

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



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

THÈSE

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

Spécialité : Biochimie Appliquée

THÈME

**Rôles préventifs de la Boswellie contre le stress oxydatif
et les conséquences métaboliques du diabète
expérimental induit chez les rats**

Présentée par : M^{lle} KHEROUF Amel

Directeur de thèse :	AOUACHERI Ouassila	Prof., Université Badji Mokhtar-Annaba
Membres de Jury:		
Président:	BOUTEBBA Aissa	Prof., Université Badji Mokhtar-Annaba
Examineurs	OUALI Kheireddine	Prof., Université Badji Mokhtar-Annaba
	BOUSSEKINE Samira	Prof., Université Larbi Tébessi-Tébessa
	DJABRI Belgacem	Prof., Université Larbi Tébessi-Tébessa

Année Universitaire : 2021/2022

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes très chers parents **Laid** et **Nacira**, ma grand-mère **Rabia**, ma sœur jumelle **Marwa**, mes frères **Maher** et **Haitem**, mes sœurs **Amani** et **Nouzha** et toute ma famille pour l'amour qu'ils m'apportent et leur soutien durant toutes mes années d'étude...Un grand merci et je vous aime énormément.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce présent travail.

Remerciements

Je remercie « **ALLAH** » tout Puissant, pour m'avoir donné la force, la patience et le courage pour mener ce travail à son terme.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à **Mme. AOUACHERI Ouassila**, professeur au département de Biochimie, université Badji Mokhtar-Annaba, d'avoir accepté la direction de cette thèse, et pour l'intérêt qu'elle a donné pour accomplir ce travail. Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude pour sa générosité, sa gentillesse, son soutien et pour toute son aide. Je suis ravi d'avoir travaillé en sa compagnie car outre son appui scientifique, elle a toujours été là pour me soutenir et me conseiller au cours de l'élaboration de cette thèse. Veuillez trouver ici Madame ma reconnaissance et tout mon respect.

Je veux exprimer mes vifs remerciements à **Mr. BOUTEBBA Aissa**, professeur à l'université Badji Mokhtar-Annaba pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

J'adresse mes sincères remerciements à **Mr. OUALI Kheireddine**, professeur à l'université de Badji Mokhtar-Annaba pour l'attention qu'il a porté à ce travail en acceptant de le juger.

Je remercie amplement **Mme. BOUSSEKINE Samira**, maître de conférences A à l'université Larbi Tébessi-Tébessa, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et de faire partie de mon jury.

J'adresse mes sincères remerciements à **Mr. DJABRI Belgacem**, professeur à l'université Larbi Tébessi-Tébessa, pour bien vouloir examiner ce travail.

Ma grande reconnaissance au Professeur Saka S. (Université Badji Mokhtar-Annaba), pour ses précieux conseils, son aide et ses encouragements pour l'élaboration de ce travail.

Je remercie vivement le personnel du service d'anatomie pathologique de l'hôpital Ibn Rochd-Annaba; en particulier **Dr. LAOUAR** pour la réalisation et l'interprétation des coupes histologiques.

Je tiens vivement à remercier **Pr. ADEM** de l'université de Çankırı-Turquie, de m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour sa gentillesse et sa disponibilité.

Je remercie l'ensemble du personnel des deux laboratoires Biochimie et Microbiologie appliquées, et aussi toutes les personnes du département de biochimie, en particulier **Dr. TICHATI Lazher** pour sa disponibilité et ses nombreux services durant la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier tous mes amis et collègues pour leur aide durant les décapitations et leur présence permanente à chaque fois que j'en ai eu besoin, particulièrement: **Imen, Sabri, Narimen, Mounir et Sara**. Merci aussi pour les moments sympathiques que nous avons passés ensemble.

Un énorme merci également à ma sœur jumelle **Marwa**, pour son soutien et aide de tous les jours.

Liste des abréviations

- ADH** : Hormone antidiurétique
- AGE** : advanced glycation endproducts
- AGL** : Acides gras libres
- ALAT** : Alanine amino-transférase
- ASAT** : Aspartame amino-transférase
- BHT**: Hydroxytoluène butylé
- BSGR** : *Boswellia serrata gum resin*
- CAT**: Catalase
- CDNB** : 1-chloro,2,4-dinitrobenzène
- CoA** : Coenzyme A
- DG** : Diabète gestationnel
- DT1**: Diabète type 1
- DT2**: Diabète type 2
- DTNB**: Acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque
- ERB**: Extrait de la résine de Boswellie
- ERO**: Espèces réactives de l'oxygène
- GAD** : Glutamate décarboxylase
- GLUT4** : Transporteur de glucose 4
- GSSG** : Glutathion oxydé
- HbA1c** : Hémoglobine glyquée
- HPLC** : High Performance Liquid Chromatography
- LDH** : Lactate déshydrogénase
- LDL** : Low density Lipoprotein
- MAP**: Maladie artérielle périphérique
- MIDD**: Maternally Inherited Diabetes and Deafness
- MNU**: 1-méthyl-n-nitroso
- MPO**: Myeloperoxidase
- NO⁻** : Oxyde nitrique
- NOD** : Non-obese diabetic
- NOX**: NADPH oxydase
- ¹O₂** : Oxygène singulet

O₂^{•-} : Anions superoxydes

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PKC : Protéine kinase C

PPAR-γ : Proliferator activated receptor-gamma

RL : Radicaux Libres

RO• : Radical Alkoxy

ROO• : Radical peroxy

ROS : Reactive oxygen species

SOD: Superoxydes dismutases

STZ: Streptozotocine

TBA : Acide thiobarbiturique

TCA : Acide trichloroacétique

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
1	Nombre et répartition des diabétiques à l'échelle mondiale	4
2	Apparition du diabète de type 1	5
3	Schéma simplifié de la physiopathologie du diabète de type 2	9
4	Le mécanisme d'action de la streptozotocine dans les cellules bêta pancréatiques	13
5	Voies de formation des ERO	15
6	Sources de ERO dans les mitochondries	16
7	Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène	19
8	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	20
9	Attaque radicalaire des protéines	21
10	Attaque radicalaire de l'ADN	22
11	Cycle des antioxydants enzymatiques	25
12	Cycle des antioxydants non enzymatiques (vitamine E, vitamine C et glutathion)	26
13	Relation entre l'hyperglycémie et le stress oxydant	29
14	Voie des polyols	30
15	Glycation des protéines et formation des produits de glycation avancés (AGEs)	31
16	Auto-oxydation du glucose	31
17	Voie des hexosamines	32
18	Activation de la PKC induite par l'hyperglycémie	33
19	La gomme-oléorésine de <i>Boswellia serrata</i>	36
20	Structure des protéines arabinogalactane	40
21	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	45
22	Chromatogramme de l'analyse HPLC de l'extrait éthanolique de la résine de Boswellie	67
23	Variation du poids corporel chez les groupes expérimentaux à la fin de traitement	69
24	Variation des globules rouges ($\times 10^6/\mu\text{L}$), des globules blancs ($\times 10^3/\mu\text{L}$), Taux d'hémoglobine (g/dL), Taux d'hématocrite (%), du nombre des plaquettes ($10^3/\mu\text{L}$), Les plaquettes ($\times 10^3/\mu\text{L}$), CCMH (pg) et VGM (fL) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours du traitement	72
25	Variation de la concentration du glucose sanguin (mg/dL) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	73
26	Variation de la glycémie chez les groupes expérimentaux	73
27	Variation de la concentration sérique des protéines totales, de l'albumine, de la biliruribine totale, et variation de l'activité enzymatique des transaminases, de la lactate déshydrogénase, de la GGT et de la phosphatase alcaline chez les groupes expérimentaux après 28 jours du traitement	76

28	Variation de la concentration de l'insuline, de l'activité sérique de l' α - amylase et de la lipase chez les groupes expérimentaux après 28 jours du traitement	77
29	Variation de la concentration sérique de la créatinine, de l'acide urique et de l'urée chez les groupes expérimentaux après 28 jours du traitement	79
30	Variation de la concentration du cholestérol, triglycérides, LDL et HDL chez les groupes expérimentaux après 28 jours du traitement	81
31	Variation du glutathion (nmol/mg prot) dans les organes (foie, reins, pancréas, rate et cœur) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours de traitement	83
32	Variation de la malondialdéhyde (nmol/mg prot) dans les organes (foie, reins, pancréas et cœur) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours de traitement	85
33	Variation de l'activité enzymatique de la GST (nmol GSH-CDNB/min/mg prot) dans les organes (foie, reins, et pancréas) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours de traitement	87
34	Variation de l'activité enzymatique de la GPx (μ M GSH/min/mg prot) dans les organes (foie, reins, et pancréas) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours de traitement.	87
35	Variation de l'activité enzymatique de la CAT (μ mol H ₂ O ₂ /min/mg prot) dans les organes (foie, reins, pancréas et cœur) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours de traitement	89
36	Coupes histologiques du pancréas	90
37	Coupes histologiques du foie	92
38	Coupes histologiques des reins	93

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Les critères utilisés pour le diagnostic du diabète sucré	7
2	Principales caractéristiques physico-chimiques de l'oléo-gommo-résine exsudée du tronc de <i>Boswellia serrata</i>	38
3	Analyse du spectre infra-rouge de la gomme-oléorésine de <i>Boswellia serrata</i>	38
4	Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment (ONAB)	43
5	Le rendement d'extrait éthanolique de la gomme-oléorésine de Boswellie	64
6	Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins de l'extrait la gomme-oléorésine de Boswellie	65
7	Analyse chromatographique par HPLC/DAD de l'extrait éthanolique de la gomme-oléorésine de Boswellie	65
8	Variation des poids corporels (g), des poids absolus des organes et des rapports organo-somatiques (%) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	68
9	Variation de quelques paramètres hématologiques chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	70
10	Variation des paramètres hépatiques chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	74
11	Variation de la concentration de l'insuline, de l'activité enzymatique de l' α -amylase et de la lipase chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	77
12	Variation des paramètres de la fonction rénale chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	78
13	Variation de la concentration du cholestérol, triglycérides, LDL et HDL chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	80
14	Variation du taux de glutathion (nmol/mg prot) dans les organes (foie, reins, pancréas, rate et cœur) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	82
15	Variation du malondialdéhyde (nmol/mg prot) dans les organes (foie, reins, pancréas et cœur) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	84
16	Variation de l'activité enzymatique de la GST (nM GSH-CDNB/min/mg prot) dans les organes (foie, reins et pancréas) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	86
17	Variation de l'activité enzymatique de la GPx (μ M GSH/min/mg prot) dans les organes (foie, reins et pancréas) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	86
18	Variation de l'activité enzymatique de la CAT (μ M H ₂ O ₂ /min/mg prot) dans les organes (foie, reins, pancréas et cœur) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie	88

Table des matières

Résumés	
Introduction.....	1

Chapitre 1 : Le diabète

1.1 Définition du diabète	3
1.2 Epidémiologie.....	3
1.3 Classification de diabète.....	4
1.3.1 Diabète de type 1 (DT1)	4
1.3.2 Diabète de type 2 (DT2).....	4
1.3.3 Diabète gestationnel	5
1.3.4 Diabète mitochondrial.....	5
1.3.5 Autres types de diabète.....	6
1.4 Critère diagnostique du diabète sucré.....	6
1.5 Physiopathologie du diabète.....	7
1.5.1 Physiopathologie du diabète type 1	7
1.5.1.1 Effets sur le métabolisme du glucose	8
1.5.1.2 Effets sur les protéines	8
1.5.2 Physiopathologie du diabète type 2	8
1.5.2.1 Facteurs génétiques	9
1.5.2.2 Facteurs environnementaux	9
1.6 Complications liées au diabète.....	9
1.6.1 Maladie cardiovasculaire.....	10
1.6.2 Maladie artérielle périphérique.....	10
1.6.3 Rétinopathie.....	10
1.6.4 Néphropathie.....	10
1.7 Traitements du diabète.....	11
1.7.1 Traitements du diabète type 1.....	11
1.7.2 Traitements du diabète type 2.....	11
1.8 Diabète expérimental.....	13

Chapitre 2 : Stress oxydatif et diabète

2.1 Définition du stress oxydatif	14
2.2 Les radicaux libree.....	14

2.2.1 Les espèces réactives de l'oxygène	14
2.2.2 Sources et formation des radicaux libre.....	15
2.2.2.1 Production intracellulaire.....	16
2.2.2.2 Production extracellulaire.....	17
2.3 Les conséquences moléculaires du stress oxydant.....	19
2.3.1 Oxydation des lipides.....	20
2.3.2 Oxydation des protéines.....	20
2.3.3 Oxydation de l'ADN.....	21
2.3.4 Oxydation des glucides.....	22
2.4 Système antioxydants.....	22
2.4.1 Systèmes de défences enzymatiques.....	23
2.4.1.1 Superoxyde dismutase (SOD).....	23
2.4.1.2 La catalase (CAT).....	23
2.4.1.3 Le glutathion peroxydase (GPx).....	24
2.4.1.4 Le glutathion-S-tansférase (GST).....	24
2.4.1.5 Glutathion réductase (GR)	24
2.4.2 Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	25
2.4.2.1 Le glutathion réduit (GSH).....	25
2.4.2.2 La vitamine C.....	26
2.4.2.3 La vitamine E.....	26
2.4.2.4 L'acide urique.....	27
2.4.3 Les oligoélément.....	27
2.4.3.1 Sélénium.....	27
2.4.3.2 Zinc.....	27
2.4.3.3 Cuivre.....	27
2.4.4 Le coenzyme 10.....	28
2.4.5 Les polyphénols.....	28
2.5 Relation entre le stress oxydant et le diabète.....	28
2.5.1 Activation de la voie des polyols.....	29
2.5.2 Production de produits avancés de glycation (AGE).....	30
2.5.3 Auto-oxydation du glucose.....	31
2.5.4 Voie des hexosamines.....	32
2.5.5 Activation de la protéine kinase C (PKC).....	32

2.5.6 Effet du stress oxydant sur la sécrétion d'insuline.....	33
--	----

Chapitre 3 : La gomme-oléorésine de Boswellie

3.1 Traitement du diabète par les plantes médicinales.....	34
3.2 Mécanismes d'action des plantes antidiabétiques.....	34
3.3 Généralité sur la gomme-oléorésine de Boswellie.....	35
3.3.1 Postition systématique	36
3.3.2 Description botanique	37
3.3.3 Propriété physico-chimiques de la de la gomme-oléorésine de Boswellie.....	37
3.3.4 Composition chimique de la gomme-oléorésine de la Boswellie.....	39
3.3.4.1 Fraction volatile (partie oléo)	39
3.3.4.2 Fraction polysaccharidique (partie gomme)	39
3.3.4.3 Fraction résineuse (polyterpènes)	40
3.3.5 Propriétés thérapeutiques de la gomme-résine de Boswellie.....	40
3.3.5.1 Effet hypolipédémiant.....	40
3.3.5.2 Effet anti-inflammatoire.....	41
3.3.5.3 Effet antimicrobien et antioxydant.....	41
3.3.5.4 Effet antiasthmatique.....	41

Chapitre 4: Matériels et méthodes

4.1 Matériels.....	42
4.1.1 Matériel végétal.....	42
4.1.2 Les produits chimiques.....	42
4.1.3 Matériel animal.....	42
4.1.3.1 Entretien des rats.....	42
4.1.3.2 Induction du diabète chez les rats.....	43
4.1.3.3 Expérimentation animale.....	43
4.2 Méthodes de dosage	46
4.2.1 Etude phytochimique de la gomme-résine de Boswellie	46
4.2.1.1 Préparation de l'extrait éthanolique.....	46
4.2.1.2 Dosage des polyphénols totaux.....	46
4.2.1.3 Dosage des flavonoïdes.....	46
4.2.1.4 Dosage des tannins.....	47
4.2.1.5 Conditions d'analyse par l'HPLC.....	47

4.2.2 Dosage des paramètres hématologiques	48
4.2.3 Dosage des paramètres biochimiques.....	48
4.2.3.1 Dosage du glucose.....	48
4.2.3.2 Dosage des paramètres hépatiques.....	48
4.2.3.3 Dosage des paramètres pancréatiques.....	51
4.2.3.4 Dosage des paramètres rénaux.....	52
4.2.3.5 Dosage des paramètres lipidiques.....	54
4.2.4 Dosage des paramètres du stress oxydant.....	56
4.2.4.1 Dosage du glutathion (GSH).....	56
4.2.4.2 Dosage du malondialdéhyde (MDA).....	57
4.2.4.3 Dosage de l'activité enzymatique du catalase (CAT).....	58
4.2.4.4 Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx).....	59
4.2.4.5 Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST).....	60
4.2.4.6 Dosage des protéines.....	61
4.2.5 Étude histologique.....	62
4.2.6 Étude statistique.....	63

Chapitre 5 : Résultats

5.1 Etude phytochimique.....	64
5.1.1 Rendement d'extraction.....	64
5.1.2 Analyse quantitative.....	64
5.1.2.1 Teneur en polyphénols totaux.....	64
5.1.2.2 Teneur en flavonoïdes	64
5.1.2.3 Dosage des tanins.....	65
5.1.3 Analyse quantitative et qualitative de l'extrait de la résine de Boswellie par HPLC/DAD.....	65
5.2 Étude pondérale.....	67
5.2.1 Effet du traitement sur la croissance corporelle.....	67
5.2.2 Effet du traitement sur les rapports organo-somatiques.....	67
5.3 Etude hématologique.....	69
5.4 Etude biochimique.....	72
5.4.1 Évolution de la glycémie.....	72
5.4.2 Effet du traitement sur la fonction hépatique.....	73
5.4.2.1 Effet du traitement sur les concentrations des protéines totales et de l'albumine.....	73

