Les inhibiteurs de l'enzyme dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)

Les inhibiteurs de la DPP-4 sont une nouvelle classe de médicament anti-diabète. Ils agissent lorsque la glycémie augmente après un repas, en stimulant prioritairement la sécrétion d'insuline (ce qui contribue à abaisser la glycémie) et en diminuant la production du glucagon (les deux de façon gluco-dépendante). Les inhibiteurs de la DPP-4 offrent des avantages par rapport aux sulfamides, en termes de risque d'hypoglycémie, de prise de poids et de sécurité cardiovasculaire (**Nauck, 2016**).

Chapitre II

[Le Zinc]

1. Généralités

Le zinc est un élément chimique de symbole Zn, de masse moléculaire 65,37 et de numéro atomique 30, qui a été isolé pour la première fois en 1746 par le chimiste S. Margraaf. Le zinc un métal de transition présent dans les molécules organiques essentiellement sous forme de cation bivalent, il est moyennement réactif et se combine avec l'oxygène et d'autres non métaux tels que des acides aminés, des protéines, des peptides et des nucléotides (**Frassinetti et al., 2006**).

Après le fer, le zinc est le deuxième oligo-élément le plus abondant dans l'organisme. Bien que l'importance du zinc pour la croissance des micro-organismes, plantes et animaux soit connue depuis des décennies, Prasad en 1961 a mis en évidence le rôle du zinc en pathologie humaine. Depuis la découverte de la carence en zinc en tant que problème de santé humaine dans les années 1990, l'intérêt porté aux aspects biochimiques et cliniques de la nutrition en zinc a nettement augmenté (**Prasad, 2000 ; Imoberdorfa et al., 2010**).

2. Source, besoins et apports alimentaires

Le zinc est un élément trace essentiel dont l'apport journalier doit être de 7 à 15 mg selon l'âge et le sexe de l'individu (**Sandstead, 2007**). L'alimentation est la source principale du zinc pour l'organisme, les apports via l'eau de boisson étant très faibles. Les aliments d'origine animale sont les plus riches en zinc, c'est le cas des viandes, poissons et fruits de mer (huîtres, langouste). Les céréales complètes, les légumineuses (lentilles) et les légumes secs en contiennent également. En revanche, les légumes verts, les fruits et les boissons sont assez pauvre en zinc (**Seve et Favier, 2002 ; Imoberdorfa et al., 2010**).

Le zinc est le micronutriment le plus sensible au déficit, du fait des nombreuses interférences alimentaires. En effet, certaines de ces interactions sont bien décrites notamment avec le fer, le calcium et les phytates qui diminuent l'absorption du zinc. Par contre, le thé, le fructose et les oligosaccharides favorisent son absorption (**Roussel et Favier-Hininger, 2009**).

3. Métabolisme du zinc

3.1. Absorption

Durant la digestion, l'acide chlorhydrique favorise la libération du zinc provenant de l'alimentation sous forme d'ions libres (Zn^{2+}) ou lié à un ligand de faible poids moléculaire (**King et al., 2000**). Ces ions peuvent se présenter sous forme libre ou liés à des ligands endogènes de faible poids moléculaire dans la lumière intestinale. L'absorption du zinc libéré durant la digestion se fait majoritairement au niveau de l'intestin proximal soit par diffusion simple (lorsque le transport suit le gradient de concentration) ou facilité impliquant ainsi des transporteurs membranaires (**Ford, 2004**). La majeure partie de zinc transférée du l'intestin à la circulation portale, est absorbée rapidement et transporté au foie, où elle est absorbée et libérée dans la circulation générale pour être redistribuer aux tissus extra-hépatiques (**Dibley, 2001**).

3.2. Transport

Le transport du zinc circulant n'est pas assuré par une protéine spécifique, mais par plusieurs transporteurs capables de capter plus ou moins de zinc selon leurs concentrations et leurs affinités respectives. Dans la majorité des cas le transport du zinc est assuré par la liaison à l'albumine (environ 60 à 65% du zinc sérique total), à l'alpha-2-macroglobuline (environ 20% du zinc est lié très fortement à cette protéine) et à d'autres protéines (environ 12%) telles que la transferrine et la glycoprotéine riche en histidine (**Tubek, 2007**).

3.3. Régulation de l'homéostasie du zinc

La régulation fine de l'homéostasie du zinc intracellulaire est un processus fondamental pour la survie cellulaire. En effet, deux familles de transporteurs transmembranaires appelés ZnT (solute-Linked carrier 30, SL 30) et ZIP (solute-Linked carrier 39, SL 39) ont des rôles opposés et participent à cette régulation (Figure 2). L'import du zinc extracellulaire dans les cellules chez l'homme se fait par les transporteurs ZIP (14 transporteurs identifiés) localisés à la membrane plasmique ou au niveau des organites intracellulaires comme le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et la mitochondrie, où le transport se fait de la lumière de l'organite vers le cytoplasme (**Kambe et al., 2015 ; Hara et al., 2017**).

De leur côté, les transporteurs ZnT (10 transporteurs identifiés) exercent un effet opposé du ZIP, ils stimulent le transport du zinc intracellulaire vers l'extérieur, ou du cytoplasme vers la lumière des organites ce qui résulte une diminution en concentration du zinc intracellulaire (**Lichten et al., 2009**).

Ces transporteurs permettent de réguler la concentration totale en zinc autour de 200 à 300 μM . Au niveau cytoplasmique, la concentration en zinc soluble est régulée par les métallothionéines. Ces protéines riches en cystéine, permettent de tamponner la concentration en zinc. Ce processus permet une réponse rapide à un déséquilibre (**Bonaventura et al., 2015**).

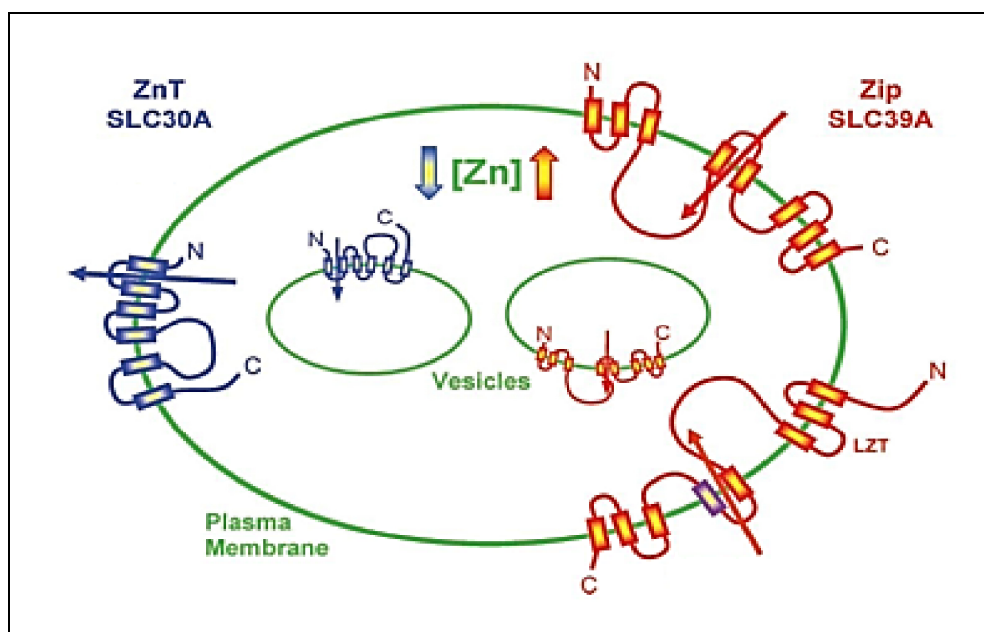


Figure 2: Schéma représentant les 2 grandes familles de transporteurs transmembranaires intervenants dans la régulation de l'homéostasie cellulaire du zinc (**Liuzzi et al., 2006**).

3.4. Excrétion

Le zinc est excrété du corps principalement dans les fèces. Le zinc fécal (environ 10 mg/jour) correspond au zinc non absorbé des aliments (67%) et au zinc endogène (33%) (**Apostoli, 2002**). Egalement, la voie urinaire représente une autre voie d'élimination de zinc (environ 0.5 mg/jour). Les autres fluides corporels sont aussi des voies importantes des pertes totales du zinc (**Sehlegel, 2010**).

4. Rôle du zinc

4.1. Rôle physiologique du zinc

Le zinc, un oligo-élément essentiel, est impliqué dans de nombreuses fonctions biologiques, dans la plupart de temps associé à des protéines. Il est estimé que 3 à 10% des protéines synthétisées par le génome des mammifères ont besoin du zinc pour leurs structures ou l'expression de leurs fonctions (**Hill et link, 2009**). A ce jour, plus de 300 métalloenzymes à zinc (de classe oxydoréductases, transférases, hydrolases, lyases, isomerase et ligases) et 2000 facteurs de transcription à zinc ont été décrits. A travers ces différentes enzymes, le zinc exerce un rôle important comme catalyseur dans : la fonction de métalloenzymes, dans la réponse immunitaire, la reproduction, la régénération des tissus lésés, ainsi que dans la synthèse de l'ADN, de l'ARN et la régulation endocrinienne (**Matsuura et al., 2009; Prasad, 2009; Solomons, 2013**). Outre son importance comme catalyseur, le zinc semble également jouer un rôle dans la structure des enzymes telles que la phosphatase alcaline, la glutamate déshydrogénase et la superoxyde dismutase (SOD) comme co-activateur (**Kindermann et al., 2005**). Dans le cadre de ce sujet de recherche nous limiterons aux fonctions du zinc impliquées dans le stress oxydatif et le métabolisme glucidique.

4.2. Zinc et stress oxydatif

Le zinc est un cofacteur essentiel pour le fonctionnement des enzymes impliquées dans le système de défense antioxydant. Le zinc exerce son rôle antioxydant à travers plusieurs mécanismes, il assure la stabilité des membranes et inhibe l'enzyme NADPH-Oxydase (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase) qui catalyse la production de superoxyde d'oxygène (O_2^*) à partir de O_2 . Le zinc est un cofacteur avec le cuivre de la SOD, enzyme clé piégeant les ions O_2^* . Aussi, le zinc participe dans la régulation de glutathion peroxydase (GSH-Px), catalase et l'expression des métallothionéines. Ces enzymes sont impliquées dans la réduction des radicaux libres (OH) et la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) produites sous les conditions du stress oxydatif (Figure 3) (**Chasapis et Loutsidou, 2012; Ruz et Carrasco, 2013**).

Le zinc possède une action directe sur l'expression du glutamate cystéine ligase et ainsi sur la synthèse du glutathion (**Eide, 2011**), il est capable aussi de limiter la production des ERO par les métaux de transition, en entrant en compétition avec eux dans la réaction de Fenton (**Seve et Favier, 2002**).

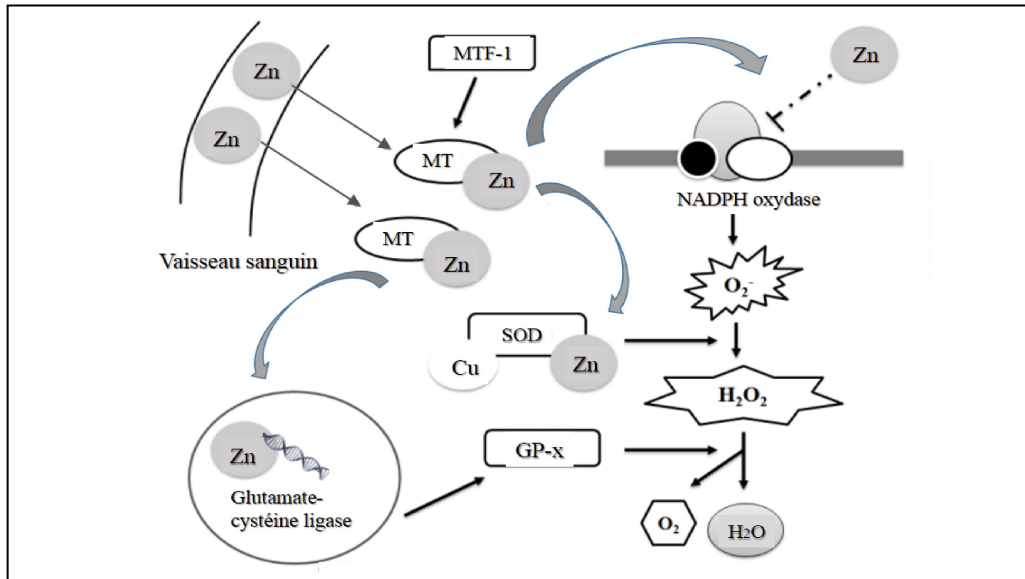


Figure 3: Participation de zinc dans les mécanismes antioxydants (Marreiro et al., 2017).

4.3. Zinc et métabolisme glucidique

Le zinc joue un rôle fondamental dans la production, stockage et sécrétion de l'insuline. Le zinc possède donc un rôle crucial dans la fonction des cellules β pancréatiques et dans la régulation de métabolisme glucidique. La relation physicochimique entre le zinc et l'insuline est bien connue depuis des décennies. Les cellules β pancréatiques contiennent une concentration très élevée en zinc par rapport les autres compartiments de pancréas, ce qui suggère que le zinc est impliqué dans la synthèse d'insuline (Rungby, 2010). Après la synthèse au niveau du réticulum endoplasmique rugueux, la pro-insuline est alors transportée dans l'appareil de Golgi et stockée sous forme d'hexamères en présence des ions de zinc et de calcium.

Après la condensation de ces hexamères de pro-insuline dans des granules de sécrétion, ils sont ensuite transformés en insuline active (après le clivage de la peptide C). Le zinc, important pour le stockage de l'insuline dans les vésicules de sécrétion, est nécessaire pour la cristallisation de celle-ci dans ces vésicules. Il agirait de façon autocrine sur la cellule β en augmentant la sécrétion d'insuline (Khan et al., 2014). En effet, il a été montré que le zinc active les canaux potassiques ATP-dépendants impliqués dans la dépolarisation des membranes des cellules β lors d'exocytose de l'insuline en réponse au glucose (Figure 4) (Ashcrof et Rorsman, 1989). Le zinc co-sécrété avec l'insuline pourrait également avoir une action paracrine sur les cellules α voisines en inhibant la sécrétion du glucagon. Cette

inhibition passerait par l'activation des canaux potassiques ATP-dépendants par les ions Zn^{2+} de la même façon que pour les cellules β (Zhou et al., 2007; Robertson et al., 2011).

Le zinc a également un effet insulino-mimétique connu depuis les années 80. Il a été montré *in vitro* qu'il stimule la lipogénèse indépendamment de l'insuline (Coulston et Dandona, 1980) ainsi que le transport et l'oxydation de glucose (May et Contoreggi, 1982).

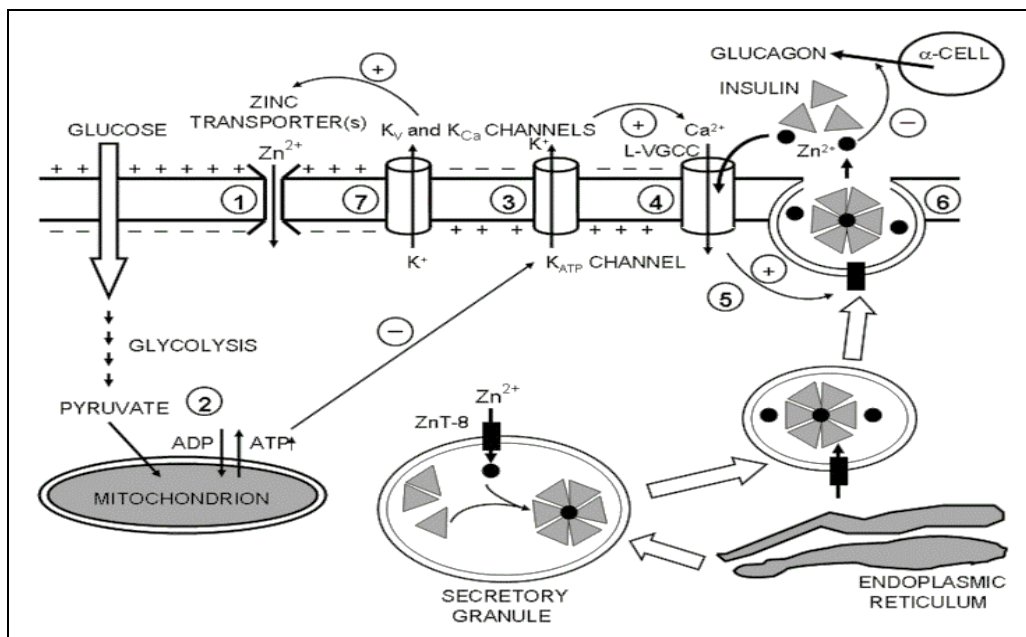


Figure 4: Rôle du zinc dans la sécrétion de l'insuline (Chistiakov et Voronova, 2009).

5. La carence en zinc

La carence en zinc est aujourd'hui largement connue comme l'une des principaux facteurs de risque de morbidité et de mortalité (Black et al., 2008). Les principaux facteurs responsables de la carence en zinc sont un apport alimentaire insuffisant en zinc, d'états pathologiques qui induisent soit une augmentation des pertes endogène de zinc ou une insuffisance de l'utilisation de zinc (Gibson et Anderson, 2006).

Les manifestations cliniques de la carence en zinc sont très variées. En effet, la carence en zinc peut entraîner un certain nombre d'anomalies fonctionnelles qui incluent : un retard de croissance, un affaiblissement de la performance reproductive, des perturbations neurologiques, un dysfonctionnement du système immunitaire avec une sensibilité aux infections (Brown et al., 2001). De plus, un statut altéré de cet oligo-élément a clairement un impact sur les capacités antioxydantes des cellules. *In vivo*, l'augmentation des protéines

oxydées et des dommages causés à l'ADN ont été démontré chez des rats carencés en zinc (**Oteiza et al., 1995**). La carence en zinc joue un rôle dans la pathologie de diabète. Elle se manifeste par une diminution de la synthèse d'insuline et une réduction de la sensibilité des cellules du tissu périphérique à l'insuline entraînant ainsi, une diminution de la fluidité membranaire, de la stabilité de l'insuline et de la synthèse du récepteur à l'insuline (**Moore et al., 2001**). Les diabétiques sont les plus sensibles au déficit en zinc, dû généralement à une perte excessive de zinc dans les urines et à une altération de son absorption intestinale (**Kazi et al., 2008**).

Chapitre IV

[Le Diabète et le Stress]

1. Généralités

Le terme de stress oxydatif a été évoqué pour la première fois en 1981 par H. Sies pour définir un état de déséquilibre entre la production des espèces réactives d'oxygène et les capacités antioxydantes de l'organisme (**Beaudeau et Durand, 2011**). Dans les systèmes biologiques, la production des radicaux libres est présente en permanence, leur formation est inévitable et dans certains cas indispensable à des fonctions essentielles de l'organisme comme les défenses immunitaires, la signalisation cellulaire, l'expression génétique et le maintien de l'homéostasie redox. En revanche, leur surproduction peut-être à l'origine d'importants dommages cellulaires en réagissant avec les lipides, les protéines et les acides nucléiques (**Ray et al., 2012**).

De plus, cet état de stress est observé physiologiquement au cours du vieillissement et il s'accompagne également de nombreuses pathologies telles que l'athérosclérose, les maladies neurologiques et le diabète. Il se traduit par l'accumulation de produits d'oxydation des biomolécules (lipides, protéines et ADN) au niveau plasmatique et au niveau cellulaire.

2. Les espèces réactives de l'oxygène

Les radicaux libres sont des molécules contenant un ou plusieurs électrons non appariés, cette spécificité leur confère une instabilité et un potentiel de réactivité important vis-à-vis d'autres molécules biologiques. Afin de se stabiliser, ces radicaux libres réagissent avec d'autres atomes en leur arrachant des électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux libres (**Wallace, 2002**).

Actuellement, il existe majoritairement trois familles d'espèces réactives oxydantes qui sont connues. Il s'agit des formes réactives de l'oxygène (ERO), des formes réactives de l'azote (ERN) et des oxydants chlorés (OHCl) (**Lee et al., 2000**).

Les ERO sont les plus importants du fait de leurs nombreuses implications dans les processus biologiques. Les ERO comprennent les radicaux tels que le superoxyde (O_2^-), l'hydroxyde (OH^-), l'oxyde nitrique (NO^-) et des espèces non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet (O_2^{\cdot}) et le peroxy-nitrite ($ONOO^-$) (**Nathan et al., 2010**).

3. Sources des espèces réactives d'oxygène

3.1. Les sources exogènes

Les facteurs environnementaux contribuent également à la formation des espèces réactives d'oxygène, une surproduction est observée dans le cas d'intoxication aux métaux lourds ou dans les phénomènes d'irradiations ou certains polluants (**Hatch, 2010**).

3.2. Les sources endogènes

3.2.1. La mitochondrie

Dans les cellules, environ 90 % des espèces réactives d'oxygène sont formés par la mitochondrie, représentant ainsi la source principale de production (**Krumova, 2016**). Cette production est due majoritairement à une fuite d'électrons au niveau des complexes I et III de la chaîne respiratoire mitochondriale qui va entraîner la formation d'anions superoxyde (**Lavier, 2003**).

3.2.2. La NADPH Oxydase

C'est un complexe enzymatique membranaire exprimée dans de nombreux tissus et dans les cellules sanguines. Elle va générer des anions superoxyde en transférant des électrons du NADPH vers une molécule de dioxygène (O_2), ce qui produit du $NADP^+$, du H^+ et de $O_2^{\cdot-}$. Ces deux derniers composés réagissent entre eux pour former de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (**Lavie, 2015**).



3.2.3. La xanthine oxydase (XO)

C'est une enzyme cytosolique, présente dans le foie, cette enzyme participe dans la synthèse des ERO en réduisant hypoxanthine en xanthine, ainsi que la xanthine en acide urique (Figure 5) (**Berry et Hare, 2004**).

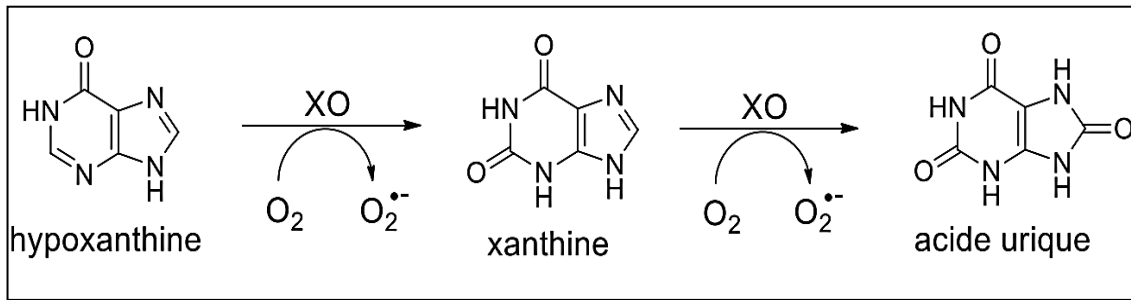


Figure 5 : Production de radical superoxyde par la xanthine oxydase (**Moussard, 2006**).

3.2.4. Les péroxysomes

Chez les mammifères, les peroxysomes jouent un rôle indispensable dans différentes voies biochimiques, incluant la synthèse des phospholipidiques, l'oxydation des acides gras, des acides biliaires et le catabolisme des acides aminés. Les peroxysomes contiennent de multiples oxydoréductases qui produisent de H_2O_2 dans le cadre de leur activité catalytique. Les peroxysomes de mammifères peuvent également contenir de la xanthine oxydoréductase et la nitric oxyde synthase inductible (NOS2), deux sources potentielles d'anion superoxyde (**Van Veldhoven, 2010**).

3.2.5. Le réticulum endoplasmique

Les enzymes de réticulum, dont la famille des cytochromes P450, assurent l'oxydation des acides gras insaturés (et certains xénobiotiques) et réduisent l'oxygène moléculaire pour former $\text{O}_2^{\bullet-}$ et/ou H_2O_2 . Les enzymes de la voie de l'acide arachidonique, les péroxysomes, les lysosomes (qui contiennent la myéloperoxydase responsable de la formation d'acide hypochloreux) et le noyau (qui possède des cytochromes oxydases et une chaîne de transport d'électrons) sont également capables de produire $\text{O}_2^{\bullet-}$ (**Delattre et al., 2007**).

4. Les cibles de dommages oxydatifs

En raison de leur grande réactivité, les ERO peuvent entraîner des altérations importantes aux différentes cibles biologiques notamment les lipides, les protéines et les acides nucléiques. Cette altération se traduit par le développement de plusieurs pathologies dégénératives et l'accélération de processus de vieillissement (**Curtin et al., 2002**).

4.1. Oxydation des lipides

Les acides gras polyinsaturés sont particulièrement la cible lipidique vulnérable des radicaux libres (Favier, 2003). La peroxydation lipidique présente l'une des conséquences biochimiques directe de la production des ERO, c'est un mécanisme en chaîne, initié par un radical qui conduit à la formation d'hydropéroxydes (ROOH) instables qui vont se dégrader en aldéhydes et altérer la membrane cellulaire et pouvant aussi entraîner une perte d'intégrité de la cellule et de ses organites (Figure 6) (Valko et al., 2006). La peroxydation lipidique conduit à la formation de nombreux produit finaux dont les plus toxiques: le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonénal (4-HNE). Ces deux produits ont un potentiel mutagène et cancérogène et capable de réagir avec les protéines et l'ADN. Ils peuvent être utilisés comme marqueurs de suivi des pathologies (Signorini et al., 2013).

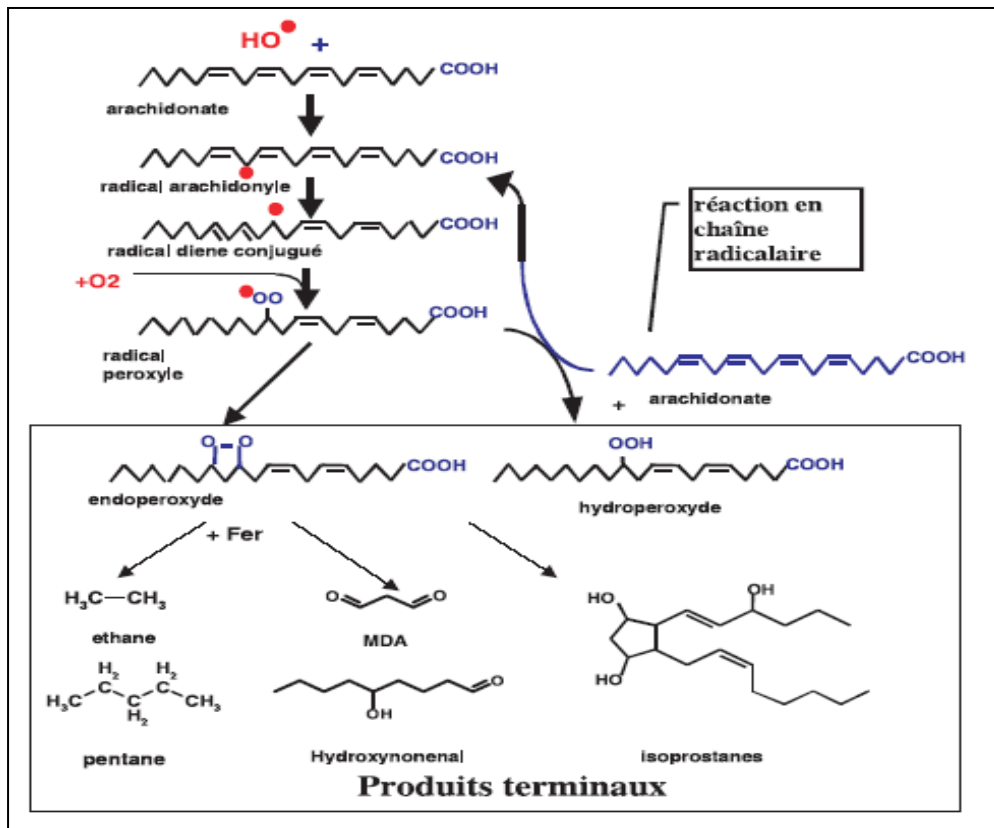


Figure 6 : Réaction en chaîne de la peroxydation des acides gras et leur devenir (Favier, 2003)

4.2. Oxydation des protéines

De nombreux radicaux libres peuvent endommager les protéines et les rendre moins actives, voir non fonctionnelles. Ils agissent sur les protéines par le biais des acides aminés les plus sensibles au stress oxydatif tels que les acides aminés soufrés dont la cystéine et la méthionine, les acides aminés basique (l'arginine, leucine) et les acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine (Figure 7) (Davies, 2000).

Selon l'intensité de stress oxydatif, les protéines subissent plusieurs types de modifications dans les chaînes protéiques. Ces modifications sont généralement modelées par la présence des métaux de transition (Fe^{+2} , Cu^{+2}), ils peuvent engendrer des coupures de liaisons peptidiques et des ajouts de sous-produits réactionnels d'oxydation (peroxydation lipidique). Ces modifications aboutissent à des altérations structurelles et fonctionnelles importantes telles que la perte de l'activité enzymatique et non reconnaissance de la protéine par son récepteur (Levine, 2002).

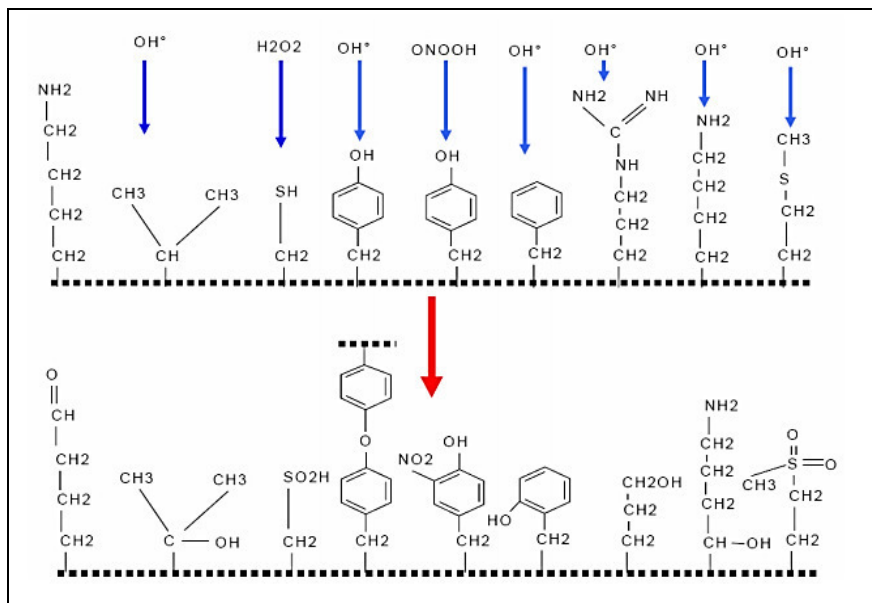


Figure 7 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003)

4.3. Oxydation de l'ADN

L'ADN est également sensible aux attaques radicalaires, plus particulièrement par le radical hydroxyle (HO^{\bullet}), le dommage oxydatif le plus fréquent correspond aux bases oxydées. Les ERO peuvent induire des oxydations, notamment avec la guanine, cette dernière peut

réagir avec le radical hydroxyle et donne naissance à un 8-hydroxy-Guanosine (8-OH-G) qui peut être ensuite transformé en 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OH-dG) (Kino et al., 2017). Le taux de 8-OH-dG détecté au sein de plusieurs systèmes biologiques, est utilisé comme un marqueur du niveau de stress oxydatif (Altieri et al., 2008). Les attaques radicalaires générées par les radicaux hydroxyles affectent la molécule d'ADN en entraînant des coupures ou des mutations carcinogènes sur les brins d'ADN, pouvant aboutir à la mort cellulaire (Figure 8) (Loft et al., 2008).

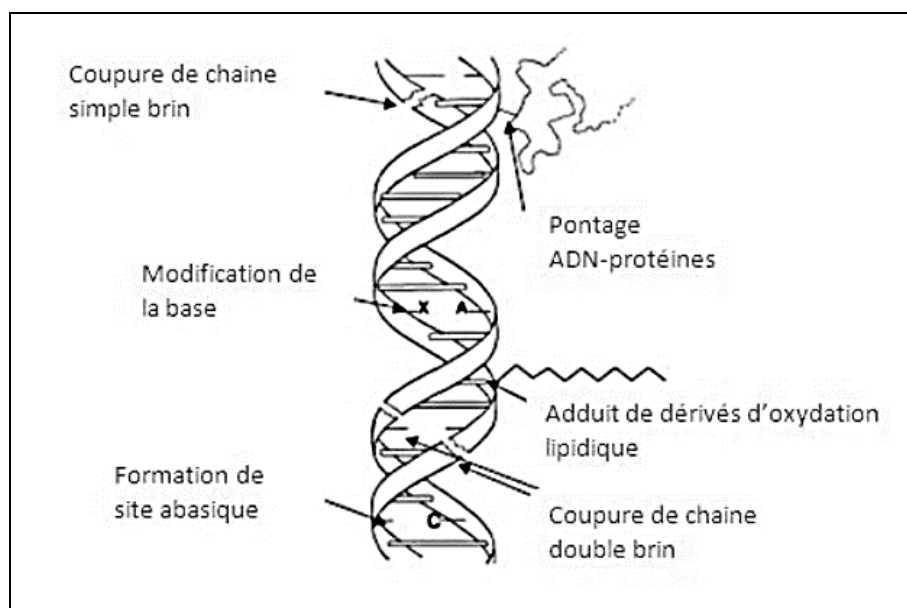


Figure 8 : Types des lésions de l'ADN provoquées par les attaques des radicaux libres (Favier, 2003)

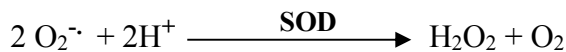
5. Système de défense antioxydant

Les défenses antioxydantes jouent un rôle fondamental dans la balance redox. En effet, elles protègent l'organisme contre les espèces prooxydantes à travers divers mécanismes de défense soit de manière directe qu'indirecte. Un antioxydant est défini comme étant une substance qui, à faible concentration, prévient ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat (Halliwell et Gutteridge, 1990). Il existe ainsi deux types de système de défense: enzymatique et non enzymatique chargés de corriger les effets toxiques des radicaux libres :

5.1. Système de défense enzymatique

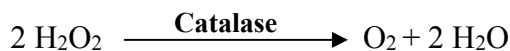
5.1.1. Superoxyde dismutase SOD

Les superoxydes dismutase (SOD) sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation des ions superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en molécule de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ces enzymes sont ubiquitaires chez les eucaryotes et on distingue trois isoenzymes (SOD1, à cuivre et à zinc cytosolique ; SOD2, à manganèse mitochondriale et SOD3 à cuivre et à zinc extracellulaire) qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (**Beaudeux et Durand, 2011**).



5.1.2. Catalase CAT

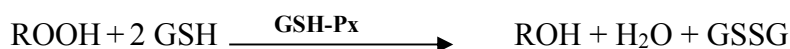
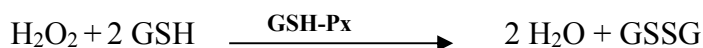
La catalase est une enzyme héminique capable de catalyser la transformation de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire selon la réaction suivante :



La catalase joue un rôle majeur dans la dismutation des fortes concentrations d' H_2O_2 , plus particulièrement dans les peroxysomes, où augmente la production d' H_2O_2 , dans le foie et parfois les reins (**Kodydková et al., 2014**).

5.1.3. Glutathion peroxydase GSH-Px

Chez les mammifères, il existe cinq isoformes de la GSH-Px, elles sont abondantes dans la mitochondrie, le cytosol et le noyau. L'ensemble des GSH-Px catalyse la réduction du H_2O_2 en eau, ou des peroxydes lipidiques résultant de l'effet de stress oxydatif sur les acides gras polyinsaturés en alcool couplé à l'oxydation d'un substrat comportant une fonction thiol (glutathion) selon les réactions suivantes (**Zhu et al., 2008**) :



5.1.4. Glutathion-S-transférase GST

Les glutathion-S-transférases sont des enzymes connues pour leur rôle dans la détoxification des molécules nuisibles pour les cellules, qu'elles soient étrangères ou non à l'organisme. Il existe trois familles de GST: cytosoliques, microsomales et mitochondriales. Les GST sont impliquées dans la détoxification des molécules électrophiles par conjugaison avec le GSH. Ainsi, les GST sont capables de neutraliser les toxines exogènes génératrices des ERO et de réduire certains lipides peroxydés (tels que les acides gras hydroperoxydés, esters de cholestérol hydroperoxydés et phospholipides hydroperoxydés) limitant ainsi la génération des produits toxiques de la peroxydation lipidique tels que 4-HNE et MDA (Hayes et al., 2005).

5.2. Système de défense non enzymatique

5.2.1. Les antioxydants endogènes

a. Le glutathion GSH

Le glutathion est un tripeptide de (gamma glutamyl cystéinyl glycine) qui constitue le groupement thiol le plus important dans la cellule (1 à 5 mM) (Zhang et Forman, 2012). Il agit par réaction directe avec les ERO ou en participant aux réactions enzymatiques d'élimination des ERO. Il existe sous forme essentiellement réduite (GSH) ou sous forme oxydé (GSSG). Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et utilisé pour mesurer le statut d'oxydoréduction. Le GSH possède d'autres propriétés antioxydantes, il agit essentiellement comme cofacteur de la GSH-Px et de la GST, chélateur des métaux de transition, régénérateur final de vitamine C et E, à partir de leur forme radicalaire (Figure 9) (Haleng et al., 2007).

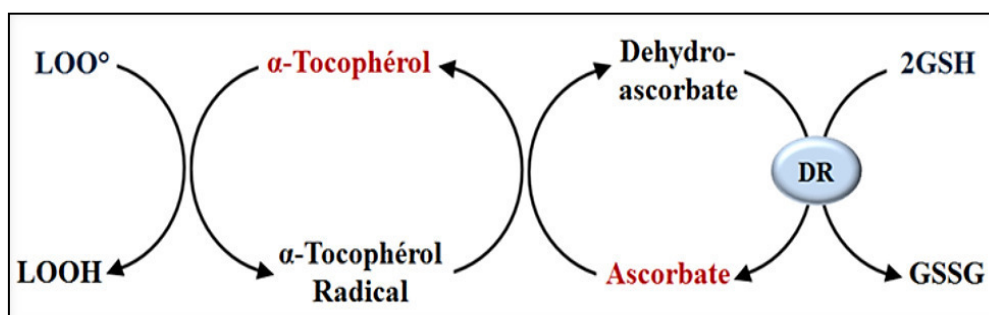


Figure 9 : Rôle de GSH dans la régénération de vitamine E et C (Packer et al., 2001).

b. L'acide urique

L'acide urique est capable de piéger les espèces radicalaires. Il agit comme chélateur des ions métalliques qui sont impliqués dans la génération prooxydante (**Strazzullo et Puig, 2007**).

5.2.2. Les antioxydants exogènes

a. Les vitamines

Les vitamines sont des molécules organiques apportées par l'alimentation et intervenant dans nombreuses fonctions physiologiques. Certaines vitamines comme les vitamines C et E ont un rôle antioxydant.

➤ La vitamine E (tocophérol)

La vitamine E est une molécule organique liposoluble, il existe huit formes, dont la plus active est l' α -tocophérol. La vitamine E possède des propriétés antioxydantes en conjugaison avec la vitamine C et le glutathion. Cette propriété est liée au fait qu'elle est capable de donner un atome d'hydrogène, ceci leur permet de réagir avec les molécules radicalaires telles que l' H_2O_2 , l' $\text{O}_2^{\cdot-}$ et l' OH^{\cdot} (**Traber et Atkinson, 2007**). Etant liposoluble, la vitamine E peut s'insérer facilement dans les membranes biologiques en empêchant ainsi l'initiation de la peroxydation lipidique.

➤ La vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C est une autre vitamine antioxydante hydrosoluble capable de piéger certains radicaux libres tels que $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 et OH^{\cdot} (**Haleng et al., 2007**). De plus la vitamine C est capable de réduire la concentration de la vitamine E oxydée, en favorisant sa régénération en vitamine E active. D'un autre côté, la vitamine C permet le maintien de concentration plasmatique de glutathion sous sa forme réduite, réduisant ainsi les peroxydations lipidiques et les dommages aux protéines et à l'ADN (**Johnston et al., 1993**).

b. Les oligo-éléments

Les éléments traces comme le fer, le cuivre, le zinc, le manganèse et le sélénium sont des métaux essentiels apportés par l'alimentation. Ces éléments possèdent un rôle important de défense vis-à-vis du stress oxydatif car ils participent dans la défense contre les radicaux

libres comme cofacteur de la SOD, de la catalase et de la GSH-Px (**Roussel et Favier-Hininger, 2009**)

➤ Le sélénium

Le sélénium est un cofacteur de la GSH-Px, il est donc antioxydant de façon indirecte. On retrouve le sélénium organique dans l'alimentation sous forme d'un acide aminé, la sélénocystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique conduisant à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de la GSH-Px.

➤ Le cuivre

A concentration physiologique le cuivre est le cofacteur de la SOD, cependant, il peut jouer un rôle dans la production des ERO (réaction de fenton) lorsque sa concentration est élevée (**Kazi et al., 2008**).

➤ Le zinc

Le zinc est un cofacteur essentiel de la SOD. Il protège les groupements thiols des protéines. Il peut inhiber les réactions de formation des ERO induites par les métaux de transition comme le fer ou le cuivre (**Haleng et al., 2007**).

➤ Le manganèse

Le manganèse compte parmi les oligo-éléments essentiels, il entre dans la structure de nombreuses enzymes, en particulier la SOD impliquée dans les défenses antioxydantes (**Kazi et al., 2008**).

c. Les polyphénols

Les polyphénols sont des antioxydants présents dans les végétaux. La famille des polyphénols regroupe plus de 8000 composés, parmi lesquels on trouve les acides phénoliques (acide gallique, acide caféique), les non flavonoïdes (dont les stilbènes comme le resvératrol, les lignanes et les tanins) et les flavonoïdes tels que les anthocyanes et les catéchines (**Yoshihara et al., 2010**). La structure chimique des polyphénols leur confère certaines capacités en particulier antioxydantes, qui leur permet de piéger les radicaux libres et de chélater les métaux (grâce au groupement hydroxyle). Ils peuvent aussi inhiber la peroxydation lipidique et notamment la formation des LDL oxydés (Low Density Lipoprotein) (**Jaldappagari et al., 2013**).

Chapitre IV

[Le Diabète et le Stress]

1. Les voies métaboliques impliquées dans la genèse de stress oxydatif au cours du diabète

L'hyperglycémie chronique est connue pour être à l'origine de l'augmentation de stress oxydatif au cours de diabète. Ainsi, d'autres voies semblent impliquées dans la genèse de ce stress oxydatif et jouent un rôle dans le mécanisme de toxicité du glucose, parmi lesquels on trouve l'oxydation du glucose, la voie de polyols, des hexosamines, de la protéine kinase C (PKC), les voies de formation des produits avancés de glycation (AGE), ou encore la surproduction de l'anion superoxyde par la mitochondrie (Figure 10) (Lappas et al., 2011).

1.1. Auto-oxydation du glucose

En présence de métaux de transition, le glucose sous sa forme éne-diol s'oxyde, entraînant ainsi, la génération d'un radical anionique éne-diol. Celui-ci en réduisant l'oxygène moléculaire, libère des anions superoxydes $O_2^{\cdot-}$. Au cours de cette réaction, il y a formation concomitante d'un composé carbonyle α -acétolaldéhyde. Ce dernier, et en présence de métaux de transition provoque le déclenchement de réaction de Fenton avec production des radicaux hydroxyles HO^{\cdot} (Hunt et al., 1988).

1.2. Voie de polyols

En condition d'hyperglycémie, le métabolisme du glucose par la voie de glycolyse et des pentoses phosphates est interrompu suite à la saturation de l'hexokinase, enzyme responsable de phosphorylation du glucose en glucose 6-phosphate. Dans cette situation, la voie de polyols fait intervenir l'aldose réductase qui transforme le glucose en sorbitol puis en fructose sous l'action d'une autre enzyme la sorbitol hydrogénase qui requiert le NADPH comme cofacteur. Au cours de cette réaction, les taux cellulaires de NADPH diminuent. Or, ce dernier est nécessaire à l'activité de la glutathion réductase (régénération du GSH) ainsi qu'à l'activité de l'ascorbate réductase et de la NO-synthase et donc une déplétion de défenses antioxydantes ce qui entraîne une aggravation du stress oxydatif (Brownlee, 2001; Haleng et al., 2007).

1.3. Voie de hexosamines

L'accumulation intracellulaire du glucose entraîne également le métabolisme du glucose par la voie des hexosamines. Dans cette voie, une partie du fructose 6-phosphate (F-6-P) issu de la glycolyse est converti en glucosamine-6-phosphate (Glu-6-P) par l'enzyme glucosamine fructose-amidotransférase (GFA). La Glu-6-P est ensuite utilisée pour produire de l'Uridine diphosphate N-acétylglucosamine (UDP-GlucNAc), ce produit final de la voie de hexosamines va aboutir à la glycosylation des protéines, cette forme particulière de glycosylation implique l'addition d'un N-acétylglucosamine sur un résidu serine ou thréonine des protéines en modifiant leurs propriétés fonctionnelles (**Semba et al., 2014**).

1.4. Voie de la protéine kinase C

En situation d'hyperglycémie, la transformation accrue du glucose en glycéraldéhyde-3 phosphate, un produit de glycolyse, et sa conversion en diacylglycerol (DAG), stimule l'activation de plusieurs isoformes de la protéine kinase C (PKC). Cependant, cette activation va entraîner une production accrue des ERO en stimulant la NADPH oxydase (**Tarr et al., 2013**). L'activation de la PKC conduit par ailleurs à la fois à une inflammation par le biais de la synthèse des facteurs pro inflammatoires NFκ-B (Nuclear factor kappa-B) et à l'installation de l'insulino-résistance via la diminution de l'expression d'oxyde nitrique synthétase endothéliale (ONSe) (**Xia et al., 2006**).

1.5. Glycation des protéines

On conditions hyperglycémiques, des modifications peuvent se produire suite à la réaction des groupements aminés libres des protéines avec un ose tel que le glucose : c'est le processus de glycation, auquel peut s'associer une oxydation qui va provoquer des modifications structurales et fonctionnelles de ces protéines, on parle alors de glyco-oxydation (**Beaudeau et Durand, 2011**). Le processus de cette glycation se déroule en trois étapes. Dans la première étape, le glucose réagit facilement avec les groupements aminés libres des protéines pour former une base de Schiff. Dans la deuxième étape, la base de Schiff subit des réarrangements moléculaires et donne naissance à des produits d'Amadori. Enfin, l'accumulation lente de ces produits conduit à la formation irréversible des produits terminaux de glycation (AGE), suite à différents réarrangements ainsi que d'éventuelles réactions d'oxydation (**Guillet, 2010**). L'implication des AGE dans la genèse d'un stress oxydatif vient

de leur capacité de se lier à des récepteurs spécifiques (R-AGE) présents sur les cellules endothéliales, glomérulaires ou encore les macrophages. L'activation de ces récepteurs déclenche une production des ERO via l'activation de la NADPH oxydase, ainsi que l'activation de facteurs de transcription NF-kB qui provoque la transcription de cytokines inflammatoires, favorisant ainsi la génération de stress oxydatif et une réponse inflammatoire. Cette action peut continuer à développer des maladies vasculaires chez les diabétiques (**Park et al., 2011**). La glycation des protéines entraîne une diminution de la capacité de l'albumine d'épurer les radicaux libres, de chélater les métaux de transition et pourrait également intervenir dans l'expression de certaines protéines, notamment l'insuline dont le promoteur du gène est sensible à la glycation (**Dobrian et Simionescu, 1995**). De plus, les enzymes antioxydantes telles que la Cu-Zn SOD, la catalase et la glutathion réductase font l'objet de glycation (**Arai et al., 1987**).

1.6. Production mitochondriale d'anions superoxydes

La voie privilégiée pour la dégradation du glucose est celle de la glycolyse à près de 90% et celle des pentoses phosphates pour le reste. En situation d'hyperglycémie, le coenzyme réduit NADH (nicotinamide adénine dinucléotide H) produit par la glycolyse va s'accumuler. Ce donneur d'électron induit ainsi une surcharge électronique au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale entraînant une surproduction d'anion superoxyde (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004**).

Mis à part les voies métaboliques minoritaires du glucose décrites précédemment, il existe d'autres facteurs favorisant un stress oxydatif dans le cadre du diabète. Il s'agit entre autres des acides gras libres ou non-estérifiés, qui se retrouvent en excès chez le patient diabétique. Ces acides gras vont passer par le cycle de l'acide citrique et générer de l'acétyl-CoA (coenzyme A) et un excès de NADH qui va favoriser la production de superoxyde au niveau mitochondrial (**Jay et al., 2006**).

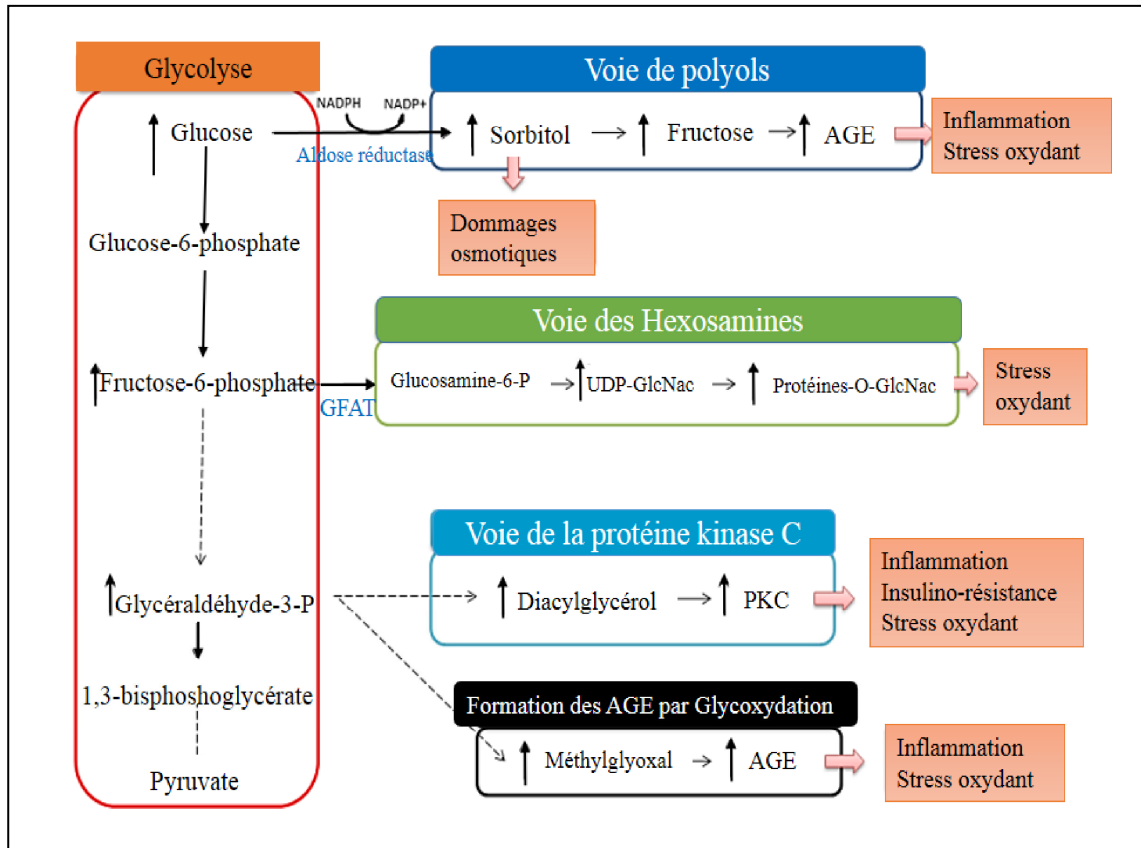


Figure 10 : Les voies métaboliques activées par l’hyperglycémie. Quatre voies sont activées par l’hyperglycémie : la voie des polyols, des hexosamines, de la protéine kinase C (PKC) et les voies de formation des produits avancés de glycation (AGE) (Lappas et al., 2011).

2. Le diabète et l'altération de la défense antioxydante

Plusieurs études ont rapporté une association entre le diabète et le stress oxydatif. Cependant, sous l’effet d’un fort stress oxydatif, une baisse des défenses antioxydantes vis-à-vis des radicaux libres a été observée chez les diabétiques. En effet, une augmentation de l’expression de la NADPH oxydase, ainsi qu’une diminution de l’expression des enzymes SOD, catalase, GSH-Px, GST et celle du GSH ont été observées dans les vaisseaux de sujets et d’animaux diabétiques (Palma et al., 2014; Li et al., 2015). La diminution des antioxydants au cours de diabète peut être expliquée par la glycation des enzymes impliquées dans la défense vis-à-vis les radicaux libres, ainsi à la carence de la disponibilité en NADPH, H⁺, un facteur indispensable pour la régénération de GSH et de la vitamine E (Haleng et al., 2007).

3. Le stress oxydatif à l'origine de la dysfonction et l'apoptose des cellules β

Hyperglycémie chronique engendre divers effets néfastes sur les cellules β pancréatiques puisqu'elle est capable d'entraîner des perturbations de l'insulinosécrétion, une diminution de la prolifération et de la différenciation des celles-ci, ainsi qu'une augmentation de l'apoptose par le biais de divers mécanismes. L'exposition à des concentrations élevées de glucose est directement responsable de la génération des ERO, qui concourent au dysfonctionnement des cellules β , car elles expriment très peu d'enzymes antioxydantes telles que les SOD, GSH-Px et catalase, de plus, les cellules β possèdent des concentrations faibles en GSH réduit (Acharya et Ghaskadbi, 2010 ; Gerber et Rutter, 2017).

4. L'effet de la carence en zinc sur le stress oxydatif au cours de diabète

Parmi les oligo-éléments, le zinc occupe une place importante, il joue un rôle dans la plupart des fonctions biologiques. Le zinc est nécessaire pour le fonctionnement normal de la défense oxydative. Ce rôle peut s'expliquer par son implication dans la défense contre les radicaux libres et leur synthèse. De plus, le zinc est indispensable aux activités des enzymes antioxydantes telles que la SOD-Cu-Zn comme cofacteur et augmente l'activité de la catalase et de la GSH-Px, ce qui peut expliquer les effets négatifs du déficit en zinc sur l'activité de ces enzymes (Christos T Chasapis et al., 2012).

Au cours de diabète, les déficits enzymatiques sont principalement associés à une augmentation de l'apoptose des cellules β pancréatiques (Chimienti, 2013) et également à une perturbation de production de l'insuline qui va à son tour augmenter la glycémie qui est impliquée dans le stress oxydatif via les mécanismes de glucotoxicité précédemment mentionnés (Brender et al., 2010). Cependant, la carence en zinc, une situation souvent observée chez les patients diabétiques, joue un rôle dans l'aggravation des complications associées au diabète (Fukunaka et Fujitani, 2017).

Chapitre V

[Le Gingembre et le Curcuma]

1. Phytothérapie

1.1. Définition

Depuis toujours, l'homme utilise les plantes qui l'entourent pour se nourrir et se soigner. Le nom de phytothérapie vient du grec « phyton », qui signifie plante, et de « therapein » qui signifie soigner/traiter. La phytothérapie est l'utilisation des plantes dans le but de prévenir ou de traiter des pathologies. La phytothérapie est l'ensemble de soins thérapeutiques faisant directement appel aux drogues d'origine végétale, les végétaux qui peuvent être employés sous plusieurs formes, infusions simples ou composées, ou sous forme de préparations galéniques, teintures, extraits... (**Hamamouchi, 1999**).

Seules les plantes ayant fait preuve de leurs vertus médicinales ont un intérêt en phytothérapie. Les parties les plus concentrées en principes actifs seront choisies, donc il peut s'agir de la plante entière, des feuilles, de la tige, des rameaux, des sommités fleuries, de l'écorce, des racines ou des fruits, utilisées fraîches ou sèches (**Nelly, 2013**).

1.2. Types de phytothérapie

On peut distinguer deux types de phytothérapie :

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est une médecine conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique.

- Une pratique basée sur les avancées scientifiques qui recherche des extraits actifs des plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation en vigueur dans le pays, la circulation des phytomédicaments est soumise à l'autorisation de mise sur le marché (AMM).

Ces deux sources de connaissances sont complémentaires. La médecine traditionnelle s'intéresse aux effets de la plante dans sa globalité ainsi qu'à son action sur l'ensemble de l'organisme. Les techniques modernes se concentrent sur les propriétés d'une ou d'un ensemble de molécules présentes dans la plante et de leur action sur un symptôme ou une cause précise. Elles permettent de mieux comprendre les mécanismes d'action et de proposer un usage thérapeutique documenté (**Carillon, 2009**).

1.3. Substances actives des plantes

Les plantes médicinales contiennent un mélange de substances actives que l'on peut répartir en trois grands groupes : composés phénoliques, alcaloïdes et les terpénoïdes.

1.3.1. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires naturels présents dans différentes parties des végétaux et omniprésents dans les légumes, les fruits et les graines. Les composés phénoliques diffèrent par leur structure en fonction du nombre et de la position des hydroxylations et des méthoxylations des composés aromatiques. Les polyphénols sont des antioxydants. Ils présentent également une large gamme d'activités pharmacologiques, notamment antimutagènes, antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antithrombotiques et vasodilatatrices. En particulier, ce sont des antioxydants piègeurs de radicaux libres, inhibant les systèmes enzymatiques responsables de la génération des radicaux libres et possèdent des propriétés réductrices (**Pourcel et al., 2007; Jaldappagari et al., 2013**).

1.3.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances présentant un atome azoté inclus dans un hétérocycle et sont des composés basiques. En effet, ces substances naturelles de structure complexe, importantes chez les végétaux, présentent à faible dose une multitude d'activités pharmacologiques telles qu'anti-tumorale, antiparasitaire, qui à forte dose peuvent devenir très toxiques (**Mauro, 2006**).

1.3.3. Terpénoïdes et stéroïdes

Les stéroïdes et les terpénoïdes sont synthétisés à partir d'un même précurseur, ils constituent l'ensemble le plus vaste de métabolites secondaires des végétaux.

2. Les plantes sélectionnées pour l'étude

Du fait de la richesse des plantes médicinales en composants bioactifs dont les polyphénols et les flavonoïdes, elles représentent une option thérapeutique intéressante pour atténuer la

gravité de diabète et ses complications. Parmi ces plantes on trouve les épices qui font partie intégrante de la nutrition humaine depuis l'antiquité. Ils ont été utilisés non seulement pour améliorer le goût, la couleur et l'odeur des aliments ; mais aussi par la médecine traditionnelle pour les puissantes propriétés thérapeutiques qu'ils possèdent. Ce chapitre explore les différentes actions thérapeutiques des épices couramment utilisées, tels que le gingembre et le curcuma (Bi et al., 2017).

2.1. Le gingembre (*Zingiber officinal*)

2.1.1. Généralités

Le terme « Gingembre » est dérivé du nom Anglais ginger. Cette plante est aussi appelée Zingiberies en grec et Zingiberi en latin. Le gingembre est l'un des épices les plus connus et les plus populaires utilisé pour traiter de nombreuses affections, sa production est apparue depuis plus de 5000 ans chez les indiens et les chinois. Aujourd'hui cette plante est cultivée dans les régions tropicales chaudes et humides, bien que l'Inde reste le principal pays producteur (plus de 50%), mais aussi au Sri Lanka, en Chine, au Japon, en Jamaïque, au Nigéria, en Amérique du Sud et en Australie (Bode et Dong, 2011).

La partie utilisée est le rhizome séché, il est utilisé très anciennement comme une drogue en Inde et en Chine dans la formulation d'un grand nombre de remèdes traditionnels. De nombreuses activités pharmacologiques lui ont été attribuées, certaines ont été démontrées par des études expérimentales (Figure 11) (Gigon, 2012).

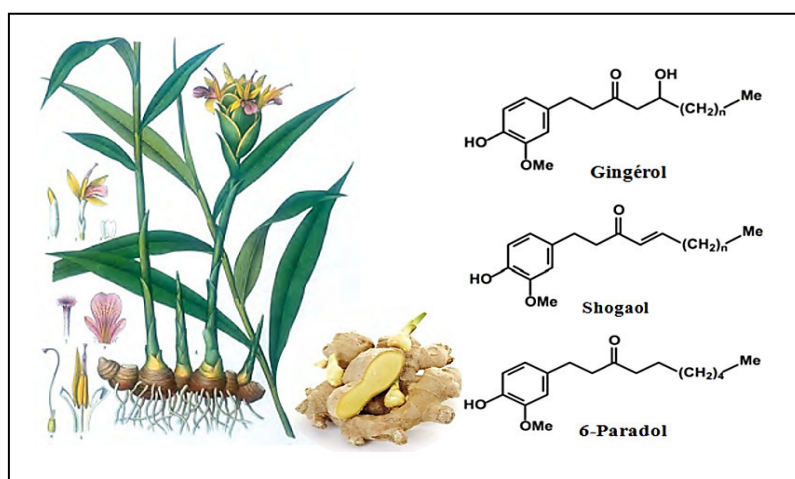


Figure 11 : Représentation de *zingiber officinal*, la plante, le rhizome et ses composés bioactifs (Prasad et Tyagi, 2015).

2.1.2. Compositions chimiques et molécules bioactives

Le rhizome renferme la majorité des composants chimiques de gingembre, ce dernier est très riche en amidon (60 %) et renferme des protéines et des lipides (10%) (**Zadeh et Kor, 2014**). L'odeur du gingembre est due à l'existence d'une huile volatile (à raison de 10 à 25 ml/kg de rhizome), les éléments principaux de cette huile sont des monoterpènes (β -phellandrène, (+) -camphène, cinéole, géraniol, curcumène, citral, terpinéol, bornéol) et des sesquiterpènes (α -zingibérène, β sesquiphellandrène, β bisabolène, (E-E)- α -farnésène, ar-curcumène et zingibérol) (**Ali et al., 2008**). Cependant, la composition de ces huiles est variable selon l'origine géographique et les conditions agronomiques (**Mishra et al., 2012**).

Le goût piquant du gingembre frais est dû principalement aux gingérols qui sont des séries d'homologues des phénols, le plus abondant est le [6]-gingérol. Alors que le goût piquant du gingembre sec est dû aux shogaols, qui sont les composés déshydratés des gingérols. Les shogaols sont formés durant le traitement thermique de la plante (**Ali et al., 2008 ; Dugasani et al., 2010 ; Ha et al., 2012**).

Parmi les autres constituants remarquables, il existe des acides phénoliques et des flavonoïdes mais à faibles proportions comme la quercétine, la rutine, fisetine, morine, acide gallique, acide ferulique et acide vanillique (**Ghasemzadeh et al., 2010**).

2.1.3. Propriétés pharmacologiques et usages thérapeutiques

Au cours des dernières années le gingembre est utilisé pour traiter certaines anomalies en raison de ses activités biologiques. Cette plante d'une composition exceptionnelle révèle des propriétés antidiabétiques, antioxydantes, anti-inflammatoires, antitumorales et une action antiulcéreuse (**Gigon, 2012**).

2.1.3.1. Action hypoglycémiant

L'effet antidiabétique du gingembre a été prouvé expérimentalement dans plusieurs études. En effet, les composants phénoliques qui sont caractérisés dans le gingembre tels que les gingérols, les shogaols, les paradols et les zingérones ont montré une action anti-hyperglycémiant et de nombreux autres effets thérapeutiques (**Al-Suhaimi et al., 2011**). Par exemple, dans une étude menée sur des patients atteints de DT2, la consommation quotidienne de 3g/jour de poudre de gingembre pendant 8 semaines a montré un effet

hypoglycémiant, une diminution de taux d'HbA1c ainsi qu'une amélioration de la résistance à l'insuline (**Mozaffari-Khosravi et al., 2014**). Cependant, les modes d'action possibles de gingembre sur le contrôle glycémique comprennent : l'inhibition d'enzymes telles que l' α -amylase et l' α -glucosidase dans la digestion des glucides, l'augmentation de la libération et de la sensibilité à l'insuline et l'amélioration du profil lipidique (**Bi et al., 2017**). Par conséquent, il est possible d'utiliser du gingembre pour gérer le diabète.

2.1.3.2. Action antioxydante

Des propriétés antioxydantes extrêmement importantes donnent au gingembre de puissantes vertus préventives contre un certain nombre de maladies métaboliques et vasculaires en relation avec l'oxydation des lipides (**Rehman et al., 2011**). Dans une étude réalisée sur des rats diabétiques, le gingembre à 1% a réduit la peroxydation des lipides, en maintenant l'activité des enzymes antioxydantes telles que la SOD, la catalase, la GSH-Px et celle du GSH (**Shanmugam et al., 2010**). Ces effets lui viennent notamment de ses composés polyphénoliques comme le [6]-gingérol et ses dérivés, des flavones, des isoflavones, des flavonoïdes, de l'anthocyanine, de la coumarine, des catéchines et des isocatéchines. En effet, l'hypothèse de mécanisme de ses composés serait basée sur un don d'atome d'hydrogène ou d'électrons et la capture des radicaux libres, mais aussi sur l'empêchement de la peroxydation lipidique, ce qui aide à neutraliser les radicaux libres (**Stoilova et al., 2007**).