5.4.2.2 Effet du traitement sur les activités enzymatiques des AST, ALT, PAL et LDH.	73
5.4.2.3 Effet du traitement sur la concentration de la bilirubine totale et l'activité enzymatique de la gamma glutamyl-transpeptidase (GGT).	75
5.4.3 Effet du traitement sur les paramètres pancréatiques (taux de l'insuline et activité enzymatique de l'α amylase et lipase).	76
5.4.4 Effet du traitement sur la fonction rénale (concentrations de la créatinine, acide urique et urée).	78
5.4.5 Effet du traitement sur la concentration du cholestérol total, triglycérides, LDL et HDL.	79
5. 5 Étude de quelques marqueurs du stress oxydant.	83
5.5.1 Effet du traitement sur le taux du glutathion réduit (GSH).	83
5.5.2 Effet du traitement sur le taux du Malondialdéhyde (MDA).	84
5.5.3 Effet du traitement sur les activités enzymatiques de la glutathion peroxydase (GPx) et glutathion S-transférase (GST).	85
5.5.4 Effet du traitement sur l'activité enzymatique de la catalase (CAT).	88
5.6 Analyse des coupes histologiques.	89
5.6.1 L'effet du traitement sur l'histologie du pancréas.	89
5.6.2 L'effet du traitement sur l'histologie du foie.	91
5.6.3 L'effet du traitement sur l'histologie des reins.	92

Chapitre 6: Discussion

Discussion	94
Conclusion et perspectives	103
Références bibliographiques	105
Annexes	

Résumé

Le diabète sucré est une maladie métabolique devenue un problème de santé publique. Il est caractérisé par une hyperglycémie. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet antidiabétique (antihyperglycémiant, antioxydant et cytoprotecteur) de la poudre de la gomme-résine de Boswellie (BSGR). Dans un premier temps, une investigation phytochimique permettant la mise en évidence de la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins de l'extrait éthanolique de la résine de Boswellie a été effectuée. L'extrait éthanolique a montré une richesse en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins avec des valeurs de 32.08 ± 0.39 mg EAG/g d'extrait, 11.9 ± 0.52 mg EQ/g d'extrait et 1.31 ± 0.02 mg EC/g d'extrait respectivement. L'analyse par HPLC a permis aussi l'identification de plusieurs composés phénoliques et flavonoïques tels : la catéchine, acide gallique, kaempférol et la rutine. Ensuite, le diabète a été induit par une injection intrapéritonéale de 60 mg/kg de streptozotocine. 40 rats mâles ont été divisés en 4 groupes de dix rats chacun. Le groupe 1 a servi de témoin et a reçu un régime alimentaire standard pour les rats (ND-0). Le groupe 2 a reçu un régime contenant 2 % de poudre de la gomme-résine de Boswellie (ND-BSGR). Le groupe 3 (témoin diabétique) a reçu un régime alimentaire standard pour les rats (D-0). Tandis que les rats diabétiques du groupe 4 ont reçu un régime contenant 2 % de la poudre de résine de Boswellie (D-BSGR). L'administration de streptozotocine a provoqué un désordre métabolique qui s'est traduit par une augmentation des taux du glucose plasmatique, de l'activité des alanine aminotransférase, d'aspartate transaminase, de phosphatase alcaline, de cholestérol total, de lipase et une diminution des taux d' α -amylase et d'insuline. De plus, l'exposition de rats à la streptozotocine a induit une altération du statut antioxydant, comme a été indiqué par la réduction du glutathion réduit, de la glutathion-S-transférase, de la catalase, de la glutathion peroxydase et une augmentation des niveaux de malondialdéhyde. De plus, l'analyse des coupes histologiques du pancréas, foie et rein a montré une altération tissulaire. Cependant, la supplémentation alimentaire des rats diabétiques par la poudre de résine de Boswellie a rétabli tous les paramètres étudiés. En conclusion, la présente étude suggère que la poudre de la résine de Boswellie a un effet bénéfique sur le contrôle de diabète par diminution de la glycémie et réparation des dommages oxydants. Ces résultats semblent en faveur de son exploitation en tant qu'agent pharmacologique pour le traitement du diabète.

Mots-clés: Gomme-résine de Boswellie, Effet antidiabétique, Activité antioxydante, Streptozotocine, Supplémentation alimentaire, Coupes histologiques, Rats

Abstract

Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by chronic hyperglycemia, it has become a public health problem. The objective of this study is to evaluate the anti-diabetic effect (antihyperglycemic, antioxidant and cytoprotective) of Boswellia gum resin powder. Initially, a phytochemical investigation allowing to highlight the content of total polyphenols, flavonoids and tannins of the ethanolic extract of the boswellia resin was carried out. The ethanolic extract showed an abundance in total polyphenols, flavonoids and tannins with values of 32.08 ± 0.39 mg GAE / g of extract, 11.9 ± 0.52 mg QE/ g of extract and 1.31 ± 0.02 mg CE / g extract respectively. The HPLC analysis also allowed the identification of several phenolic and flavonoid compounds such as: Catechin, gallic acid, kaempferol and rutin. diabetes was induced by an intraperitoneal injection of 60 mg/kg streptozotocin. Forty rats were randomly allocated into four groups of ten each: Group 1 served as control and received normal rat diet (ND-0). Group 2 received diet containing 2 % of Boswellia gum resin powder (ND-BSGR). Group 3 diabetic control received normal rat diet (D-0). While Group 4 diabetic rats received diet containing 2 % of Boswellia gum resin powder (D-BSGR). Streptozotocin administration caused metabolic disorder which led to an increase in levels of plasma glucose, alanine amino transferase, aspartate transaminase, alkaline phosphatase, total cholesterol, lipase and a decrease in α amylase and insulin levels. In addition, exposure of rats to streptozotocin induced alteration in the antioxidant status as indicated by the reduction of reduced glutathione, glutathione-S-transferase, catalase, glutathione peroxidase and an increase in malondialdehyde levels. In addition, analysis of histological sections of the pancreas, liver and kidney showed tissue damage. However, dietary supplementation of diabetic rats with Boswellia resin powder restored all biological parameters studied. In conclusion, the present study suggests that Boswellia resin powder has a beneficial effect on the control of diabetes by lowering blood glucose and repairing oxidative damage. These results seem to support its exploitation as a pharmacological agent for the treatment of diabetes.

Keywords: Boswellia gum resin, Antidiabetic effect, Antioxidant activity, Streptozotocine, dietary supplementation, Histological sections, Rats.

المخلص

مرض السكري هو داء أبيض أصبح مشكلة صحية عامة يتميز بارتفاع السكر في الدم. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير المضاد للسكري (تأثير الخافض لنسبة السكر في الدم، التأثير المضاد للأكسدة و التأثير الحامي للخلاية) لمسحوق صمغ اللبان *Boswellia*.

في البداية ، تم إجراء تحقيق كيميائي نباتي وذلك لتسليط الضوء على محتوى إجمالي البوليفينول والفلافونويد والعفص من المستخلص الإيثانولي لمسحوق صمغ اللبان. أظهر المستخلص الإيثانولي وفرة في إجمالي البوليفينول والفلافونويد والعفص بقيم 32.08 ± 0.39 ملغ /GAE غ من المستخلص ، 11.9 ± 0.52 ملغ /QE غ من المستخلص و 1.31 ± 0.02 ملغ /CE غ مستخلص على التوالي. سمح تحليل HPLC أيضا بتحديد العديد من المركبات الفينولية والفلافونية مثل الكاتشين وحمض الغاليك و الكامبفيرول والروتين. تم إحداث مرض السكري عن طريق الحقن داخل الصفاق بمقدار 60 مجم / كجم من الستربتوزوسين . تم تقسيم 40 جرذ بشكل عشوائي الي 4 مجموعات: المجموعة 1 استعملت كشاهد وتلقت نظاما غذائيا طبيعيا للجرذان (ND-0)؛ تلقت المجموعة 2 نظام غذائي يحتوي على 2 % من مسحوق صمغ اللبان (ND-BSGR) ، المجموعة 3 مصابة بالسكري تلقت نظاما غذائيا طبيعيا للجرذان (D-0) ، بينما تلقت الجرذان المصابة بداء السكري من المجموع 4 غذاء يحتوي على 2% من مسحوق صمغ اللبان (D-BSGR) . تسبب الستربتوزوسين في اضطراب أبيض واضح الذي أدى إلى زيادة مستويات الجلوكوز في البلازما ،الأنين أمينوترانسفيراز ، ترانس أميناز الأسبارتات ، الفوسفاتاز القلوي ، الكوليسترول الكلي ، الليباز وانخفاض في ألفا الأميليز و مستويات الأنسولين .بالإضافة إلى ذلك ،فإن تعرض الجرذان للستربتوزوسين ادى إلى تغيير في حالة مضادات الأكسدة كما يتضح في انخفاض الجلوتاثيون ، الجلوتاثيو ترانسفيراز ، الكاتالاز ، الجلوتاثيون بيروكسيداز ، و زيادة مستويات مالونديالدهيد .بالإضافة إلى ذلك، أظهر تحليل المقاطع النسيجية للبنكرياس، الكبد و الكلى تلف الأنسجة.

ومع ذلك ،فإن المكمل الغذائي مسحوق صمغ اللبان أعاد جميع المعايير الى المستوى الطبيعي لدى الجرذان المصابة بداء السكري.

في الختام تشير الدراسة الحالية الي ان مسحوق صمغ اللبان *Boswellia* له تأثير على السيطرة على المرض السكري عن طريق خفض نسبة الجلوكوز في الدم وإصلاح الضرر التأكسدي . يبدو ان هذه النتائج تدعم استغلاله كعامل دوائي لعلاج مرض السكري.

الكلمات المفتاحية: صمغ اللبان، *Boswellia*، تأثير مضاد لمرض السكري ،نشاط مضاد للأكسدة ،ستربتوزوسين المكمل الغذائي، المقاطع النسيجية،جرذان.

Introduction

Le diabète sucré (DS) est un trouble endocrinien caractérisé par une glycémie élevée, qui affecte le métabolisme des glucides, des protéines et des lipides. Il résulte soit d'un défaut de sécrétion d'insuline par les cellules du pancréas soit de l'action de l'insuline sécrétée (Rajendiran *et al.*, 2018). Le diabète constitue un enjeu majeur de santé publique, selon l'organisation mondiale de la santé le diabète va devenir la septième cause de décès au monde en 2030 (WHO 2011^a). Une mauvaise hygiène de vie comme le tabagisme, la sédentarité et une alimentation déséquilibrée, est fortement liée à la prévalence croissante de cette maladie (Dos Santos *et al.*, 2019).

L'hyperglycémie chronique du diabète peut entraîner des complications graves et à long terme, telles que l'hypercholestérolémie, l'hypertriglycéridémie et les maladies cardiovasculaires. En outre, il conduit à une insuffisance rénale, à la cécité ou à la cataracte diabétique (Prasad *et al.*, 2009). De plus, il a été rapporté que le diabète provoque des déséquilibres métaboliques critiques et des variations pathologiques dans le pancréas, le foie et les reins (Akpan *et al.*, 2013).

Il a été suggéré que le stress oxydatif joue un rôle important dans le développement du diabète sucré et de ses complications (Lazo-de-la-Vega-Monroy et Fernández-Mejía., 2013). Il peut persister en raison soit de la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Gumieniczek *et al.*, 2009), soit de l'épuisement de la réserve antioxydante (Abdelrazek *et al.*, 2018). Les espèces réactives de l'oxygène formées peuvent détruire de manière irréversible les îlots pancréatiques (Xie *et al.*, 2018). Ces espèces peuvent également activer de nombreuses voies de signalisation cellulaire dont NF- κ B (facteur nucléaire- κ B) et PKC (protéine kinase C) et provoquer des interférences avec les voies de signalisation de l'insuline, ce qui conduit au développement d'une résistance à l'insuline (Goldin *et al.*, 2006).

Il a également été montré dans les données précédentes que la thérapie aux antioxydants maintient la fonction des cellules β et prévient l'apoptose causée par le stress oxydatif (Rajendiran *et al.*, 2018). Les plantes médicinales ont été considérées comme une source efficace pour le traitement du diabète en raison de leurs puissantes propriétés antioxydantes (Rajagopal et Sasikala., 2008). D'ailleurs, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a déclaré que l'évaluation des plantes médicinales traditionnelles pour le traitement du diabète était efficace, non toxique, avec moins ou pas d'effets secondaires et est considérée comme une excellente alternative pour une thérapie orale (Takamoto et Kadowaki., 2011).

La gomme-résine de Boswellie est une espèce de plante médicinale de la famille Burseraceae qui pousse dans des zones montagneuses sèches de l'Inde, de l'Afrique du Nord et du Moyen-Orient

(Siddiqui *et al.*, 2011). La précieuse matière aromatique s'imposa progressivement comme un ingrédient médicinal à part entière et grâce à l'expérience, des propriétés variées lui furent attribuées. La substance issue du végétal fut utilisée pour soulager des inflammations, des douleurs, ainsi que pour traiter des infections et cicatriser des plaies. Les vertus médicinales de la résine du *Boswellia* furent transmises et reconnues par la suite à travers le monde et les âges jusqu'à nos jours (Delfaut *et al.*, 2018). En outre, de nombreuses études ont rapporté que l'extrait de la *Boswellie* avait des activités antidiabétiques (Azemi *et al.*, 2012). C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier l'effet antidiabétique de la gomme-résine de *Boswellie* sur des rats sains et des rats rendus diabétiques par la streptozotocine.

L'objectif de cette recherche scientifique est d'évaluer d'une part les effets néfastes du diabète expérimental sur les différents métabolismes cellulaires ainsi que l'intensité du stress oxydant engendré. D'autre part, nous avons cherché à élucider le pouvoir thérapeutique antidiabétique (antihyperglycémiant, antioxydant et cytoprotecteur) de la gomme-résine de la *Boswellie*. Cette élucidation a été basée sur la réalisation des différentes analyses phytochimiques, biochimiques et histologiques. Notre but est de motiver d'une part les gens surtout les diabétiques à introduire la gomme-résine de la *Boswellie* dans l'alimentation en tant que complément alimentaire. D'autre part d'encourager les partenaires socioéconomiques à produire ces compléments alimentaires à base de gomme-résine de la *Boswellie* pour assurer leur disponibilité.

Nous avons structuré notre travail en deux grandes parties, l'une théorique et l'autre pratique. Dans la première partie théorique, nous avons présenté une analyse bibliographique décrivant les notions essentielles liées au contexte global de notre travail (diabète sucré, stress oxydant, implication du stress oxydant dans le diabète et description de la résine de *Boswellie*).

Dans la deuxième partie pratique, nous avons développé dans un premier chapitre le matériel utilisé et les méthodes réalisées pour l'étude phytochimique et histologique ainsi que le dosage des différents paramètres biochimiques, hématologiques et les marqueurs du stress oxydant. Dans les deux derniers chapitres nous avons exposé et discuté les résultats obtenus dans cette étude.

Chapitre 1 : Le diabète

1.1 Définition du diabète sucré

Le diabète est défini par une hyperglycémie chronique liée soit à un trouble de la sécrétion de l'insuline, soit à un trouble de l'action de l'insuline, soit les deux (Raccach, 2004). L'insuline est une hormone produite par le pancréas, revêt un caractère essentiel dans la régulation de la glycémie, puisque c'est la seule hormone ayant une action antihyperglycémiant. Une carence ou un défaut d'insuline entraîne une hyperglycémie chronique qui est la cause principale de la survenue des complications dégénératives de la maladie diabétique mais celles-ci sont néanmoins susceptibles d'être évitées ou tout au moins retardées par un traitement adéquat (Karimulla et Kumar, 2011).

Les symptômes du diabète sucré sont caractéristiques et se manifestent par une polydipsie (soif accrue), polyurie (besoin fréquent d'uriner), polyphagie (faim accrue), fatigue, perte de poids inhabituel, infections vaginales pour les femmes atteintes de cette maladie, irritabilité, vision floue (ADA, 2014). Souvent les symptômes du diabète sucré ne sont pas visibles, et l'hyperglycémie présente d'une façon permanente cause des perturbations progressives au niveau des vaisseaux capillaires, ainsi qu'à l'apparition de complications à long terme, qui touchent en particulier l'œil, les reins, les systèmes nerveux et cardiovasculaires (Alberti et Zimmet, 1998). Pour cette raison, un diagnostic de la maladie s'avère nécessaire pour un dépistage précoce et un établissement d'un traitement adéquat.

1.2 Epidémiologie

Le diabète est un problème majeur de santé qui a atteint des proportions alarmantes : actuellement près d'un demi-milliard de personnes dans le monde vivent avec le diabète. La fédération internationale du diabète a compté en 2019, 463 millions de personnes atteintes de diabète et ce nombre devrait atteindre 578 millions en 2030 et 700 millions en 2045 (Figure 1). Plus de quatre millions de personnes âgées de 20 à 79 ans sont mortes de causes liées au diabète en 2019. Les chiffres indiquent que plus d'un million d'enfants et d'adolescents vivent avec le diabète de type 1 (IDF, 2019).

Les projections pour l'avenir indiquent clairement que l'impact du diabète au niveau mondial devrait continuer à augmenter considérablement. D'après l'organisation mondiale de la santé 12 % de l'ensemble de la population du Maghreb souffrent du diabète. Le taux des diabétiques en Algérie était de 6,9 % contre 6,8 % au Maroc et 7 % en République d'Afrique du Sud. Actuellement, la fédération nationale des diabétiques en Algérie déclare 5 millions d'Algériens diabétiques, en raison

des nouvelles habitudes alimentaires, manque d'activité physique et d'un mode de vie qui s'est occidentalisé (WHO, 2011^b).

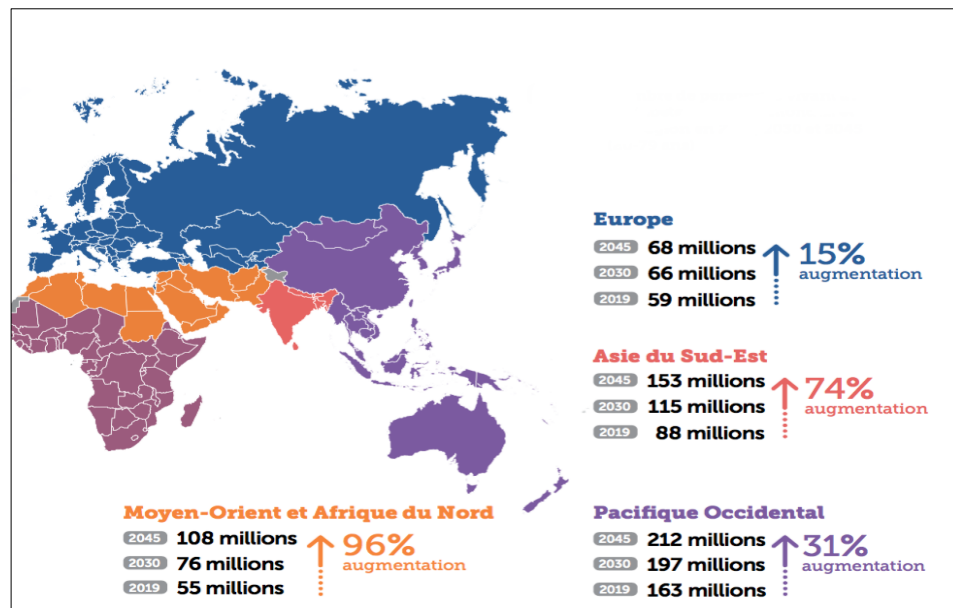


Figure 1 : Nombre et répartition des diabétiques à l'échelle mondiale (IDF, 2019)

1.3 Classification de diabète

D'après Thomas et Philipson, il existe plusieurs classifications du diabète sucré, mais aucun schéma n'est idéal, et il y a souvent des incohérences et des lacunes, ce qui montre que la classification de la maladie va encore évoluer avec la compréhension de la pathogenèse des formes majeures (Thomas et Philipson, 2015). Actuellement, l'OMS adopte la classification du diabète selon l'étiologie et la gravité de l'hyperglycémie (OMS, 2019).

1.3.1 Diabète de type 1 (DT1)

Appelé aussi diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile, est une maladie majoritairement auto-immune (10 % des cas). Elle est le résultat de la destruction des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas qui produisent l'insuline. L'organisme produit alors très peu ou ne produit pas d'insuline. Dans de cas rares, ce type de diabète est considéré comme étant idiopathique, on ne connaît pas parfaitement les causes de ce processus destructeur, mais une explication probable est avancée: l'association de la susceptibilité génétique et un déclencheur environnemental, comme une infection virale, déclencherait la réaction auto-immune. Les toxines ou certains facteurs alimentaires ont également été impliqués (Maahs *et al.*, 2010 ; Atkinson *et al.*, 2014) (Figure 2).

1.3.2 Diabète de type 2 (DT2)

Le diabète de type 2 souvent appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète adulte. C'est le type le plus courant et il représente environ 90 % de l'ensemble des cas de diabète dans le monde (Grimaldi *et al.*, 2005). Il est caractérisé par une altération de l'insulinosécrétion et des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles créant une situation appelée « insulino-résistance » (Calope *et al.*, 2008). On ne connaît pas parfaitement les causes du diabète de type 2, mais il est étroitement lié à l'excès de poids, au vieillissement, ainsi qu'à l'origine ethnique et aux antécédents familiaux. Comme pour le diabète de type 1, le diabète de type 2 est le résultat d'une combinaison de prédispositions multigéniques et de facteurs environnementaux (Gregg *et al.*, 2014)

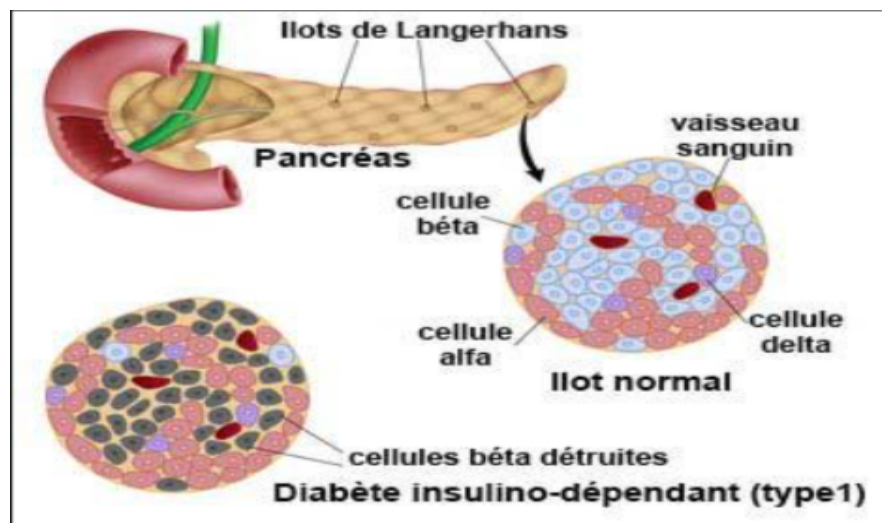


Figure 2 : Apparition du diabète de type 1 (Ben-smail et Benmansour, 2019)

1.3.3 Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est observé chez 3 % des femmes enceintes, il peut être considéré comme transitoire au cours de la grossesse et disparaît une fois la grossesse terminée. Il s'agit d'une intolérance au glucose conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable (Rodier, 2001). Ce type de diabète peut entraîner des effets néfastes chez les mères et les nouveau-nés. Les femmes atteintes de diabète gestationnel ont un risque de développer éventuellement le diabète de type 2 par rapport aux femmes qui n'ont pas eu de diabète pendant la grossesse. Les femmes atteintes de diabète gestationnel courent un risque élevé de récurrence dans les futures grossesses (Landon et Gabbe, 2011).

1.3.4 Diabète mitochondrial

Le diabète mitochondrial est aussi dit MIDD (Maternally Inherited Diabetes and Deafness) est la forme la plus fréquemment rencontrée de diabète par mutation ou délétion de l'acide désoxyribonucléique (ADN) mitochondrial. Une mutation en position 3243 en est responsable. Elle

conduit à un déficit en ATP. Le diabète se présente cliniquement comme un type 1 ou un type 2, et est lié à un déficit primitif de l'insulinosécrétion secondaire à la dysfonction de la chaîne respiratoire mitochondriale (Buyschaert, 2006).

1.3.5 Autres types de diabète

Si la régulation de la glycémie est altérée dans le DT1 par l'absence d'insuline endogène, ces perturbations du contrôle métabolique peuvent, de plus, être aggravées par la résistance des tissus périphériques à l'action de l'insuline exogène. On parle alors de "double diabète" (Kilpatrick *et al.*, 2007). L'insulinorésistance résulte essentiellement d'une insulinothérapie inadaptée. Ainsi, l'insuffisance d'insuline et l'hyperglycémie associée sont l'origine du phénomène de glucotoxicité. Celui-ci cause des altérations qui réduisent l'action de l'insuline, générant ainsi un cercle vicieux où l'hyperglycémie et l'insulinorésistance se renforcent mutuellement.

1.4 Critères diagnostiques du diabète sucré

Une personne est diagnostiquée comme étant diabétique quand elle présente une glycémie à jeun de 126 mg/dL et plus ou 7,00 mmol/L (avec des symptômes du diabète) associée avec une glycémie plasmatique occasionnelle de 200 mg/dL (11,1 mmol/L); ou une glycémie de 200 mg/dL (11,1 mmol/L) 2h après une charge de 75 g de glucose prise par voie orale (ADA, 2014). Dans son dernier rapport, le Comité d'Expert International, recommande aussi l'utilisation du test de l'hémoglobine glyquée (HbA1C \geq 6.5 %), comme critère pour le diagnostic du diabète sucré (Tableau 1).

Hb A1C \geq 6.5%. Le test doit être performé dans un laboratoire qui utilise une méthode certifiée par NGSP, et standardisée pour un essai en DCCT.
Ou
Glycémie à jeun \geq 126 mg/dL (7.0 mmol/L). Un état de jeune est défini comme abstention de la prise de calories pour au moins 8 h.
Ou
Glycémie de 2h \geq 200 mg/dL (11.1 mmol/L) durant un TTOG. Le test doit être réalisé comme décrit par l'organisation mondiale de la santé, en utilisant une charge en glucose équivalente à 75 g de glucose anhydre dissocié dans l'eau.

Ou
Chez les personnes avec des symptômes classiques de l'hyperglycémie, des excès de l'hyperglycémie ou une glycémie prise au hasard ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L).
Dans l'absence d'une hyperglycémie certaine, les critères 1-3 doivent être confirmés par plusieurs tests répétés.

Tableau 01 : Les critères utilisés pour le diagnostic du diabète sucré (ADA, 2016)

NGSP = National Glycohaemoglobin Standardization Program ; DCCT= Diabetes Control Complications Trial ; TTOG= Test de Tolérance Orale au Glucose.

1.5 Physiopathologie du diabète

1.5.1 Physiopathologie du diabète de type 1

Le diabète de type 1 est dû généralement à une destruction auto-immune des cellules bêta du pancréas. Le processus auto-immun commence plusieurs années (5 à 10 ans, voire plus) avant le début du diabète. L'élévation de la glycémie suppose une destruction de 80 à 90 % des cellules bêta. La destruction des cellules bêta est essentiellement due à une infiltration des îlots par les lymphocytes T cytotoxiques CD8 mais on ne connaît pas encore l'antigène cible initiateur, bien que l'enzyme Glutamate décarboxylase (GAD) semble être à ce jour le meilleur candidat, les anticorps anti-GAD étant les premiers dépistés. De plus, la suppression par transgénèse de l'expression de la protéine GAD au niveau des cellules bêta des souris diabétiques NOD (Non-obese diabetic) permet de prévenir le diabète, et les îlots comportant des cellules bêta n'exprimant pas GAD transplantés chez les souris NOD ne subissent pas l'attaque auto-immune contrairement aux îlots contenant les cellules bêta normales (Hartemann et Grimaldi, 2013).

1.5.1.1 Effets sur le métabolisme du glucose

Le diabète insulino-dépendant non contrôlé conduit à une augmentation de la production de glucose hépatique. Tout d'abord, les réserves de glycogène hépatique sont mobilisées, puis la gluconéogenèse hépatique qui est utilisée pour produire du glucose. L'insuline stimule l'absorption du glucose. Ceci est accompli par le déplacement à médiation par l'insuline des protéines des transporteurs du glucose vers la membrane plasmique des tissus. La carence en insuline altère également l'utilisation du glucose par les tissus non hépatiques en particulier dans le tissu adipeux et le muscle squelettique. La réduction de l'absorption du glucose par les tissus périphériques entraîne à son tour un taux réduit de métabolisme du glucose. En outre, le taux de glucokinase hépatique est régulé par l'insuline. Par

conséquent, un taux réduit de phosphorylation du glucose dans les hépatocytes conduit à une augmentation de sa circulation dans le sang (Chhabra et Chhabra, 2012).

1.5.1.2 Effets sur les protéines

L'insuline a un effet global sur le métabolisme des protéines, augmentant le taux de synthèse des protéines et diminuant le taux de dégradation des protéines. Ainsi, la carence en insuline conduira à un catabolisme accru des protéines. Le taux accru de protéolyse conduit à une concentration élevée d'acides aminés dans le plasma. Les acides aminés glucogènes servent de précurseurs pour la glycogénèse hépatique et rénale (Olokoba *et al.*, 2012).

1.5.2 Physiopathologie du diabète type 2

Chez les personnes souffrant d'un diabète de type 2 l'organisme devient résistant à l'insuline. La production de l'insuline continue, mais l'organisme ne répond plus aussi bien à ses effets. Après un certain temps, la capacité du pancréas à produire de l'insuline diminue progressivement. C'est pour cette raison que le contrôle du diabète de type 2 nécessite une augmentation graduelle des types de médicaments lors du traitement, que ce soit en raison du manque de l'insuline ou de l'incapacité à utiliser correctement cette hormone par l'organisme (Favier *et al.*, 2005) (Figure 3).

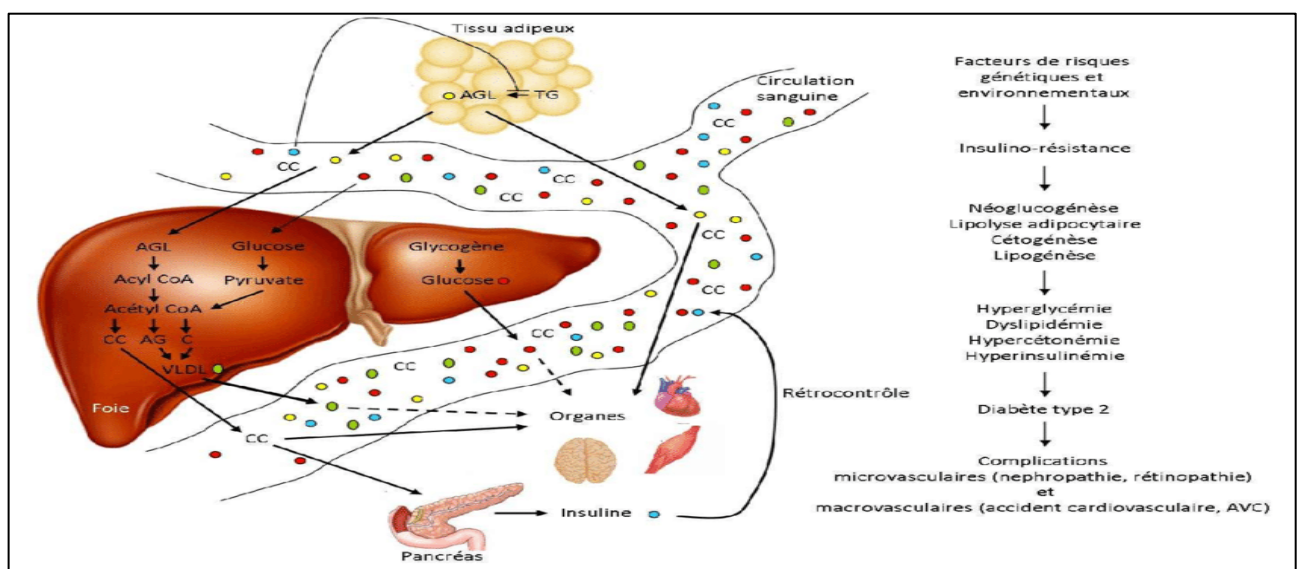


Figure 3 : Physiopathologie du diabète de type 2 (Simon *et al.*, 2012)

Les facteurs de risque du DT2 comprennent une combinaison complexe de facteurs génétiques, métaboliques et environnementaux qui interagissent les uns avec les autres et contribuent à sa prévalence (Crabbé, 2014; Monnier, 2014).

1.5.2.1 Facteurs génétiques

La présence d'un diabétique de type 2 dans une famille augmente le risque de survenue du diabète chez les autres membres de cette famille, ce qui est en faveur d'une participation génétique dans l'apparition du diabète de type 2. De plus, des études de concordance entre jumeaux dont l'un au moins est atteint de diabète de type 2 montrent une concordance plus importante chez les homozygotes (58 % à 80 % selon les études) que pour les hétérozygotes (17 % à 40 %). Cela suggère un support génétique important au diabète de type 2, mais l'absence de concordance à 100 % suggère aussi que cette participation est dépendante d'autres facteurs (Guillaume, 2004).

1.5.2.2 Facteurs environnementaux

L'obésité, en particulier l'obésité androïde, la sédentarité, le tabagisme et l'âge augmentent considérablement le risque de survenue du diabète de type 2 (Raverot, 2005).

1.6 Complications liées au diabète

Le diabète peut affecter de nombreux systèmes d'organes différents dans le corps et, au fil du temps, peut entraîner de graves complications. Les complications du diabète peuvent être classées comme microvasculaires ou macrovasculaires. Les complications microvasculaires comprennent les lésions du système nerveux (neuropathie), les lésions du système rénal (néphropathie) et les lésions oculaires (rétinopathie). Les complications macrovasculaires comprennent les maladies cardiovasculaires, les accidents vasculaires cérébraux et les maladies vasculaires périphériques. Ces derniers peuvent entraîner des ecchymoses ou des blessures qui ne guérissent pas, une gangrène et, finalement, une amputation (ADA, 2006).

1.6.1 Maladie cardiovasculaire

Les maladies cardiovasculaires causent jusqu'à 65 % de tous les décès chez les personnes atteintes de diabète (Geiss *et al.*, 1995). Les cardiopathies ischémiques et les accidents vasculaires cérébraux représentent la plus grande proportion de la morbidité associée au diabète. De plus, comme décrit ci-dessus, les taux de mortalité due aux maladies cardiaques sont 2 à 4 fois plus élevés chez les personnes atteintes de diabète que chez celles qui ne le sont pas. Plus de 70 % des personnes atteintes de diabète souffrent d'hypertension artérielle ou sont traitées avec des médicaments contre l'hypertension (Stamler *et al.*, 1993).

1.6.2 Maladie artérielle périphérique

Maladie artérielle périphérique également appelée maladie vasculaire périphérique est causée par le rétrécissement des vaisseaux sanguins qui transportent le sang vers les bras, les jambes, l'estomac et les reins. Chez les personnes atteintes de diabète, le risque de maladie artérielle périphérique est augmenté par l'âge, la durée du diabète et la présence d'une neuropathie (King *et al.*, 2005).

1.6.3 Rétinopathie

La rétinopathie diabétique est la complication microvasculaire la plus courante chez les personnes atteintes de diabète et entraîne plus de 10 000 nouveaux cas de cécité par an. De plus, la rétinopathie est associée à une hyperglycémie prolongée, elle se développe lentement et il existe des preuves qu'elle peut commencer à se développer dès 7 ans avant le diagnostic clinique du diabète de type 2 (Kofoed-Enevoldsen *et al.*, 1987).

1.6.4 Néphropathie

La néphropathie diabétique est définie comme une protéinurie persistante (plus de 500 mg de protéines ou 300 mg d'albumine par 24 heures) chez les patients sans infection des voies urinaires ou d'autres maladies provoquant la protéinurie. Chez les patients atteints de diabète de type 1, le développement d'une néphropathie clinique est un événement relativement tardif; cependant, chez les patients atteints de diabète de type 2, une protéinurie diabétique peut être présente au moment du diagnostic (Bojestig *et al.*, 1994).

1.7 Traitements du diabète

1.7.1 Traitements du diabète type 1

L'administration d'insuline représente le pilier du traitement du diabète type 1. Le but de l'administration d'insuline est d'empêcher le développement de l'acidocétose diabétique en raison de la pénurie absolue de production d'insuline intrinsèque et de maintenir les niveaux de glycémie dans les normes physiologiques. L'administration d'insuline doit donc idéalement prévenir, ou au moins retarder le développement de complications micro- et macrovasculaires de l'hyperglycémie et, en même temps, provoquer le moins d'hypoglycémie possible (Caballero, 2009).

1.7.2 Traitements du diabète type 2

L'alimentation et l'exercice sont fondamentaux dans le traitement du diabète type 2. Les recommandations diététiques doivent être adaptées à chaque individu pour atteindre les objectifs généraux du traitement. Il ne faut pas oublier que l'obésité est courante chez les diabétiques de type 2 donc l'un des principaux objectifs devrait être la perte de poids (ADA, 2000). L'exercice physique,

en plus qu'il constitue un pilier du traitement des patients diabétiques, aide à prévenir le développement du diabète à l'âge adulte (Tuomilehto *et al.*, 2001).