2.1.3.3. Action anti-inflammatoire

Le pouvoir anti-inflammatoire du gingembre se révèle très efficace pour prévenir toutes les maladies qui se développent à partir d'une inflammation passant souvent inaperçue. Le gingembre permet ainsi d'abaisser certaines douleurs grâce à ces composés shagoal, [6]-gingérol et paradol telles que les douleurs musculaires et articulaires et soigner les blessures, les fractures et les œdèmes (**Grzanna et al., 2005**). Aussi bien, le gingembre modulerait certaines voies biochimiques activées lors d'une inflammation où le [6]-gingérol est un puissant inhibiteur de la synthèse du monoxyde d'azote, des prostaglandines E2 par inhibition de COX-1, COX-2 (**Efthimiou et Kukar, 2010**).

2.1.3.4. Action anticancéreuse

Des études *in vitro* ont montré des effets anticancéreux du gingembre. Récemment il y a eu plusieurs essais cliniques portant sur les avantages de gingembre pour traiter le cancer colorectal. Une supplémentation en gingembre pendant 28 jour chez des patients à haut risque de cancer colorectal a permis de réduire la prolifération des cellules cancéreuses dans l'épithélium colorectal en augmentant l'apoptose par rapport à la prolifération des cellules cancéreuses (Citronberg et al., 2013). Dans une autre étude effectuée sur des rats, la supplémentation en gingembre a diminué significativement le nombre de tumeurs ainsi que l'incidence de cancer du côlon après administration du 1,2 diméthylhydrazine (DMH) pro-carcinogène. De plus, le gingembre a amélioré le taux d'enzymes antioxydantes ainsi que celui des antioxydants non enzymatiques (Manju et al., 2005). Les propriétés anticancéreuses du gingembre sont attribuées à la présence de certains vanilloïdes, de [6]-gingérol et de [6]-paradol, ainsi que de certains autres constituants tels que shogaols et le zingérone (Jeong et al., 2009).

2.2. Le curcuma (*Curcuma Longa*)

2.2.1. Généralités

Le curcuma ou *Curcuma Longa* est une plante vivace appartenant à la même famille que le gingembre, les Zingiberaceae, qui pousse sous tous les climats tropicaux, où sa culture se fait essentiellement en Inde et en Asie du Sud-Est. Le rhizome est la partie utilisée de la plante de curcuma (Figure 12) (Prasad et al., 2014).

Cette épice, utilisée depuis des siècles en médecine traditionnelle indienne et chinoise pour traiter aussi bien des maladies respiratoires que des douleurs abdominales, est reconnue de nos jours pour ses nombreuses propriétés biologiques au niveau cardiovasculaire et hépatique mais également pour son potentiel antidiabétique, anti-inflammatoire, antimicrobien, antiviral, antioxydatif et anticancéreux (Shehzad et al., 2013; Prasad et al., 2014; Deogade et Ghate, 2015). Depuis ces dix dernières années, le nombre d'études sur le curcuma et surtout sur son constituant majeur, la curcumine, n'a cessé d'augmenter afin de comprendre ses mécanismes d'actions et dans l'espoir de traiter de nombreuses maladies.

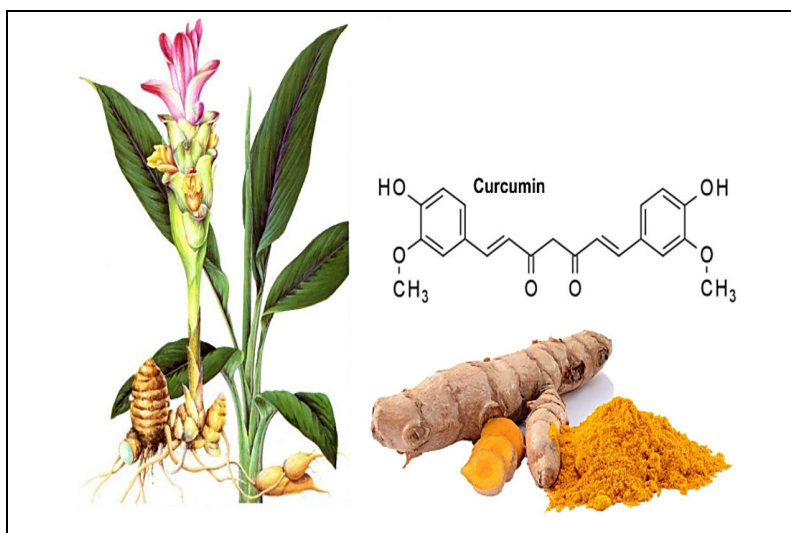


Figure 12 : Représentation de la plante de *curcuma longa* et la formule chimique de curcumine (Zheng et al., 2018).

2.2.2. Compositions chimiques et molécules bioactives

La couleur jaune et l'odeur aromatique du curcuma proviennent d'un mélange de pigments phénoliques, les curcuminoïdes, dont la curcumine fait partie. La teneur en curcuminoïdes dans la poudre de curcuma est d'environ 5%. Ce mélange de composés phénoliques se compose de 70 à 75% de curcumine, de 15 à 20% de diméthoxycurcumine et de 3 à 5% de bisdiméthoxycurcumine. De ces trois curcuminoïdes, c'est la curcumine qui présente les propriétés pharmacologiques les plus intéressantes (Goel et al., 2008).

L'huile essentielle tirée du rhizome contient des phelandrènes, sabinènes, cinéols, bornéols, zingibérènes, des sesquiterpènes ainsi que des curcuminoïdes. À côté des constituants de l'huile essentielle, dont les sesquiterpènes et les curcuminoïdes, d'autres composés ont été isolés : des polyosides et des peptides telle la turmerine. Le Curcuma contient aussi d'autres composés phénoliques: acide caféique, acide p-coumarinique, acide férulique et acide syringique (Nicol et Maudet, 2005). La Curcumine est très peu hydrosoluble. Son métabolisme intestinal inclut une sulfatation, une glucuronidation et une réaction de réduction, mais ces métabolites ont une très courte demi-vie.

2.2.3. Propriétés pharmacologiques et usages thérapeutiques

2.2.3.1. Action hypoglycémiante

Les travaux menés sur des patients et des animaux diabétiques ont montré que le curcuma et ses extraits exercent des effets antidiabétiques. Il a été démontré que le curcuma possède un effet synergique avec la metformine (un antidiabétique oral) chez les diabétiques en réduisant significativement la glycémie à jeun et l'HbA1c par rapport à ceux recevant de la metformine seule (Selvi et al., 2015). De plus, une étude *in vitro* a montré que des extraits d'huile volatile de curcuma inhibent l'activité α -glucosidase et α -amylase, ce qui a été proposé comme l'un des mécanismes possibles permettant au curcuma de réduire l'hyperglycémie et l'HbA1c chez les patients diabétiques (Lekshmi et al., 2012). La curcumine agit en activant la glycolyse, en inhibant la néoglucogenèse hépatique (Li et al., 2012), mais elle améliore aussi l'insulinosensibilité. Enfin, la curcumine empêche la formation des AGE chez le rat diabétique (Xie et al., 2017), ce qui peut avoir un effet favorable sur les complications du diabète.

2.2.3.2. Action antioxydante

La curcumine peut inhiber significativement la génération des ERO comme les anions superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, ainsi que la génération de radicaux nitrites. De plus, la capacité de la curcumine à donner un proton permet de neutraliser les radicaux libres et d'empêcher la survenue d'un stress oxydatif ou de le diminuer lorsque celui-ci est déjà installé (Barzegar et al., 2011; Deogade et Ghate, 2015). Chez le rat diabétique, la curcumine réduit les effets du stress oxydatif et augmente l'activité de GSH-Px et de SOD, améliore la concentration de GSH et réduit la lipoperoxydation (Xie et al., 2017).

2.2.3.3. Action anti-inflammatoire

Le curcuma possède également des effets anti-inflammatoires mettant souvent en jeu différents potentiels d'action. Ces effets ont été identifiés aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, en réponse à des inflammations aiguës ou chroniques. Le curcuma est un puissant inhibiteur de nombreux facteurs de transcription qui influencent l'expression de gènes impliqués dans l'inflammation et la prolifération cellulaire, ainsi que dans l'invasion des tissus et l'angiogenèse. Cette molécule naturelle est également un puissant inhibiteur des voies de NF-

κB et TNF-α ; inhibant ainsi la sécrétion de cytokine (IL-6 et IL-8), les phospholipases et les prostaglandines. L'ensemble de ces mécanismes diminue les risques de développement des maladies chroniques causées par l'inflammation (**Zhou et al., 2011**; **Shehzad et al., 2013**; **Tegenge et al., 2014**).

2.2.3.4. Action anticancéreuse

Des études, effectuées *in vitro* et *in vivo*, ont montré que la curcumine issue du curcuma possède un effet chimiopréventif. Ce produit naturel a été démontré pour inhiber la croissance de plusieurs lignées tumorales *in vitro* et d'empêcher la tumorigenèse *in vivo* (**Duvoix et al., 2005**). De plus, ce composé présente des effets anticancéreux en empêchant l'initiation tumorale par des carcinogènes et en réduisant la promotion du cancer induite par les esters de phorbol (**Maheshwari et al., 2006**).

Partie pratique

[Matériel et Méthodes]

1. Matériel biologique et conditions d'élevage

Des rattes femelles blanches de la souche Wistar âgées de 10-12 semaines et pesant 192-230 g, provenant de l'institut pasteur d'Alger, ont été hébergées dans une chambre convenablement aérée, à température contrôlée (22 ± 2 C°), humidité relative (40%) et soumise à un cycle de 12 heures de lumière suivies de 12 heures d'obscurité. Les animaux ont été mis en cage en polyéthylène. Ils ont bénéficié d'un accès libre à la nourriture et à l'eau (*ad-libitum*). Après 2 semaines d'adaptation, les rattes ont été divisées en 6 groupes de 5 rattes et nourries avec un régime équilibré. Les animaux ont été traités et utilisés en accord avec les réglementations accordées par le comité d'éthique de l'université d'Annaba.

2. Matériel végétal

Les rhizomes de gingembre frais ont été achetés du marché local, lavés plusieurs fois, épluchés, coupés en petit morceaux, séchés à l'abri de lumière et pulvérisés avec un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Les rhizomes de curcuma ont été aussi pulvérisés en poudre fine. Les poudres obtenues ont été conservées à la température ambiante dans des contenants hermétiques à l'abri de la lumière jusqu'à le début de l'expérimentation.

3. Induction du diabète

L'induction du diabète chez les rattes préalablement mise à jeun pendant la nuit, a été réalisée en utilisant une dose unique d'une solution fraîchement préparée de streptozotocine STZ (Sigma Chemicals Company) dissoute dans un tampon citrate froid (0,1 M, pH 4,5) et administrée par voie intrapéritonéale à une dose de 55 mg/kg de poids corporel (**Saleh et al., 2013**). Après cinq jours de l'injection de STZ, La glycémie a été mesurée par un glucomètre (ACCU-CHEK, Roche Diagnostics, Paris, France) dans des échantillons prélevés à partir de la veine caudale grâce à une incision au niveau de l'extrémité de la queue. Seuls les rattes qui ont une glycémie ≥ 170 mg/dl ont été sélectionnées pour les groupes diabétiques.

4. Composition de régimes alimentaires

Dans cette étude, deux régimes alimentaires des rattes ont été préparés, l'un supplémenté en zinc (54 mg/kg d'aliment) destiné aux groupes dont la nourriture est adéquate en zinc et l'autre est pauvre en zinc (1.2 mg/kg d'aliment) destiné aux groupes dont la nourriture est

carencée en zinc. La préparation des régimes alimentaires a été faite comme décrite par Southon et al. (1988), en mélangeant des quantités de matières premières et de métaux comme indiqué dans le tableau 1 et 2.

Tableau 01 : 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 02 : La quantité des métaux dans la nourriture (Southon et al., 1988).

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

****Les produits chimiques utilisés :***

Carbonate de zinc, sulfate de cuivre, sulfate de fer, sulfate de magnésium, sulfate de manganèse, iodate de potassium, chlorure de potassium, carbonate de calcium, hydrogéo-orthophosphate disodique et hydrogéo-orthophosphate de calcium.

5. Traitement des animaux

Après l'induction de diabète, les rattes ont été réparties en 6 lots de 5 rattes chacun, il s'agit de :

- **Lot 1** : rattes témoins non-diabétiques (ND) sous un régime alimentaire adéquat en zinc.
- **Lot 2** : rattes diabétiques sous un régime alimentaire adéquat en zinc (DAZ).
- **Lot 3** : rattes diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc (DCZ).
- **Lot 4** : rattes diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc et supplémentées en gingembre 2% d'aliment (DCZ + Gg) (**Saraswat et al., 2010**).
- **Lot 5** : rattes diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc et supplémentées en curcuma 1% d'aliment (DCZ + Cur) (**El-Wakf et al., 2011**).
- **Lot 6** : rattes diabétiques sous un régime alimentaire carencé en zinc et supplémentées par la combinaison de gingembre 2% d'aliment et de curcuma 1% d'aliment (DCZ+Gg+ Cur).

Ce protocole expérimental s'est poursuivi pendant 27 jours. Cependant la consommation alimentaire est mesurée quotidiennement, tandis le poids des animaux est poursuivi deux fois par semaine.

6. Sacrifice et prélèvement des organes

6.1. Prélèvement sanguin

A l'issue des 4 semaines de traitement, les rattes ont été sacrifiées par décapitation, le sang a été prélevé dans des tubes secs et ensuite centrifugé (15 minutes, 3000 tours/min, 4°C). Le sérum a été aliquoté dans des tubes eppendorfs et stocké à (-20 °C) pour le dosage des paramètres biochimiques (glucose, insuline, TGO, TGP, PAL, cholestérol, triglycérides, LDH, bilirubine totale et directe, protéines totales, albumine, créatinine, urée et acide urique).

6.2. Prélèvement des organes

Les organes prélevés, sont débarrassés de leurs tissus adipeux, rincés dans une solution de chlorure de sodium (Na Cl) à 0.9% et pesés.

Le fémur et un fragment du foie des rattes ont été mis dans une étuve à 80 C° pendant 16 heures pour les sécher, puis ils ont été conservés pour déterminer la concentration du zinc. Un deuxième fragment du foie a été stocké à (- 20 C°) pour le dosage des paramètres de stress oxydatif. Le pancréas, les reins et un autre fragment du foie ont été conservés dans une solution de formol tamponné et destinés pour réaliser l'étude histologique de ces tissus.

Les différentes étapes du protocole expérimental sont schématisées dans la figure 13 :

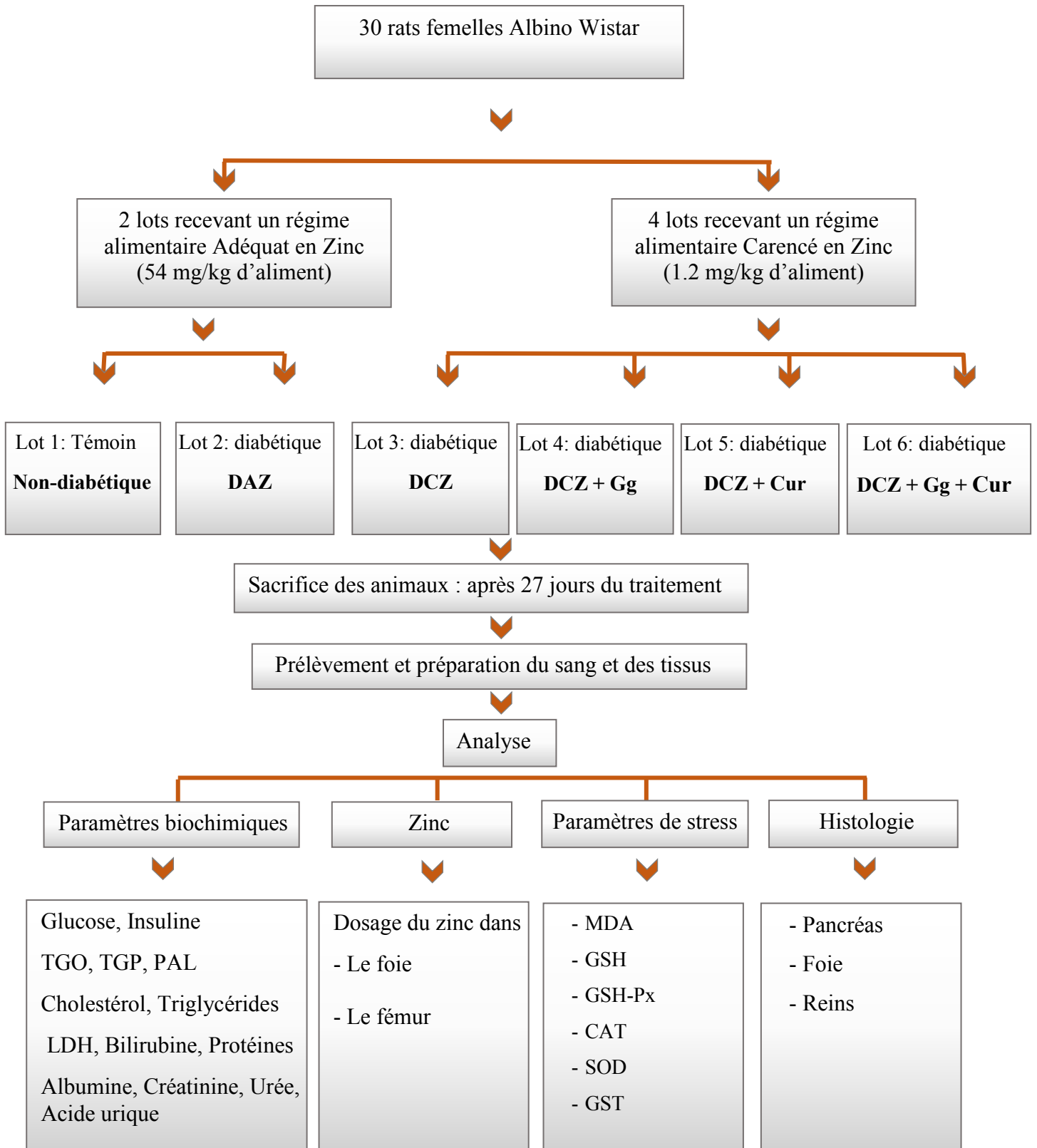


Figure 13: Protocole expérimental

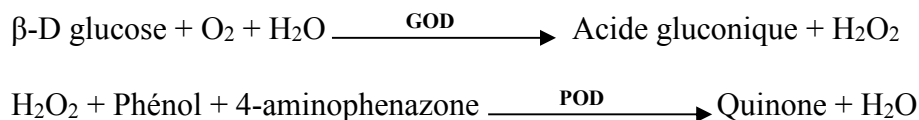
7. Dosage du zinc

Les organes préalablement séchés ont été mis au four à moufle (furnace) pendant 48 heures à 480 °C. Après refroidissement, les cendres obtenues ont été dissous avec l'acide nitrique concentré, diluées avec l'eau distillé et filtrées à l'aide d'un papier filtre whatman N° 542. La détermination de la concentration du zinc dans les organes a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique de flamme (AA-7000 SHIMADUZ, France). La concentration du zinc est déterminée par comparaison à une gamme étalon de nitrate du zinc (1mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions (annexe 2) (Southon et al., 1988).

8. Dosage des paramètres biochimiques

8.1. Dosage du glucose

La glycémie a été déterminée par une réaction enzymatique selon la méthode de Trinder (1996). Sous l'action du glucose oxydase (GOD), le glucose se transforme 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 rouge-violet (quinoneimine) selon les réactions suivantes :



8.2. Dosage de l'insuline

La concentration d'insuline dans le sérum des rats a été déterminée à l'aide d'un système SIEMENS Immulite 1000 (Healthcare Diagnostics). Immulite 1000 Insuline est un dosage chimiluminescent immunométrique, en deux étapes, en phase solide. La phase solide (bille) est revêtue d'anticorps monoclonaux murins anti-insuline. La phase liquide est composée de phosphatase alcaline (intestins de veau) associée à des anticorps polyclonaux ovins anti-insuline, ainsi que de phosphatase alcaline associée à des anticorps monoclonaux murins anti-insuline. L'échantillon des rattes et le réactif sont incubés ensemble avec la bille revêtue pendant 60 minutes. Pendant ce temps, l'insuline contenue dans l'échantillon forme un complexe d'anticorps de type « sandwich » avec, sur la bille, les anticorps monoclonaux murins anti-insuline et, dans le réactif, les anticorps polyclonaux ovins anti-insuline et les anticorps monoclonaux murins anti-insuline tous deux associés aux enzymes. Les conjugués

enzymatiques sont ensuite éliminés par lavage avec centrifugation. Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté au godet réactionnel et le signal est généré proportionnellement à l'enzyme liée.

8.3. Détermination de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT) (GOT)

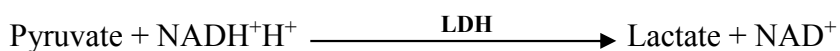
L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi La glutamate-oxaloacétate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α cétooglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est ensuite réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le $\text{NADH}+\text{H}^+$ selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en $\text{NADH}+\text{H}^+$, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de l'aspartate aminotransférase (**Murray, 1984^a**).

8.4. Détermination de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT) (GPT)

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi la glutamate-pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au α -cétooglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) et le NADH selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en $\text{NADH}+\text{H}^+$, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de l'alanine aminotransférase (**Murray, 1984^b**).

8.5. Détermination de l'activité de l'activité de phosphatase alcaline (PAL)

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophényl phosphate à pH 10.4, libérant le p-nitrophénol et le phosphate, selon la réaction suivante :



Le taux de la diminution de la concentration en $\text{NADH} + \text{H}^+$, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline (**Rosalki et al., 1993**).

8.6. Détermination de l'activité de lactate déshydrogénase (LDH)

La mesure de l'activité enzymatique de l'LDH est basée sur la réaction citée ci-dessous. Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité de LDH dans l'échantillon (**Pesce, 1984**).

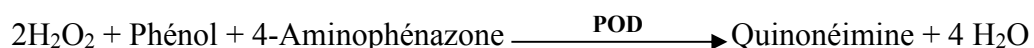
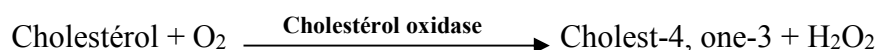
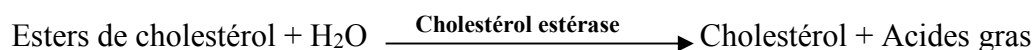


8.7. Dosage de la bilirubine directe et totale

La bilirubine est définie comme la quantité de pigment dans le sérum réagissant avec l'acide sulfanilique diazoté à pH acide pour produire l'azobilirubine quantifiable par spectrophotométrie. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon (**Kaplan et al., 1984^a**).

8.8. Dosage du cholestérol

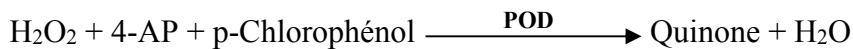
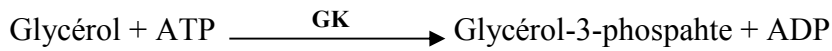
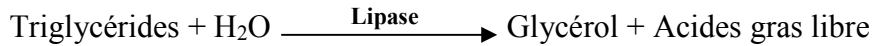
La concentration en cholestérol est déterminée par une réaction enzymatique selon la méthode de Naito (**1984**). Celle-ci consiste à hydrolyser les esters de cholestérol à l'aide de cholestérol estérase pour former du cholestérol et des acides gras non estérifiés.



8.9. Dosage des triglycérides (TG)

Les TG sont déterminés par une réaction enzymatique. Celle-ci consiste à hydrolyser les TG en glycérol et acides gras libres à l'aide d'une lipase. Ensuite, le glycérol est phosphorylé

par une glycérol kinase (GK) pour donner du glycérol-3-phosphate. Ce dernier est oxydé en dihydroxyacétone et en H₂O₂ par la glycérol- 3-phosphate oxydase. En présence de peroxydase, l'H₂O₂ se combine au 4-aminoantipyrine (4-AP) et au p-chlorophénol pour former de la quinonéimine, absorbant de 492 à 550 nm (**Kaplan et al., 1984^b**).



8.10. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines a été fait selon la méthode colorimétrique de Burtis (**Burtis et al., 1999**). 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.

8.11. Dosage d'albumine

Selon la méthode décrite par Webster (**1974**), 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.

8.12. Dosage de créatinine

Le dosage est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium. La créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon (**Murray, 1984^c**).

8.13. Dosage d'urée

L'urée est hydrolysée enzymatiquement à l'ammoniaque. Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte

dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée (**Kaplan, 1984^e**).

8.14. Dosage d'acide urique

L'acide urique est oxydé par l'uricase en allantoïne et peroxyde d'hydrogène qui, sous l'influence de la peroxydase, du 4-aminophénazone (4-AP), et du 2-4 dichlorophénol-sulfonate (DCPS), forme un composé rouge de quinonéimine dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon (**Schultz, 1984**).

9. Dosage des paramètres du stress oxydatif

9.1. Préparation de l'homogénat

L'évaluation du stress oxydatif a été réalisée dans les tissus hépatiques des rattes. Un gramme de foie des rattes des différents groupes étudiés a été broyé dans un tampon de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4). Après, une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours/min, 4°C, 15 min) a été procédée, 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.

9.2. Dosage des protéines tissulaires

Les concentrations hépatiques en protéines ont été déterminées selon la méthode décrite par Bradford (**1976**), on utilisant une solution de bleu de Coomassie, celui-ci réagit avec les groupements amines (-NH₂) 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).

Mode opératoire

- 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.

Les concentrations des protéines (mg/ml) sont déterminées à partir de la courbe

d'étalonnage obtenue avec le sérum bovine albumine BSA (1mg/ml) (annexe 2).

9.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

La détection du MDA issu 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 et 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 14). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

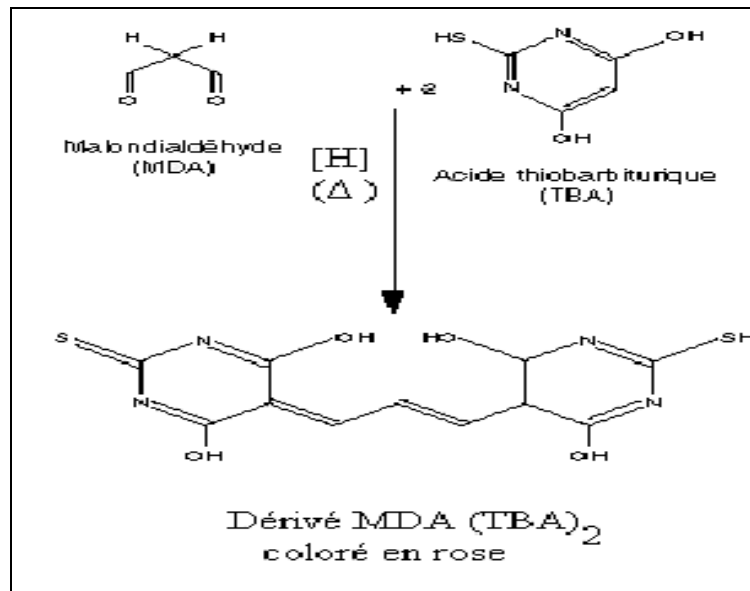


Figure 14 : Réaction de dialdéhydemalonique avec l'acide thiobarbiturique.

Mode opératoire

- Prélever 375 µl de l'homogénat.
- Ajouter 150 µl de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Ajouter 375 µl de solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%).
- 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 proportionnelle à la

quantité de MDA formée, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés.

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

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

- C : Concentration de MDA en nmol/mg de protéines.
- DO : Densité optique lue à 530 nm.
- E : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.
- L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm.
- X : Concentration d'échantillon en protéines (mg/ml).
- Fd : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.

9.4. Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode d'Ellman (1959) modifiée par Jollow et al. (1974). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique 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 15).

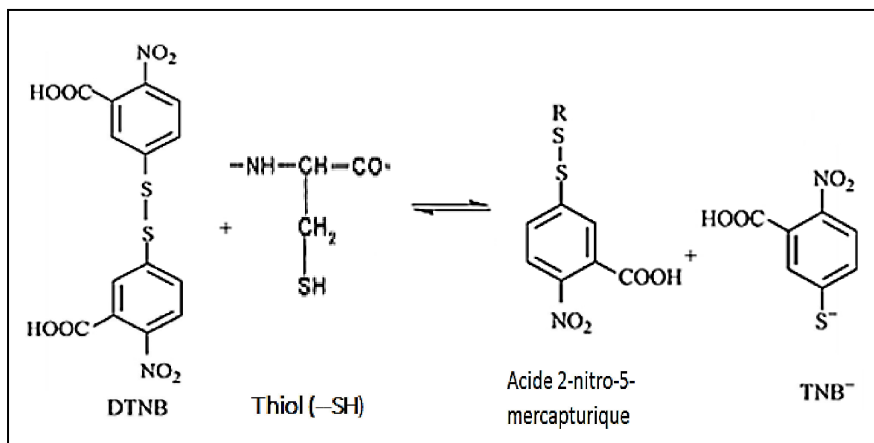


Figure 15 : Réaction d'Ellman

Mode opératoire

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

$$[\text{GSH}] \text{ (nmol GSH/mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13.100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéine}}$$

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

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

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



Mode opératoire

- Prélever 0.2 mL de l'homogénat.
- Ajouter 0.4 mL de GSH (0.1 mM).
- Ajouter 0.2 mL de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4).
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- Ajouter 0.2 mL de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 min.
- Ajouter 1 mL de TCA (1 %) pour arrêter la réaction.

- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 min.
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /min.
- Prélever 0.48 mL du surnageant.
- Ajouter 2.2 mL de la solution tampon TBS.
- Ajouter 0.32 mL de DTNB (1 mM)
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

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

$$Q = \frac{(\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}) \times 0.04}{\text{DO étalon}}$$

- Q : Quantité de GSH disparue (oxydée).
- DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.
- DO étalon : Densité optique de l'étalon.
- 0.04 : Concentration du substrat (GSH).

$$\text{L'activité de la GSH-Px } (\mu\text{mol GSH/min/mg protéine}) = \frac{Q \times 5}{\text{mg protéines}}$$

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

La mesure de l'activité des GSTs a été réalisée selon la méthode de Habig et al. (1974), celle-ci consiste à fournir à l'enzyme un substrat qui est le 1-chloro,2,4-dinitrobenzène (CDNB), ce dernier se conjugue facilement avec le glutathion sous l'action de nombreuses formes de GST. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle (GSH-CDNB) qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

Mode opératoire

La méthode consiste à faire agir les GSTs contenues 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 (0.1 M) pH 6.5	850	830
CDNB (0.02 M)	50	50
GSH (0.1 M)	100	100
Homogénat	-	20

L'activité enzymatique de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GST (nmol CDNB /min/mg protéine)} = \frac{(\text{DO échantillon/min} - \text{DO blanc/min})}{9.6 \times \text{mg protéines}}$$

- DO échantillon/min : Densité optique de l'échantillon par minute.
- DO blanc/min : Densité optique du blanc par minute.
- 9.6 : Coefficient d'extinction du GSH-CDNB exprimé en $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

9.7. Dosage de l'activité enzymatique de catalase (CAT)

La méthode d'Aebi (1984) est utilisée pour mesurer l'activité enzymatique de la CAT. La CAT catalyse la destruction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. L'activité de la CAT a été mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du H_2O_2 à une température d'incubation de 25 °C.

Mode opératoire :

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
Tampon phosphate (0.1 M) pH 7.5	800	780
H_2O_2 (0.5 M)	200	200
Homogénat (S9)	-	20

On note que :

- Le zéro de l'appareil est réalisé par le tampon phosphate.
- La quantité de l'homogénat (S9) doit être déterminée en fonction de la quantité de protéines qui doit être comprise entre 1 et 1.5 mg/mL, soit une quantité de 10 à 20 µL de S9 dilué.
- L'activité décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps de pipetage et le moment où on place la cuve au spectrophotomètre.

- La lecture de l'absorption se fait après 15 secondes de délai et durant 60 secondes de mesure.

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

$$\text{CAT } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{ min/ mg protéine}) = \frac{\Delta\text{DO}}{\varepsilon \cdot L \cdot X \cdot \text{Fd}}$$

- ΔDO : Variation de la densité optique par minutes.
- ε : Coefficient d'extinction du H_2O_2 ($0.04 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).
- L : Largeur de la cuve (1 cm).
- X : Quantité des protéines en mg/ml.
- Fd : Facteur de dilution du H_2O_2 dans le tampon (0.02).