Lorsque les règles hygiénodététiques, l'activité physique ne sont pas suivies ou insuffisantes, un traitement médicamenteux peut devenir nécessaire. Ces médicaments agissent par différents mécanismes d'actions: augmentation de la sensibilité périphérique à l'insuline, diminution de l'absorption de glucose ou augmentation de la sécrétion de l'insuline. Plusieurs classes d'antidiabétiques sont utilisées (Simó et Hernández., 2002).

- **Biguanides** : le seul représentant de cette classe est la metformine, qui est actuellement le médicament le plus prescrit chez les diabétiques de type 2 (Cusi *et al.*, 1998). Leur principal mécanisme d'action est de réduire la production hépatique de glucose en diminuant à la fois la gluconéogenèse et la glycogénolyse. Ils augmentent également la captation du glucose par le muscle squelettique. Ainsi, il a été démontré que la metformine favorise l'action de l'insuline dans le tissu musculaire à différents niveaux en augmentant le nombre de récepteurs et l'affinité de l'insuline pour ses récepteurs, en facilitant le transport du glucose par une augmentation de l'expression ou de l'activité de GLUT4 et en stimulant le métabolisme non oxydatif du glucose, ce qui se traduit par une augmentation des dépôts de glycogène (Inzucchi *et al.*, 1998).
- **Thiazolidinédiones ou glitazones** : en 1982, le premier médicament de ce groupe, la ciglitazone a été découvert, mais il n'a pas été commercialisé en raison de sa toxicité élevée. Des dérivés présentant un meilleur profil de tolérance ont été développés (troglitazone, pioglitazone et rosiglitazone). Néanmoins, la troglitazone a été retirée en raison de son hépatotoxicité (Pillon *et al.*, 2014). Le mécanisme d'action implique la liaison à des récepteurs nucléaires spécifiques appelés PPAR- γ , dont la stimulation régule la transcription de gènes spécifiques qui conduiront à une augmentation du nombre et de l'affinité des récepteurs de l'insuline, notamment les transporteurs de glucose GLUT4. Cela provoque une augmentation de l'absorption périphérique du glucose par l'insuline par les muscles et le tissu adipeux (Girard, 2001).
- **Sulfonylurées ou sulfamides** : cette classe comprend le gliclazide, le glibenclamide et le glimépiride (Andreelli *et al.*, 2011). Les sulfonylurées agissent par l'intermédiaire de récepteurs de haute affinité situés dans les cellules bêta du pancréas. La liaison à ces récepteurs inhibe l'ouverture des canaux potassiques sensibles à l'ATP et évite la sortie de potassium de la cellule, déclenchant ainsi la dépolarisation de la membrane cellulaire. En conséquence, les canaux calciques s'ouvrent, augmentant la teneur en calcium intracellulaire et la liaison du calcium à la calmoduline, ce qui

produit la contraction des microfilaments et l'exocytose des granules d'insuline (Krentz et Bailey, 2005).

- **Glinides** : ce sont de nouveaux sécrétagogues caractérisés par une action sélective sur la première phase de sécrétion d'insuline. Ils ont une action plus courte mais plus intense que les sulfamides. Les glinides ont un mécanisme d'action très similaire à celui des sulfamides, mais diffère par le site de liaison spécifique au récepteur sulfamides. Son action libératrice d'insuline débute dans les 30 premières minutes d'administration et l'effet disparaît en 4 h environ car ils se détachent très rapidement de leur liaison (Ducobu, 2003).
- **Inhibiteurs des α -glucosidases** : les inhibiteurs des alpha-glycosidases comme l'acarbose inhibent de manière compétitive et réversible les alpha-glycosidases intestinales, retardant et empêchant en partie l'absorption des glucides. Par conséquent, leur effet principal est de réduire l'hyperglycémie postprandiale (Gimenez *et al.*, 2002).

1.8 Diabète expérimental

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour induire un diabète sucré chez les animaux de laboratoire, avec un succès variable, et à de nombreuses difficultés. L'ablation chirurgicale du pancréas est la méthode la plus efficace. Toutefois, elle n'est plus très utilisée pour des raisons de difficultés techniques et aussi parce que la pancréatectomie supprime, non seulement la sécrétion d'insuline ce qui est le but recherché, mais aussi celle d'autre hormone comme le glucagon. L'injection de l'extrait de l'hypophyse antérieure a été utilisée pour induire un diabète avec des résultats moins fiables. L'une des méthodes les plus couramment utilisées pour induire le diabète est en endommageant le pancréas par l'administration de produits chimiques tels que la streptozotocine (STZ) (Abeeleh *et al.*, 2009).

La streptozotocine est un antibiotique isolé à partir de *Streptomyces achromogenes*. C'est une glucosamine nitrosurée possédant une forte activité antinéoplasique. La STZ est un analogue du glucose pour le récepteur GLUT2. Il est composé de la fraction cytotoxique, 1-méthyl-n-nitroso (MNU) attaché au carbone numéro 2 du glucose (Tom Anderson *et al.*, 1997).

La STZ empêche le développement de l'ADN dans les cellules bactériennes et les cellules des mammifères. La pénétration de la streptozotocine dans les cellules bêta pancréatiques se fait par un transporteur de glucose-GLUT2 où son pouvoir alkylant induit de nombreux dommages de l'ADN. Il induit également l'activation de la ribosylation de la poly adénosine diphosphate et la libération

d'oxyde nitrique, et par conséquent les cellules pancréatiques sont détruites par nécrose (Krisanapun *et al.*, 2009) (Figure 4).

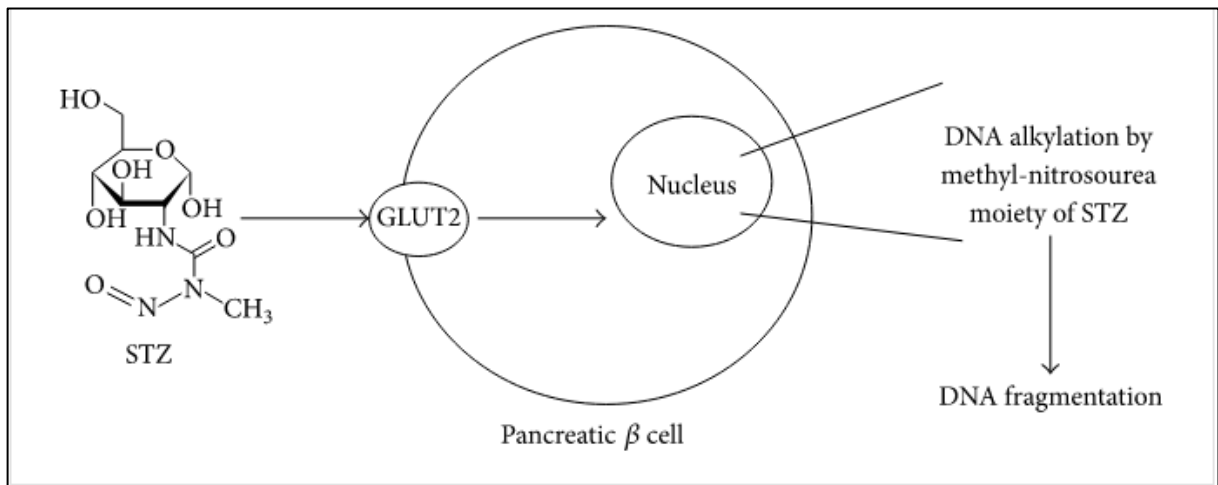


Figure 4 : Le mécanisme d'action de la streptozotocine dans les cellules bêta pancréatiques (Al-awar, 2016)

Chapitre 2 : Stress oxydatif et diabète

2.1 Définition du stress oxydatif

Dans les conditions normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité issus de nombreux processus cellulaires. Le contrôle rigoureux des systèmes de défense préserve les cellules de leurs effets néfastes, dans ces circonstances on dit que la balance (antioxydant/proxydant) est en équilibre. Quand cet équilibre est rompu par déficit en antioxydant ou une surproduction incontrôlée d'espèces radicalaires et leurs dérivées secondaires, il survient un stress oxydant (Gutteridge et Halliwell, 1993). Donc le stress oxydant a été défini comme une perturbation de l'équilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou de radicaux libres et les défenses antioxydantes de l'organisme (Koechlin-Ramonatox, 2006).

2.2 Les radicaux libres

Un radical libre aussi appelé « espèce réactive de l'oxygène » peut être défini comme toute espèce moléculaire capable d'exister indépendante qui contient un électron non apparié dans une orbitale atomique. La présence d'un électron non apparié entraîne certaines propriétés communes qui sont partagées par la plupart des radicaux. De nombreux radicaux sont instables et hautement réactifs. Ils peuvent soit donner un électron à d'autres molécules, soit accepter un électron d'autres molécules, se comportant donc comme des oxydants ou des réducteurs (Favier, 2003).

Les radicaux libres les plus connus sont : l'hydroxyle (OH^\cdot), l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), l'hypochlorite (ClO^\cdot) et l'oxyde nitrique (NO). Ce sont des espèces hautement réactives, capables dans le noyau et dans les membranes des cellules d'endommager des molécules biologiquement pertinentes telles que l'ADN, les protéines, les glucides et les lipides (Young et Woodside, 2001).

2.2.1 Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), molécules chimiquement réactives, contenant de l'oxygène, sont formées en tant que sous-produit naturel du métabolisme normal de l'oxygène et jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire et l'homéostasie. Néanmoins, pendant les périodes de stress environnemental (par exemple le rayonnement UV, l'exposition à la chaleur et rayonnement ionisant), leurs niveaux pourraient augmenter considérablement. À des concentrations élevées, les ERO réagissent facilement avec les lipides, les protéines, les glucides

et les acides nucléiques et inhibent leur fonction normale. Cela peut entraîner des dommages importants aux structures cellulaires (Brieger *et al.*, 2012).

La génération de ERO (Figure 5) est généralement une cascade de réactions qui commence par la production de superoxyde. Le superoxyde se dismute rapidement en peroxyde d'hydrogène spontanément, en particulier à faible pH où est catalysé par la SOD (superoxyde dismutase). Les autres générations comprennent la réaction du superoxyde avec le NO pour former du peroxynitrite, la formation catalysée par la peroxydase d'acide hypochloreux à partir du peroxyde d'hydrogène et la réaction de Fenton catalysée par le fer conduisant à la génération de radicaux hydroxyles (Thannickal et Fanburg, 2000).

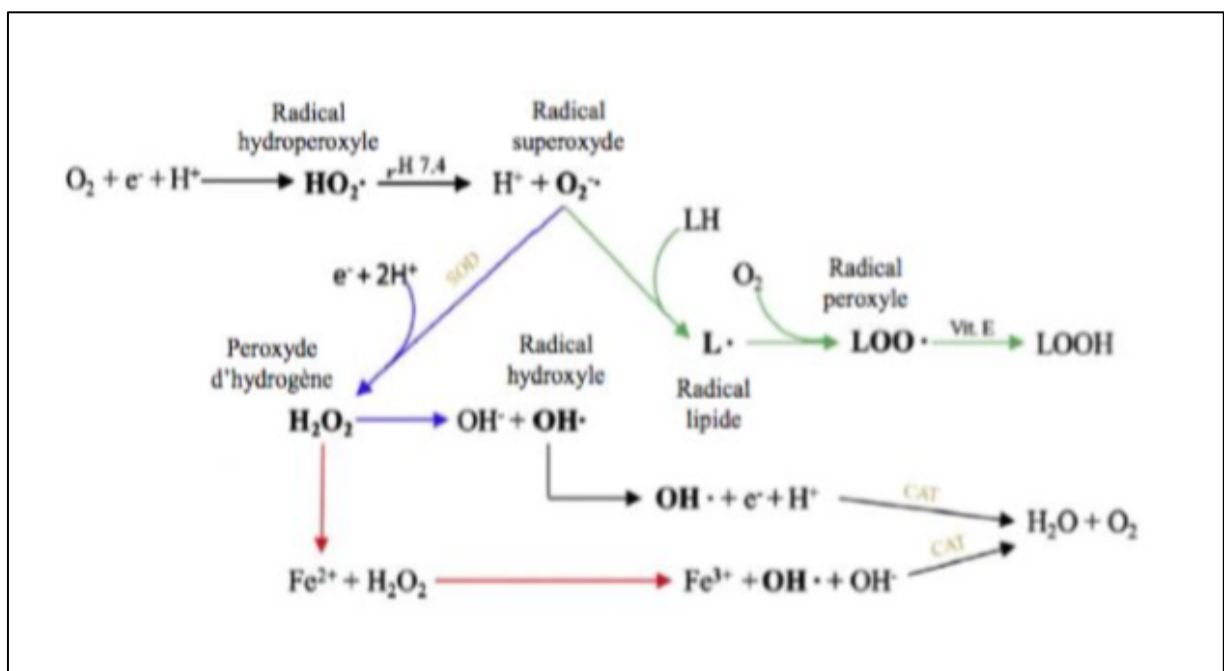


Figure 5 : Voies de formation des ERO (Carocho et Ferreira, 2013)

2.2.2 Sources et formation des radicaux libres

Les radicaux libres et autres ERO sont dérivés soit de processus métaboliques essentiels normaux dans le corps humain, soit de sources externes telles que l'exposition aux rayons X, à l'ozone, au tabagisme, aux polluants atmosphériques et aux produits chimiques industriels (Figure 7).

La formation de radicaux libres se produit en continu dans les cellules à la suite de réactions enzymatiques et non enzymatiques. Les réactions enzymatiques, qui servent de source de radicaux libres, incluent celles impliquées dans la chaîne respiratoire, dans la phagocytose, dans la synthèse des prostaglandines et dans le système du cytochrome P-450. Des radicaux libres peuvent

également se former dans des réactions non enzymatiques de l'oxygène avec des composés organiques (Bagchi et Puri, 1998).

2.2.2.1 Production intracellulaire

Les sources endogènes de ERO comprennent différents organes cellulaires tels que les mitochondries, les peroxysomes où la consommation d'oxygène est élevée, ainsi que les sources enzymatiques (les oxydes nitriques synthases et la NADPH oxydase) (Ozcan et Ogun, 2015).

a/ La mitochondrie : la plupart des ERO intracellulaires sont dérivées des mitochondries (Figure 6). Les radicaux superoxydes sont produits à deux sites majeurs de la chaîne de transport d'électrons, à savoir le complexe I (NADH déshydrogénase) et le complexe III (ubiquinol cytochrome C réductase). Le transfert d'électrons du complexe I ou II vers la coenzyme Q ou l'ubiquinol (Q) entraîne la formation d'une forme réduite de coenzyme Q (QH₂). La forme réduite QH₂ régénère le coenzyme Q via un anion semiquinone intermédiaire instable (Q⁻) dans le cycle Q. La forme (Q⁻) transfère immédiatement les électrons à l'oxygène moléculaire menant à la formation de radicaux superoxydes. La génération de superoxyde est non enzymatique et donc plus le taux métabolique est élevé, plus la production de ERO est importante (Finkel et Holbrook, 2000).

Les autres composants mitochondriaux qui contribuent à la formation de ERO sont la monoamino oxydase, l' α -cétoglutarate déshydrogénase, le phosphate de glycérol et la déshydrogénase (Starkov *et al.*, 2008).

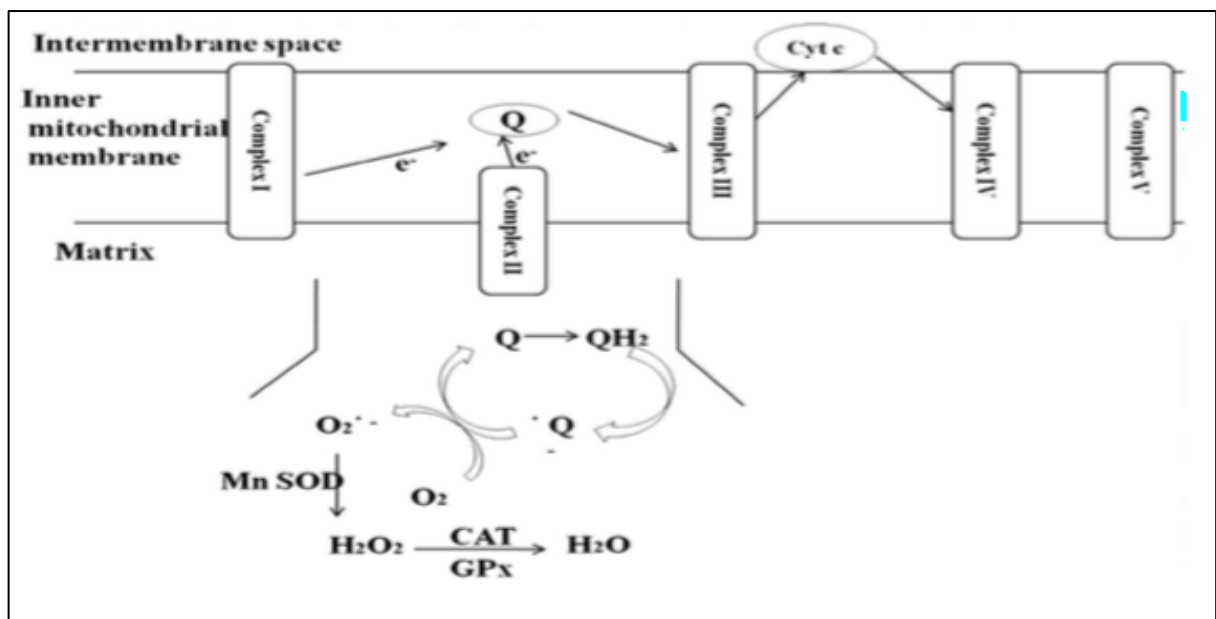


Figure 6 : Sources de ERO dans les mitochondries (Phaniendra *et al.*, 2014)

Chapitre 2. Stress oxydatif et diabète

b/ Les peroxysomes : dans les peroxysomes, la voie respiratoire implique le transfert d'électrons de divers métabolites vers l'oxygène pour la formation de l' H_2O_2 (De Duve et Baudhuin, 1966), mais elle n'est pas couplée à la phosphorylation oxydative pour produire de l'ATP, par contre, l'énergie dégagée est libérée sous forme de chaleur. Les autres radicaux libres produits dans les peroxysomes comprennent O^{2-} , OH^- et NO . La β -oxydation des acides gras est le principal processus métabolique qui produit du H_2O_2 dans les peroxysomes. Il a été démontré que les différentes enzymes peroxysomales telles que l'acyl-CoA oxydase, la D-aminoacide oxydase, la L- α -hydroxy oxydase, l'urate oxydase, la xanthine oxydase, la D-aspartate oxydase produisent différents ERO (Schrader et Fahimi, 2006).

c/ La NADPH oxydase : la NADPH oxydase est considérée comme la principale source enzymatique de génération de ERO dans les cellules. C'est une enzyme membranaire spécialisée dans la production de O^{2-} en utilisant le NADPH comme donneur d'électrons afin de réduire l'oxygène moléculaire. Plusieurs types cellulaires dont les cellules endothéliales vasculaires, les cellules musculaires lisses, les fibroblastes, les polynucléaires, les neutrophiles et les macrophages possèdent la NADPH oxydase (NOX) (Griendling *et al.*, 2000).



Les autres sources endogènes de ERO comprennent la synthèse de la prostaglandine, l'auto-oxydation de l'adrénaline, les cellules phagocytaires, la riboflavine réduite, FMNH_2 , FADH_2 , le cytochrome P-450, l'activation des cellules immunitaires, l'inflammation, le stress mental, l'exercice excessif, l'infection, le cancer, le vieillissement (Cheeseman et Slater, 1993).

d/ Les oxydes nitriques synthases: les NOS représentent une famille de protéines qui catalysent l'oxydation de la L-arginine en L-citrulline pour produire du NO . Trois isoenzymes ont été référencées. L'isoforme I ou NOS neuronale (nNOS) retrouvée dans les cellules neuronales et épithéliales, l'isoforme II ou NOS inductible (iNOS) est en général exprimée dans le contexte d'une réponse inflammatoire, tel qu'un choc septique, un relâche de cytokines ou un infarctus et l'isoforme III ou eNOS est retrouvée dans les cellules endothéliales (Huemer *et al.*, 2006).

2.2.2.2 Production extracellulaire

Des facteurs environnementaux peuvent contribuer à la formation d'entités radicalaires. Une production importante des ERO est observée lors d'une intoxication par des métaux lourds

Chapitre 2. Stress oxydatif et diabète

(cadmium, mercure, arsenic) ou dans les phénomènes d'irradiations provoquant des dommages au niveau de l'ADN. Par ailleurs la fumée de tabac, l'alcool ou même certains médicaments (xénobiotiques) peuvent être source de radicaux libres par oxydations de ces composés au niveau du cytochrome P-450 (Silva et Coutinho, 2010).

a/ Fumée du tabac : la fumée de cigarette contient de nombreux oxydants, radicaux libres et composés organiques, tels que le superoxyde et l'oxyde nitrique (NO). De plus, l'inhalation de fumée de cigarette dans les poumons active également des mécanismes endogènes, tels que l'accumulation de neutrophiles et de macrophages, qui augmentent encore les lésions oxydantes (Church et Pryor, 1985).

b/ Exposition à l'ozone : l'exposition à l'ozone peut provoquer une peroxydation lipidique et induire un afflux de neutrophiles dans l'épithélium des voies respiratoires. L'exposition à court terme à l'ozone provoque également la libération de médiateurs inflammatoires, tels que la myéloperoxydase (MPO), les protéines cationiques éosinophiles, ainsi que la lactate déshydrogénase et l'albumine. Même chez des sujets sains, l'exposition à l'ozone entraîne une diminution des fonctions pulmonaires (Nightingale *et al.*, 1999).

c/ Les rayonnements ionisants : le rayonnement ionisant, en présence d'O₂, convertit le radical hydroxyle, le superoxyde et les radicaux organiques en peroxyde d'hydrogène et hydroperoxydes organiques. Ces espèces hydroperoxydes réagissent avec les ions métalliques redox actifs, tels que Fe et Cu, via des réactions de Fenton et induisent ainsi un stress oxydatif. Les fibroblastes exposés à des particules alpha présentaient des augmentations significatives de la production intracellulaire d'O₂⁻ et d'H₂O₂ via les NOX (NADPH oxydases) liés à la membrane plasmique (Narayanan *et al.*, 1997).

Les photons ultraviolets A (UVA) déclenchent des réactions oxydatives par excitation de photosensibilisateurs endogènes, tels que les porphyrines, les NOX et les riboflavines. La 8-dihydroguanine est le principal produit d'oxydation de l'ADN induit par les UVA formé par l'oxydation du radical OH⁻ et de l'oxygène singulet qui réagit principalement avec la guanine (Cadet *et al.*, 2003).

d/ Les métaux lourds : les ions de métaux lourds, tels que le fer, le cuivre, le cadmium, le mercure, le nickel, le plomb et l'arsenic, peuvent induire la génération de radicaux libres et causer des

dommages cellulaires via l'épuisement des activités enzymatiques par la peroxydation des lipides et la réaction avec les protéines nucléaires et l'ADN (Ercal *et al.*, 2001).

L'un des mécanismes les plus importants de la génération de radicaux libres à médiation métallique se fait via une réaction de type Fenton. L'ion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène peuvent interagir avec les métaux de transition, tels que le fer et le cuivre, via la réaction de Haber-Weiss/Fenton catalysée par un métal pour former des radicaux OH⁻ (Kanti *et al.*, 2015).

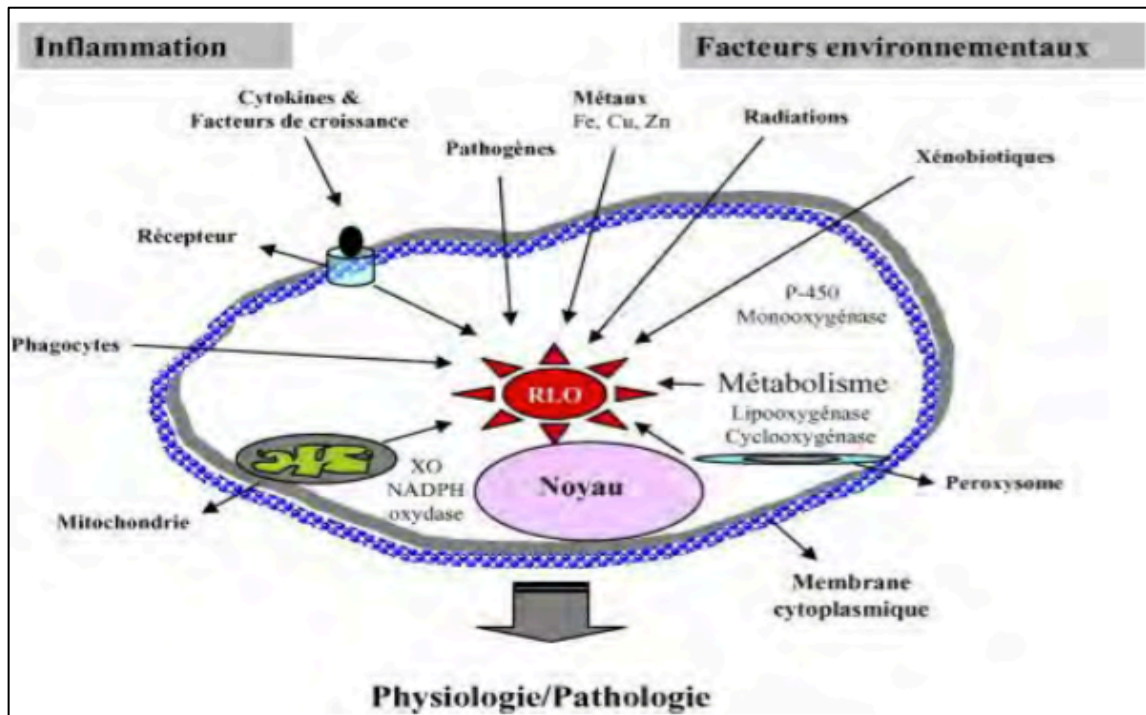
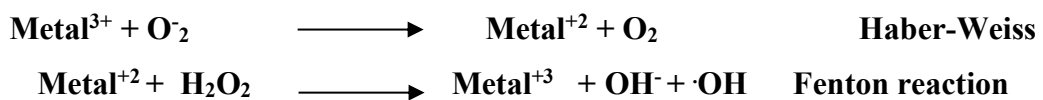


Figure 7 : Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso *et al.*, 2007)



2.3 Les conséquences moléculaires du stress oxydant

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003).

2.3.1 L'oxydation des lipides

Le stress oxydant concerne tous les constituants cellulaires mais ce sont les lipides membranaires qui sont les plus touchés par ce phénomène. La peroxydation des lipides résulte de l'attaque par des radicaux libres des acides gras polyinsaturés (acide linoléique, acide linoléique, acide arachidonique) (Figure 8). La peroxydation lipidique est initiée, lorsqu'un radical libre attaque et soustrait l'atome d'hydrogène d'un groupe méthylène (CH_2) dans un acide gras (RH) ce qui entraîne la formation d'un radical lipidique carboné (R'). Le radical lipidique peut réagir avec l'oxygène O_2 moléculaire pour former un radical peroxyde lipidique (ROO'). Le radical peroxyde lipidique résultant (ROO') subit un réarrangement via une réaction de cyclisation pour former des endoperoxydes, qui forment finalement du malondialdéhyde (MDA) et du 4-hydroxyl nonéanal (4-HNA), les produits finaux toxiques de la peroxydation lipidique qui causent des dommages à l'ADN et les protéines (Marnett *et al.*, 1999).

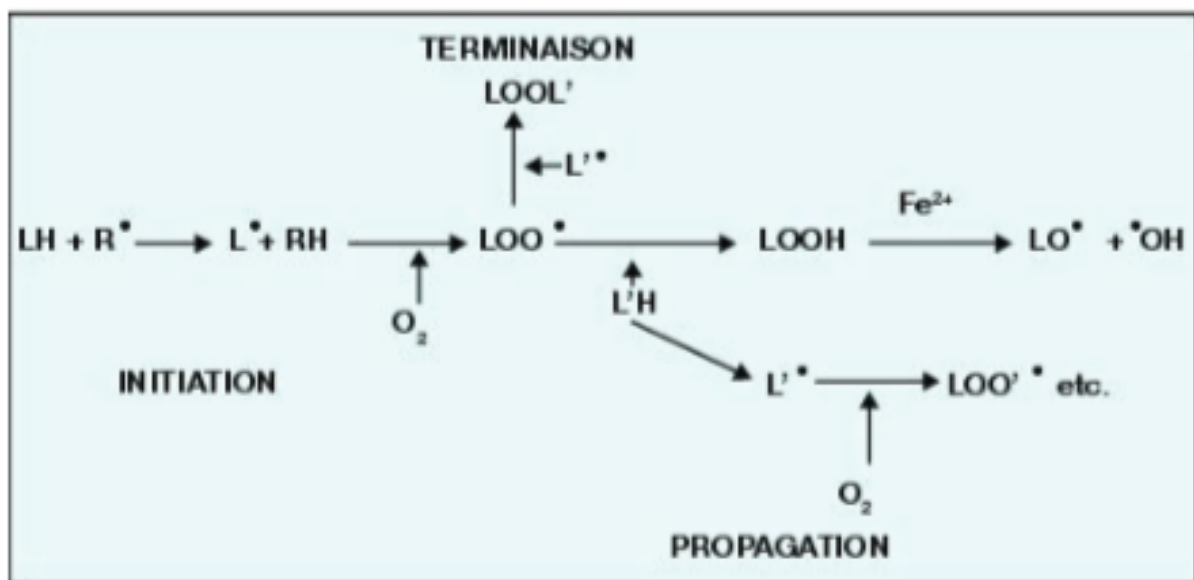


Figure 8 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Eizirik *et al.*, 2001)

2.3.2 Oxydation des protéines

Les modifications oxydatives des protéines par les ERO provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine. Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Fe^{2+} ou le Cu^{2+} . Les réactions d'oxydation de protéines peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de

produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (Levine, 2002) et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées. L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du glutathion (GSH) ou de certaines protéines (Figure 9). Le rôle des protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzymes, protéines structurales) (Delattre et Bonnefont-Rousselot, 2005).

Les protéines modifiées par l'oxydation vont être prises en charge par des protéines spécifiques dites protéines de stress (Heat Shock Protein, HSP) connues pour leur rôle cytoprotecteur, où elles prennent en charge les protéines dénaturées et participent à la restauration de la fonction de ces protéines. Les HSP permettent la cellule de répondre au stress de façon rapide, et la synthèse des HSP pourrait ainsi compléter les capacités de défenses antioxydantes lorsque les protéines intracellulaires sont endommagées par les ERO (Essig *et al.*, 1997).

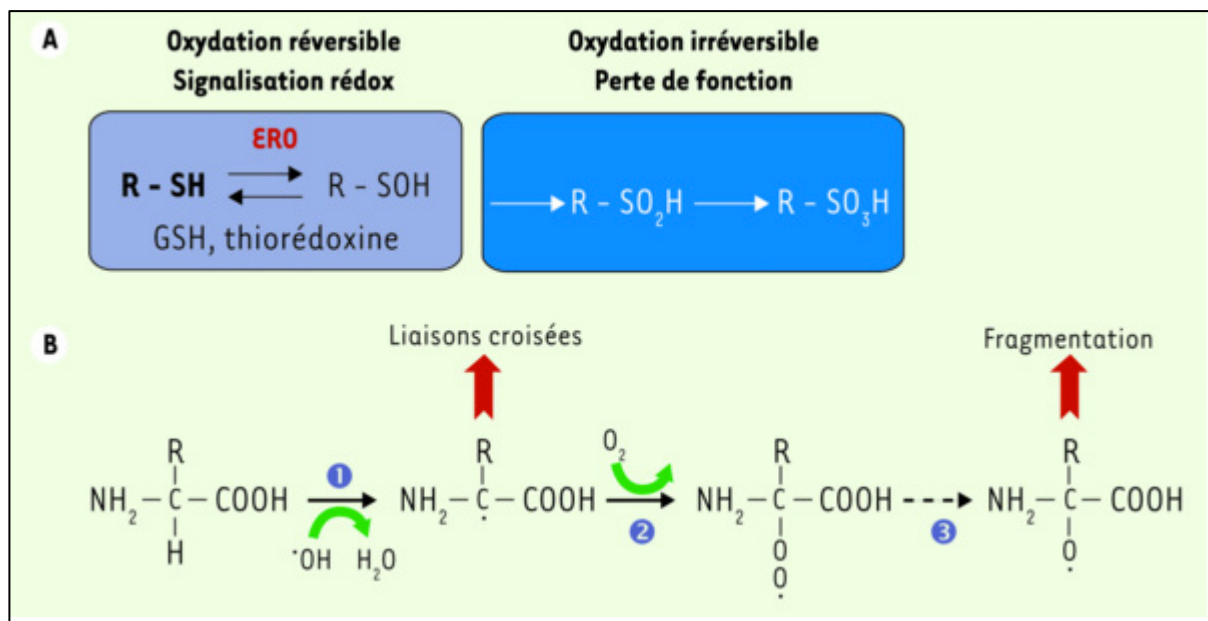


Figure 9 : Attaque radicalaire des protéines (Favier, 2003)

2.3.3 Oxydation de l'ADN

Les ADN nucléaires et mitochondriaux constituent une cible cellulaire importante. L'ADN mitochondrial est plus vulnérable à l'attaque des ERO que l'ADN nucléaire, car il est situé à proximité immédiate de l'endroit généré par les ERO. Le radical $\text{OH}\cdot$ réagit directement avec tous les composants de l'ADN tels que les bases puriques, pyrimidiques et le désoxyribose et provoque

des lésions au niveau des brins d'ADN (Koechlin-Ramonatox *et al.*, 2006) (Figure 10). La guanine, par exemple, peut réagir avec $\text{OH}\cdot$ pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG). Ce dernier est considéré comme le biomarqueur des dommages oxydatifs de l'ADN et est impliquée dans la mutagenèse, la cancérogenèse et le vieillissement. Les niveaux de 8-OHdG sont plus élevés dans l'ADN mitochondrial que dans l'ADN nucléaire (Barja, 2000).

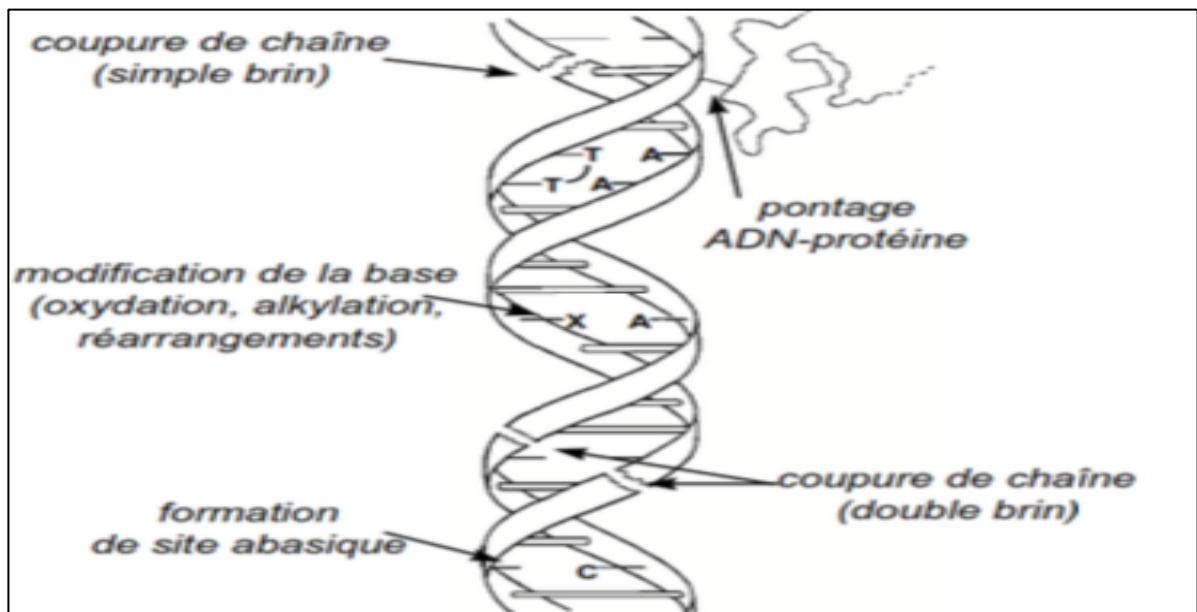


Figure 10 : Attaque radicalaire de l'ADN (Favier, 2003)

2.3.4 Oxydation des glucides

Le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des anions superoxyde ($\text{O}_2\cdot^-$), qui entraîneront la coupure des protéines ou de leur glycation par attachement du cétoaldéhyde (Favier, 2003).