9.8. Dosage de l'activité enzymatique de superoxyde dismutase (SOD)

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

Mode opératoire :

Réactifs	Blanc (μL)	Essai (μL)
Tampon EDTA sodium carbonate (0.05 M, pH 10.2)	970	970
Epinéphrine (30 mM)	20	20
Homogénat	10 μl TBS	10

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

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

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

- SOD (UI/ mg protéine) : quantité d'enzyme capable d'inhiber 50% d'auto-oxydation

d'épinéphrine/min.

- ΔDO : (ΔA échantillon/min - ΔA blanc/min) à 480 nm.
- ϵ : Coefficient d'extinction molaire d'épinéphrine ($4.2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{Cm}^{-1}$).
- L : 1 cm.
- X : Quantité des protéines (mg/ml).
- F_d : 100.

10. Etude histologique

La technique utilisée est celle décrite par Houlod (1984) qui comporte les étapes suivantes:

10.1. La fixation et l'incubation

Les pancréas, les foies et les reins, précédemment prélevés, ont été fixés dans une solution de formol à 10%. Après, les organes ont été coupés transversalement, placés dans des cassettes et plongés dans un fixateur.

10.2. La déshydratation

Les cassettes ont été déshydratées dans des bains d'éthanol à des degrés croissants (70° , 96° puis 100°) de 4, de 12 à 24 et de 2 à 4 heures chacune respectivement, et puis dans deux bains de butanol pendant 2 heures. Enfin, les tissus sont prêts pour leur inclusion dans la paraffine.

10.3. L'inclusion (l'imprégnation)

Cette étape a été faite par immersion des cassettes dans deux bains successifs de paraffine de 1h30 chacun à une température de 56°C .

10.4. Enrobage et confection des coupes

Les échantillons ont été délicatement retirés des cassettes puis mis dans des moules avant de les remplir de paraffine liquide. Après refroidissement de paraffine, les blocs ont été démoulés pour y être placés dans un microtome afin de confectionner des coupes d'environ 3 à $5 \mu\text{m}$. Par la suite, les coupes obtenues sont étalées sur des lames portes objet, dépliées et

fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

10.5. Déparaffinage-Hydratation

Les coupes doivent être déparaffinées-avant coloration- sont réhydratées en les plongeants dans des bains successifs de : Cyclohexane : 10 mn × 2 (éthanol à 95°, 5 mn), (éthanol à 70°, 1min), puis lavées à l'eau courante.

10.6. Coloration et montage des coupes

Afin de pouvoir observer au microscope optique la structure morphologique de nos échantillons, les lames ont été colorées à l'hématoxyline-éosine, permettant de faire apparaître les noyaux et le cytoplasme des cellules.

11. Traitement statistique des résultats

L'étude statistique a été réalisée avec le logiciel Graph Pad Prism 7. Une analyse de variance a été faite par un test One-Way ANOVA suivi par un test *t-student*. Les résultats sont exprimés par la moyenne ± SEM et en comparant les différents groupes où:

- a : comparaison de groupe DAZ vs le groupe ND,
- b : comparaison de groupe DCZ vs le groupe DAZ,
- c : comparaison de groupe DCZ vs les groupes DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur.

Les différences sont considérées comme :

- (a, b, c) significative lorsque ($p < 0.05$),
- (a^1 , b^1 , c^1) hautement significative lorsque ($p < 0.01$),
- (a^2 , b^2 , c^2) très hautement significative lorsque ($p < 0.001$).

Partie pratique

[Résultats]

1. Suivi de l'évolution du poids corporel et de la consommation alimentaire des animaux au cours du traitement

Le tableau 3 et les figures 16 et 17 représentent les variations du poids corporel et de la consommation alimentaire de différents groupes. Les résultats obtenus montrent une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du poids corporel des rattes diabétiques sous un régime alimentaire adéquat en zinc en comparaison avec le groupe non-diabétique. En revanche, une augmentation de la prise alimentaire a été constatée chez ce groupe ($p < 0.001$).

De même, la déficience en zinc a entraîné une chute pondérale considérable ($p < 0.01$) associée à une diminution de la prise alimentaire ($p < 0.05$).

De manière intéressante, la supplémentation en gingembre, en curcuma ou en combinaison chez les groupes DCZ a augmenté le poids corporel significativement ($p < 0.001$, $p < 0.05$ et $p < 0.01$) respectivement. Egalement, la prise alimentaire a enregistré une amélioration significative chez les groupes supplémentés en gingembre et en curcuma ($p < 0.01$, $p < 0.05$) respectivement.

Tableau 3 : Effet du traitement sur la croissance corporelle chez les groupes : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Gg), (DCZ+Cur) et (DCZ+Gg+Cur).

Groupes	Poids corporel initial (g)	Poids corporel final (g)
ND	199.44 ± 3.57	215.75 ± 3.88
DAZ	204.22 ± 4.61	173 ± 4.31 ^{a2}
DCZ	195.66 ± 2.98	154.56 ± 4.43 ^{b1}
DCZ+Gg	196.44 ± 3.07	177.78 ± 2.87 ^{c2}
DCZ+Cur	192.89 ± 4.25	173.33 ± 5.01 ^c
DCZ+Gg+Cur	195.56 ± 5.11	182 ± 5.37 ^{c1}

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

ND vs DAZ: ^{a2} $p < 0.001$;

DAZ vs DCZ: ^{b1} $p < 0.01$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur: ^c $p < 0.05$, ^{c1} $p < 0.01$, ^{c2} $p < 0.001$.

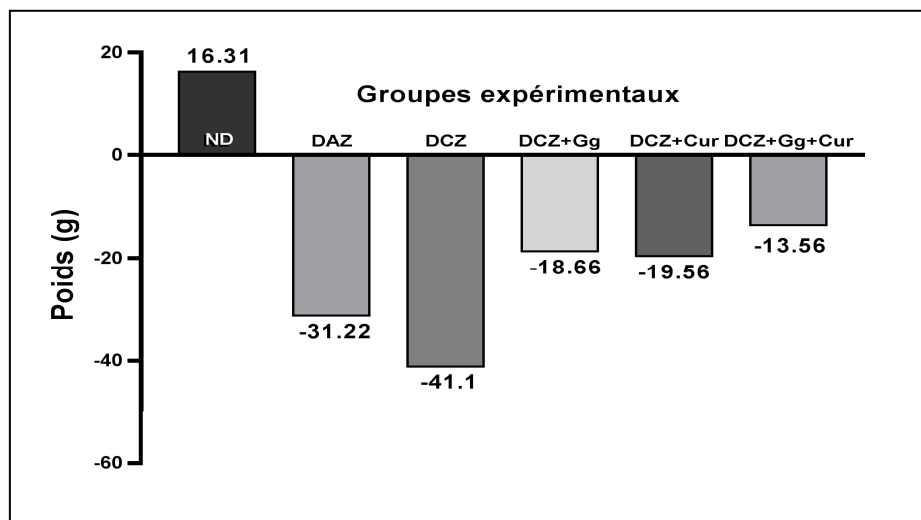


Figure 16 : Perte du poids corporel des groupes à la fin de traitement.

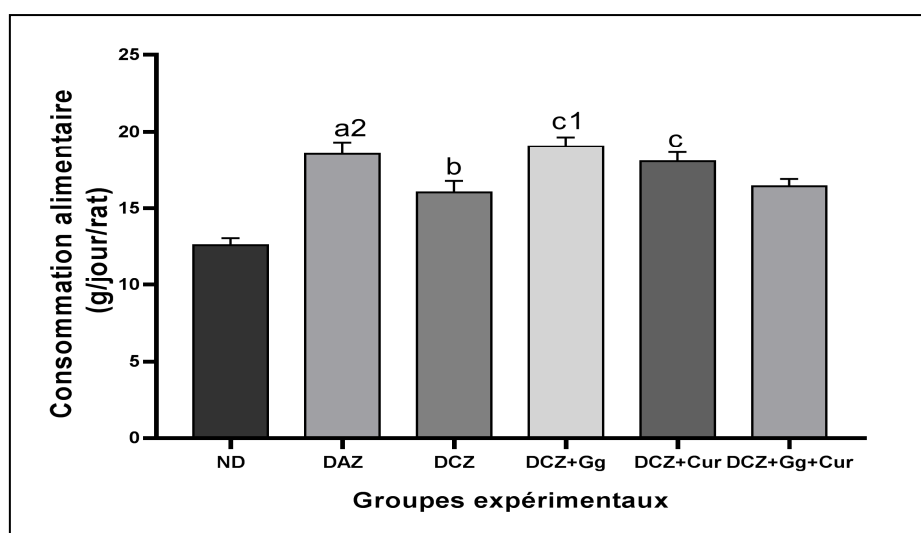


Figure 17 : Variation de la consommation alimentaire chez les groupes étudiés.

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

ND vs DAZ : $a^2p < 0.001$;

DAZ vs DCZ : $b^1p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : $c^1p < 0.05$, $c^1p < 0.01$.

2. Effet du traitement sur le métabolisme des rattes de différents groupes étudiés

2.1. Sur le métabolisme glucidique

Les résultats de dosage des paramètres glucidiques sont présentés dans le tableau 4 et les figures 18 et 19. Les rattes diabétiques soumis à un régime adéquat en zinc ont présenté une augmentation de la glycémie à jeun, tandis que la concentration d’insuline a diminué. Les différences constatées sont significatives ($p < 0.01$, $p < 0.05$) respectivement en comparaison avec les rats non diabétiques.

On a constaté également que la déficience en zinc a provoqué une légère augmentation de la glycémie des rattes diabétiques et même une diminution de concentration d’insuline qui est statistiquement non significative en comparaison avec le groupe DAZ.

Cependant, le traitement des rats DCZ avec le gingembre, le curcuma ou avec leur combinaison a induit des améliorations de ces paramètres, que se traduit par une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de taux de la glycémie sérique chez tous les groupes traités en comparaison avec le groupe DCZ. Ainsi, la baisse de la glycémie est accompagnée d’une augmentation de la concentration de l’insuline sérique des groupes traités par le gingembre et par le curcuma ($p < 0.05$).

Tableau 4 : Effet du traitement sur la glycémie à jeun chez les groupes : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Gg), (DCZ+Cur) et (DCZ+Gg+Cur).

Groupes	Glycémie (mg/dl) Jour 1	Glycémie (mg/dl) Jour 28
ND	90.2 ± 3.39	91.6 ± 2.01
DAZ	236.8 ± 23.1	384 ± 69.17 ^{a1}
DCZ	235.4 ± 9.96	389.6 ± 42.25
DCZ+Gg	269 ± 22.7	126.16 ± 11.16 ^{c2}
DCZ+Cur	224.6 ± 35.63	144.8 ± 17.9 ^{c2}
DCZ+Gg+Cur	332.83 ± 37.43	138.33 ± 16.1 ^{c2}

Les valeurs sont présentées en moyenne ± SEM. Comparaisons faites entre les groupes:

ND vs DAZ : ^{a1} $p < 0.01$;

DCZ vs DCZ Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^{c2} $p < 0.001$.

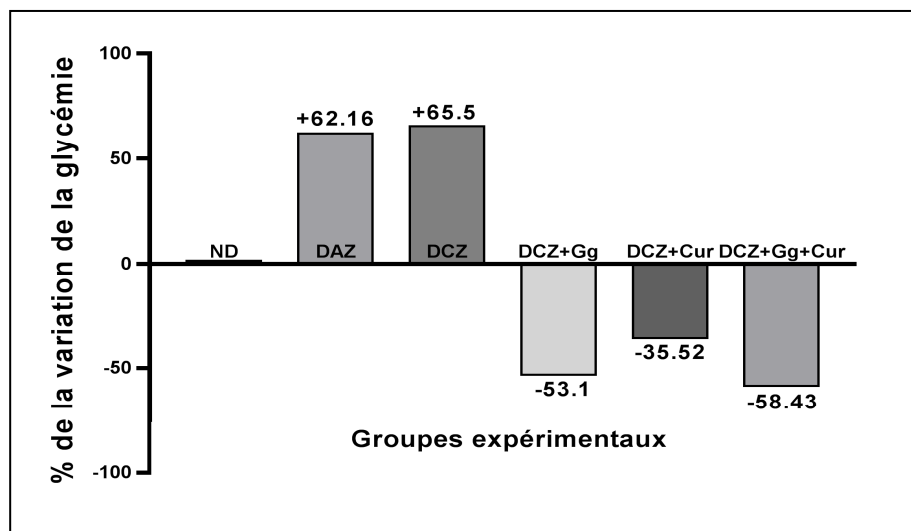


Figure 18 : Pourcentage de variation de la glycémie chez les groupes étudiés.

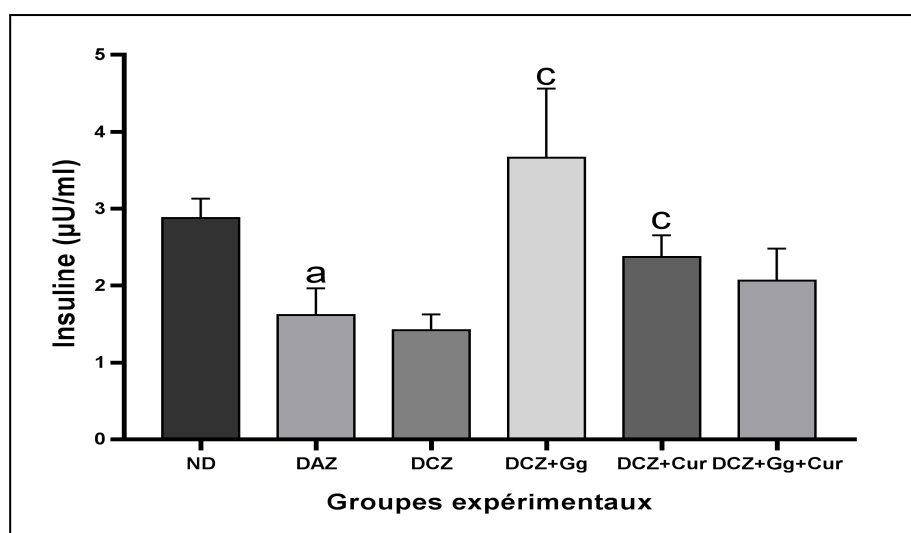


Figure 19 : Concentration sérique de l'insuline chez les groupes étudiés.

Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM. Comparaisons faites entre les groupes :

ND vs DAZ : ^a $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$.

2.2. Sur le métabolisme lipidique

Les résultats de dosage du bilan lipidique indiquent une perturbation métabolique importante illustrée par une augmentation significative de taux de cholestérol ($p < 0.05$) et de triglycérides ($p < 0.001$) chez les rattes diabétiques soumis à un régime alimentaire adéquat en zinc en comparaison avec les rattes non-diabétiques, alors que les rattes diabétiques carencées en zinc ont enregistré un taux très élevé de triglycérides ($p < 0.05$) par rapport à celles qui sont sous un régime adéquat en zinc (Figures 20 et 21).

L'administration du gingembre aux rattes diabétiques carencées en zinc, a rétabli le taux de cholestérol ($p < 0.05$) et de triglycérides ($p < 0.001$) par rapport au groupe (DCZ), tandis que le curcuma a rétabli seulement le taux de triglycérides ($p < 0.01$).

En revanche, l'administration du gingembre et du curcuma en combinaison aux rattes diabétiques carencées en zinc, a rétabli ces paramètres mentionnés ci-dessus ($p < 0.05$, $p < 0.001$) respectivement.

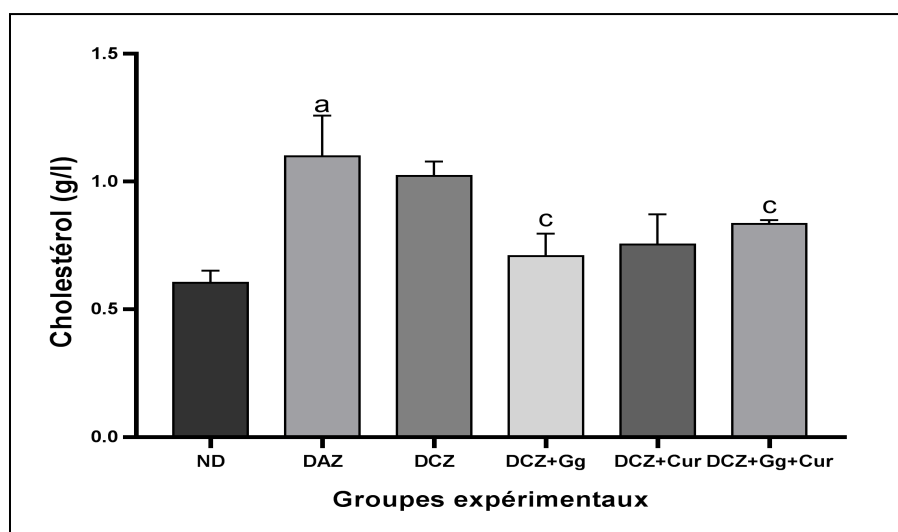


Figure 20 : Concentration sérique de cholestérol chez les groupes étudiés.

Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM et les comparaisons faites entre les groupes:
 ND vs DAZ : ^a $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur: ^c $p < 0.05$.

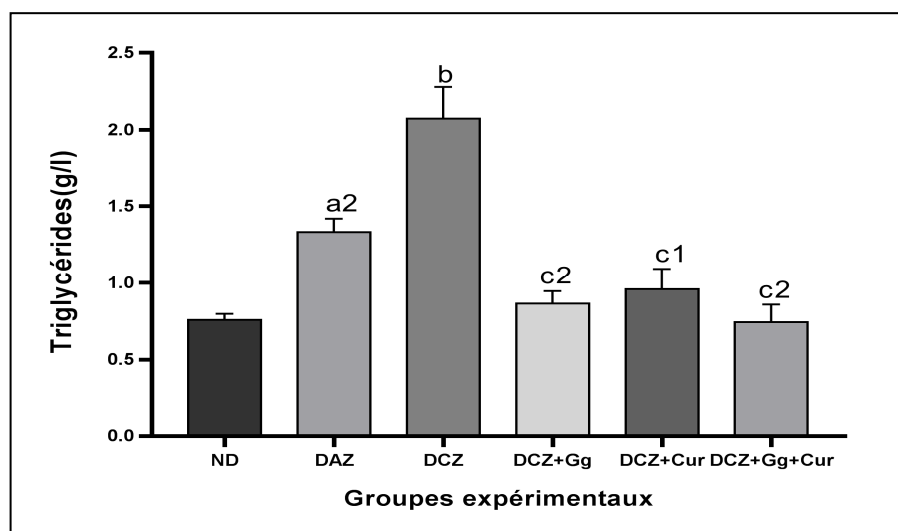


Figure 21 : Concentration sérique de triglycérides chez les groupes étudiés.

Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM et les comparaisons faites entre les groupes : ND vs DAZ : $a^2p < 0.001$;

DAZ vs DCZ : $b^1p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : $c^1p < 0.01$, $c^2p < 0.001$.

2.3. Sur l'activité des transaminases (ASAT et ALAT) et le taux de la bilirubine chez les groupes : (ND), (DAZ), (DCZ), (DCZ+Gg), (DCZ+Cur) et (DCZ+Gg+Cur).

En comparaison avec le groupe non-diabétique, le diabète était à l'origine des perturbations de biomarqueurs hépatiques, l'activité de l'ALAT, le taux de la bilirubine totale et de la bilirubine directe ont augmenté significativement ($p < 0.05$) sous l'effet de diabète chez les rattes nourris avec le régime adéquat en zinc. Egalement, on a constaté une augmentation dans l'activité de l'ASAT, mais reste non significative.

En plus, le taux de la bilirubine totale a augmenté d'une façon plus marquée ($p < 0.05$) chez les rattes diabétiques carencées en zinc en comparaison avec le groupe DAZ. Tandis que l'activité de l'ALAT, l'ASAT et le taux de la bilirubine directe ont également augmenté mais non significativement.

La supplémentation en gingembre ou en curcuma dans l'alimentation de groupe DCZ a rétabli certains de ces paramètres étudiés ($p < 0.05$, $p < 0.01$ et $p < 0.001$), par contre, le traitement de groupe DCZ avec le gingembre en synergie avec le curcuma a montré une efficacité remarquable, traduite par l'abaissement des taux de tous ces paramètres ($p < 0.05$) et les remis proche à la valeur normale de groupe non-diabétique (Figures 22 et 23).

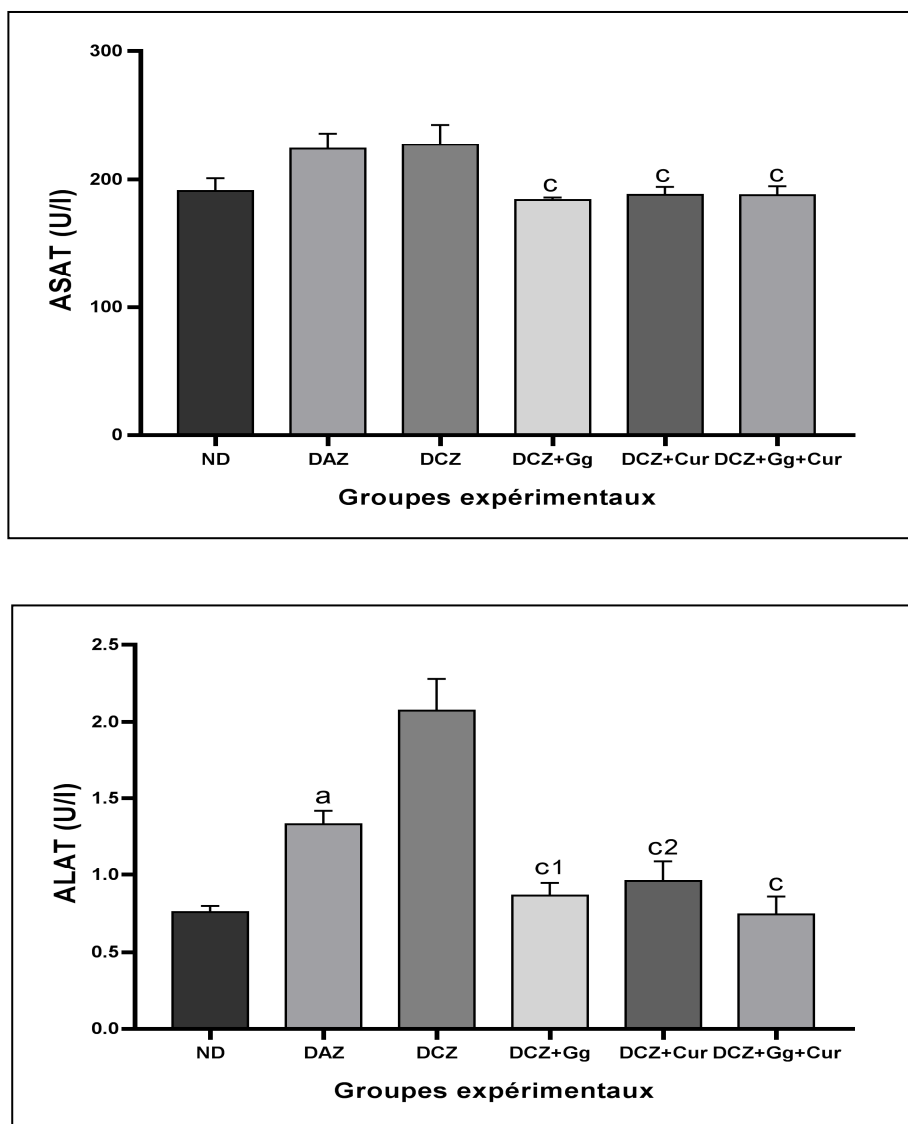


Figure 22 : Variation de l'activité des enzymes ASAT et ALAT chez les groupes étudiés.

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

ND vs DAZ: ^a $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur: ^c $p < 0.05$, ^{c1} $p < 0.01$, ^{c2} $p < 0.001$.

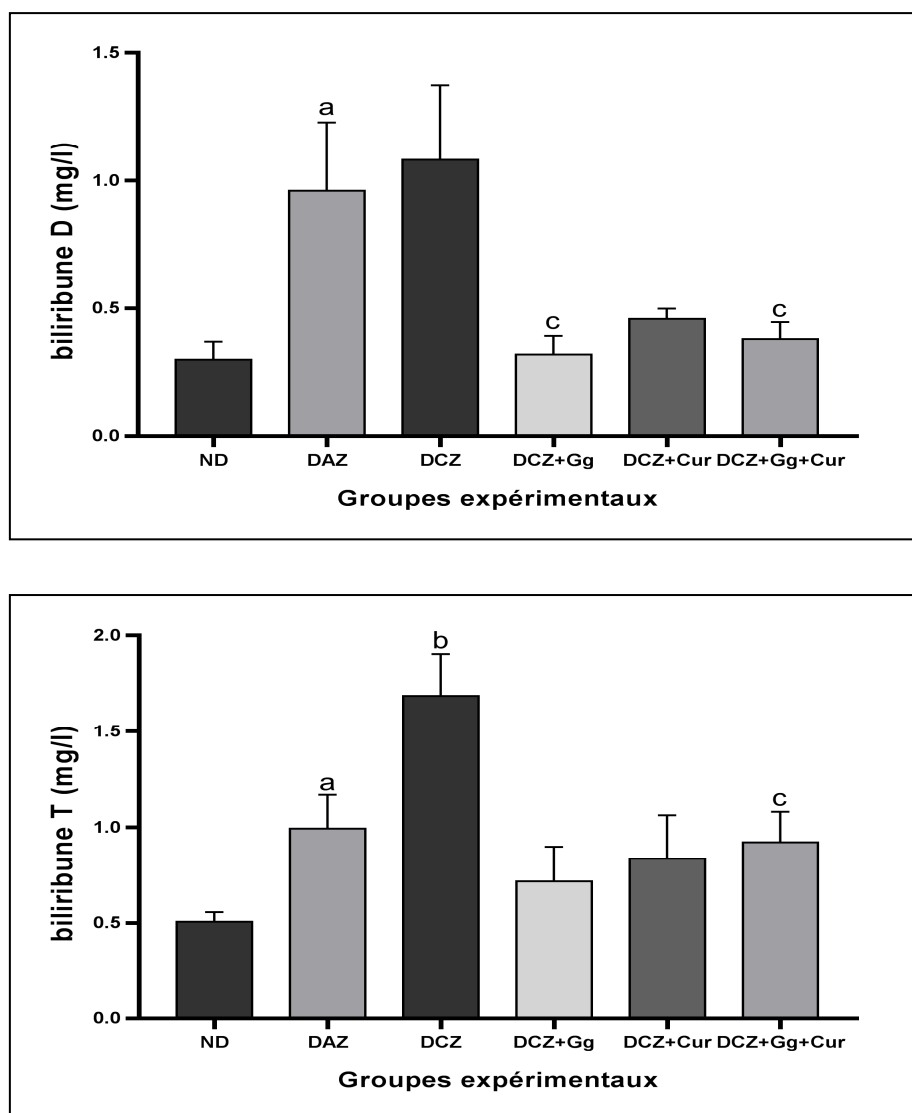


Figure 23 : Variation de concentrations de bilirubine totale et directe chez les groupes étudiés.

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

ND vs DAZ : ^a $p < 0.05$;

DAZ vs DCZ : ^b $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$.

2.4. Sur le métabolisme protéique

Après 4 semaines de traitement, les résultats ont montré que la concentration des protéines totales et de l'albumine sérique a significativement diminué ($p < 0.01$) chez le groupe diabétique soumis à un régime adéquat en zinc comparativement au groupe non-diabétique. Cependant, ces désordres protéiques sont associés à une augmentation significative de taux sérique d'urée ($p < 0.05$), ainsi, une augmentation similaire de taux de créatinine et d'acide urique a été observée, mais elle n'était pas significative.

De plus, la déficience en zinc chez les rattes diabétiques a apporté une réduction plus importante dans le taux des protéines totales ($p < 0.05$) et de l'albumine sérique ($p < 0.01$). Cependant, cette baisse du profil protéique est associée à une augmentation de taux de créatinine ($p < 0.001$). Ces différences constatées sont significatives en comparaison avec le groupe DAZ.

Les rattes diabétiques de groupe DCZ recevant de gingembre, de curcuma seule ou en combinaison ont montré des améliorations importantes dans le profil protéique, représentées par une augmentation significative de taux des protéines totales et de d'albumine chez tous les groupes traités, ainsi une réduction significative de taux de créatinine, d'urée et d'acide urique est enregistrée (Figures 24, 25, 26, 27 et 28).

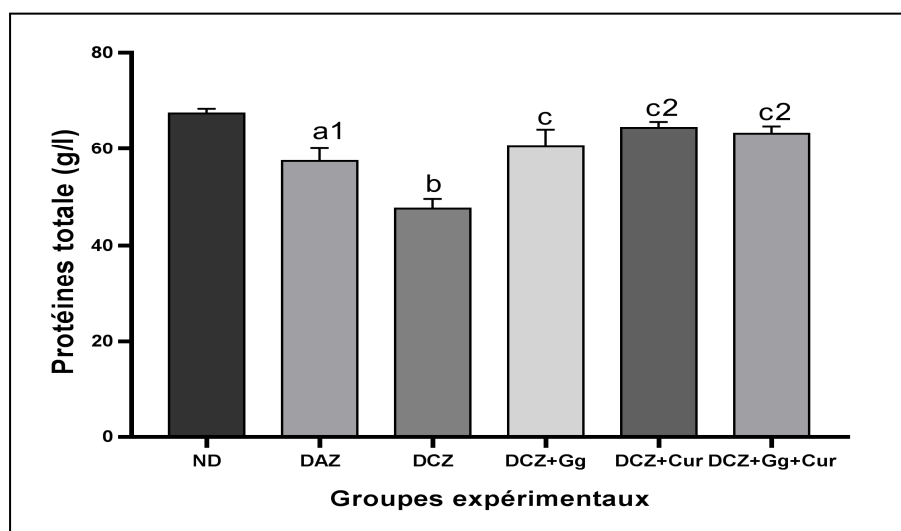


Figure 24 : Concentration sérique des protéines totales chez les groupes étudiés.

Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM et les comparaisons faites entre les groupes :
 ND vs DAZ : ^{a1} $p < 0.01$;

DAZ vs DCZ : ^b $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$, ^{c2} $p < 0.001$

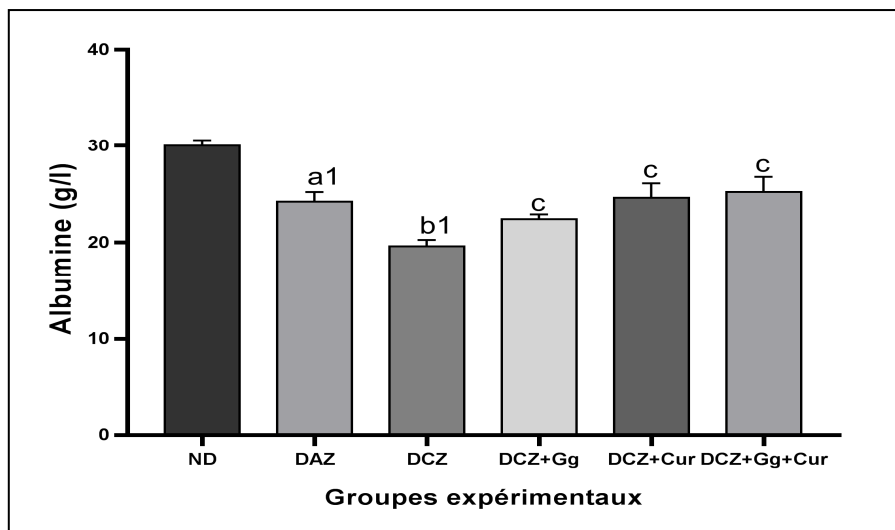


Figure 25 : Concentration sérique d'albumine chez les groupes étudiés.

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

ND vs DAZ : ^{a1} $p < 0.01$;

DAZ vs DCZ : ^{b1} $p < 0.01$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$.