2.4 Systèmes antioxydants

Un antioxydant a été défini comme toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à un substrat oxydable retarde ou inhibe considérablement l'oxydation de ce substrat (Halliwell *et al.*, 2007). Un antioxydant idéal doit être facilement absorbé par l'organisme et doit empêcher ou apaiser la formation de radicaux libres ou chélater les métaux redox à des niveaux physiologiquement pertinents (Rahman, 2007). La défense antioxydante humaine est complexe car elle doit minimiser les dommages oxydatifs, tout en permettant aux ERO d'effectuer leurs rôles utiles au niveau de la signalisation cellulaire et la régulation redox

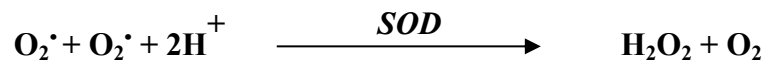
(Halliwell, 2011). Le système antioxydant humain comprend deux groupes principaux, les antioxydants enzymatiques et les oxydants non enzymatiques.

2.4.1 Systèmes de défenses enzymatiques

Les enzymes existent à l'état endogène (cytoplasme, cytosol mitochondrie) et permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normale (Figure 11).

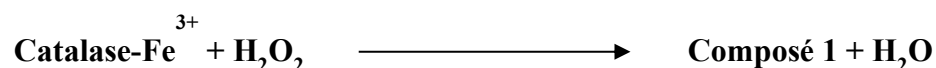
2.4.1.1 Superoxyde dismutase (SOD)

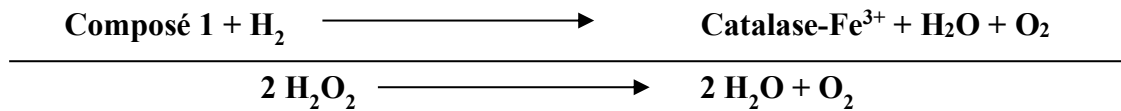
Ce sont des métalloenzymes (EC 1.15.1.1) qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Valko *et al.*, 2006). La SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (Haleng *et al.*, 2007).



2.4.1.2 Catalase (CAT)

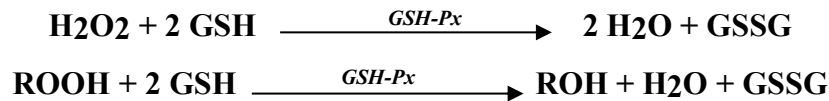
La catalase (EC 1.11.1.6) est une protéine héminique formée de quatre chaînes polypeptidiques, comportant chacune un groupe hème, qui constituent les sites actifs de la CAT (Delattre et & Bonnefont-Rousselot., 2005). C'est une enzyme antioxydante courante présente dans presque tous les tissus vivants qui utilisent de l'oxygène. La CAT utilise le fer ou le manganèse comme cofacteur et catalyse la dégradation ou la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène moléculaire, complétant ainsi le processus de détoxification initié par la SOD. Elle est abondante dans les cellules, où elle détecte en permanence les molécules de peroxyde d'hydrogène. La CAT est très efficace car elle peut décomposer des millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en une seconde (Chelikani *et al.*, 2004). La réaction se déroule en deux étapes: premièrement, une molécule de peroxyde d'hydrogène oxyde l'atome de fer de l'enzyme et forme un groupement oxyferryle avec un radical porphyrine nommé composé 1, deuxièmement le composé 1 oxyde une seconde molécule de peroxyde d'hydrogène (Chelikani *et al.*, 2004).





2.4.1.3 Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase (GPx) (EC 1.11.1.9.) une enzyme intracellulaire importante qui décompose les peroxydes d'hydrogène (H_2O_2) en eau, et les peroxydes lipidiques en leurs alcools correspondants principalement dans les mitochondries et parfois dans le cytosol (Góth *et al.*, 2004). La plupart du temps, son activité dépend d'un cofacteur appelé le sélénium. Pour cette raison, la GPx est souvent appelée sélénoprotéines peroxydase. Il existe au moins huit enzymes GPx chez l'homme, GPx1-GPx8 (Morón et Castilla-Cortázar, 2012). L'enzyme joue un rôle plus crucial dans le processus d'inhibition de la peroxydation lipidique, et protège donc les cellules du stress oxydatif (Gill et Tuteja, 2010).



2.4.1.4 Glutathion S-transférase (GST)

Les glutathion S-transférases (EC 2.5.1.18) sont des enzymes multifonctionnelles qui catalysent l'attaque nucléophile de l'atome de soufre du glutathion conduisant à la conjugaison du glutathion tripeptide à des composés électrophiles ou hydrophobes pour former un peptide plus soluble (Marrs, 1996). Il existe deux superfamilles de la GST: les GST solubles et les GST liées à la membrane (microsomale). Les GST ont été caractérisées comme des protéines homo ou hétérodimères (principalement cytosoliques) (environ 25 kDa/monomère) et diffèrent par leur structure, leur activité, leur distribution cellulaire et intracellulaire et leur activité biologique (Ketterer, 2001).

2.4.1.5 Glutathion réductase (GR)

Les glutathion réductases (EC 1.8.1.7) sont des protéines dépendantes de la flavine adénine dinucléotide (FAD) et omniprésentes en tant que GSH lui-même. Leurs différentes isoformes sont hautement conservées dans les organismes utilisant le GSH, formant généralement des homodimères d'environ 110 kDa dont chaque sous-unité se lie à un FAD. Les glutathion réductases maintiennent le rapport entre le GSH réduit et oxydé dans les cellules en catalysant la réduction NADPH-dépendante du GSSG en deux molécules de GSH. Outre la génération de GSH réduit à partir des acides aminés respectifs, la capacité de sa régénération à partir du GSSG est essentielle

pour tout organisme utilisant le GSH, ce qui confère aux GR un rôle crucial dans tout système GSH cellulaire (Ji et al.,2015).

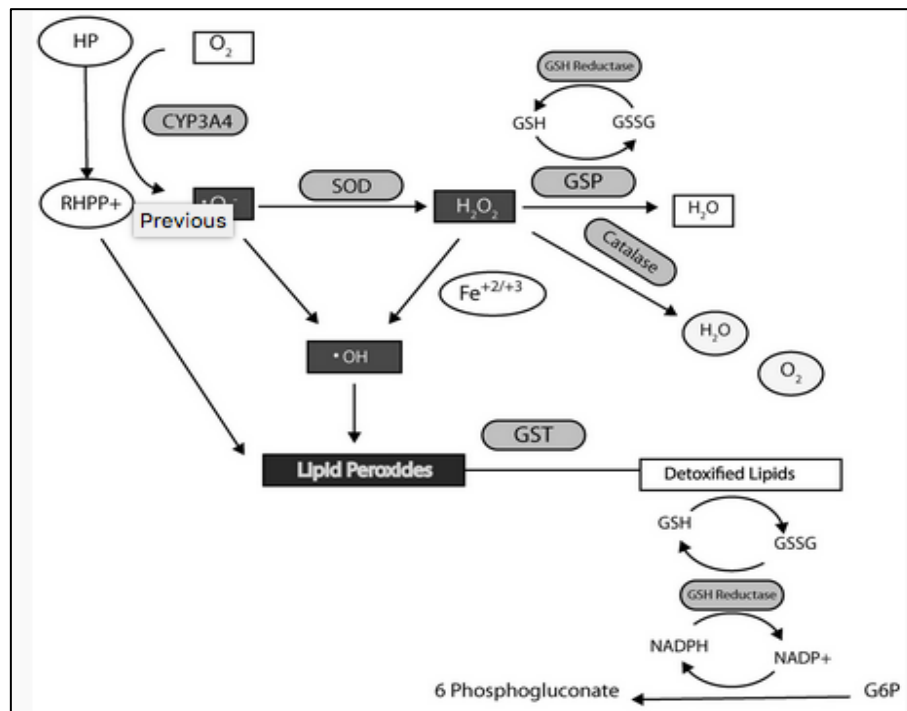


Figure 11 : Cycle des antioxydants enzymatiques (Prouillac, 2006)

2.4.2 Systèmes antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques, sont des micronutriments exogènes apportés par l'alimentation ou des constituants endogènes. On distingue les antioxydants hydrosolubles comme le glutathion, l'acide ascorbique (vitamine C), l'acide urique, l'albumine et les antioxydants liposolubles: l'alpha tocophérol (vitamine E) et l'ubiquinone (CoQ10) (Dasgupta et Klein, 2014).

2.4.2.1 Glutathion réduit (GSH)

Le glutathion (GSH) est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Avec son groupement sulfhydryle, il est le thiol majoritaire au niveau intracellulaire, est essentiellement présent sous forme réduite (la concentration de la forme oxydée disulfures GSSG est au moins 10 fois plus faible) (Zhang et Forman, 2012). Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress. Le GSH joue son rôle de d'antioxydant en tant que substrat d'enzymes antioxydantes telles que les glutathion peroxydases (GPx), mais également par ses propriétés intrinsèques. En effet, le glutathion prévient l'oxydation des groupements thiols grâce à son pouvoir réducteur. Il peut également chélater les ions cuivreux Cu^+ et limiter ainsi leur participation à la réaction de Fenton (Figure 11). Il est

directement impliqué dans la réparation des atteintes oxydatives de l'ADN. La régénération de la fonction thiol GSH à partir de la forme oxydée se fait grâce à l'activité de la glutathion réductase (GR) (Haleng *et al.*, 2007).

2.4.2.2 Vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas chez l'homme à cause d'une mutation du gène codant L-gulono-gamma-lactone oxydase, l'enzyme responsable de catalyser la dernière étape de la voie de biosynthèse de la vitamine C (Figure 12) (Telang, 2003). La vitamine C est un excellent piègeur des ERO (HO^\bullet ou $\text{O}_2^{\bullet-}$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (Carr et Maggini, 2017).

2.4.2.3 Vitamine E

La vitamine E est le principal antioxydant lipophile pouvant réduire les radicaux peroxylys et réagir avec l' O_2 , l' HOCl et l' ONOO^- . Il se transforme en radical hydroxyle après l'échange d'un électron libre. Le radical tocophéroxyl est peu réactif de par sa structure cyclique et peut être régénéré par l'acide ascorbique. La vitamine E existe sous huit formes naturelles : quatre tocophérols (α , β , γ et δ) et quatre tocotriénols (α , β , γ et δ). Chez l'homme, les formes prédominantes sont l' α et le γ -tocophérol, l' α -tocophérol étant la plus active. Du fait de sa nature lipophile, la vitamine E peut agir au site même de la peroxydation lipidique membranaire, elle est essentielle dans la prévention de l'oxydation des lipides et des lipoprotéines (Figure 12) (Seven *et al.*, 2004).

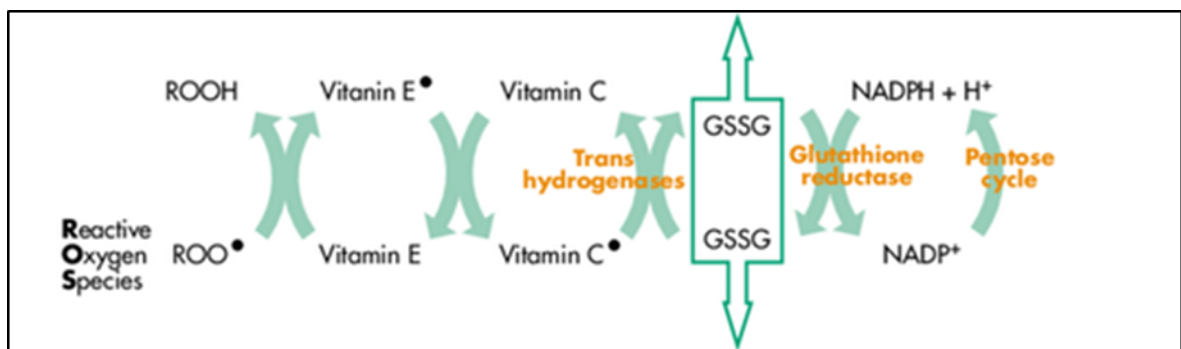


Figure 12 : Cycle des antioxydants non enzymatiques (vitamine E, vitamine C et glutathion) (Adamy *et al.*, 2005)

2.4.2.4 Acide urique

L'acide urique est le produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme. Il est majoritairement présent sous la forme ionisée (urate) et il a la capacité d'interagir avec ($\text{OH}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, $\text{NOO}\cdot$) afin de former des espèces radicalaires stable. Ces ERO seront à leur tour réduite par la vitamine C. L'urate protège les protéines de la nitration en réagissant avec le peroxydite. Il peut également chélater les ions métalliques et donner des chélates peu réactifs sur le plan catalytique (Whitman *et al.*, 2002).

2.4.3 Oligoéléments

2.4.3.1 Sélénium

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

2.4.3.2 Zinc

Le zinc est un composant essentiel de nombreuses enzymes, notamment des enzymes impliquées dans la synthèse de l'ADN et de l'ARN. Dans le système antioxydant, le Zn est un cofacteur important de la SOD. Il induit également la synthèse de métallothionéine, une protéine liant les métaux qui peut piéger les radicaux hydroxydes (Prasad *et al.*, 2004). En plus d'un rôle antioxydant, le Zn peut affecter l'immunité via son rôle important dans la réplication et la prolifération cellulaire (Weiss et Spears, 2006).

2.4.3.3 Cuivre

Le cuivre est impliqué dans le système antioxydant via son implication dans les enzymes Cu-Zn superoxyde dismutase (SOD) et céruloplasmine. Cuivre-Zn SOD est responsable de la dismutation des radicaux superoxydes en peroxyde d'hydrogène dans le cytosol. La céruloplasmine est une protéine de transport de Cu qui présente également une activité oxydase. Il oxyde le fer ferrique (Fe^{+3}) en fer ferreux (Fe^{+2}) sans la production de Fe^{+3} libre qui peut provoquer l'oxydation et la peroxydation des tissus. La céruloplasmine est une protéine de phase aiguë qui augmente au cours de la maladie et peut être importante pour piéger les radicaux superoxydes (Halliwell et Gutteridge, 1999).

2.4.4 Coenzyme 10

Le coenzyme Q₁₀ appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique. C'est une molécule liposoluble synthétisée par les animaux et l'homme. Joue un rôle essentiel dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons et est un puissant inhibiteur de peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E (Langsjoen et Langsjoen, 2003).

2.4.5 Polyphénols

Les polyphénols sont des molécules organiques hydrosolubles largement retrouvées dans le règne végétal. Ils sont issus du métabolisme secondaire des plantes. Ils possèdent au moins deux groupements phénoliques, avec parfois la présence d'autres fonctions (alcoolique, carboxylique ...etc.). A ce jour, environ 9 000 structures connues se regroupent dans cette famille de molécules, allant des substances phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (Manallah, 2012). Les polyphénols sont capables de piéger des espèces radicalaires et de chélater les métaux de transition comme le fer et le cuivre qui permettent de catalyser les oxydations (Stevenson et Hurst, 2007). Leur activité antioxydante est reconnue et pourrait expliquer leur rôle potentiel dans le traitement ou la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif (Kozarski *et al.*, 2015).

2.5 Relation entre le stress oxydant et le diabète

L'hyperglycémie constitue un stress oxydant au cours de la pathologie diabétique. Cette dernière augmente la formation de radicaux à travers l'accroissement du potentiel de membrane mitochondriale. En outre, l'hyperglycémie inhibe la glycéraldéhyde-3 phosphate déshydrogénase ce qui provoque la baisse de formation du cofacteur réduit NADPH, H⁺ essentiel à la régulation de l'homéostasie redox (Figure13) (Berger, 2006).

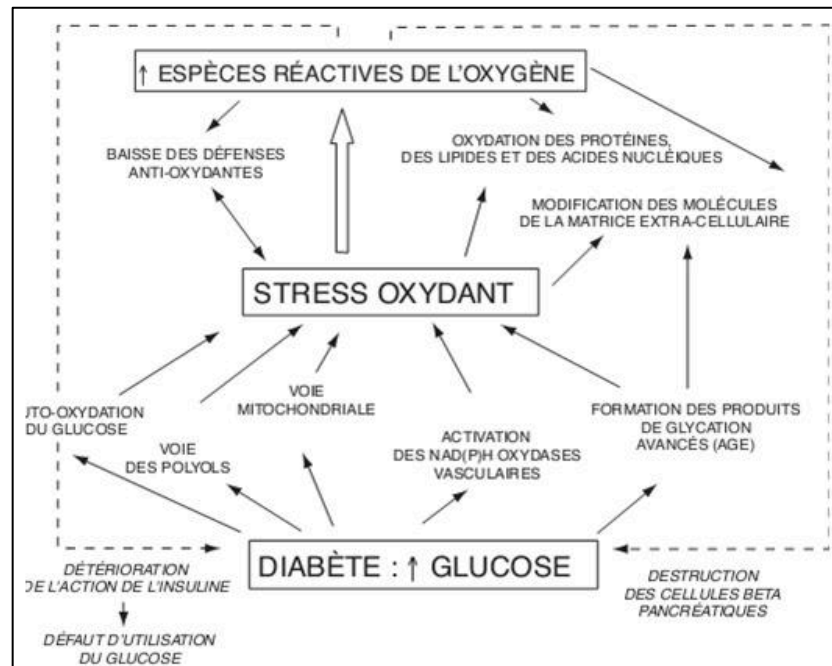


Figure 13 : Relation entre l'hyperglycémie et le stress oxydant (Bonnefont-Rousselot., 2004)

Relation

Le mécanisme de la toxicité du glucose au niveau des cellules cibles est maintenant bien connue. Le glucose exerce son effet néfaste et produit des ERO par différents mécanismes. Les mécanismes conduisant à la formation de ERO sont notamment, le phénomène d'auto- oxydation du glucose, la voie des polyols, la voie de la PKC, la formation des produits avancés de fin de glycation (AGEs) et la voie des hexosamines (Negre-Salvayre *et al.*, 2009).