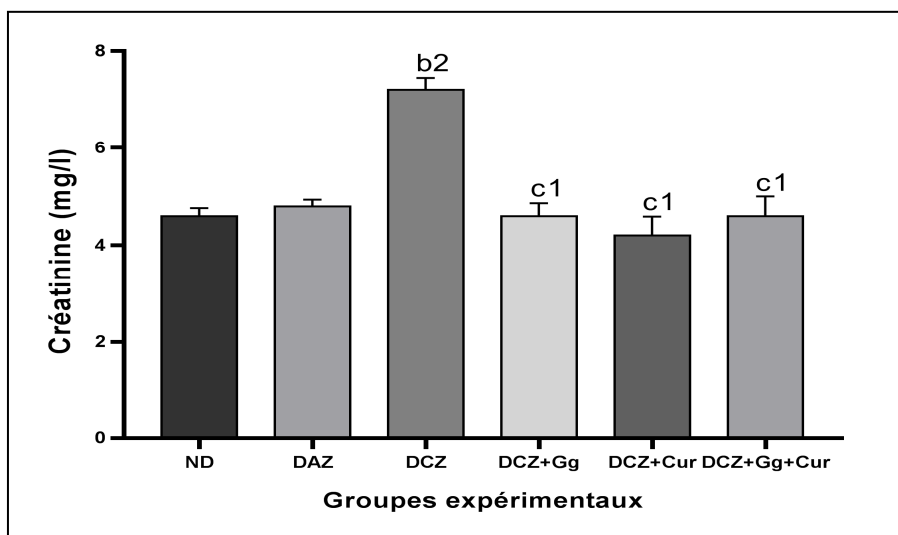


Figure 26 : Concentration sérique de créatinine chez les groupes étudiés.

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

DAZ vs DCZ : ^{b2} $p < 0.001$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^{c1} $p < 0.01$.

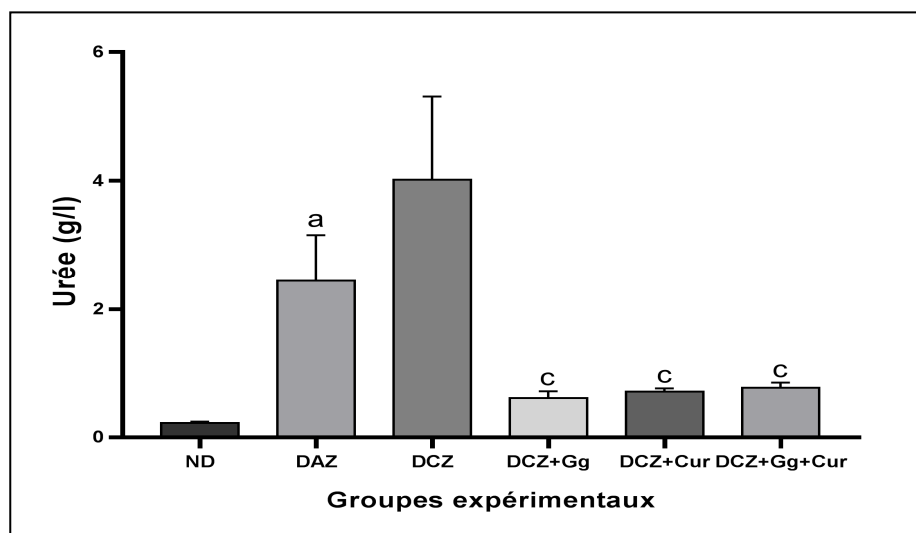


Figure 27 : Concentration sérique d'urée chez les groupes étudiés.

Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM et les comparaisons faites entre les groupes :
 ND vs DAZ : ^a $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$.

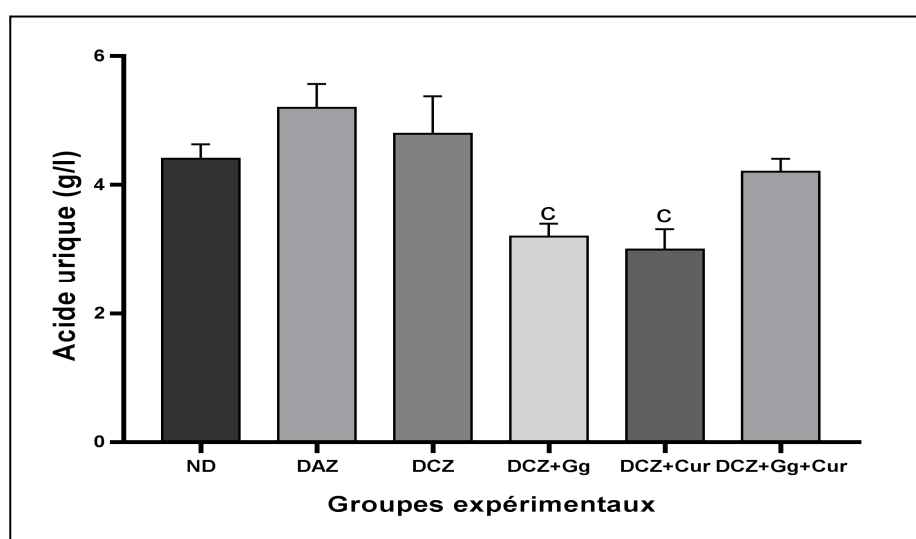


Figure 28 : Concentration sérique d'acide urique chez les groupes étudiés.

Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM et les comparaisons faites entre les groupes :
 DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$.

3. Effet du traitement sur le statut du zinc et les enzymes dépendantes au zinc chez les rats de différents groupes étudiés

3.1. Sur le statut du zinc

A l'issue de 4^{ème} semaine de traitement, les rattes diabétiques soumis à un régime adéquat en zinc ont enregistré une réduction significative ($p < 0.05$) de concentration du zinc dans le fémur comparativement au groupe non-diabétique. De même, une réduction similaire de concentration du zinc hépatique est observée chez le même groupe, mais elle reste statistiquement non significative.

Pour les rattes diabétiques carencées en zinc, la concentration de zinc hépatique présente une diminution importante ($p < 0.01$). Parallèlement, une légère diminution de concentration de zinc dans le fémur est observée, qui reste statistiquement non significative.

La concentration de zinc dans le foie et dans le fémur est restaurée chez les rattes diabétiques carencées en zinc et traités avec le gingembre ($p < 0.05$, $p < 0.001$) respectivement. De même, le traitement avec le curcuma a apporté des améliorations dans la concentration de zinc dans les organes mentionnés ci-dessus ($p < 0.01$, $p < 0.05$) (figures 29 et 30).

Par ailleurs, les rattes traitées par l'ensemble de ces épices ont enregistré une augmentation significative du zinc hépatique ($p < 0.01$), tandis que celle de fémur est augmenté mais non significativement.

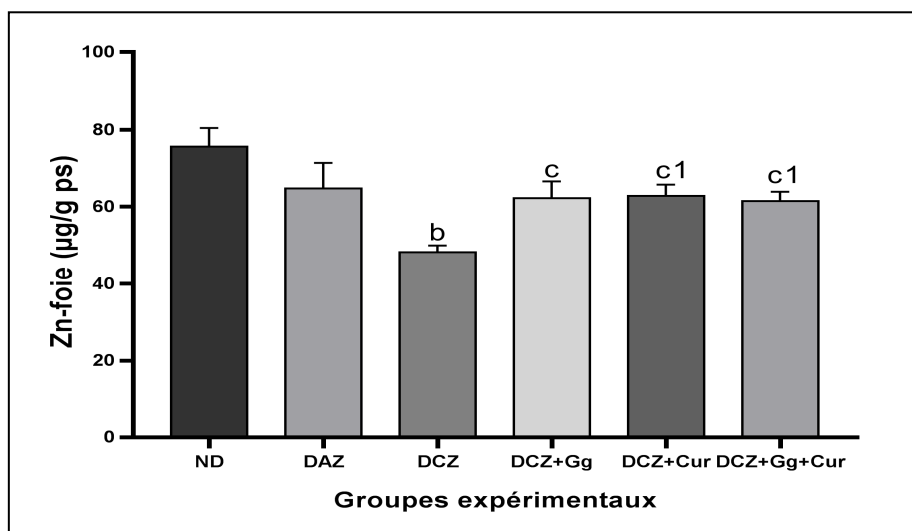


Figure 29 : Concentration de zinc dans le foie des groupes étudiés.

Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM et les comparaisons faites entre les groupes :
 DAZ vs DCZ : ^b $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$, ^{c1} $p < 0.01$.

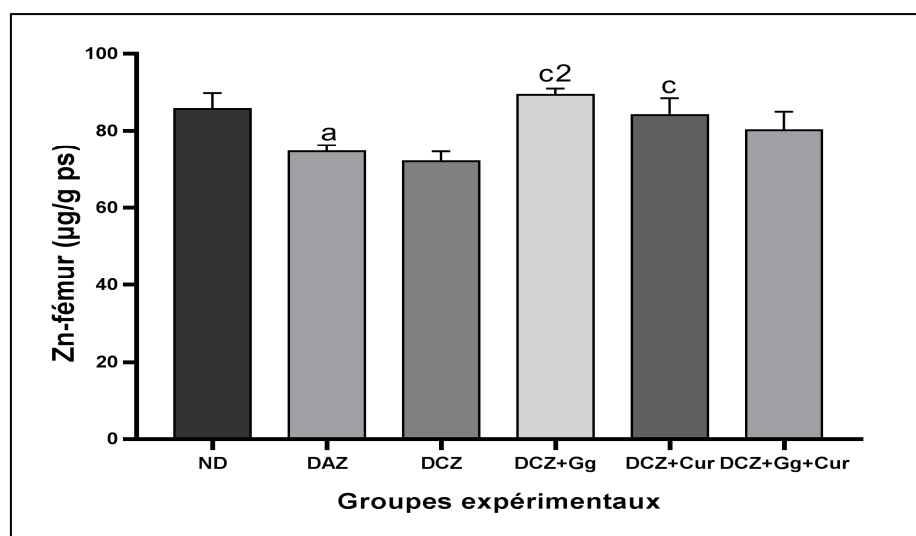


Figure 30 : Concentration de zinc dans le fémur des groupes étudiés.

Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM et les comparaisons faites entre les groupes :
 ND vs DAZ : ^a $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$, ^{c2} $p < 0.001$.

3.2. Sur l'activité des enzymes dépendantes au zinc

L'activité des enzymes à zinc phosphatase alcaline (PAL) et lactate déshydrogénase (LDH) est présentée dans les figures 31 et 32.

Comparativement aux rattes non diabétiques, le diabète n'a pas modifié de manière significative l'activité de ces enzymes.

En revanche, l'activité de PAL et celle de LDH a réduit de façon significative chez les rattes diabétiques carencées en zinc ($p < 0.01$, $p < 0.05$) respectivement comparativement à celles soumis à un régime alimentaire adéquat en zinc.

Cependant, la supplémentation en gingembre et en curcuma dans l'alimentation des groupes DCZ a restauré l'activité de ces enzymes presque à l'état normal. Cette amélioration est statistiquement significative ($p < 0.05$, $p < 0.01$).

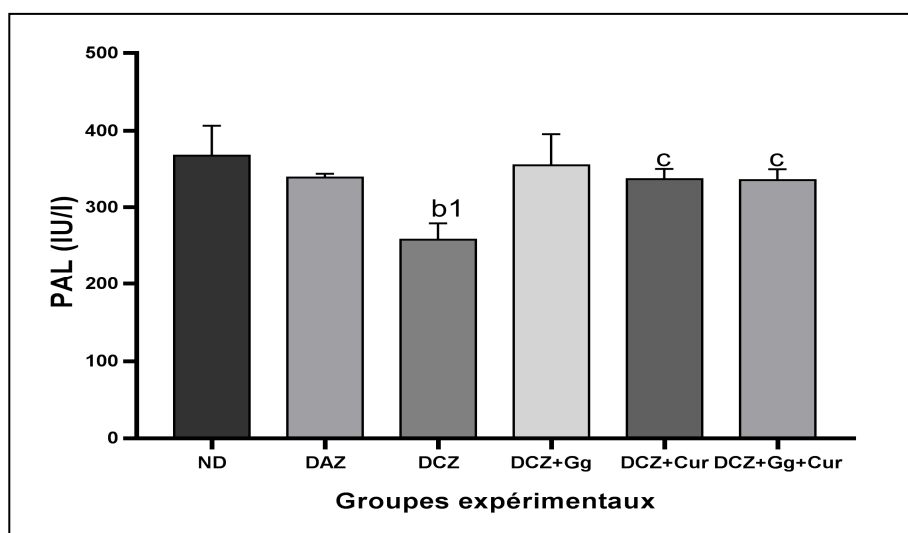


Figure 31 : Variation de l'activité enzymatique de PAL chez les groupes étudiés.

Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM et les comparaisons faites entre les groupes : DAZ vs DCZ : ^{b1} $p < 0.01$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$.

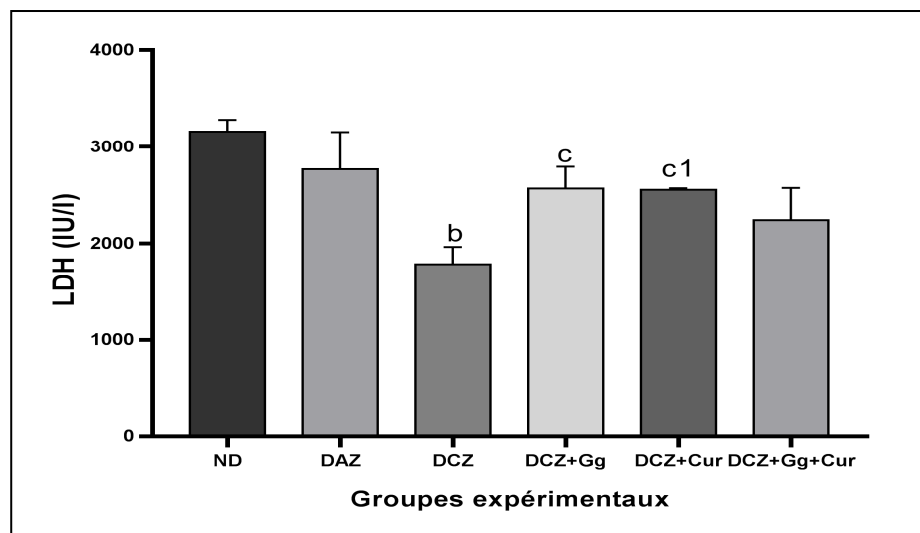


Figure 32 : Variation de l'activité enzymatique de LDH chez les groupes étudiés.

Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM et les comparaisons faites entre les groupes : DAZ vs DCZ : ^b $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$, ^{c1} $p < 0.01$.

4. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydatif chez les rattes de différents groupes étudiés

4.1. Concentration de malondialdéhyde (MDA) et de glutathion réduit (GSH)

Dans la présente étude, le stress oxydatif a induit une augmentation significative du taux de peroxydation lipidique (MDA) ($p < 0.05$) chez les rattes diabétiques soumis à un régime alimentaire suffisant en zinc par rapport au groupe non-diabétiques. De même, la concentration de glutathion réduit a diminué significativement ($p < 0.01$) chez ce groupe (Figure 33 et 34).

Par ailleurs, on a constaté chez les rattes diabétiques carencées en zinc une augmentation de taux de MDA et une diminution de concentration de GSH par rapport au groupe DAZ, ces constatations n'étaient pas significatives.

Par contre, un effet positif et significatif est noté chez les rats diabétiques DCZ des groupes supplémentés en gingembre et en curcuma ($p < 0.05$). Cette amélioration est plus importante chez les rattes supplémentées en gingembre et en curcuma à la fois ($p < 0.01$).

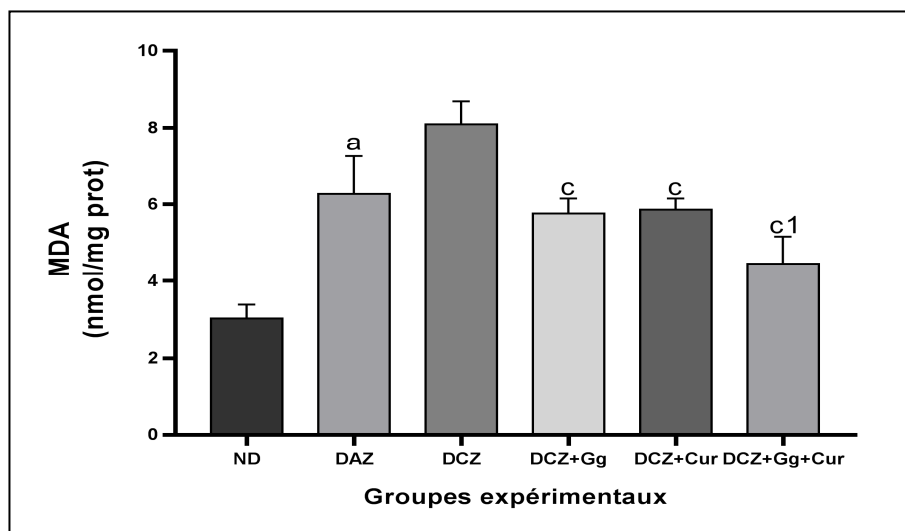


Figure 33 : Concentration hépatique de MDA chez les groupes étudiés.

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

ND vs DAZ : ^a $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$, ^{c1} $p < 0.01$.

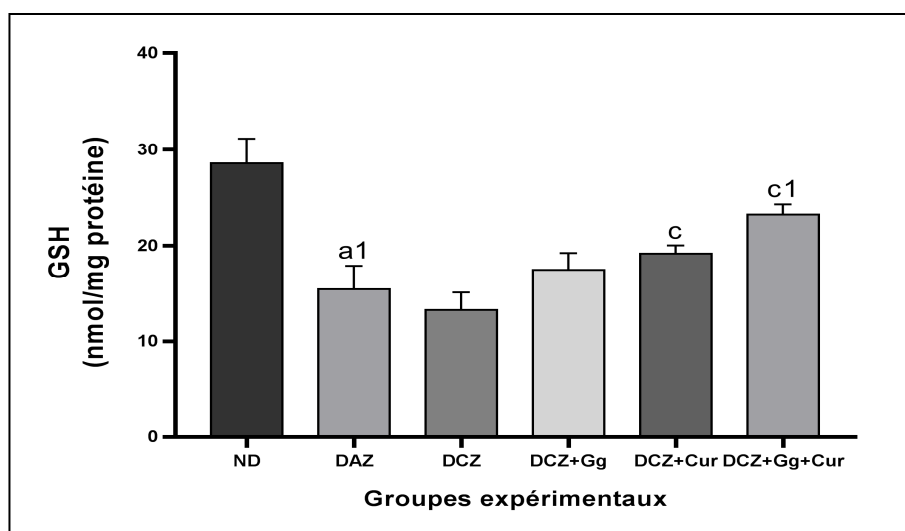


Figure 34 : Concentration hépatique de GSH chez les groupes étudiés.

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

ND vs DAZ : ^{a1} $p < 0.01$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur et DCZ+Gg+Cur : ^c $p < 0.05$, ^{c1} $p < 0.01$.

4.2. L'activité enzymatique de GSH-Px, de GST, de catalase et de SOD

L'activité des enzymes impliquées dans le système de défense antioxydant est illustrée dans les figures 35 et 36.

Cependant, une diminution considérable et significative dans l'activité de glutathion peroxydase (GSH-Px) ($p < 0,05$), de glutathion-S-Transférase (GST) ($p < 0,01$), de catalase (CAT) ($p < 0,01$) et celle de superoxyde dismutase (SOD) ($p < 0,05$) est observée chez le groupe diabétique sous un régime suffisant en zinc en comparaison avec le groupe témoin non diabétique.

L'activité de GSH-Px et de catalase a diminué de façon significative ($p < 0,05$) sous l'effet de la carence en zinc chez les animaux diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport aux animaux sous une alimentation adéquate en zinc. Parallèlement, une réduction similaire dans l'activité des autres enzymes telles que la GST et la SOD est notée. Cette réduction est statistiquement non significative.

Cependant, une amélioration positive est enregistrée chez les rattes diabétiques DCZ supplémentées en gingembre, cette amélioration se traduit par une augmentation significative de l'activité de catalase ($p < 0,05$) et hautement significative ($p < 0,01$) de celle de la GSH-Px et de la SOD. Le curcuma semble aussi avoir un effet positif qui se traduit par une augmentation significative ($p < 0,05$) dans l'activité des enzymes GSH-Px et GST et hautement significative ($p < 0,01$) de CAT et de SOD.

En effet, le traitement du groupe DCZ avec le gingembre en synergie avec le curcuma a relevé un potentiel antioxydant important, traduit par une augmentation hautement significative dans l'activité des enzymes mentionnées sur- le dessus ($p < 0,01$) et les remis proches aux valeurs du groupe non-diabétique.

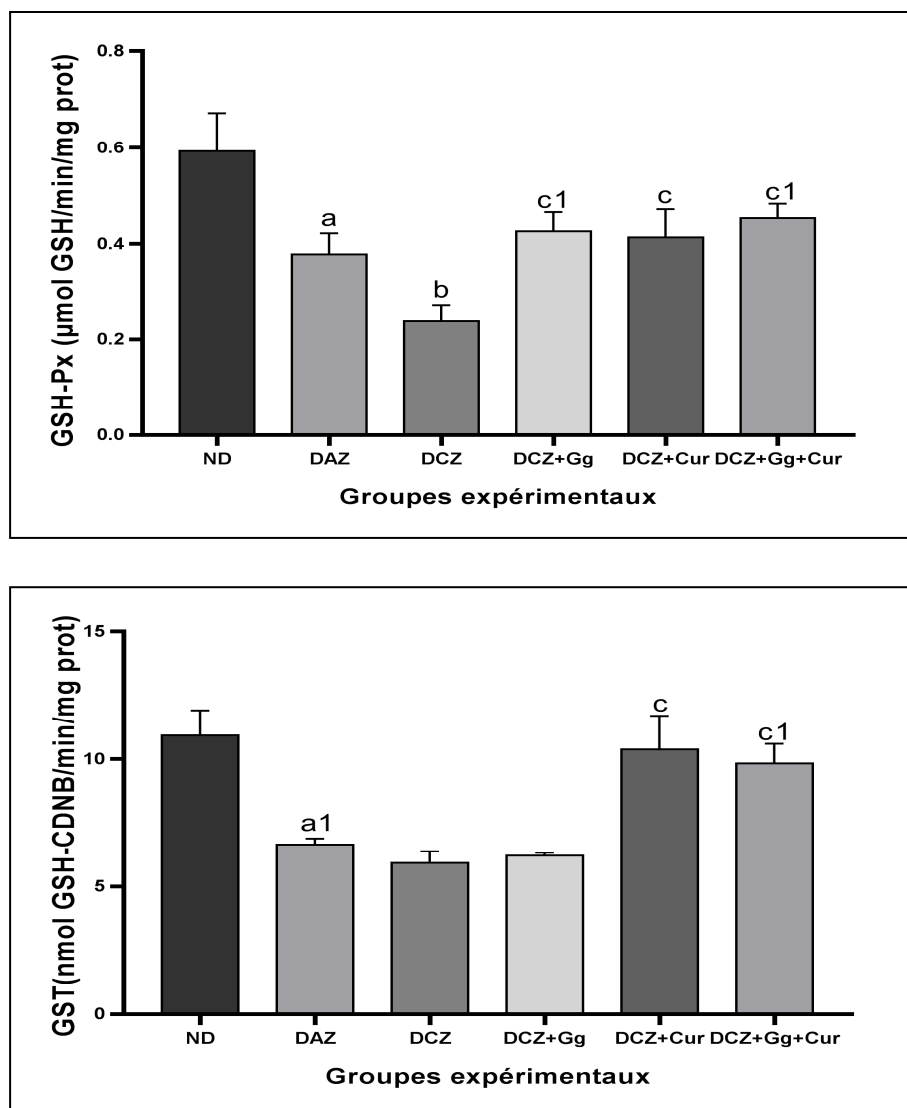


Figure 35 : Activité de GSH-Px et de GST hépatiques chez les groupes étudiés.

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

ND vs DAZ : ^a $p < 0.05$, ^{a1} $p < 0.01$;

DAZ vs DCZ : ^b $p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur : ^c $p < 0.05$, ^{c1} $p < 0.01$.

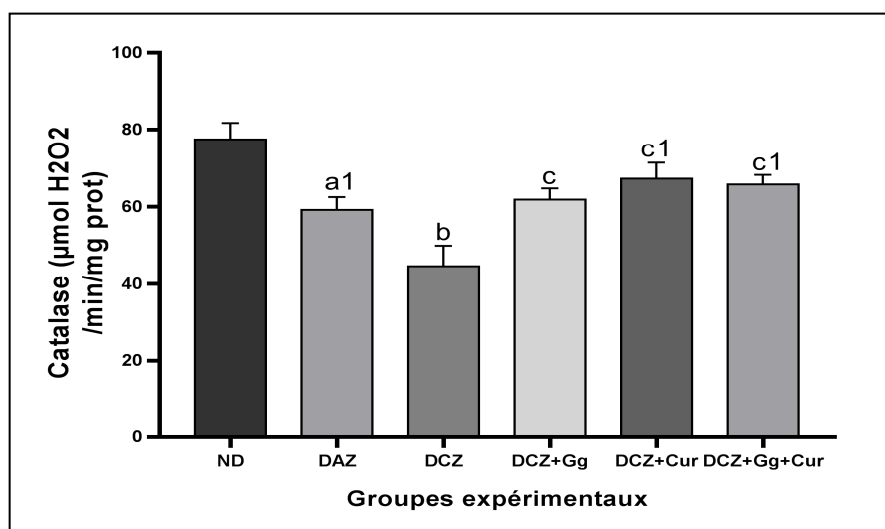
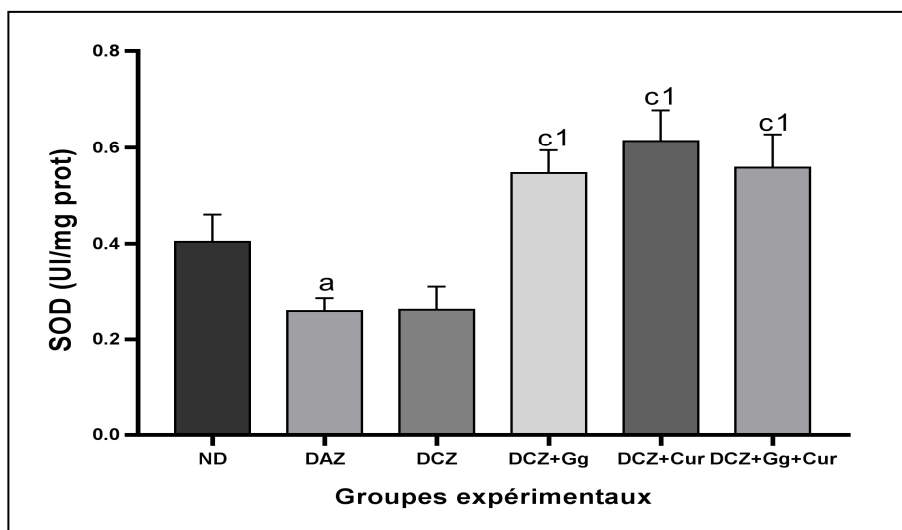


Figure 36 : Activité de SOD et de catalase hépatiques chez les groupes étudiés.

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

ND vs DAZ : $^a p < 0.05$, $^{a1} p < 0.01$;

DAZ vs DCZ : $^b p < 0.05$;

DCZ vs DCZ+Gg, DCZ+Cur : $^c p < 0.05$, $^{c1} p < 0.01$.

5. Etude histologique

5.1. L'effet du traitement sur l'histologie de pancréas

La figure 37 (A-F) illustre l'examen histopathologique du pancréas des groupes étudiés. L'observation du pancréas des rattes non-diabétiques a montré une structure pancréatique normal contenant des îlots de Langerhans de forme ovoïde et de taille normale (figure 37A). Cependant, les rats diabétiques nourris avec un régime alimentaire adéquat zinc ont révélé une réduction de la taille des îlots de Langerhans (figure 37B). Tandis que, plus d'anomalies histopathologies ont été observées chez les rattes diabétiques carencées en zinc. Les îlots de Langerhans sont perdus, ainsi, des lésions acineuses et un épaissement des septa ont été également observés (figure 37C). Par contre, la plupart de ces lésions observées ont été réduit chez les groupes diabétiques carencés en zinc et traités par le gingembre, le curcuma ou par leur combinaison. Les îlots de Langerhans sont restaurés, de plus, moins d'anomalies atrophiques des cellules acineuses ont été observées (Figures 37D, E et F).

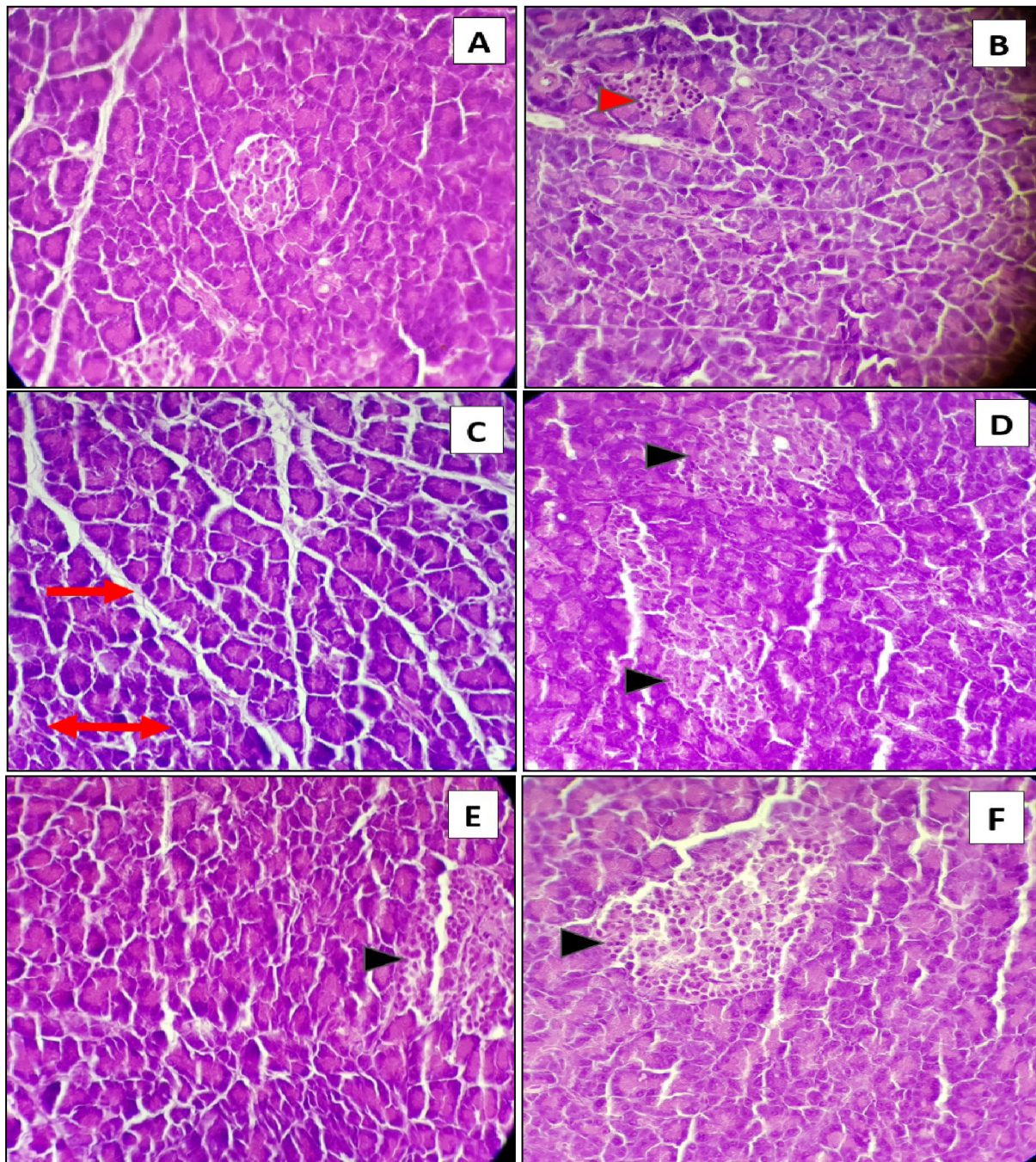


Figure 37 (A-F) : Effet du traitement sur l'histologie du pancréas des groupes étudiés.

A: coupe de pancréas du groupe non-diabétique montre une architecture pancréatique normale. **B:** coupe de pancréas du groupe diabétique (DAZ) présente une taille réduite des îlots de Langerhans (▶). **C:** coupe de pancréas du groupe diabétique (DCZ) présente une perte totale des cellules β , des lésions acineuses (↔) et un épaissement des septa (→). **D, E** et **F:** coupes de pancréas des groupes diabétiques (DCZ) traités par le gingembre, le curcuma ou par leur combinaison respectivement, illustrent une restauration des îlots de Langerhans (▶) et une diminution des dommages causés aux cellules acineuses (H & E, 400 \times).