2.5.1 Activation de la voie des polyols

Dans des conditions physiologiques normales (normoglycémique), le glucose est métabolisé en glucose-6-phosphate par l'héxokinase puis dirigé dans la voie de la glycolyse et la voie des pentoses phosphates. Cependant, dans le cas d'une hyperglycémie, l'héxokinase est saturée. Le glucose, de ce fait, s'accumule dans les tissus périphériques et active une voie accessoire, la voie des polyols (Gonzalez *et al.*, 1984). Dans cette voie, le glucose est transformé en sorbitol puis en fructose, respectivement sous l'action de l'aldose réductase et de la sorbitol déshydrogénase. Le sorbitol va s'accumuler dans les cellules, de part son incapacité à traverser les membranes plasmiques ce qui entraîne une hyperosmolarité intracellulaire (Figure 14). La production accrue de fructose par cette voie peut également stimuler la formation des AGEs grâce au pouvoir réducteur du fructose par rapport au glucose (Brownlee, 2005). L'activation de la voie des polyols va entraîner une augmentation du stress oxydant au sein de la cellule avec une diminution des défenses antioxydantes (Brownlee, 2005).

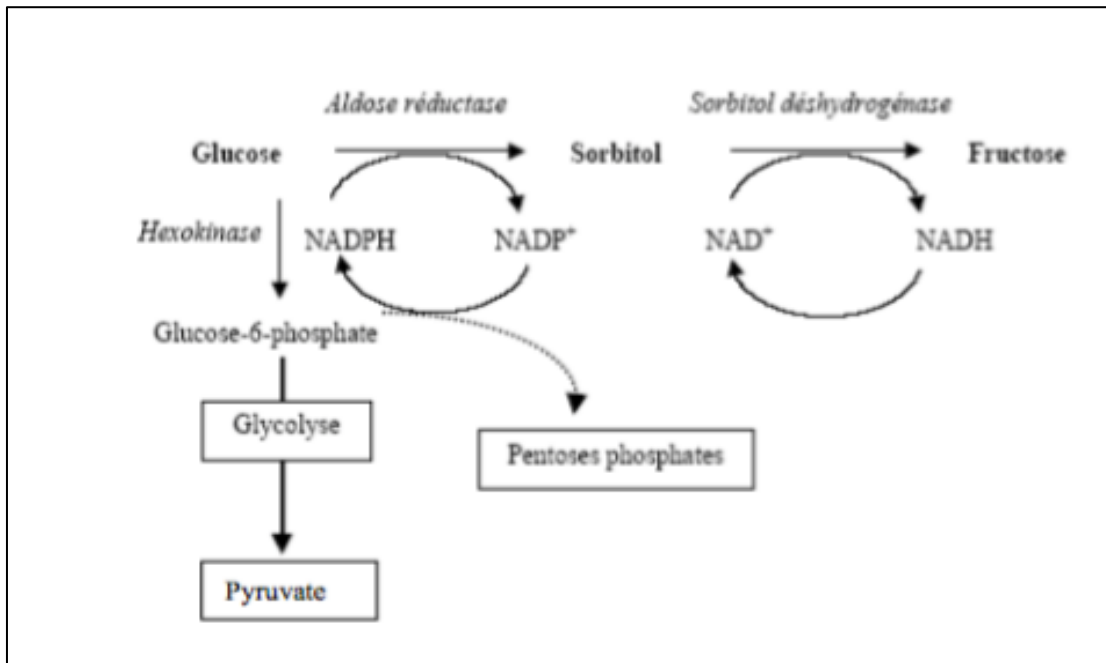


Figure 14 : Voie des polyols (Wolf, 2005)

2.5.2 Production de produits avancés de glycation (AGE)

Les produits avancés de glycation (AGE) sont particulièrement augmentés au cours du diabète (Figure 15). Ils peuvent être formés à partir de différentes voies: la voie des polyols, la glycoxydation ou auto-oxydation du glucose et la glycation des protéines (Boulangier *et al.*, 2002). Le glucose réagit facilement avec les groupements amines des protéines ce qui permet la formation des produits d'Amadori. Ces composés sont instables car elles se dégradent en produits avancés de la glycation (AGE) ou produits de Maillard (Selvaraj *et al.*, 2006). Les AGE plasmatiques peuvent se lier à des récepteurs (RAGE) présents sur les cellules endothéliales, glomérulaires et les macrophages. L'activation de ces récepteurs déclenche une production d'ERO et active le facteur de transcription NF- κ B ce qui entraîne la modification de la transcription génique. La liaison des AGE aux RAGE endothéliaux semble, en partie, responsable de l'hyperperméabilité capillaire observée au cours du diabète, via la production de NO \cdot (Hudson *et al.*, 2005).

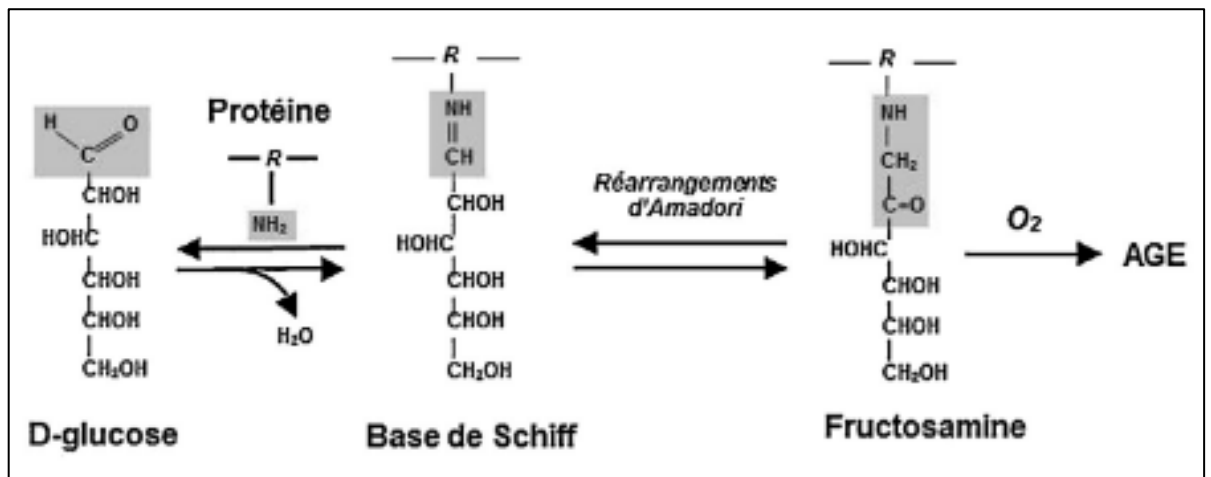


Figure 15 : Glycation des protéines et formation des produits de glycation avancés (AGEs) (Wautier *et al.*, 2014)

2.5.3 Auto-oxydation du glucose

Le glucose est capable de s'oxyder en présence de métaux de transition, entraînant la génération d'ERO et la formation d'un radical anionique énediol réagissant avec la molécule O₂ pour libérer des anions superoxydes. Au cours de cette réaction, il y a la formation d' α -cétoaldéhyde, cette forme du glucose a la capacité de capter les métaux tel que le cuivre, ce qui provoque le déclenchement de réactions de type Fenton avec productions des radicaux hydroxyles très réactifs (Figure 16), il s'ensuit une augmentation de la peroxydation lipidique (Devaraj *et al.*, 2001).

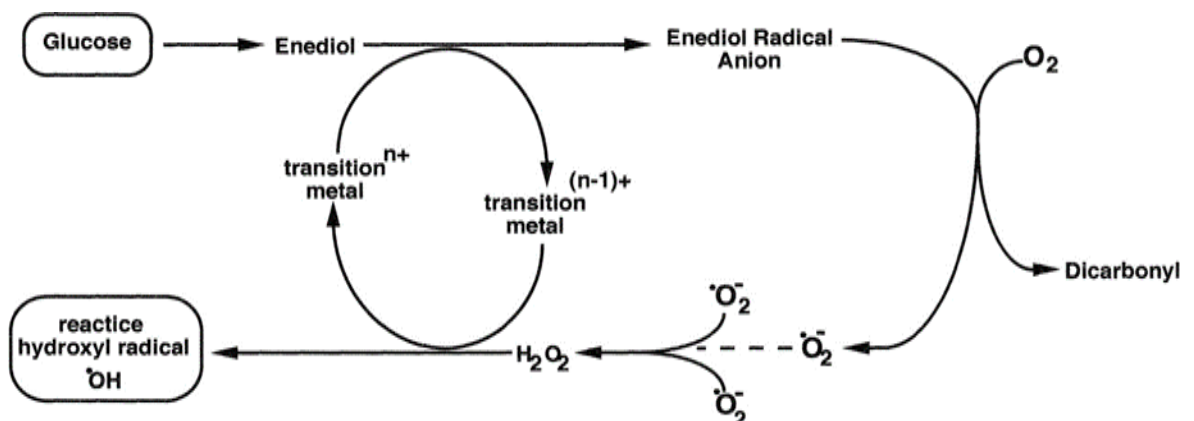


Figure 16 : Auto-oxydation du glucose (Wolff et Dean 1987)

2.5.4 Voie des hexosamines

Le détournement métabolique de l'excès de glucose intracellulaire par la voie des hexosamines est également à l'origine de nombreuses manifestations des complications diabétiques. L'augmentation du glucose intracellulaire conduit à la formation excessive de fructose-6-phosphate, qui est métabolisé en glucosamine-6-phosphate en présence de glutamine. La glucosamine-6-phosphate ainsi formée est transformée en UDP-N-acétyl-glucosamine (UDP-GlcNac) (Figure 17). L'UDP-GlcNac est le substrat de l'enzyme O-GlcNac transférase (OGT) qui va catalyser la formation de protéines O-GlcNac (Kolm-Litty *et al.*, 1998). L'activation de cette voie va entraîner une augmentation de la génération des ERO et contribuer à l'installation d'un stress oxydant. De plus, l'accumulation des protéines modifiées par l'O-GlcNac glycosylation joue un rôle dans les complications et l'apparition de maladies associées au diabète (Tang *et al.*, 2000). La voie des hexosamines serait également responsable des dysfonctionnements cellulaires qui mènent à l'insulino-résistance liée à l'hyperglycémie ou l'hyperlipidémie (Buse, 2005).

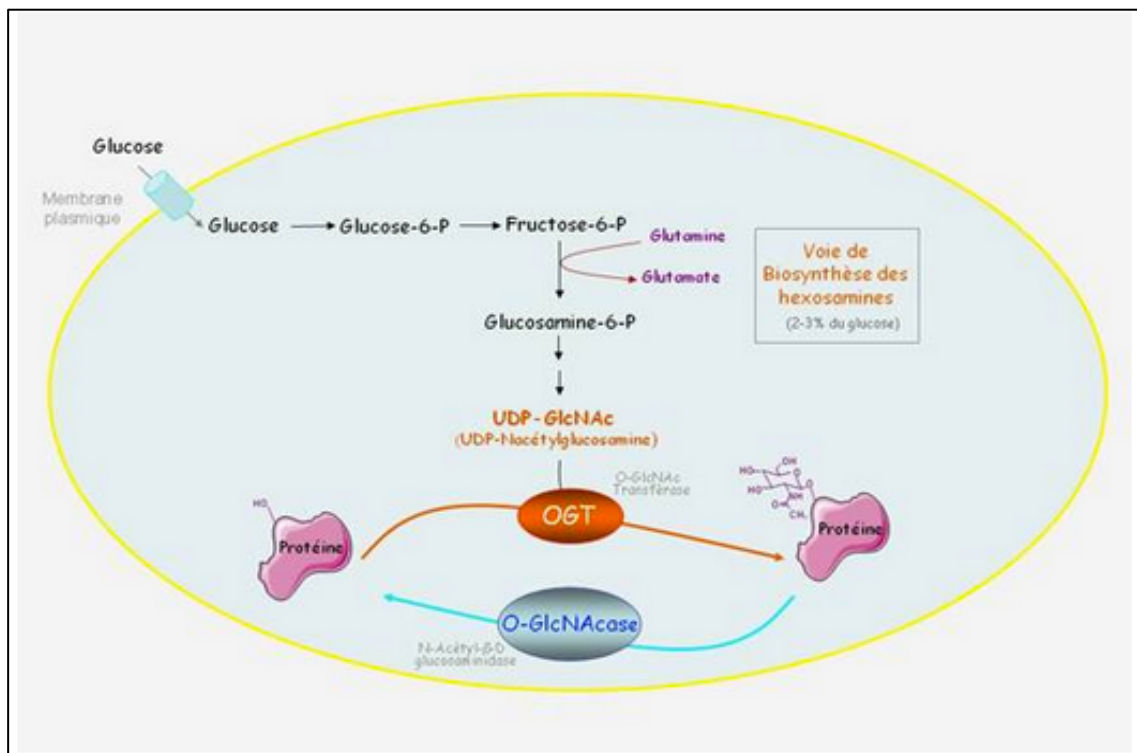


Figure 17 : Voie des hexosamines (Issad et Kuo, 2008)

2.5.5 Activation de la protéine kinase C (PKC)

Le mécanisme responsable de l'activation de la protéine kinase C (PKC) semble être principalement lié à une production accrue du diacylglycérol (DAG) à partir des intermédiaires de

la glycolyse par l'activation de la phospholipase C et l'inhibition de la DAG Kinase (Xia *et al.*, 1994) (Figure 18). Les conséquences vasculaires de l'activation de la PKC par l'hyperglycémie sont multiples :

- Modification de la réactivité vasculaire; dès le début de la maladie, il a été montré une modification des flux sanguins en raison d'une anomalie de l'autorégulation qui résulterait.
- Inhibition de l'activité de la pompe Na⁺/K⁺-ATPase impliquée dans les mouvements ioniques participant au maintien de l'intégrité cellulaire.
- Activation des NADPH oxydases, ce qui favorise la production d'espèces réactives de l'oxygène (Inoguchi *et al.*, 2003).

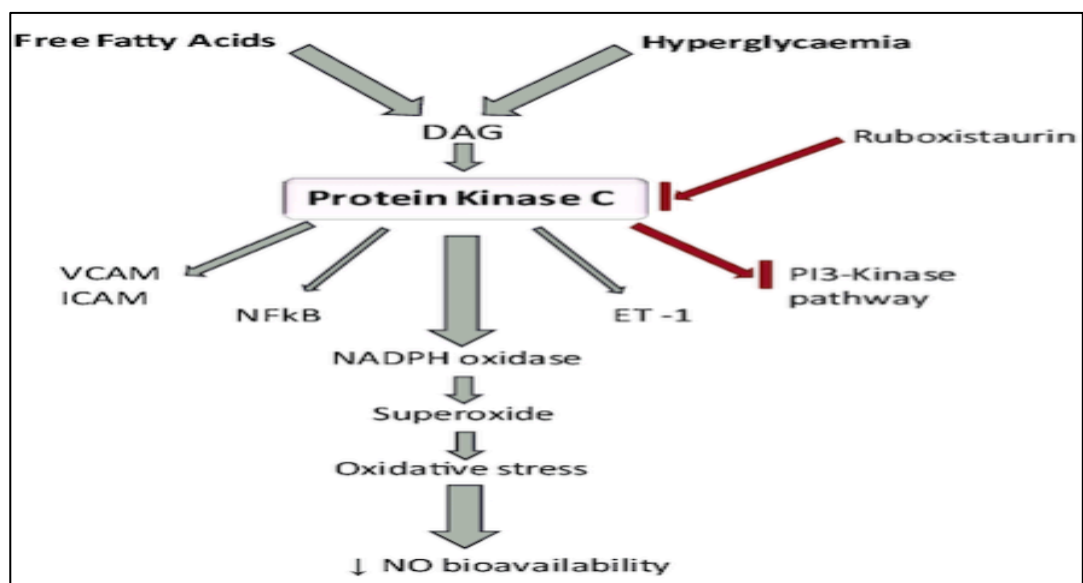


Figure 18 : Activation de la PKC induite par l'hyperglycémie (Brownlee, 2005)

2.5.6 Effet du stress oxydant sur la sécrétion d'insuline

Dans le diabète de type 1, plusieurs travaux ont pu montrer que les ERO conduisent vers la destruction des îlots de Langerhans du pancréas soit par nécrose ou apoptose (Bonfont, 2002). Les ERO inhibent l'insulinosécrétion en bloquant la transduction du signal du glucose dans les cellules β . Au cours de l'hyperglycémie chronique (glucotoxicité), le peroxyde d'hydrogène empêche la sécrétion d'insuline en diminuant le ratio ATP/ADP intracellulaire. L'activation des canaux potassiques ATP-dépendant entraîne une hyperpolarisation membranaire ce qui empêche la libération de l'insuline par les cellules β (Krippeit-Drews *et al.*, 1994). D'autres études ont montré que les ERO agissent comme second messenger des interleukines, ce qui explique la destruction des cellules β dans le diabète type 1 auto-immune (Cunningham et Green, 1994).

Chapitre 3 : La gomme-oléorésine de Boswellie

3.1 Traitement du diabète par les plantes médicinales

Actuellement, la recherche de nouvelles molécules efficaces sans effet secondaire constitue un vrai challenge pour les systèmes médicaux. Les plantes qui constituent une source inépuisable sont utilisées traditionnellement depuis très longtemps pour la guérison et la prévention de différentes maladies. L'étude ethnobotanique des plantes utilisées comme antidiabétiques a suscité un grand intérêt. De nombreux travaux de synthèse ont été publiés dans des revues spécialisées dans le domaine des plantes médicinales et diabète. Ils montrent le grand intérêt qui porte l'utilisation traditionnelle des plantes antidiabétiques dans le monde (Eddouks *et al.*, 2002).

L'utilisation de plantes médicinales chez les diabétiques est souvent une forme de thérapie complémentaire en tenant compte du fait qu'elles peuvent avoir des avantages qui s'ajoutent à la thérapie conventionnelle (Borges *et al.*, 2008). Par ailleurs, pour traiter le diabète sucré, une grande variété de classes chimiques des constituants antihyperglycémiantes provenant des plantes se révèlent avoir des propriétés antidiabétiques en faisant diminuer la glycémie dans le sang (Jarald *et al.*, 2008). Les constituants actifs responsables de l'activité hypoglycémique peuvent inclure des polysaccharides, des stérols, des triterpénoïdes, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des graisses, des coumarines, des composés phénoliques et des peptides. Ils stimulent les cellules bêta pour restaurer la fonction du tissu pancréatique et agissent sur les complications du diabète par leur pouvoir antioxydant et anti-enzymatique, neutralisant l'effet des radicaux libres et limitant la réaction inflammatoire dans les différents tissus (Mamun-or-Rashid *et al.*, 2014).