5.2. L'effet du traitement sur l'histologie de foie

La figure 38 (A-F) représente l'effet de traitement sur l'histologie du foie des groupes étudiés. L'observation microscopique a révélé des cellules hépatiques normales des rattes non-diabétiques (figure 38A). A l'inverse, les rattes diabétiques ayant reçu un régime alimentaire suffisant zinc ont montré des congestions vasculaires, des hépatocytes vacuolés et une dilatation des sinusoides (figure 38B). Outre ces modifications, la carence en zinc chez les rattes diabétiques a provoqué davantage de dégénérescence des hépatocytes (figure 38C). Cependant, tous ces changements ont été réduits et améliorés après la supplémentation du gingembre, du curcuma ou de leur combinaison; les hépatocytes et les sinusoides semblent être régénérés (figures 38D, E et F).

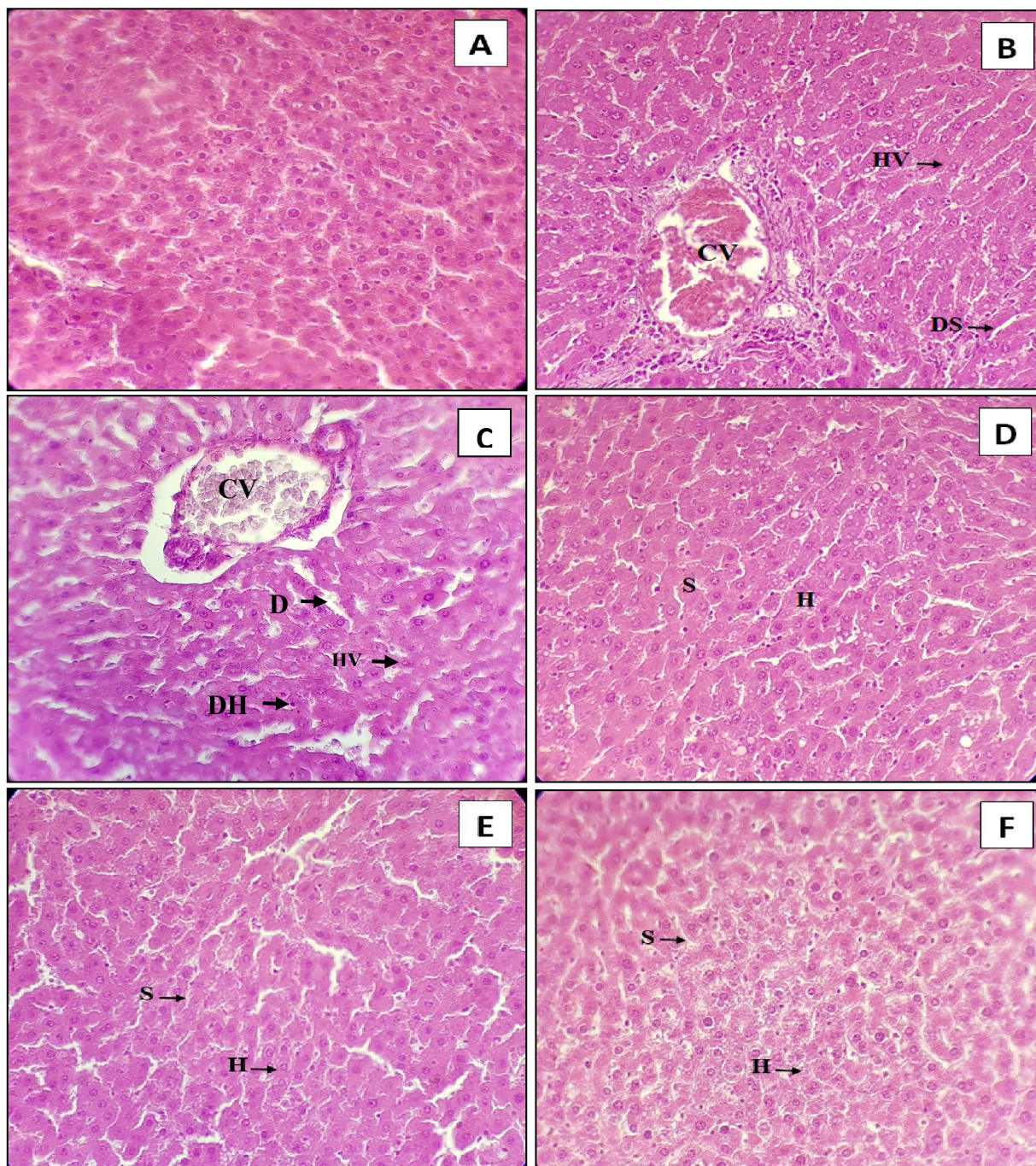


Figure 38 (A-F) : Effet du traitement sur l'histologie du foie des groupes étudiés. **A:** une section de foie du groupe non-diabétique montre une architecture normale du foie. **B:** une section de foie du groupe diabétique (DAZ) présente une congestion vasculaire (CV), des hépatocytes vacuolés (HV) et une dilatation des sinusoides (DS). **C:** section de foie du groupe diabétique (DCZ) présente une dégénérescence des hépatocytes (DH). **D, E et F:** sections de foie des groupes diabétiques (DCZ) traités par le gingembre, le curcuma ou par leur combinaison respectivement, illustrent des hépatocytes (H) et des sinusoides restaurés (S) (H & E, 400 ×).

5.3. L'effet du traitement sur l'histologie des reins

La figure 39 (A-F) représente l'effet du traitement sur l'histologie des reins des groupes étudiés. Les résultats obtenus montrent que les rattes non-diabétiques, ont majoritairement des glomérules et des tubules de taille normale (figure 39A). En revanche, les animaux diabétiques ayant reçu une alimentation adéquate en zinc ont présenté une dégénérescence des glomérules et des tubules (figure 39B). Ces lésions sont également mises en évidence chez les rattes diabétiques carencées en zinc, de même, ils présentent une dilatation cystique des tubules rénaux (figure 39C). Cependant, tous ces changements ont été réduits après le traitement avec le gingembre, le curcuma ou avec leur combinaison, les glomérules et les tubules semblent être régénérés (figures 39D, E et F).

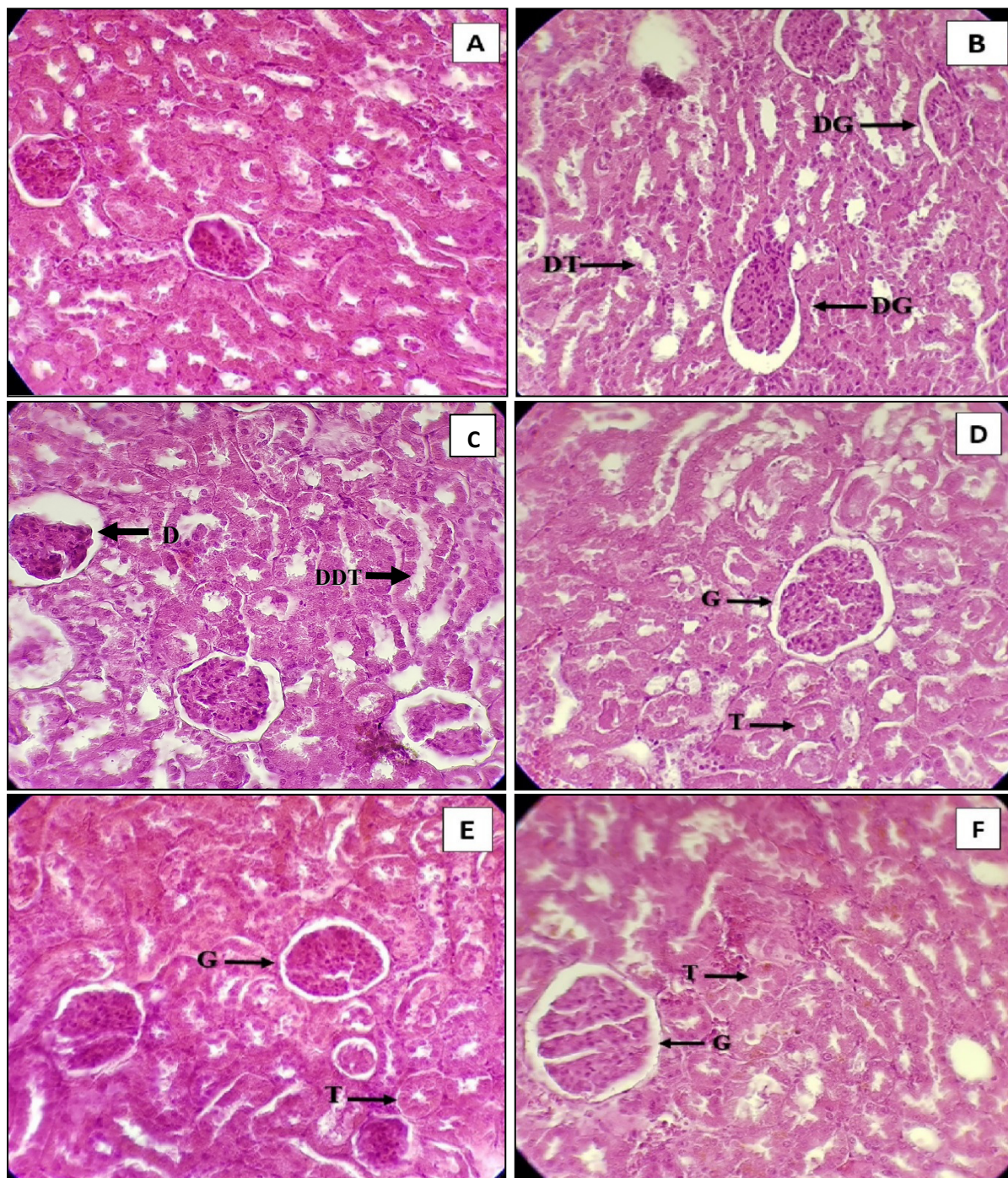


Figure 39 (A-F) : Effet du traitement sur l'histologie des reins des groupes étudiés. **A:** coupe de rein de groupe non-diabétique montre une architecture normale. **B:** coupe de rein de groupe diabétique (DAZ) montre une dégénérescence des glomérules (DG) et des tubules rénaux (DT). **C:** coupe de rein de groupe diabétique (DCZ) révèle une dégénérescence glomérulaire (DG), une dégénérescence et une dilatation des tubules rénaux (DDT). **D, E et F:** coupes de reins des groupes diabétiques (DCZ) traités avec le gingembre, le curcuma ou avec leur combinaison illustrent la régénération des glomérules (G) et la diminution des dommages causés aux tubules rénaux (T) (H & E, 400 ×).

Partie pratique

[Discussion]

Discussion

Le diabète est un problème de santé majeur. Les facteurs favorisant le diabète sont nombreux et contribuent ensemble au dysfonctionnement des systèmes de régulation correspondant. Le diabète s'accompagne d'une production excessive des radicaux libres, ainsi qu'une perturbation des marqueurs du stress oxydatif. Cette situation entraîne de multiples complications qui constituent le vrai problème et les traitements actuels visent surtout à éviter ces complications (**Haleng et al., 2007**).

Le zinc est un élément essentiel pour le fonctionnement de plusieurs systèmes biologiques. Il est impliqué dans la régulation de l'homéostasie glucidique à travers son rôle primordial dans la synthèse de l'insuline (**Moore et al., 2001**). Les diabétiques sont les plus sensibles au déficit en zinc, ce qui conduit alors à la perturbation de cette régulation glucidique et contribue ainsi à la genèse d'un stress oxydatif chez les diabétiques.

L'objectif du traitement du diabète quel qu'il soit son type consiste dans un premier temps à rétablir une glycémie normale. Des recherches scientifiques récentes et des études cliniques ont montré l'efficacité de certaines plantes médicinales et de certaines épices dans l'amélioration de l'homéostasie glucidique (**Choudhury et al., 2018**). Dans la présente étude, nous nous intéressons plus particulièrement au gingembre et au curcuma qui grâce à leurs propriétés antioxydantes et antidiabétiques particulières, font l'objet de nombreuses recherches sur leurs applications potentielles dans le traitement de diabète. Cette étude est donc consacrée pour évaluer le potentiel de ces épices à moduler les effets délétères de la carence nutritionnelle en zinc chez les rattes diabétiques.

Dans la présente étude, le poids corporel a été effectivement réduit chez les rattes diabétiques nourries par une alimentation adéquate en zinc par rapport aux rattes non-diabétiques. Ces résultats peuvent être expliqués par l'incapacité du corps à utiliser les glucides comme source d'énergie d'une part, et d'un fort catabolisme de protéines et du tissu adipeux d'autre part (**Juarez-Rojop et al., 2012**). En effet, ce résultat est en accord avec les résultats de Madkor et al (**2011**) et de Yang et al (**2017**) qui ont observé une diminution du poids des rats diabétiques malgré une grande consommation d'aliment.

De plus, les rattes diabétiques recevant un régime carencé en zinc ont également présenté une diminution massive du poids corporel. De même, cette chute pondérale est parallèlement associée à une réduction de la consommation alimentaire. En effet, il est bien admis que la carence nutritionnelle en zinc pourrait entraîner une hypoguesie (diminution de la

sensibilité gustative), souvent liée à une altération de l'activité de la gustine, une enzyme dépendante au zinc. Ainsi, ces troubles pourraient effectivement conduire à une perturbation de la prise alimentaire et induire une satiété prématurée, ce qui peut nuire davantage la croissance chez ces animaux (**Cohen et Golik, 2006 ; Whittle et al., 2009**). Nos résultats confirment ceux de Kechrid et al (2012) et de Weigand et Egenolf (2017).

Cependant, la supplémentation alimentaire en gingembre, en curcuma ou en combinaison pendant 27 jours de traitement a atténué la sévérité de la perte du poids via l'augmentation de la prise alimentaire par rapport au groupe diabétique carencé en zinc. Ces effets peuvent être expliqués par les propriétés antioxydantes de ces épices et par leurs capacités à neutraliser les radicaux libres, ce qui a permis d'augmenter la masse corporelle des rats. Dans ce contexte, Madkor et al (**2011**) ont rapporté que l'augmentation du poids corporel reflète l'effet anabolique positif de ces épices via l'amélioration de l'homéostasie glucidique, ce qui réduit la dégénérescence des tissus musculaires et des adipocytes. De plus, il a été démontré que la curcumine pourrait induire l'adiponectine, hormone qui stimule l'action de l'insuline dans les hépatocytes, ce qui diminue la résistance à l'insuline et ainsi la production hépatique du glucose. Cette étude a rapporté également que la curcumine pourrait contrôler la signalisation de la leptine via la réduction des niveaux de la phosphorylation du récepteur de la leptine, ce mécanisme augmente par la suite la prise alimentaire des souris diabétiques et, de ce fait, améliore le poids corporel (**Tang et al., 2009**). En effet, nos résultats sont en accord avec ceux des études antérieures (**Nishi, 1996; Shanmugam et al., 2010**),

Les résultats de dosage de la concentration du zinc dans le foie et dans le fémur ont montré sa diminution significative chez les groupes diabétiques nourris avec un régime alimentaire riche en zinc et chez ceux carencés en zinc. En effet, le diabète pourrait affecter le statut du zinc de nombreuses manières. La teneur réduite en zinc est souvent associée à une altération de l'absorption intestinale de ce minéral, il est également suggéré que l'augmentation de l'excrétion urinaire du zinc pourrait être un autre facteur responsable de cette réduction, qui peut résulter d'un dysfonctionnement rénal, cette situation est généralement observée chez les patients atteints d'une néphropathie diabétique (**Sinha et Sen, 2014; Galetti, 2018**). Ces résultats vont de pair avec l'étude histologique des reins qui révèle des modifications histopathologiques remarquables chez les rattes diabétiques. Des résultats similaires ont été obtenus par des études publiées antérieurement (**Kechrid et al., 2012; Weigand et Egenolf, 2017**).

Cependant, l'augmentation des concentrations du zinc chez les rattes diabétiques supplémentées en gingembre, en curcuma ou en combinaison est probablement due à l'effet hypoglycémiant de ces épices, qui pourrait être l'un des facteurs majeurs contribuant à la préservation de la fonction rénale contre l'effet délétère des radicaux libres. Ainsi, cela peut entraîner une réduction de la perte urinaire excessive du zinc. Ces suggestions sont en accord avec les résultats de l'étude histologique des reins qui montrent que les animaux bénéficiant d'une supplémentation en gingembre ou en curcuma ont majoritairement un aspect histologique préservé.

Le diabète a entraîné une augmentation significative de la glycémie sérique accompagnée d'une diminution du taux de l'insuline chez les rattes diabétiques ayant reçu une nourriture adéquate en zinc par rapport à celles des rattes non-diabétiques. Ces troubles métaboliques peuvent être expliqués par le fait qu'une dégénération accrue des cellules β pancréatiques suite à l'injection de la STZ, a entraîné ainsi une réduction de la sécrétion de l'insuline (**Gupta et al., 2004**). En plus, l'hyperglycémie pourrait être issue d'une perturbation de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques ou également d'une surproduction endogène du glucose (excès de la néoglucogenèse et de la glycogénolyse) (**Derouiche et Kechrid, 2016**). En effet, ces résultats assez attendus sont en accord avec ceux de l'étude de Madkor et al (**2011**) dans laquelle une hypo-insulinémie notable associée à une hyperglycémie est décrite chez les rats diabétiques.

En outre, une légère augmentation de la glycémie a été observée chez les animaux recevant un régime pauvre en zinc. En effet, ces perturbations glucidiques semblent être corrélées avec les altérations histologiques du pancréas de ce groupe, qui montrent une réduction très importante du nombre des cellules β pancréatiques. En outre, il a été suggéré que la carence en zinc pourrait être impliquée dans les désordres de métabolisme glucidique. Ces résultats sont en accord avec d'autres études (**Fatmi et al., 2014 ; Hamdikenet al., 2017**), qui ont rapporté que la carence en zinc pourrait affecter la capacité du pancréas à synthétiser et à libérer l'insuline, ce qui conduit à la perte du contrôle de la glycémie. De même, il a été indiqué que le zinc participe dans la protection des cellules β pancréatiques contre les dommages causés par les ERO (**Chimienti, 2013**).

Le traitement des animaux diabétiques avec le gingembre seul ou en association avec le curcuma a induit des modifications significatives dans le métabolisme glucidique. En effet, ces épices ont permis d'abaisser la glycémie et d'améliorer l'insulinémie.

L'effet du gingembre sur le contrôle glycémique pourrait être expliqué par le fait que les gingérols, les composés bioactifs les plus importants du gingembre, ayant le potentiel de réguler la glycémie via nombreux mécanismes, ils réduisent d'une part la production du glucose hépatique et augmentent la translocation du transporteur de glucose (GLUT4) des compartiments intracellulaires à la surface des cellules, entraînant ainsi une absorption accrue du glucose par les cellules (**Akash et al., 2015**). D'autre part, les gingérols pourraient prévenir et inhiber la dégradation du glycogène hépatique, principalement par l'amélioration de l'activité des enzymes impliquées dans la synthèse et le stockage du glycogène hépatique. De plus, il a été rapporté que les gingérols inhibent les enzymes α -amylase et α -glucosidase durant la digestion des glucides (**Li et al., 2012**). Ces multiples effets ont été prouvés par les améliorations histopathologiques du pancréas, qui ont montré une restauration importante de l'intégrité structurelle des cellules β pancréatiques. Dans ce contexte, Khattab et al (**2013**) ont également rapporté ces effets grâce au traitement des rats diabétiques par ces épices incluses dans la nourriture des rats.

D'autre part, il semble que l'effet du curcuma sur la glycémie est attribué à son composant actif la curcumine, qui pourrait stimuler l'activation et l'ouverture des canaux anioniques et dépolariiser la membrane des cellules β pancréatiques, ce qui rovoque ensuite une activité électrique et une libération de l'insuline (**Best, 2007**). Egalement, la curcumine pourrait favorablement affecter les enzymes impliquées dans la régulation du glucose hépatique en augmentant l'activité de la glucokinase et en inhibant la gluconéogenèse hépatique par la suppression de la glucose-6-phosphatase et de la phosphoenopyruvate carboxykinase (**Ran et al., 2011**). Un autre effet positif de la curcumine sur le diabète est la réduction des acides gras libres circulants (AGL). La lipotoxicité induite par les AGL est un facteur important de résistance à l'insuline. Ce mécanisme a été suggéré pour détériorer la fonction des cellules β pancréatiques et altérer la voie de signalisation de l'insuline par l'activation de NF-kb (**Shimabukuro et al., 1998**). Les produits de la voie NF-kb, telle que l'IL-6, interfèrent avec la transcription des récepteurs de l'insuline (tel que le récepteur-substrat 1) et des transporteurs (tel que GLUT-4). L'ensemble de ces effets affecte la sensibilité à l'insuline (**Liang et al., 2008**).

L'ASAT et l'ALAT sont des biomarqueurs de la fonction hépatique. Une telle augmentation dans leurs activités a été observée chez les rattss diabétiques sous un régime alimentaire normal en zinc ou carencé en zinc. Ces données ont été obtenues par d'autres études similaires (**Madkor et al., 2011 ; Kechrid et al., 2007**). Les études précédemment

citées suggèrent que l'organisme met en place au cours du diabète des mécanismes d'adaptation ou de compensation d'énergie, présentés par l'augmentation accrue de l'activité de ces enzymes (ASAT, ALAT), qui convertissent les acides aminés en acides cétoniques (cétoglutarate et pyruvate) afin de fournir une nouvelle source de glucose.

L'activité de ces enzymes chez les rattes diabétiques a été réduite suite au traitement avec le gingembre, le curcuma, ou avec leurs combinaisons. Ainsi, ces améliorations pourraient être expliquées par l'augmentation de concentrations du zinc et de l'insuline chez les rattes diabétiques traitées avec ces épices, comme il a été montré dans cette étude, cela entraîne une régulation de la voie de la glycolyse, une augmentation de l'absorption du glucose par les cellules et aboutit donc à une diminution de l'hyperglycémie. En effet, ces mécanismes diminuent par la suite le catabolisme des protéines, l'accumulation des acides aminés dans le sang et par conséquent, l'activité enzymatique des transaminases diminue (**Moller et Nair, 2008**).

L'analyse des paramètres de la fonction hépatique montre également une augmentation du taux sérique de la bilirubine totale et directe chez les rattes diabétiques ayant reçu une nourriture riche en zinc, alors que la bilirubine totale est d'avantage augmentée chez les rattes diabétiques carencées en zinc. Cette modification pourrait être expliquée par la diminution de concentration de l'albumine sérique, qui est le principal transporteur sérique de la bilirubine. Toute modification en synthèse de l'albumine aboutit à l'accumulation de la bilirubine libre dans le sang (**Murray, 2003**).

La supplémentation en gingembre et en curcuma ensemble a atténué le taux de la bilirubine totale et directe. Cette amélioration reflète l'effet hépato-protecteur de ces épices. Ainsi, l'augmentation de concentrations des protéines totales et surtout de l'albumine sérique chez les groupes diabétiques traités a contribué probablement au rétablissement du taux de la bilirubine.

Le zinc est un élément important pour de nombreuses métallo-enzymes, notamment la phosphatase alcaline (PAL) et le lactate déshydrogénase (LDH) (**Prasad, 2014**). Dans la présente étude, l'activité de PAL et de LDH a été diminuée dans le sérum des animaux déficients en zinc par rapport à ceux nourris avec un régime alimentaire adéquat en zinc.

La diminution de l'activité de la PAL et du LDH est peut-être liée à la diminution de la concentration du zinc chez les rattes diabétiques. Uchiyama et Yamaguchi (**2003**) ont rapporté que la PAL et le LDH sont des métallo-enzymes, qui nécessitent le zinc comme cofacteur

pour leurs activités, et toute modification dans le statut de ce métal pourrait avoir des conséquences néfastes sur l'activité de ces enzymes. De même, ces résultats ont été observés dans des études antérieures (**Maret, 2013 ; Derai et Kechrid, 2014**).

En revanche, le traitement avec le gingembre et le curcuma en combinaison ou séparément a rétabli l'activité de ces enzymes dépendantes au zinc. Le mécanisme par lequel le gingembre ou le curcuma a amélioré l'activité de la PAL et du LDH n'est pas toujours clair, mais il est probablement dû à l'amélioration du statut du zinc chez les groupes diabétiques traités.

Dans cette étude, le bilan lipidique altéré (cholestérol et triglycérides) a été mis en évidence chez les rattes diabétiques recevant un régime alimentaire adéquat en zinc. Ainsi, chez les animaux ayant reçu une nourriture déficiente en zinc, le taux de triglycérides mesuré est supérieur à celui mesuré chez ceux recevant un régime adéquat en zinc.

Dans les cas de diabète, la déficience en insuline pourrait affecter l'activité de la lipoprotéine lipase, cette enzyme, dont la synthèse est normalement stimulée par l'insuline, est responsable de l'hydrolyse et de l'élimination des triglycérides en circulation. Si cette activité est réduite, il en résulte une hypertriglycéridémie. D'autre part, une carence aigue en insuline pourrait également provoquer une augmentation des acides gras libres à partir de tissus adipeux. Cela se traduit par une production accrue de particules de LDL riches en cholestérol (**Girija et al., 2011**).

En effet, nos résultats sont cohérents avec ceux décrits par Hamdiken et al (**2017**), où une altération de profil lipidique similaire à celle observée dans notre étude dans des conditions expérimentales analogues est notée.

Cependant, après la supplémentation alimentaire en gingembre, en curcuma ou en combinaison, les rattes diabétiques semblent revenir à des taux de cholestérol et de triglycérides proches de ceux des rattes non-diabétiques. Cela révèle d'un potentiel hypolipidémique intéressant de ces épices.

Des études antérieures ont démontré que le gingembre à travers son effet sur la cholestérol-7 α -hydroxylase hépatique, stimule la conversion du cholestérol hépatique en acides biliaires (**Ahmed et Sharma, 1997; Han et al., 2005**). De plus, Ils ont constaté que le gingembre augmente l'excrétion fécale du cholestérol. Par ailleurs, une étude effectuée sur des souris déficientes en apolipoprotéine E a également révélé que les effets hypolipidémiques du

gingembre pourraient résulter, en partie, de l'inhibition de la biosynthèse du cholestérol (Fuhrman et al., 2000). Ce mode d'action possible du gingembre est soutenu par les observations antérieures de Nammi et al (2009) et de Ramudu et al (2011), ces études ont démontré que le gingembre via ses composants actifs pourrait inhiber la synthèse du cholestérol cellulaire, principalement à travers l'augmentation de l'activité des récepteurs de LDL, ceci conduit à l'élimination de LDL plasmatiques, en diminuant ainsi le métabolisme des lipoprotéines.

La curcumine inhibe efficacement la synthèse et le stockage des lipides et stimule la dégradation des acides gras, ces effets étant médiés par la régulation de l'activité de plusieurs enzymes clés impliquées dans la régulation du métabolisme lipidique (Alappat et Awad, 2010). De plus, l'activité hypolipidémique du curcuma via la curcumine et le tetrahydrocurcumin pourrait être médiée par le catabolisme du cholestérol en stimulant l'activité du cholestérol hépatique, la 7 α -hydroxylase, enzyme responsable de la conversion du cholestérol en acides biliaires et, de ce fait, d'une réduction du taux de cholestérol chez les rats diabétiques (Wongekin et al., 2009).

Seo et al (2008) ont réalisé une étude plus spécifique sur des souris db/db. Ils ont montré que la curcumine a réduit significativement l'activité hépatique de la β -hydroxyl- β -méthylglutaryl CoA réductase (HMG-CoA réductase) (enzyme régulatrice de la synthèse intracellulaire de cholestérol). Ils ont également observé que l'activité de la lipoprotéine lipase musculaire et le taux du glycogène hépatique sont augmentés. Ces multiples effets de la curcumine contribuent donc à la réduction de concentrations plasmatiques d'acides gras libres, de cholestérol et de triglycérides.

Dans les conditions de stress oxydatif sévère, la génération de radicaux libres conduit à une modification des protéines. Les protéines peuvent être endommagées directement par des interactions spécifiques de radicaux libres avec des acides aminés sensibles (Chitra et al., 2010)

Les résultats de notre étude ont révélé une baisse significative du taux des protéines totales et de l'albumine sérique chez les rats diabétiques recevant soit un régime adéquat ou carencé en zinc. Cela pourrait être attribué à l'augmentation du taux de catabolisme de protéines, à la diminution du taux de synthèse de protéines ou à la microprotéinurie, qui sont des marqueurs cliniques importants du diabète sucré (Khan et al., 2011). En effet, ces résultats ont déjà été observés dans d'autres études menées par Derai et al (2014) et Hamdiken et al (2017).

L'augmentation des taux sériques d'urée et de créatinine chez les rattes diabétiques non traitées observée dans cette étude pourrait être due à un déficit en insuline et à l'incapacité du glucose à atteindre les tissus extrahépatiques, ce qui active la gluconéogenèse en tant que source alternative de glucose (**Gastaldelli et al., 2000**). De plus, en raison de la protéolyse accrue nécessaire au maintien de cette voie, la désamination des acides aminés glucogéniques libérés dans le plasma entraîne par conséquent une augmentation de taux d'urée dans le sang. La créatinine est un métabolite de la créatine et sa concentration dans le sérum est proportionnelle à la masse musculaire du corps. Des taux élevés d'urée et de créatinine dans le sérum pourraient donc indiquer une atteinte de la fonction rénale.

La réduction significative des niveaux de ces marqueurs est donc révélatrice du potentiel de gingembre et de curcuma en contrôlant la glycémie et donc réduire le catabolisme des protéines. En outre, cela indique également la préservation de la fonction rénale contre les lésions dues au diabète, ainsi que l'effet réno-protecteur de ces épices. En effet, ces données sont approuvées par nos résultats de l'examen histologique des reins.

L'hyperglycémie joue un rôle critique dans les complications du diabète et provoque un stress oxydatif par la génération des ERO (**Mohamed et al., 2000**). Cependant, il est bien connu que le zinc protège les cellules contre les dommages dus à l'oxydation, alors que sa carence affecte défavorablement l'activité d'une variété d'enzymes antioxydantes, notamment la SOD et la GSH-Px (**Cruz et Oliveira, 2011**).

Le système pro-oxydant a été caractérisé par la mesure de la peroxydation lipidique au niveau hépatique. Le taux de la peroxydation lipidique (MDA) est d'avantage modifié chez les rattes diabétiques sous un régime normal en zinc que chez les rattes témoins non diabétiques.

Ces modifications pourraient être dues à la synthèse accrue des ERO impliqués dans la progression du diabète. De plus, l'effet de l'hypoinsulinémie, qui favorise l'attaque des acides gras polyinsaturés, entraîne également l'élévation du taux de la peroxydation lipidique (**Yin et al., 2011**).

En effet, l'inclusion de gingembre ou de curcuma dans la nourriture des rattes diabétiques a permis de réduire le taux de MDA. La réduction de la peroxydation lipidique par le gingembre pourrait être due au fait que le gingembre contient de nombreux composés antioxydants, en particulier les gingérols et le shogaol, responsables de l'inhibition de la peroxydation lipidique (**Shobana et Akhilender, 2000**). De même, Il a été démontré que

l'activité antioxydante du curcuma est apte à neutraliser les radicaux libres et inhiber l'oxydation de l'hémoglobine et la peroxydation lipidique (**Gupta et al., 2012**).

Dans cette étude, une diminution de concentration du glutathion (GSH) est observée chez les groupes diabétiques non-traités. La raison de l'épuisement du glutathion (GSH) chez les rattes diabétiques pourrait être expliquée par le taux élevé d'oxydation du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) au niveau hépatique afin de protéger l'organe des effets délétères de la génération accrue des radicaux libres au cours de diabète (**Videla et al., 1980**). Cette diminution de concentration de GSH est confortée par d'autres études similaires (**Madkor et al., 2011**)

Une telle augmentation du glutathion est constatée après la supplémentation alimentaire en gingembre et en curcuma, cela suggère que ces épices pourraient effectivement conduire, à travers leurs richesses en composants antioxydants, à un effet protecteur vis-à-vis d'un stress oxydatif induit par le diabète.

La première ligne de défense contre les radicaux libres regroupe ces systèmes enzymatiques (SOD, CAT, GSH-Px) qui sont aidés par des micronutriments (cuivre, zinc et sélénium) en tant que cofacteurs (**Evans et Halliwell, 2001**).

En effet, l'induction du diabète a affecté de manière significative l'activité des enzymes antioxydantes hépatiques, notamment la GSH-Px, la GST, la SOD et la CAT.

Ces résultats pourraient s'expliquer, entre autre, par la production accrue des radicaux libres suite à l'autoxydation du glucose et à la glycation non enzymatique de ces enzymes (**Taniguchi, 1992**). De plus, il a été rapporté que le diabète affecte l'activité de la CAT et de la SOD en réponse à la diminution de leur expression génique (**Shanmugam et al., 2010**). Par ailleurs, des études similaires ont rapporté, dans le cas de diabète, une diminution dans l'activité de ces enzymes dans le foie liée à une augmentation des effets pro-oxydants telle que la peroxydation lipidique (**Palma et al., 2014 ; Derai et al., 2014**).

D'autre part, chez les rattes diabétiques alimentées par un régime pauvre en zinc, les enzymes antioxydantes telles que la GSH-Px et la CAT ont fortement diminué par rapport aux rattes diabétiques non carencées en zinc.

Le zinc, en tant que cofacteur nécessaire à l'action de diverses enzymes antioxydantes et à leur régulation, son déficit affecte davantage la fonction de ces enzymes. Egalement, la production accrue des radicaux libres sous l'effet de la carence en zinc, inhibe les sites

d'action de ces enzymes (GSH-Px, CAT et SOD) (**Black, 2002**). Des résultats identiques ont rapporté l'effet délétère de l'appauvrissement en zinc sur la fonction de ces enzymes (**Lima et Sampaio, 2011 ; Fatmi et al., 2014**).

Cependant, cette étude a démontré que la supplémentation en gingembre et en curcuma a un effet bénéfique sur les marqueurs de stress oxydatif. En effet, après 27 jours de traitement, la concentration du GSH et l'activité des enzymes antioxydantes étudiées sont améliorées. Ces résultats confirment les données obtenues respectivement par Madkor et al (**2011**) et par Khattab et al (**2013**).

Les études précédemment citées suggèrent que le traitement des animaux diabétiques avec ces épices entières ou avec leurs composants actifs pourrait améliorer l'efficacité du système de défense antioxydant (**Madkor et al., 2011; Khattab et al., 2013**).

Les composants majeurs du gingembre, le gingérol 6 et le shogaol, ont montré de nombreux avantages pharmacologiques, notamment l'amélioration de métabolisme du glucose et la modulation de la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques grâce à leur protection contre les dommages oxydatifs (**Mahluji et al., 2013**). De même, les composés phénoliques antioxydants du gingembre pourraient potentiellement inhiber la production des ERO, diminuer la peroxydation lipidique et améliorer la concentration tissulaire en GSH chez les rats diabétiques, ce qui améliore à son tour les enzymes antioxydantes dépendantes au GSH telles que la GSH-Px et la GST (**Shanmugam et al., 2010 ; Fukunaka et Fujitani, 2017**).

D'autre part, le curcuma a montré une efficacité élevée pour améliorer la fonction du système de défense antioxydant. Ce mécanisme de protection peut être corrélé à la puissance antioxydante et aux propriétés anti-radicalaires de la curcumine (composant principal du curcuma) (**Bi et al., 2017**) qui réduisent la peroxydation des lipides et stimulent les principales enzymes antioxydantes, notamment la SOD, la GSH-Px et la CAT, et par conséquent protègent les cellules contre le stress oxydatif (**Gupta et al., 2012**).

Conclusion et perspectives

Ce travail a débuté sur la volonté et la nécessité de développer de nouvelles thérapies antidiabétiques par l'utilisation de plantes riches en antioxydants naturels. Cette étude a été faite pour voir si une supplémentation alimentaire en gingembre et en curcuma, tout au long de l'expérimentation, pourrait limiter les conséquences délétères de la carence en zinc chez les rattes diabétiques. Suite à ce travail, les conclusions principales à retenir sont :

- La déficience en zinc a entraîné une chute pondérale importante associée à une diminution de la prise alimentaire.
- Une perturbation du métabolisme glucidique représentée par une hyperglycémie associée à une hypo-insulinémie.
- Une perturbation métabolique importante illustrée par une augmentation des paramètres de profile lipidique (cholestérol et triglycérides).
- Des perturbations de biomarqueurs de la fonction hépatique, représentées par une augmentation de l'activité des transaminases (ALAT, ASAT) et du taux de la bilirubine totale et de la bilirubine directe.
- Une baisse significative du taux des protéines totales et de l'albumine sérique chez les rattes diabétiques recevant soit un régime adéquat ou carencé en zinc associée avec une augmentation du taux sérique d'urée et de créatinine.
- Désordres dans le statut du zinc représenté par une baisse de la concentration du zinc dans les organes étudiés (foie et fémur).
- La carence en zinc a entraîné une perturbation dans l'activité des enzymes dépendantes au zinc telles que la phosphatase alcaline et le lactate déshydrogénase.

En ce qui concerne l'effet de la carence en zinc sur les paramètres de stress oxydatif :

- Une augmentation du taux de la peroxydation lipidique, ainsi qu'une chute remarquable de la concentration du glutathion réduit (GSH) sont observées.
- Une diminution considérable dans l'activité de glutathion peroxydase (GSH-Px), glutathion-S-transférase (GST), catalase (CAT) et celle de superoxyde dismutase (SOD) est notée.

Cependant, l'administration du gingembre et du curcuma dans l'alimentation des rattes diabétiques carencées en zinc a amélioré les paramètres suivants :

- Une telle amélioration dans le métabolisme glucidique illustrée par une baisse de la glycémie et une amélioration de l'insulinémie.

- Des améliorations importantes ont touché le profil hépatique (ALAT, ASAT), bilirubine totale, bilirubine directe ainsi que le profil lipidique. Cela reflète l'effet hépato-protecteur de ces épices.
- Le traitement avec ces épices a pu rétablir le profil protéique, leur effet bénéfique est représenté par une augmentation de taux des protéines totales, de l'albumine ainsi qu'une réduction du taux de créatinine, d'urée et d'acide urique.
- Les rattes traitées avec ces épices ont restauré leur statut en zinc dans les organes étudiés (foie et fémur). D'autre part, l'activité des enzymes à zinc (phosphatase alcaline et celle du lactate déshydrogénase) est améliorée.
- En ce qui concerne le potentiel de ces épices contre l'effet délétère de la carence en zinc sur l'activité des enzymes antioxydantes au cours du diabète, la supplémentation en gingembre et en curcuma seul ou en combinaison a révélé un potentiel antioxydant important, traduit par une atténuation du taux de la peroxydation lipidique (MDA), une augmentation de la concentration cellulaire en glutathion réduit (GSH) ainsi qu'une amélioration notable dans l'activité des enzymes antioxydantes (GSH-Px, GST, CAT et SOD).

A partir de résultats obtenus, on peut suggérer que le gingembre et le curcuma pourraient effectivement conduire, à travers leurs richesses en composants antioxydants, à un effet protecteur vis-à-vis d'un stress oxydatif induit par la génération accrue des radicaux libres au cours du diabète d'une part, et aux effets délétères de la carence en zinc d'autre part.

Afin d'approfondir ces résultats, il sera intéressant d'une part,

- D'étudier l'impact de la carence en zinc sur l'expression génétique de l'hormone d'insuline et sur le fonctionnement des transporteurs pancréatiques du zinc (ZT8).
- D'autre part, le large spectre d'activité du gingembre et du curcuma devrait susciter l'attention afin d'élucider les mécanismes d'actions des différents composés actifs de ces plantes tels que le [6]-gingérol, le shogaol, la curcumine et le tetrahydrocurcumin et déterminer leurs efficacités dans le traitement de diabète et ses complications.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- **A**charya JD, Ghaskadbi SS. (2010). Islets and their antioxidant defense. *Islets*. 2: 225-35.
 - Aebi H. (1974). Catalase. *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press NY. 2: 673-84.
 - Ahmed RS, Sharma SB. (1997). Biochemical studies on combined effects of garlic (*Allium sativum Linn*) and ginger (*Zingiber officinale Rosc*) in albino rats. *Ind J Exp Biol*. 35: 841-3.
 - Akash MSH, Rehman K, Tariq M, Chen S. (2015). *Zingiber officinale* and Type 2 diabetes mellitus: evidence from experimental studies. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 25: 91-112.
 - Alappat L, Awad AB. (2010). Curcumin and obesity: evidence and mechanisms. *Nutr Rev*. 68: 729-38.
 - Ali BH, Blunden G, Tanira MO, Nemmar A. (2008). Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*): A review of recent research. *Food Chem Toxicol*. 46: 409-20.
 - Al-Suhaimi EA, Al-Riziza NA, Al-Essa RA. (2011). Physiological and therapeutical roles of ginger and turmeric on endocrine functions. *Am J Chin Med*. 39: 215-31.
 - Altieri F, Grillo C, Maceroni M, Chichiarelli S. (2008). DNA damage and repair: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxid Redox Signal*. 10: 891-937.
 - American Diabetes Association. (2016). 2: Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 39 Suppl 1: S13-22.
 - Apostoli P. (2002). Elements in environmental and occupational medicine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 778(1-2): 63-97.
 - Arai K, Maguchi S, Fujii S, Ishibashi H, Oikawa K, et al. (1987). Glycation and inactivation of human Cu-Zn-superoxide dismutase. Identification of the in vitro glycated sites. *J Biol Chem*. 262 (35): 16969-72.
 - Ashcroft FM, Rorsman P. (1989). Electrophysiology of the pancreatic beta-cell. *Prog Biophys Mol Biol*. 54: 87-143.
 - **B**arat P, Lévy-Marchal C. (2013). Épidémiologie des diabètes sucrés chez l'enfant. *Archives de pédiatri*. 20(S4): 110-6.
 - Barzegar A, Moosavi-Movahedi AA. (2011). Intracellular ROS protection efficiency and free radical scavenging activity of curcumin. *Plos One*. 6(10): e26012.
 - Batch GE. (2010). Pollution and oxidative stress in schoolchildren. *Indian Pediatr*. 47(3): 233-9.
 - Beaudeau JL, Durand G. (2011). *Biochimie médicale: marqueurs actuelles et perspectives*. 2^e édition, Médecine Sciences Lavoisier. 215-217.
-

- Berry CE, Hare JM. (2004). Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J Physiol.* 555 (Pt 3): 589.
 - Best L, Elliott AC, Brown PD. (2007). Curcumin induces electrical activity in rat pancreatic beta-cells by activating the volume- regulated anion channel. *Biochem Pharmacol.* 73: 1768-75.
 - Bi X, Lim J, Henry CJ. (2017). Spices in the management of diabetes mellitus. *Food Chem.* 217: 281-93.
 - Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, Caulfield LE, de Onis M, et al. (2008). Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet.* 371: 243-60.
 - Black RE. (2002). Consequences of zinc deficiency on human health issues in infant and child nutrition. *Nestle Nutr workshop Ser pediatr program.* 48: 97-110.
 - Bode AM, Dong IFF, Wachtel-Galor S. (2011). Herbal medicine-biomolecular and chemical aspects. 2ed Edition CRC Press.
 - Bonaventura P, Benedetti G, Albarède F, Miossec P. (2015). Zinc and its role in immunity and inflammation. *Autoimmunity Rev.* 14: 277-85.
 - Bonnefont-Rousselot D, Beaudoux JL, Thérond P, Peynet J, Legrand A, et al. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Annales Pharmaceutiques Françaises.* 62: 147-57.
 - Bouhours-Nouet N, Coutant N. (2005). Clinique et diagnostic du diabète de l'enfant. *EMC Pédiatrie.* 2(3): 220-42.
 - 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: 248-54.
 - Brender JR, Hartman K, Nonga RP, Popvyeh N, Dela SBR et al. (2010). Role of zinc in human islet amyloid polypeptide aggregation. *J Am Cheml Soc.* 132: 8973-83.
 - Brown KH, Wuehler SE, Peerson JM. (2001). The importance of zinc in human nutrition and estimation of the global prevalence of zinc deficiency. *Food Nutr Bull.* 22: S113-25.
 - Brownlee M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 414: 813-20.
 - Buege JA, Aust SD. (1984). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 105: 302-10.
 - Burtis CA, Ashwood ER, Saunders WB. (1999). *Tietz text book of clinical chemistry.* 3rd edition. P: 477-530.
 - Carillon A. (2009). Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. Séminaire International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales. Djerba.
 - Chasapis CT, Loutsidou AC, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME. (2012). Zinc and human health: an update. *Arch Toxicol.* 86(4): 521-34.
-

- Chimienti F. (2013). Zinc, pancreatic islet cell function and diabetes: new insights into an old story. *Nutr Res Rev.* 26(1): 1-11.
 - Chistiakov DA, Voronova NV. (2009). Zn (²⁺)-transporter-8: a dual role in diabetes. *Biofactors.* 35(4): 356-63.
 - Chitra V, Varma PV, Raju MK, Prakash KJ. (2010). Study of antidiabetic and free radical scavenging activity of the seed extract of *Strychnos nuxvomica*. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2 (Suppl. 1): 106-10.
 - Choudhury H, Pandey M, Hua CK, Mun CS, Jing JK, et al. (2018). An update on natural compounds in the remedy of diabetes mellitus: A systematic review. *J Tradit Complement Med.* 8: 361-76.
 - Citronberg J, Bostick R, Ahearn T, Turgeon DK, Ruffin MT, et al. (2013). Effects of ginger supplementation on cell-cycle biomarkers in the normal-appearing colonic mucosa of patients at increased risk for colorectal cancer: results from a pilot, randomized, and controlled trial. *Cancer Prev Res.* 6(4): 271-81.
 - Cohen N, Golik A. (2006). Zinc balance and medications commonly used in the management of heart failure. *Heart Fail Rev.* 11: 19-24.
 - Corps G. (2004). Item 17: Diabete Et Grossesse. 1-9.
 - Coulston L, Dandona P. (1980). Insulin-like effect of zinc on adipocytes. *Diabetes.* 29: 665-7.
 - Craig M, Hattersley A, Donaghue K. (2009). Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes.* 10(12): 3-12.
 - Cruz KJC, Oliveira ARS, Marreiro DN. (2015). Antioxidant role of zinc in diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 6(2): 333-37.
 - Curtin JF, Donovan M, Cotter TG. (2002). Régulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol Methods.* 265(1-2): 49-72.
 - **D**al S, Sigrist S. (2016). The protective effect of antioxidants consumption on diabetes and vascular complications. *Diseases.* 4(3): 24.
 - Davies KJ. (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life.* 50(4-5): 279-89.
 - Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot D. (2007). Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Cachan: Lavoisier. 548.
 - Delattre J, Durand G, Jardillier JC. (2003). Biochimie pathologique aspect moléculaire et cellulaire. France: Flammarion Médecine Sciences. 317.
 - Deogade S, Ghate S. (2015). Curcumin: therapeutic applications in systemic and oral health. *Int J Biol Pharm Res.* 6(4): 281-90.
-

- Derai EH, Kechrid Z. (2014). Combined effect of vitamins C and E on zinc status, carbohydrates metabolism and antioxidant values in diabetic rats fed zinc-deficient diet. *Med J Nutrition Metab.* 7: 55-65.
 - Derouiche S, Kechrid Z. (2016). Zinc supplementation overcomes effects of copper on zinc status, carbohydrate metabolism and some enzyme activities in diabetic and non-diabetic rats. *Can J Diabetes.* 40: 342-7.
 - Dibley MJ. (2001). Zinc In: *Bowment Knowledge in Nutrition*, 8th ed. Washington. DC: International Life Sciences Institute Press. 329-43.
 - Dobrian A, Simionescu M. (1995). Irreversibly glycosylated albumin alters the physico chemical characteristics of low density lipoproteins of normal and diabetic subjects. *Biochim Biophys Acta.* 1270: 26-35.
 - Dugasani S, Pichika MR, Nadarajah VD, Balijepalli MK, Tandrea S, et al. (2010). Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-Gingerol, [8]-Gingerol, [10]-Gingerol and [6]-Shogaol. *J Ethnopharmacology.* 127(2, 3): 515-20
 - Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, et al. (2005). Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett.* 223(2): 181-90.
 - **E**frat S. (2008). Beta-cell replacement for insulin-dependent diabetes mellitus. *Adv Drug Deliv Rev.* 60(2): 114-23.
 - Efthimiou P, Kukar M. (2010). Complementary and alternative medicine use in rheumatoid arthritis: proposed mechanism of action and efficacy of commonly used modalities. *Rheumatol Int.* 571-86.
 - Eide DJ. (2011). The oxidative stress of zinc deficiency. *Metallomics.* 3: 1124-9.
 - Ellman GL. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem Biophys.* 82(1): 70-7.
 - El-Wakf AM, Elhabiby ESM, El-kholy WM, Abd El-Ghany E. (2011). Use of turmeric and curcumin to alleviate adverse reproductive outcomes of water nitrate pollution in male rats. *J Nat Sci.* 7(7): 229-39.
 - Evans P, Halliwell B. (2001). Micronutrients: Oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr.* 85 (Suppl 2): S67-S74.
 - **F**atmi W, Kechrid Z, Nazıroğlu M, Flores-Arce M. (2013). Selenium supplementation modulates zinc levels and antioxidant values in blood and tissues of diabetic rats fed zinc-deficient diet. *Biol Trace Elem Res.* 152: 243-50.
 - Favier A. (2003). Le stress oxydant. *Actual Chim.* 108-15.
 - Flohe L, Gunzler WA. (1984). Analysis of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 105:114-21.
-

- Ford D. (2004). Intestinal and placental zinc transport pathways. *Proc Nutr Soc.* 63(1): 21-29.
 - Frassinetti S, Bronzetti G, Caltavuturo L, Cini M, Croce CD. (2006). The role of zinc in life: a review. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 25: 597-610.
 - Fuhrman B, Rosenblat M, Hayek T, Coleman R, Aviram M. (2000). Ginger extract consumption reduces plasma cholesterol, inhibits LDL oxidation and attenuates development of atherosclerosis in atherosclerotic, apolipoprotein E-deficient mice. *J Nutr.* 130:1124-31.
 - Fukunaka A, Fujitani Y. (2017). Role of zinc homeostasis in the pathogenesis of diabetes and obesity. *Int J Mol Sci.* 19: E476.
 - Galetti V, VR Preedy, VB Patel. (2018). Zinc deficiency and stunting. *Handbook of Famine, Starvation, and Nutrient Deprivation.*
 - Gastaldelli A, Simona B, Pettiti M, Toschi E, Camastra S, et al. (2000). Influence of obesity and type 2 diabetes on gluconeogenesis and glucose output in humans: a quantitative study. *Diabetes.* 49: 1367-73.
 - Gerber PA, Rutter GA. (2017). The role of oxidative stress and hypoxia in pancreatic beta-cell dysfunction in diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal.* 26: 501-18.
 - Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Rahmat A. (2010). Elevated carbon dioxide increases contents of flavonoids and phenolic compounds, and antioxidant activities in Malaysian young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Varieties Molecules.* 15: 7907-22.
 - Gibson RS, Anderson VP. (2009). A review of interventions based on dietary diversification or modification strategies with the potential to enhance intakes of total and absorbable zinc. *Food Nutr Bull.* 30: 108S-143S.
 - Gigon F. (2012). Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phytothérapie.* 10: 87-91.
 - Giriya K, Lakshman K, Udaya C, Sabhya SG, Divya T. (2011). Anti-diabetic and anti-cholesterolemic activity of methanol extracts of three species of *Amaranthus*. *Asian Pac J Trop Biomed.* 1: 133-8.
 - Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. (2008). Curcumin as “curecumin”: From kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol.* 75: 787-809.
 - Golden SH, Folsom AR, Coresh J, Sharrett AR, Szklo M, et al. (2002). Risk factor groupings related to insulin resistance and their synergistic effects on subclinical atherosclerosis: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes.* 51(10): 3069-76.
 - Grzanna R, Lindmark L, Frondoza CG. (2005). Ginger an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. *J Med Food.* 125-32.
 - Guillet C. (2010). Implication des produits terminaux de glycation dans les complications liées au diabète. *Nutrition clinique et métabolisme.* 24: 109-14.
-

- Gupta S, Kataria M, Gupta PK, Murganandan S, Yashroy RC. (2004). Protective role of extracts of neem seeds in diabetes caused by streptozotocin in rats. *J Ethnopharmacol.* 90: 185-9.
 - Gupta SC, Patchva S, Koh W, Aggarwal BB. (2012). Discovery of curcumin, a component of the golden spice, and its miraculous biological activities. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 39: 283-99.
 - **H**a SK, Moon E, Ju MS, Kim DH, Ryu JH, et al. (2012). 6-Shogaol, A ginger product, modulates neuroinflammation: A new approach to neuroprotection. *Neuropharmacology.* 63: 211-23.
 - Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. (1974). Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Biol Chem.* 249(22): 7130-9.
 - Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Harlier C, Chapelle JP. (2007). Le stress oxidant. *Rev Med Liege.* 62(10): 628-38.
 - Halliwell B, Gutteridge JM. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* 186: 1-85.
 - Hamamouchi M. (1999). Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Edition. 389.
 - Hamdiken M, Bouhalit S, Kechrid Z. (2017). Effect of ruta chalepensis on zinc, lipid profile and antioxidant levels in the blood and tissue of streptozotocin-induced diabetes in rats fed zinc-deficient diets. *Can J Diabetes.* 42: 356-64.
 - Han L, Gong X, Kawano S, Saito M, Kimura Y, et al. (2005). Antiobesity actions of *Zingiber officinale roscoe*. *Yakugaku Zasshi.* 125(2): 213-20.
 - Hara T, Takeda TA, Takagishi T, Fukue K, Kambe T, et al. (2017). Physiological roles of zinc transporters: molecular and genetic importance in zinc homeostasis. *J Physiol Sci.* 67: 283-301.
 - Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. (2005). Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 45: 51-88.
 - Herman WH, Ye W, Griffin SJ, Simmons RK, Davies MJ, et al. (2015). Early detection and treatment of type 2 diabetes reduce cardiovascular morbidity and mortality: a simulation of the results of the anglo-danish-dutch study of intensive treatment in people with screen-detected diabetes in primary care (ADDITION-Europe). *Diabetes Care.* 38(8): 1449-55.
 - Hill GM, Link JE. (2009). Transporters in the absorption and utilization of zinc and copper. *J Anim Sci.* 87(14 Suppl): E85-9.
 - Houlod R. (1984). Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Editions Maloine. 225-7.
-

- Hunt JV, Dean RT, Wolff SP. (1988). Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem J.* 256(1): 205-12.
 - **I**DF: The International Diabetes Federation International Diabetes Federation Diabetes Atlas 8th Edn Brussels. (2017). Belgium.
 - Imoberdorfa R, Rühlinb ME, Ballmera P. (2010). Zinc- un oligoélément vital à grand potentiel. *Forum Med Suisse.* 10(44): 764-8.
 - INSERM: Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale. (2014). Information en santé. Diabète de type 1: une maladie auto-immune de plus en plus fréquente. Disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/diabete-type-1>
 - **J**aldappagari S, Balakrishnan S, Hegde AH, Teradal NL, Narayan PS. (2013). Interactions of polyphenols with plasma proteins: Insights from analytical techniques. *Curr Drug Metab.* 14: 456-73.
 - Jay D, Hitomi H, Griendling KK. (2006). Oxidative stress and diabetic cardiovascular complications. *Free Radic Biol Med.* 40(2): 183-92.
 - Jeong C, Bode AM, Pugliese A, Cho Y, Kim H, et al. (2009). [6]-Gingerol suppresses colon cancer growth by targeting leukotriene A4 hydrolase. *Cancer Res.* 69: 5584-91.
 - Johnston CS, Meyer CG, Srilakshmi JC. (1993). Vitamin C elevates red blood cell glutathione in healthy adults. *Am J Clin Nutr.* 58: 103-5.
 - Jollow DJ, Mitchell JR, Zampaglione Z, Gillette JR. (1974). Bromobenzene induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3, 4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolites. *Pharmacology.* 11(3): 151-9.
 - Juarez-Rojop IE, Diaz-Zagoya JC, Ble-Castillo JL, Miranda-Osorio PH, Castell-Rodriguez AE, et al. (2012). Hypoglycemic effect of Carica papaya leaves in streptozotocin induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med.* 12: 236.
 - **K**ambe T, Tsuji T, Hashimoto A, Itsumura N. (2015). The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiol Rev.*95:749-84.
 - Kaplan A. (1984). *Urea Clin Chem Toronto.* Princeton. 1257-60.
 - Kaplan LA, Rubaltelli FF, Hammerman C, Vilei MT, Leiter C, Abramov A. (1984). Bilirubin. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clin Chem Toronto.*1238-41.
 - Kaplan LA, Rubaltelli FF, Hammerman C, Vilei MT, Leiter C, Abramov A. (1984). Lipids. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clin Chem Toronto.* 918-9.
-

- Kazi TG, Afridi HI, Kazi N, Jamali MK, Arain MB, et al. (2008). Copper, chromium, manganese, iron, nickel, and zinc levels in biological samples of diabetes mellitus patients. *Biol Trace Elem Res.* 122:1-18.
 - Kechrid Z, Derai EH, 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 J Diabet 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 on a Zinc-Deficient Diet. *Biol Trace Elem Res.* 148: 371-377.
 - Khan HU, Ali I, Khan AU, Naz R, Gilani AH. (2011). Antibacterial, antifungal, antispasmodic and Ca⁺⁺ antagonist effects of *Caesalpinia bonducella*. *Nat Prod Res.* 25(4): 444-9.
 - Khan S, Yan-Do R, Duong E, Wu X, Bautista A, et al. (2014). Autocrine activation of P2Y1 receptors couples Ca²⁺ influx to Ca²⁺ release in human pancreatic beta cells. *Diabetologia.* 57: 2535- 45.
 - Khattab HAH, Al-Amoudi NS, Al-Faleh AA. (2013). Effect of ginger, curcumin and their mixture on blood glucose and lipids in diabetic rats. *Life Sci J.* 10(4): 428-42.
 - Kindermann B, Doring F, Budczies J, Daniel H. (2005). Zinc-sensitive genes as potential new target genes of the metal transcription factor-1 (MTF-1). *Biochem Cell Biol.* 83(2): 221-9.
 - King JC, Shames DM, Woodhouse LR. (2000). Zinc homeostasis in humans. *J Nutr.* 130(5S): 1360-6.
 - Kino K, Hirao-Suzuki M, Morikawa M, Sakaga A, Miyazawa H. (2017). Generation, repair and replication of guanine oxidation products. *Genes Environ.* 39: 21.
 - Kodydková J, Vávrová L, Kocík M, Žák A. (2014). Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases. *Folia Biol (Praha).* 60(4): 153-67.
 - Krentz AJ, Bailey CJ. (2005). Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs.* 65(3): 385-411.
 - Krumova K, Cosa G. (2016). Chapter 1 overview of reactive oxygen species. In *Singlet Oxygen: Applications in Biosciences and Nanosciences.* Chemistry TRS. 1: 1-21.
 - Lappas M, Hiden U, Desoye G, Froehlich J, Hauguel-de Mouzon S, et al. (2011). The role of oxidative stress in the pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal.* 15: 3061-100
 - Lavie L. (2003). Obstructive sleep apnoea syndrome-an oxidative stress disorder. *Sleep Med Rev.* 7(1): 35-51.
-

- Lavie L. (2015). Oxidative stress in obstructive sleep apnea and intermittent hypoxia revisited the bad ugly and good: implications to the heart and brain. *Sleep Med Rev.* 20: 27-45.
 - Lee WL, Cheung AM, Cape D, Zinman B. (2000). Impact of diabetes on coronary artery disease in women and men: a meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Care.* 23: 962-8.
 - Lekshmi PC, Arimboor R, Indulekha PS, Menon AN. (2012). Turmeric (*Curcuma longa L*) volatile oil inhibits key enzymes linked to type 2 diabetes. *Int J Food Sci Nutr.* 63: 832-4.
 - Levine RL. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular régulation, aging, and disease. *Free Radie Biol Med.* 32: 790-6.
 - Li W, Suwanwela NC, Patumraj S. (2017). Curcumin prevents reperfusion injury following ischemic stroke in rats via inhibition of NF- κ B, ICAM-1, MMP-9 and caspase-3 expression. *Mol Med Rep.* 16: 4710-20.
 - Li Y, Li L, Holscher C. (2016). Incretin-based therapy for type 2 diabetes mellitus is promising for treating neurodegenerative diseases. *Rev Neurosci.* 27(7): 689-711.
 - Li Y, Tran VH, Duke CC, Roufogalis BD. (2012). Gingerols of *Zingiber officinale* enhance glucose uptake by increasing cell surface GLUT4 in cultured L6 myotubes. *Planta Med.* 78(14): 1549-55.
 - Liang H, Yin B, Zhang H, Zhang S, Zeng Q, et al. (2008). Blockade of tumor necrosis factor (TNF) receptor Type 1-mediated TNF alpha signaling protected *Wistar* rats from diet-induced obesity and insulin resistance. *Endocrinology.* 149: 2943-51.
 - Lichten LA, Cousins RJ. (2009). Mammalian zinc transporters: nutritional and physiologic regulation. *Annu Rev Nutr.* 29: 153-76.
 - Lima VBS, Sampaio FA. (2011). Parameters of glycemic control and their relationship with zinc concentrations in blood and with superoxide dismutase enzyme activity in type 2 diabetes patients. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 55: 701-7.
 - Liuzzi JP, Cousins RJ. (2006). Mammalian zinc transporters. *Annu Rev Nutr.* 24: 151-72.
 - Loft S, Hogh Danielsen P, Mikkelsen L, Risom L, Forchhammer L, et al. (2008). Biomarkers of oxidative damage to DNA and repair. *Biochem Soc Trans.* 36(Pt 5): 1071-6.
 - **M**adkor HR, Mansour SW, Ramadan G. (2011). Modulatory effects of garlic, ginger, turmeric and their mixture on hyperglycemia, dyslipidemia and oxidative stress in streptozotocin-nicotinamide diabetic rats. *Br J Nutr.* 105: 1210-7.
 - Magnan C, Ktorza A. (2005). Production and secretion of insulin by the pancreatic β cell. *EMC- Endocrinologie.* 2: 241-61.
 - Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. (2006). Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sci.* 78(18): 2081-7.
-

- Mahluji S, Attari VE, Mobasseri M, Payahool L, Ostadrahimi A, et al. (2013). Effects of ginger (*Zingiber officinale*) on plasma glucose level, HbA1c and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *Int J Food Sci Nutr.* 64: 2379-88.
 - Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Després JP, Willett WC, et al. (2010). Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care.* 33: 2477-83.
 - Manju V, Nalini N. (2005). Chemopreventive efficacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post initiation stages of 1,2 dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Clinica chimica acta.* 358(1-2): 60-7.
 - Maret W. (2013). Zinc biochemistry: from a single zinc enzyme to a key element of life. *Adv Nutr.* 4: 82-91.
 - Marreiro DN, Cruz KJC, Morais JBS, Beserra JB, Severo JS, et al. (2017). Zinc and oxidative stress: Current mechanisms. *Antioxidants.* 6(2). Pii: E24.
 - Matsuura W, Yamazaki T, Yamaguchi-Iwai Y, Masuda S, Nagao M, et al. (2009). SLC39A9 (ZIP9) regulates zinc homeostasis in the secretory pathway: characterization of the ZIP subfamily I protein in vertebrate cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* 73(5): 1142-8.
 - Mauro NM. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±) – camptothécine. Thèse doctorat, Université Joseph Fourier Grenoble. p13, 16-28.
 - May JM, Contoreggi CS. (1982). The mechanism of the insulin-like effects of ionic zinc. *J Biol Chem.* 257: 4362-8.
 - Mishra RK, Kumar A, Kumar A. (2012). Pharmacological activity of *Zingiber officinale*. *IJPCS.* 1(3): 1422-7.
 - Misra HP, Fridovich I. (1977). Superoxide dismutase: positive spectrophotometric assays. *Anal Biochem.* 79: 553-60.
 - Mohamed AK, Bierhaus A, Schiekofler S, Tritschler H, Ziegler H, et al. (1999). The role of oxidative stress and NF kappa B activation in late diabetic complications. *Biofactors* 10: 157-67.
 - Moller N, Nair KS. (2008). Diabetes and protein metabolism. *Diabetes.* 57(1): 3-4.
 - Moore JB, Blanchard RK, McCormack WT, Cousins RJ. (2001). cDNA array analysis identifies thymic LCK as upregulated in moderate murine zinc deficiency before T-lymphocyte population changes. *J Nutr.* 131(12): 3189-96.
 - Moussard C. (2006). Biochimie structurale et métabolique. 3^{ème} édition. Boeck. 352.
 - Mozaffari-Khosravi H, Talaei B, Jalali BA, Najarzadeh A, Mozayan MR. (2014). The effect of ginger powder supplementation on insulin resistance and glycemic indices in patients with type
-

- 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Complement Ther Med.* 22: 9-16.
- Murray RJ, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. (2003). Harper's illustrated biochemistry. A Longe Medical BOOK. 20th edition. Hill. 102-583.
 - Murray RL. (1984). Alanine aminotransferase. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clin Chem Toronto.* 1088-90.
 - Murray RL. (1984). Creatinine *Clin Chem.* 1261-6.
 - **N**aito HK. (1984). Cholesterol. *Clin chem.* 1194-11206.
 - Nammi S, Sreemantula S, Roufogalis BD. (2009). Protective effects of ethanolic extract of *Zingiber officinale* rhizome on the development of metabolic syndrome in high-fat diet-fed rat. *Basic and Clin Pharmacol and Toxicol.* 104: 366-73.
 - Nathan C, Ding A. (2010). SnapShot: reactive oxygen intermediates (ROI). *Cell.* 140(6): 951.
 - Nauck M. (2016). Incretin therapies: highlighting common features and differences in the modes of action of glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Diabetes Obes Metab.* 18(3): 203-16.
 - Nelly CB. (2013). *Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie.* Toulouse : Université Toulouse III Paul Sabatier. Faculté Des Sciences Pharmaceutiques.
 - Nicol M, Maudet M. (2005). Le Curcumin. *Med Nut.* 41: 135-45.
 - Nishi Y. (1996). Zinc and growth. *J Am Coll Nutr.* 15: 340-4.
 - Nishikawa T, Araki E. (2007). Impact of mitochondrial ROS production in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. *Antioxid Redox Signal.* 9(3): 343-53.
- O**rganisation mondiale de la Santé. (2016). *Rapport mondial sur le diabète*, Genève. Disponible sur : <http://www.who.int/diabetes/global-report>
- Organisation Mondiale de la Sante. (2017). Centre des médias : Diabète. Aide-mémoire n° 312. Disponible sur : http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/fr/
 - Oteiza PI, Olin KL, Fraga CG, Keen CL. (1995). Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rats testes. *J Nutr.* 128: 823-9.
 - **P**acker L, Weber SU, Rimbach G. (2001). Molecular aspects of α -Tocotrienol antioxidant action and cell signalling. *J Nutr.* 131(2): 369S-373S.
 - Palma HE, Wolkmer P, Gallio M, Correa MMB, Schmatz R, et al. (2014). Oxidative stress parameters in blood, liver, and kidney of diabetic rats treated with curcumin and/or insulin. *Mol Cell Biochem.* 386: 199-210.
-

- Park S, Yoon SJ, Tae HJ, Shim CY. (2011). RAGE and cardiovascular disease. *Front Biosci Landmark Ed.* 16: 486-97.
 - Pesce A. (1984). Lactate dehydrogenase. *Clin. Chem.* 1117-1124.
 - Pirson N, Maiter D, Alexopoulou O. (2016). Prise en charge du diabète gestationnel en 2016: une revue de la littérature. *Endocrinol Nutr.* 135: 661-8.
 - Pourcel L, Routaboul JM, Cheynier V, Lepiniec L, Debeaujon I. (2007). Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends Plant Sci.*12:29-36.
 - Prasad AS. (2000). Effects of Zinc deficiency on immune functions. *J Trace Elem Exp Med.* 13: 1-20.
 - Prasad AS. (2014). Zinc: A Miracle Element. Its discovery and impact on human health. *JSM Clin Oncol Res.* 2: 1030.
 - Prasad S, Gupta S, Tyagi A, Aggarwal B. (2014). Curcumin, a component of golden spice: From bedside to bench and back. *Biotechnol Adv.* 32: 1053-64.
 - Prasad S, Tyagi AK. (2015). Ginger and its constituents: Role in prevention and treatment of gastrointestinal cancer. *Gastroenterol Res Practice.* 142979: 11.
 - Prasad AS. (2009). Impact of the discovery of human zinc deficiency on health. *J Am Coll Nutr.* 28(3): 257-65.
 - **R**amudu SK, Mlikarjuna K, Kesireddy SR. (2011). Efficacy of ethanolic extract of ginger on kidney lipid metabolic profiles in diabetic rats. *Int J Diabet Dev Ctries.* 31(2): 97-103.
 - Ran C, Zhao W, Moir RD, Moore A. (2011). Non-conjugated small molecule FRET for differentiating monomers from higher molecular weight amyloid beta species. *PLoS One.* 6: e19362.
 - Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal.* 24(5): 981.
 - Regnault N, Salanave B, Castetbon K, Cosson E, Vambergue A, et al. (2016). Diabète gestationnel en France en 2012: dépistage, prévalence et modalités de prise en charge pendant la grossesse. *Bull Epidémiologique hebdomadaire.* 9:164-73.
 - Rehman R, Akram M, Akhtar N, Jabeen Q, saeed T, et al. (2011). *Zingiber officinale roscoe* (pharmacological activity). *J Med Plant Res.* 5(3): 344-348.
 - Robertson RP, Zhou H, Slucca M. (2011). A role for zinc in pancreatic islet β -cell cross-talk with the α -cell during hypoglycaemia. *Diabetes Obes Metab.* 13 Suppl 1:106-11.
 - Rosalki, SB, Foo AY, Burlina A, Prellwitz W, Stieber P, Neumeier D. (1993). Multicenter evaluation of Iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. *Clin. Chem.* 39 (4): 648-652.
-

- Roussel Am, Favier-Hininger I. (2009). Eléments-trace essentiels en nutrition humaine: chrome, sélénium, zinc et fer. *Endocrinologie-Nutrition*. Elsevier-Masson. 10-359-B-10: 16.
 - Rungby J. (2010). Zinc, zinc transporters and diabetes. *Diabetologia*. 53: 1549-51.
 - Ruz M, Carrasco F, Sánchez A, Perez A, Rojas P. (2016). Does zinc really “Metal” with diabetes? The epidemiologic evidence. *Curr Diab Rep*. 16(11): 111.
 - Ruz M, Carrasco F. (2013). Zinc as a potential coadjuvant in therapy for type 2 diabetes. *Food Nutr Bull*. 34: 215-21.
 - Saleh D, Bayoumi AR, El-Eraky WI, El-Khatib AS. (2013). Streptozotocin-induced vascular and biochemical changes in rats: Effects of rosiglitazone vs. Metformin. *Bull Fac Pharm Cairo Univ*. 51(2): 131-138.
 - Sandstead. (2007). Zinc. *handbook on toxicology of metals*. 925-47.
 - Saraswat M, Suryanarayana P, Yadagiri PR, Madhoosudan A, Nagalla PB, et al. (2010). Antiglycating potential of *Zingiber Officinalis* and delay of diabetic cataract in rats. *Molecul Visi*. 16: 1525-37.
 - 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). Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech). Paris. 177.
 - Schultz A. (1984). Uric acid. *Clin Chem*. 1261-1266.
 - Selvi NMK, Sridhar MG, Swaminathan RP, Sripradha R. (2015). Efficacy of turmeric as adjuvant therapy in type 2 diabetic patients. *Ind J Clin Biochem*. 30: 180-6.
 - Semba RD, Huang H, Luttly GA, Van Eyk JE, Hart GW. (2014). The role of O-GlcNAc signaling in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Proteomics Clin Appl*. 8: 218-31.
 - Seo KI, Choi MS, Jung UJ, Kim HJ, Yeo J, et al. (2008). Effect of curcumin supplementation on blood glucose, plasma insulin, and glucose homeostasis related enzyme activities in diabetic db/db mice. *Mol Nutr Food Res*. 52: 995-1004.
 - Seve M, Favier A. (2002). Métabolisme du zinc. *Encyclopédie Médico-chirurgicale*. 10-359-D-10: 19.
 - Shanmugam KR, Mallikarjuna K, Kesireddy N, Reddy KS. (2010). Neuroprotective effect of ginger on antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food and Chem Toxicol*. 49: 893-7.
 - Shehzad A, Rehman G, Lee Y. (2013). Curcumin in inflammatory diseases. *Int Union Biochem Mol Biology Inc*. 39(1): 69-77.
-

- Shimabukuro M, Zhou YT, Levi M, Unger RH. (1998). Fatty acid-induced beta cell apoptosis: A link between obesity and diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95: 2498-502.
 - Shobana S, Akhilender NK. (2000). Antioxidant activity of selected Indian spices. *Prostagl Leuk Esse Fatty Acids*. 62: 107-10.
 - Signorini C, De Felice C, Durand T, Oger C, Galano JM, et al. (2013). Isoprostanes and 4-hydroxy-2-nonenal: markers or mediators of disease? Focus on Rett syndrome as a model of autism spectrum disorder. *Oxid Med Cell Longev*. 343824(10): 13.
 - Sinha S, Sen S. (2014). Status of zinc and magnesium levels in type 2 diabetes mellitus and its relationship with glycemic status. *Int J Diabetes Dev Ctries*. 34 (4): 220-3.
 - Solomons NW. (2013). Update on zinc biology. *Ann Nutr Metab*. 62: 8-17.
 - Southon S, Kechrid Z, Wright AJA. (1988). Effect of reduced dietary zinc intake on carbohydrate and zinc metabolism in the genetically diabetic mouse (C57BL/ KsJdb+/db+). *Br J Nutr*. 60: 499-507.
 - Steck A, Bugawan T, Valdes AM, Emery L, Blair A, et al. (2005). Association of Non-HLA genes with type 1 diabetes autoimmunity. *Diabetes*. 54(8): 2482-6.
 - STEPwise Algérie : Enquête nationale sur la mesure du poids des facteurs de risque des maladies non transmissibles selon l'approche STEPwise de l'OMS. Principaux résultats. Algérie 2016-2017. Disponible sur <https://www.afro.who.int> et <http://www.sante.gov.dz>
 - Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P, Gargova S. (2007). Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chem*. 102(3): 764-70.
 - Stora D. (2007). Pharmacologie, bonne pratique. 3ème Edition. Prophyle-Malmaison.
 - Strazzullo P, Puig JG. (2007). Uric acid and oxidative stress: relative impact on cardiovascular risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 17: 409-14.
 - Syarifah-Noratiqah SB, Naina-Mohamed I, Zulfarina MS, Qodriyah HMS. (2018). Natural polyphenols in the treatment of alzheimer's disease. *Curr Drug Targets*. 19(8): 927-37.
 - **T**ang Y, Zheng S, Chen A. (2009). Curcumin eliminates leptin's effects on hepatic stellate cell activation via interruption leptin signaling. *Endocrinology*. 150 (7): 3011-20.
 - Taniguchi N. (1992). Clinical significance of superoxide dismutases: changes in aging, diabetes, ischemia and cancer. *Adv Clin Chem*. 29: 1-59.
 - Tarr JM, Kaul K, Chopra M, Kohner EM, Chibber R. (2013). Pathophysiology of diabetic retinopathy. *ISRN Ophthalmol*. 2013: 1-13.
 - Tegenge MA, Rajbhandari L, Shrestha S, Mithal A, Hosmane S, et al. (2014). Curcumin protects axons from degeneration in the setting of local neuroinflammation. *Exp Neurol*. 253C: 102-10.
-

- Traber MG, Atkinson J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med.* 43: 4-15.
 - Trinder P. (1996). *Ann Clin biochem.* 6: 24-33.
 - Tubek S. (2007). Selected zinc metabolism parameters in premenopausal and postmenopausal women with moderate and severe primary arterial hypertension. *Biol Trace Elem Res.* 116:249-55.
 - **U**chiyama S, Yamaguchi M. (2003). Alteration in serum and bone component findings induced in streptozotocin-diabetic rats is restored by zinc acexamate. *Int J Mol Med.* 12: 949-54.
 - **V**alko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 160(1): 1-40.
 - Van Veldhoven PP. (2010). Biochemistry and genetics of inherited disorders of peroxisomal fatty acid metabolism. *J Lipid Res.* 51(10): 2863-95.
 - Vaubourdolle M. (2007). *Médicaments.* Edition Wolters Kluwer SA. Paris.
 - Videla LA, Fernandez V, Ugarte G, Valenzuela A. (1980). Effect of acute ethanol intoxication on the content of reduced glutathione of the liver in relation to its lipoperoxidative capacity in the rat. *FEBS Lett.* 111: 6-10.
 - **W**allace SS. (2002). Biological consequences of free radical-damaged DNA bases. *Free Radic Biol Med.* 33: 1-14.
 - Webster D. (1974). *Clin Chem Acta.* 53: 109-15.
 - Weigand E, Egenolf JA. (2017). A moderate zinc deficiency does not alter lipid and fatty acid composition in the liver of weanling rats fed diets rich in cocoa butter or safflower oil. *J Nutr Metab.* 2017:4798963.
 - Whittle N, Lubec G, Singewald N. (2009). Zinc deficiency induces enhanced depression like behaviour and altered limbic activation reversed by antidepressant treatment in mice. *Amino Acids.* 36: 147-58.
 - Wongeakin N, Sridulyakul P, Jariyapongskul A, Suksamrarn A, Patumraj S. (2009). Effects of curcumin and tetrahydrocurcumin on diabetes induced endothelial dysfunction. *Afr J Biochem Res.* 3: 259-65.
 - World Health Organization. (2013). Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy. World Health Organization.
 - **X**ia L, Wang H, Goldberg HJ, Munk S, Fantus IG, et al. (2006). Mesangial cell NADPH oxidase upregulation in high glucose is protein kinase C dependent and required for collagen IV expression. *Am J Physiol Renal Physiol.* 290(2): F345-56.
-

- Xie Z, Zeng X, Li X, Wu B, Shen G, et al. (2017). Curcumin attenuates oxidative stress in liver in Type 1 diabetic rats. *Open Life Sci.* 12: 452-9.
 - Yang C, Li H, Wang Z, Zhang W, Zhou K, et al. (2012). Glycated albumin is a potential diagnostic tool for diabetes mellitus. *Clinical Medicine.* 12(6): 568-71.
 - Yang F, Li B, Dong X, Luo P. (2017). The beneficial effects of zinc on diabetes-induced kidney damage in murine rodent model of type 1 diabetes mellitus. *J Trace Elem Med and Biol.* 42:1-10.
 - Yin H, Xu L, Porter NA. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem Rev.* 111: 5944-72.
 - Yki-Jarvinen H. (2004). Thiazolidinediones. *N Engl J Med.* 351(11): 1106-18.
 - Yoshihara D, Fujiwara N, Suzuki K. (2010). Antioxidants: benefits and risks for longterm health. *Maturitas.* 67(2): 103-7.
 - Zadeh JB, Kor MM. (2014). Physiological and pharmaceutical effects of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) as a valuable medicinal plant. *Euro J Exp Biol.* 4(1): 87-90.
 - Zhang H, Forman HJ. (2012). Glutathione synthesis and its role in redox signaling. *Semin Cell Dev Biol.* 23: 722-8.
 - Zheng J, Cheng J, Zheng S, Feng Q, Xiao X. (2018). Curcumin, a polyphenolic curcuminoid with its protective effects and molecular mechanisms in diabetes and diabetic cardiomyopathy. *Front Pharmacol.* 9: 472.
 - Zhou H, Beevers CS, Huang S. (2011). The targets of curcumin. *Current drug targets.* 12:332-47.
 - Zhou H, Zhang T, Harmon JS, Bryan J, Robertson RP. (2007). Zinc, not insulin, regulates the rat alpha-cell response to hypoglycemia in vivo. *Diabetes.* 56: 1107-12.
 - Zhu H, Zhang L, Amin AR, Li Y. (2008). Coordinated upregulation of a series of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes as a novel strategy for protecting renal tubular cells from oxidative and electrophilic stress. *Exp Biol Med (Maywood).* 233(6): 753-65.
-

Annexes

Annexe 1: Fiches techniques « Spinreact » pour le dosage des paramètres biochimiques.**1.1. Dosage du glucose**

Echantillons : Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1 Tampon	- TRIS pH 7,4 - Phénol	92mmol/L 0.3mmol/L
R 2 Enzyme	- 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

Préparation de réactif de travail (RT)

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.

Mode Opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif	1 mL	1 mL	1 mL
Etalon	–	10 µL	-
Echantillon	–	–	10 µL

Mélanger, incuber 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.

Calcul

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

1.2. Détermination de l'activité d'aspartate aminotransférase (ASAT)

Echantillons : Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1 Tampon	- TRIS pH 7,8 - Lactat déshydrogénase (LDH) - Malate déshydrogénase (MDH) - L Aspartate	80mmol/L 800U/L 600U/L 2mmol/L
R 2 Substrat	1 NADH (LPL) 3 α -Cétoglutarate	0,18mmol/L 12mmol/L

Préparation de réactif de travail (RT)

Mélanger: 1 volume de (R2) substrats + 4 volumes (R1) tampon.

Ce réactif de travail est stable 1 mois à 2-8°C ou 3 jours à température ambiante (15- 25°C).

Mode Opératoire

Pipeter dans une cuvette :

RT (mL)	1,0
Echantillon (μ L)	100

- Mélanger et incuber pendant 1 minute.
- Lire l'absorbation (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbation à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbation par minute ($\Delta A/\text{min}$).

Calcul

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

1.3. Détermination de l'activité d'alanine amino transférase (ALAT)

Echantillons : Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1 Tampon	- TRIS pH 7,8 - Lactat déshydrogénase (LDH) - L Aspartate	80 mmol/L 800U/L 2 mmol/L
R 2 Substrat	- NADH (LPL) - α -Cétoglutarate	0,18mmol/L 12mmol/L

Préparation de réactif de travail (RT)

Mélanger: 1 volume de (R2) substrats + 4 volumes (R1) tampon.

Ce réactif de travail est stable 2 mois à 2-8°C ou 2 semaines à température ambiante (15- 25°C).

Mode Opératoire

Pipeter dans une cuvette :

RT (mL)	1,0
Echantillon (μ L)	100

- Mélanger et incuber pendant 1 minute.
- Lire l'absorbation (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbation à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbation par minute ($\Delta A/\text{min}$).

Calcul

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

1.4. Détermination de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL)

Echantillons : Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1 Tampon	- Diéthanolamine (DEA) pH 10,4 - Chlorure de magnésium	- 1 mmol/L - 0,5 mmol/L
R 2 Substrats	- P- nitrophénylphosphate (pNPP)	- 10 mmol/L

Préparation de réactif de travail (RT)

Mélanger : 4 volumes de (R1) tampon + 1 volume de (R2) substrat.

Ce réactif de travail est stable 21 jours à 2-8°C ou 15 jours à température ambiante (15-25°C).

Mode Opératoire

RT (mL)	1,2
Echantillon (µL)	20

- Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon, mettre en marche le chronomètre et lire l'absorbance chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de la différence d'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$).

Calcul

$$\text{PAL (UI /L)} = \Delta A/\text{min} \times 3300$$

1.5. Dosage du cholestérol total

Echantillons: Sérum

Réactifs utilisés:

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1 Tampon	- PIPES pH 6,9 - phénol	90 mmol/L 26 mmol/L
R 2 Enzymes	- Cholestérol estérase (CHE) - Cholestérol oxydase (CHOD) - Peroxydase (POD) - 4 - Aminophénazone (4-AF)	300 U/L 300 U/L 1250 U/L 0,4 mmol/L
Cholestérol CAL	- Cholestérol aqueux (standard)	200 mg/dL

Préparation de réactif de travail (RT)

- Dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans un 1 flacon de tampon R1.
- Refermer et mélanger doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout.

Ce réactif de travail est stable 4 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 40 jours à 15-25°C.

Mode Opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif	1 mL	1 mL	1 mL
Etalon	-	10 µL	-
Echantillon	-	-	10 µL

- Mélanger. Laisser reposer 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à température ambiante.
- Lire les absorbances à 500 nm (480-520) contre le blanc réactif.

Calcul

$$[\text{Cholestérol}] \text{ (mg/dL)} = \frac{\text{Abs (dosage)}}{\text{Abs (Etalon)}} \times 200 \text{ (Concentration de l'étalon)}$$

1.6. Dosage des triglycérides

Echantillons: Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1 Tampon	- GOOD pH 7,5 - P- chlorophénol	50 mmol/L 2 mmol/L
R 2 Enzymes	- Lipoprotéine lipase (LPL) - Glycérol kinase (GK) - Glycérol-3-oxydase (GPO) - Peroxydase (POD) - 4- Aminophenasone - ATP	150000 U/L 500 U/L 2500 U/L 440 mmol/L 0,1mmol/L 0,1mmol/L
Triglycérides CAL	- Triglycérides aqueux (standard)	200 mg/dL

Préparation de réactif de travail (RT)

- Dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans un 1 flacon de tampon R1.
- Reconstituer le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans 10 mL de tampon R 1.
- Refermer et mélanger doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout.

Ce réactif de travail est stable 6 semaines au réfrigérateur (2-8°C) ou une semaine à 15-25°C.

Mode Opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT	1 mL	1 mL	1 mL
Etalon	-	10 µL	-
Echantillon	-	-	10 µL

Mélanger. Laisser reposer 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à température ambiante. Lire les absorbances à 505 nm (490-550) contre le blanc réactif.

Calcul

$$[\text{Triglycérides}] \text{ (mg/dL)} = \frac{\text{Abs (dosage)}}{\text{Abs (étalon)}} \times 200 \text{ (Concentration de l'étalon)}$$

1.7. Détermination de l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH)

Echantillons : Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1 Tampon	- Imidazole - Pyruvate	- 65 mmol/L - 0,6 mmol/L
R 2 Substrats	- NADH	- 0,18 mmol/L

Préparation de réactif de travail (RT)

- Dissoudre 1 tablette de R2 dans une capsule de R1.
- Fermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu.

Ce réactif de travail est stable 2 jours à 2-8°C ou 12 heures à température ambiante (15-25°C).

Mode opératoire

	25°-30°	37°
RT (mL)	3,0	3,0
Echantillon (µL)	100	50

- Mélanger et incuber pendant 1 minute.
- Lire l'absorbation (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbation à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbation par minute ($\Delta A/\text{min}$).

Calcul

$$25^{\circ}\text{-}30^{\circ} \text{ LDH (UI/L)} = \Delta A/\text{min} \times 4925$$

$$37^{\circ} \text{ LDH (UI/L)} = \Delta A/\text{min} \times 9690$$

1.8. Dosage de bilirubine

Echantillons : Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1	- Acide sulphanilyque 7,8 - Acide chlorhydrique - Diméthysufoxyde	30 mmol/L 50 U/L 7 mmol/L
R 2	- Nitrate de sodium	29 mmol/L

Mode Opérateur

	Blanc	B. totale
R1 (mL)	1,5	1,5
R2 (µL)	-	50
Echantillon / Etalon (µL)	100	100

- Mélanger et incuber pendant exactement 5 minutes à 15-25°C. Consulter l'absorption (A).

Calcul

- **Avec étalon:**

$$[\text{Bilirubine}] \text{ (mg/dL)} = \frac{(\text{A})\text{Echantillon} - (\text{A}) \text{Blanc Echantillon}}{(\text{A}) \text{Etalon} - (\text{A}) \text{Blanc Etalon}} \times \text{Etalon (Conc)}$$

$$[\text{Bilirubine}] \text{ (mg/dL)} = (\text{A}) \text{Echantillon} - (\text{A}) \text{Blanc Echantillon} \times \text{Facteur}^*$$

- **Avec le facteur:**

$$^* \text{ Facteur: } \frac{\text{Concentration d'étalon}}$$

$$(\text{A}) \text{ Etalon} - (\text{A}) \text{ Blanc Etalon}$$

1.9. Dosage des protéines totales

Echantillons: Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R Biuret	Tartrate de potassium et de sodium Iodure de sodium Iodure de potassium Sulfate de cuivre (II)	15 mmol/L 100 mmol/L 5 mmol/L 5 mmol/L
Etalon	Sérum albumine bovine (standard)	7g/dL

Mode Opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
R	1 mL	1 mL	1 mL
Etalon	-	25 µL	-
Echantillon	-	-	25 µL

- Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à température ambiante.
 - Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif.
- La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

Calcul

$$[\text{Protéines Totales}] \text{ (g/dL)} = \frac{(\text{A}) \text{ Echantillon}}{(\text{A}) \text{ Etalon}} \times 7 \text{ (Etalon Conc)}$$

1.10. Dosage d'albumine

Echantillons : Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R	-Vert de bromocrésol, pH 4,2	- 0,12 mmol/L
Albumine CAL	Sérum albumine aqueux (standard)	- 5g/dL

Mode Opérateur

	Blanc	Etalon	Echantillon
R	1 mL	1 mL	1 mL
Etalon	-	5 µL	-
Echantillon	-	-	5 µL

- Mélanger et laisser incuber 10 min à température ambiante (15- 25°C).
- Lire l'absorbation (A) de l'étalon et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant 1 heure à température ambiante

Calcul

$$[\text{Albumine}] \text{ (g/dL)} = \frac{(\text{A}) \text{ Echantillon}}{(\text{A}) \text{ Etalon}} \times 5 \text{ (Etalon Conc)}$$

1.11. Dosage de la créatinine

Echantillons: Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1 Réactif picrique	Acide picrique	17,5 mmol/L
R 2 Réactif alcalinisant	Hydroxyde de sodium	0,29 U/L
Créatinine CAL	Créatinine aqueux (standard)	2 mg/dL

Préparation de réactif de travail (RT)

-Mélanger des volumes égaux de réactif picrique R 1 et de réactif alcalinisant R 2.

- Stabilité du réactif de travail: 1 mois à 2-8°C ou 3 semaines à température ambiante (15- 25°C).

Mode Opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT	1 mL	1 mL	1 mL
Etalon	–	100 µL	–
Echantillon	–	–	100 µL

-Mélanger et activer le chronomètre.

-Consulter l'absorption (A1) au bout de 30 secondes puis de 90 secondes (A2) après avoir ajouté l'échantillon de test.

Calculer: $\Delta A = A2 - A1$.

$$[\text{Créatinine}] \text{ (mg/dL)} = \frac{\Delta A \text{ Echantillon} - \Delta A \text{ Blanc}}{\Delta A \text{ Etalon} - \Delta A \text{ Blanc}} \times \text{Etalon (Conc)}$$

1.12. Dosage d'urée

Echantillons: Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1 Tampon	TRIS pH 7,8 α -Cétoglutarate	80 mmol/L 6 mmol/L
R 2 Enzymes	Uréase Glutamate déshydrogénase (GLDH) NADH	3750 U/L 6000 U/L 0,32 mmol/L
Urée CAL	Urée aqueux (standard)	50mg/dL

Préparation de réactif de travail (RT)

-Dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes de R 2 dans un flacon de tampon R 1. Refermer et mélanger doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout.

Ce réactif de travail est stable 6 semaines à 2-8°C o 7 jours à 15-25°C.

Mode Opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
R	1 mL	1 mL	1 mL
Etalon	-	10 μ L	-
Echantillon	-	-	10 μ L

Mélanger et consulter les absorptions aux 30 s (A1) et aux 90 s (A2).

Calculer: $\Delta A = A1 - A2$.

$$[\text{Urée}] \text{ (mg/dL)} = \frac{(\text{A}) \text{ Echantillon}}{(\text{A}) \text{ Etalon}} \times 50 \text{ (Etalon Conc)}$$

1.13. Dosage d'acide urique

Echantillons: Sérum

Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R 1 Tampon	Phosphates pH 7,4 2-4 Dichlorophénol sulphonate (DCPS)	50 mmol/L 4 mmol/L
R 2 Enzymes	Uricase Peroxidase (POD) Ascorbate oxydase 4 - Aminophénazone (4-AF)	60 U/L 660 U/L 200 U/L 1 mmol/L
Acide Urique CAL	Acide urique aqueux (standard)	6 mg/dL

Préparation de réactif de travail (RT)

Dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes de R 2 dans un peu de tampon R 1. Fermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu.

Stabilité du réactif de travail: 1 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 10 jours à température ambiante.

Mode Opérateur

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT	1 mL	1 mL	1 mL
Etalon	–	25 µL	–
Echantillon	–	–	25 µL

-Mélanger et incubé pendant 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à 15- 25°C.

-Lire l'absorption (a) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

Calcul

$$[\text{Acide urique}] (\text{mg/dL}) = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 6 (\text{Conc Etalon})$$

Annexe 2: Courbes d'étalonnages

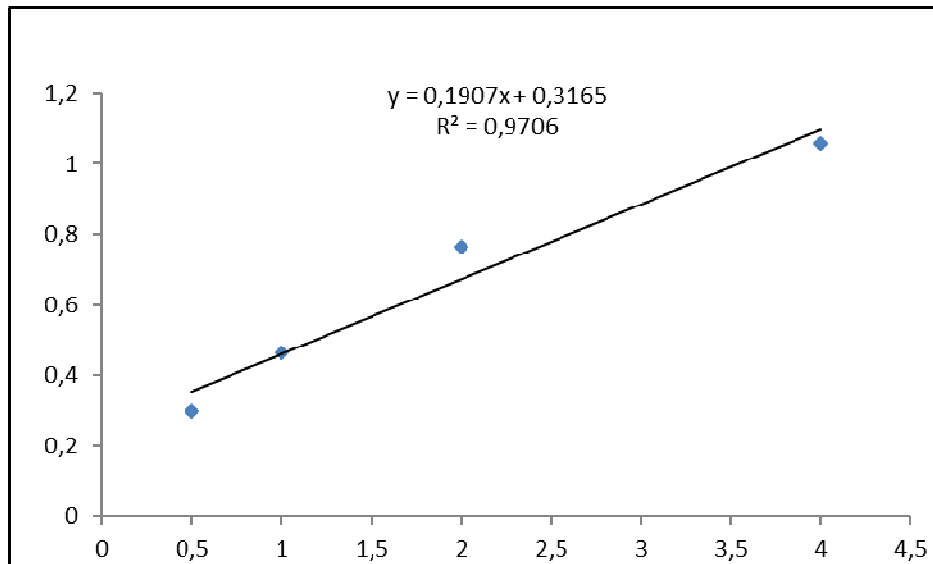


Figure 1: Courbe d'étalonnage du zinc (µg/ml).

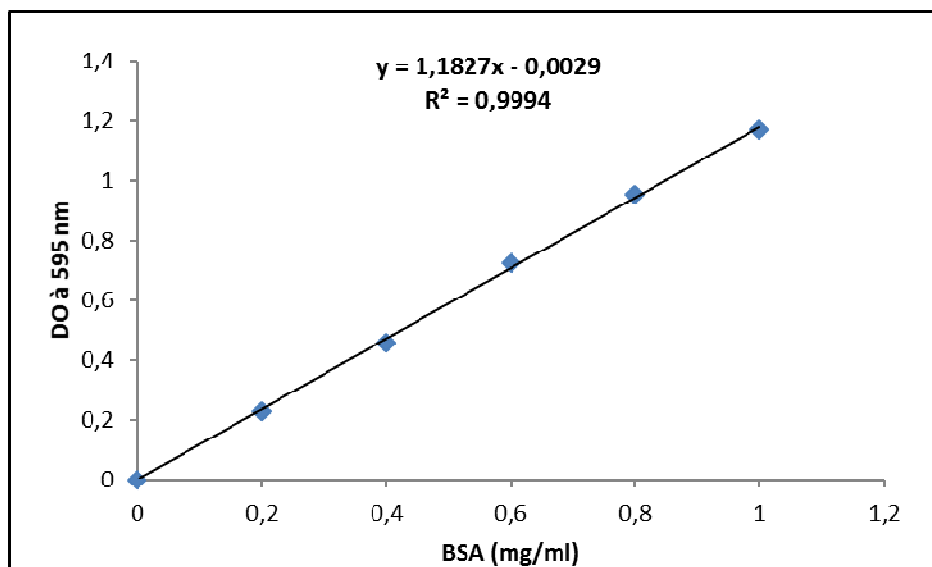


Figure 2: Courbe d'étalonnage des protéines.

Annexe 3: Préparation de réactifs

• **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.

Production Scientifiques

Publication

- 1- **Tebboub I** & Kechrid Z (2019). Effect of curcuma on zinc, lipid profile and antioxidants levels in blood and tissue of streptozotocin-induced diabetic rats fed zinc deficiency diet, Archives of Physiology and Biochemistry. DOI: 10.1080/13813455.2019.1623820

Communications

- 1- **Tebboub I** & Kechrid Z. « The benefic effect of ginger (zingiber officinale) on glucose and proteins in streptozotocine diabetic rats fed zinc deficiency». L'Association Tunisienne de Biotechnologie et Valorisation des Bio-Ressources (AT-BVBR) Mars 2017.
 - 2- **Tebboub I** & Kechrid Z. «Effect of zinc deficiency on oxidative stress and some biochemical parameters in streptozotocin induced diabetic rats». Les 4^{èmes} journées scientifiques internationales de l'ISBM-Tunisie. Février 2018.
 - 3- **Tebboub I** & Kechrid Z. « Efficacy of ginger on lipids profile and oxidative stress in diabetic rats fed zinc deficiency». L'Association Tunisienne de Biotechnologie et Valorisation des Bio-Ressources (AT-BVBR) Mars 2018.
 - 4- **Tebboub I** & Kechrid Z. « The benefic effect of ginger on renal biochemical parameters in diabetic rats fed zinc deficiency». 29^{ème} congrès international des sciences biologiques et de biotechnologie de l'ATSB Mars 2018.
-