3.2 Mécanismes d'action des plantes antidiabétiques

Les plantes possèdent plusieurs principes actifs qui leurs permettent d'avoir une action sur l'organisme. Dans le cas du diabète, les plantes ont une action antihyperglycémiant, dont le mécanisme diffère selon les constituants présents dans les plantes (Jarald *et al.*, 2008). L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes :

- Réduction de la résistance à l'insuline.
- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules bêta ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline.
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le calcium, le zinc, le magnésium, le manganèse et le cuivre pour les cellules bêta.

Chapitre 3. La gomme-oléorésine de Boswellie

- Augmentation du volume et du nombre de cellules dans les îlots de Langerhans.
- Inhibition de β -galactosidase, de α -glucosidase et de α -amylase.
- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules bêta remarqué dans le diabète.
- Diminution des activités du cortisol. (Kashikar *et al.*, 2011).

3.3 Généralité sur la gomme-oléorésine de Boswellie

La Boswellie est communément appelée « Salai guggal » mais elle est aussi exploitée sous le nom d'encens ou oliban. Les arbres du genre Boswellie vivent dans les régions arides de l'Afrique tropicale et de l'Asie. Il existe plus de 25 espèces appartenant au genre Boswellie répandues entre l'Inde, le nord-est de l'Afrique ou bien l'Arabie. Actuellement, les formes commercialisées d'encens proviennent de trois régions distinctes:

- L'est de l'Afrique : Erythrée, Ethiopie, Somalie et Soudan.
- Le sud de la péninsule Arabique: Yemen et Oman.
- Le nord-ouest de l'Inde (Burlando *et al.*, 2008).

La partie utilisée est la gomme-résine ou gomme-oléorésine (Figure 19) qui exsude du tronc, aussi appelée encens, encens d'Inde ou oliban. Quatre espèces du genre *Boswellia* ont pu être identifiées dans ces régions. On retrouve *Boswellia sacra* en Arabie, *Boswellia frereana* en Somalie, *Boswellia carteri* (ou *Boswellia sacra*) en Afrique de l'est et enfin *Boswellia serrata* dans les régions montagneuses du nord-ouest de l'Inde et parfois d'Inde centrale (Mathe *et al.*, 2004 ; Burlando *et al.*, 2008). En Inde, en Chine et en Afrique du nord, emploie la résine de Boswellie depuis des millénaires. Les Égyptiens s'en servaient notamment pour l'embaumement. Traditionnellement, on faisait brûler la résine de diverses espèces de Boswellie durant les cérémonies religieuses. On dit que la fumée de ces résines induit un état propice à la méditation, la prière et l'expérience spirituelle (Basar, 2005). La résine de Boswellie est surtout connue dans la médecine traditionnelle Ayurvédique depuis le XI^{ème} siècle. Elle servait à soigner les affections respiratoires (asthme, troubles bronchiques et pulmonaires), les troubles abdominaux tels que l'ulcère, la diarrhée, la dyspepsie, l'hémorroïde et l'infection urinaire. Elle est également employée pour les problèmes nerveux, les plaies, la teigne et enfin les rhumatismes (Shelowann, 2006). Aujourd'hui, l'encens a trouvé une place dans la phytothérapie, l'aromathérapie, la parfumerie et la cosmétique. La recherche pharmaceutique s'intéresse elle aussi à la partie résine de l'encens car certains composés principalement les acides boswelliques, présentent des propriétés thérapeutiques (Iserin *et al.*, 2001).



Figure 19 : La gomme-oléorésine de *Boswellia serrata* (Majeed et al., 2020)

3.3.1 Position systématique

D'après Roxb ex Colebr (1807), la classification qu'occupe la gomme-oléorésine de Boswellie est la suivante:

➤ **Classification classique**

Règne :	Plantae
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Sapindales
Famille :	Burseraceae

➤ **Classification phylogénétique**

Ordre :	Sapindales
Famille :	Burseraceae

- **Noms communs :** Boswellie, Boswellia, arbre encens.
- **Nom botanique :** *Boswellia sp.*
- **Noms anglais :** Boswellia, frankincense, Indian frankincense.

3.3.2 Description botanique

Chapitre 3. La gomme-oléorésine de Boswellie

Le genre *Boswellie* instauré par le botaniste Ecossais William Rox Burgh a été dédié à un autre botaniste James Boswell. Il rassemble une vingtaine d'espèces arbustives à caractère plus xérophyte que succulent. *Boswellie sacra* est un arbuste pourvu d'un système racinaire très puissant, capable de pénétrer profondément dans les couches du sol, afin de récupérer toute trace d'humidité. Son tronc, large de 3 à 4 centimètres est court, ramifié depuis la base, il atteint trois à quatre mètres de hauteur. Sa silhouette est tortueuse et tourmentée, sa croissance est lente, ralenti par les longues périodes de sécheresse, elle est rythmée par les périodes de pluie. Son écorce papyracée se détache en plaques importante et dans ses tissus circule une résine gommeuse très odorante (Francis, 2010).

Le feuillage vert brillant devient caduc en période de sécheresse, les feuilles composées, imparipennées, sont réunies au sommet des jeunes rameaux. Durant la période de végétation, elles apporteraient leur contribution à l'arbre par leur capacité à absorber l'humidité de l'air. Les floraisons surviennent dès les premières pluies, les fleurs dioïques sont petites, de couleur blanche réunies en grappes. Les fruits sont des drupes trigones, collantes à trois noyaux (Francis, 2010).

➤ **Goût et Odeur :** *Boswellia sp* a un goût amer, bonbon, astringent, doux et piquant. L'odeur des espèces de *Boswellia sp* possède un arôme résineux balsamique, frais plaisant, doux et profond. Il est comparé avec les notes fruitées de citron, de la pomme verte et les notes d'épice (Shelowann, 2006).

➤ **Matière première :** l'encens est le résultat de la sécrétion issue de l'écorce de l'arbre, qui se présente sous forme d'une résine pâteuse se solidifiant lentement à l'air libre. Elle est mise à sécher pendant trois mois minimums. Elle est extraite de l'arbre par raclage d'une portion de l'écorce de 15 à 20 cm de large. La technique consiste à réaliser des incisions transverses en amont et en aval de la portion voulue puis de détacher l'écorce du tronc. L'arbre à encens a besoin de chaleur et de sécheresse pour se développer, c'est pour cette raison que la meilleure qualité de résine est recueillie dans les zones les plus arides, au cours des mois les plus chauds (Dupéron, 1993).

3.3.3 Propriétés physico-chimiques de la gomme-oléorésine de Boswellie

Parmi les propriétés organoleptiques de la gomme-oléorésine de *Boswellia serrata*, on remarque tout d'abord la couleur de la poudre brune-grisâtre, ainsi que son odeur et son goût qui sont qualifiés d'agréables. Cette poudre de gomme-oléorésine est soluble dans l'eau chaude et insoluble

Chapitre 3. La gomme-oléorésine de Boswellie

dans le méthanol, l'éthanol, le diéthyl-éther, l'éther de pétrole et l'acétone; dans l'eau froide elle gonfle et forme un gel (Pant *et al.*, 2015) (Tableau 2).

Tableau 2 : Principales caractéristiques physico-chimiques de la gomme-oléorésine exsudée du tronc de *Boswellia serrata* (Pant *et al.*, 2015)

Paramètre	Valeur
pH	5,6
Masse volumique apparente (g/cm ³)	0,23
Masse volumique après tassement (g/cm ³)	0,27
Rapport d'Hausner (%)	1,14
Perte à la dessiccation après 3 h pour 1 g d'encens Indien pulvérisé (%)	8

Le spectre infra rouge de *Boswellia serrata* a également été réalisé et permet de mettre en évidence la présence de cétones (onde 1793,78 cm⁻¹ et 1740,33 cm⁻¹), d'alcools (onde 3607,65 cm⁻¹), d'amines (onde 3744,30 cm⁻¹) et de cycles aromatiques (onde 1515,48 cm⁻¹) dans la gomme-résine (Pant *et al.*, 2015) (Tableau 3).

Tableau 3 : Analyse du spectre infra rouge de la gomme-oléorésine de *Boswellia serrata* (Pant *et al.*, 2015)

S. №	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Groupe présent
1	3774.30	-NH ₂
2	3607.65	-OH
3	2920.17	CH ₂ -CH ₂ (asymmetric)
4	2381.27	CH ₂ -CH ₂ (symmetric)
5	1793.78	-C=O (ketone)
6	1740.33	C=O (anhydride)
7	1677.65	C=C
8	1515.38	-C-C (aromatic)
9	1396.78	-C-NO ₂
10	726.24	-C-H

Chapitre 3. La gomme-oléorésine de Boswellie

3.3.4 Composition chimique de la gomme-oléorésine de Boswellie

Du point de vue chimique, une gomme-oléorésine est constituée d'un mélange de substances liposolubles correspondant aux parties résine (substances non volatiles), huile essentielle (composés volatiles) et le reste des polysaccharides (Siddiqui, 2011).

3.3.4.1 Fraction volatile (partie oléo)

Les gomme-oléorésines d'encens sont riches en huiles essentielles présentes dans des proportions de 5 à 10 %. L'huile essentielle de la résine de Boswellie se présente comme une solution mobile incolore à jaune pâle, très aromatique (résineuse, terpénique, boisée, chaude). Des études ont indiqué que les huiles essentielles d'encens possèdent des compositions et des proportions variables en fonction des fluctuations de la saison de récolte, la localisation géographique et la source botanique (Delfaut *et al.*, 2018).

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile hydrodistillée ont montré qu'elle se compose de monoterpènes, d'hydrocarbures, d'alcools terpéniques, d'éthers, de phénylpropènes et de diterpènes, les composants majoritaires étant l' α -pinène, l' α -thujène, le myrcène, le méthylchavicol, le sabinène et le β -pinène (Al-Yasiry et Kiczorowska, 2016 ; Khan *et al.*, 2016).

3.3.4.2 Fraction polysaccharidique (partie gomme)

La fraction gomme représente entre 30 % et 60 % de l'extrait total de la gomme-oléorésine d'encens. La composition chimique des gommages extraites de *Boswellia* comprend des monosaccharides comme le galactose, l'arabinose et l'acide 4-O-méthyl-D-glucuronique, qui s'associent pour former des polysaccharides et se relie à des protéines pour constituer ainsi des protéoglycane et plus exactement des protéines arabinogalactanes (Tan *et al.*, 2012) (Figure 20). La partie polymérique est responsable d'une partie de l'activité anti-arthritique et anti-inflammatoire de *Boswellia serrata* (Khajuria *et al.*, 2008).

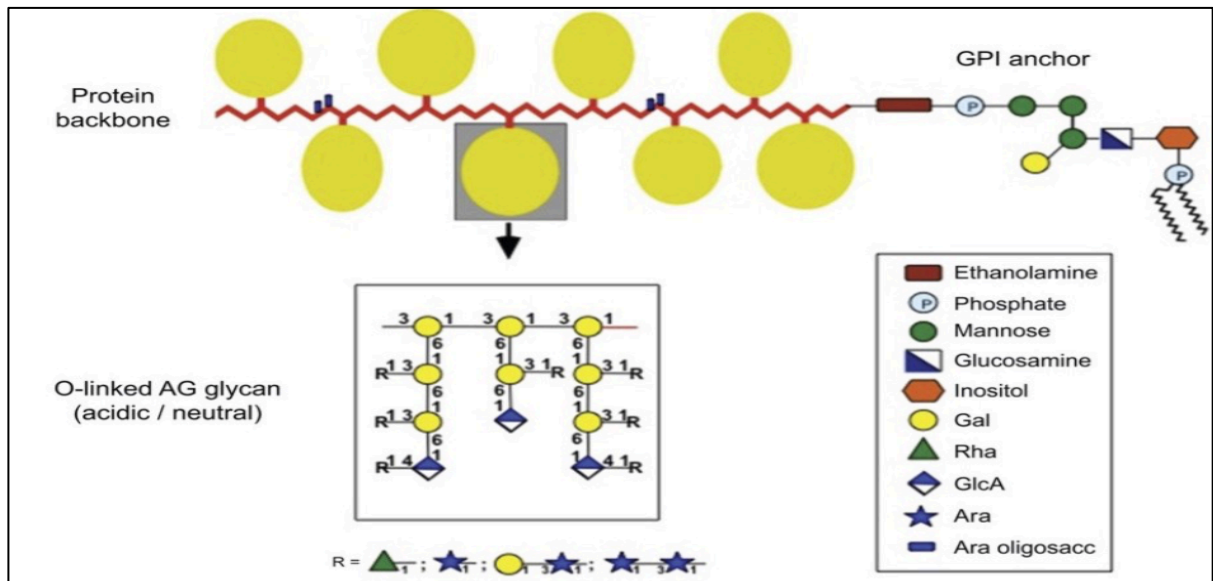


Figure 20 : Structure des protéines arabinogalactanes (Tan *et al.*, 2012)

3.3.4.3 Fraction résineuse (polyterpènes)

La résine est la fraction majoritaire de la gomme-oléorésine. Elle représente entre 50 et 65% de l'extrait total et constitue la partie non volatile de la gomme. Cette partie est constituée d'acides polyterpéniques en mélange avec certains alcools, aldéhydes et esters (Langenheim, 2003). C'est une classe de composés très répandue dans la nature (Kulshreshtha *et al.*, 1972).

- **Acides boswelliques**

La résine contient un mélange des terpénoïdes composées de six acides pentacycliques de triterpène: acide β -boswellique (β BA, le plus abondant), l'acide 11-kéto- β -boswellique (KBA), l'acide 3-acétyl- β -boswellique ($A\beta$ BA), l'acide 3-acétyl-11-kéto- β -boswellique (AKBA), l'acide α -boswellique (α BA) et l'acide 3-acétyl- α -boswellique ($A\alpha$ BA).

3.3.5 Propriétés thérapeutiques de la gomme-oléorésine de Boswellie

3.3.5.1 Effet hypolipidémiant

Une étude montre que la fraction soluble de *Boswellia. Sp.* diminue le taux de cholestérol total de 38-48% et augmente le taux de HDL chez des rats nourris avec une nourriture athérogène, illustrant son potentiel hypolipidémique (Upaganlawar et Ghule, 2009). L'administration intragastrique d'extrait brut à la dose de 100 mg/kg de poids corporel à des coqs, des lapins et des rats nourris avec un régime riche en cholestérol réduit le taux de cholestérol sérique de 25 à 45 % ainsi que les taux de triglycérides (Atal *et al.*, 1981).

3.3.5.2 Effet anti-inflammatoire

De nombreuses études ont démontré que les acides β -boswelliques agissent directement sur la lipooxygénase, enzyme nécessaire à la fabrication des leucotriènes. Ces derniers sont synthétisés au cours des phénomènes inflammatoires et douloureux (Singh *et al.*, 2008).

3.3.5.3 Effet antimicrobien et antioxydant

L'huile essentielle de *Boswellia serrata* a été analysée par GC et GC-MS, et leur activité antimicrobienne et antioxydante a été testée. L'huile a également démontré une activité antioxydante comparable à l'alpha-tocophérol et à l'hydroxytoluène butylé (BHT). Des extraits gomme-oléorésine de Boswellie se sont révélés actifs contre six microorganismes du genre : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* et *Bacillus subtilis* (Baratta *et al.*, 1998).

3.3.5.4 Effet antiasthmatique

L'asthme est une pathologie respiratoire dans laquelle les leucotriènes jouent un rôle prépondérant. En effet, ils induisent une bronchoconstriction, augmentent la sécrétion de mucus et l'œdème. Ils promeuvent l'infiltration des cellules pro-inflammatoires localement. Dans la médecine traditionnelle ayurvédique, la gomme-oléorésine du *Boswellia serrata* fut utilisée dans toute sorte de pathologies respiratoires (inhalation de vapeur, bains et massages pour traiter la toux, la bronchite et l'asthme). Des études ont montré que les extraits alcooliques de *Boswellia serrata* inhibent la voie TH1 (lymphocytes T auxiliaires) et stimulent la production de cytokines de type TH2 (lymphocytes T auxiliaires) et régulent les réponses vasculaires à l'inflammation. Cela laisse penser qu'un extrait de *Boswellia serrata* pourrait s'avérer efficace dans le traitement de fond d'un terrain asthmatique (Delfaut *et al.*, 2018).

Chapitre 4 : Matériels et méthodes

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau de trois laboratoires différents. Les dosages des paramètres biochimiques et ceux du stress oxydatif ont été effectués au laboratoire de recherche de Biochimie et Microbiologie Appliquée du département de Biochimie, université Badji Mokhtar, Annaba (UBMA) Algérie. La réalisation et l'interprétation des coupes histologiques ont été réalisées au niveau du service d'anatomie à l'hôpital Iben Roched (Annaba, Algérie). Tandis que, les analyses qualitatives et quantitatives de la plante (HPLC) ont été réalisées au niveau du laboratoire de Biochimie de l'université Çankiri Karatekin, Çankiri, Turquie.

Notre travail a un double objectif, d'une part l'évaluation de l'activité antidiabétique (antihyperglycémiant, antioxydante et cytoprotectrice) de la gomme-résine de Boswellie chez les rats mâles Wistar. D'autre part la réalisation d'une étude phytochimique de la poudre de gomme-oléorésine de Boswellie afin de vérifier la présence ou l'absence de certaines familles chimiques qui sont responsables des effets bénéfiques cités précédemment.

4.1 Matériels

4.1.1 Matériel végétal

La résine de Boswellie a été achetée du marché local (Annaba, Algérie) mais qui a comme origine la Jordanie et elle a été identifiée entant que *Boswellia serrata* par le Dr. Tarek Hamel, Maître de conférences au département de biologie végétale et environnement de l'UBMA, Algérie. La résine a été lavée plusieurs fois puis congelée à -20°C pendant 2 heures (Dan, 2015). La résine congelée a été broyée à l'aide d'un mortier et d'un pilon jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre obtenue a été conservée à une température ambiante jusqu'à la préparation du régime expérimental.

4.1.2 Les produits chimiques

La streptozotocine, le 5,5-dithiobis-2 nitro acide benzoïque (DTNB), le glutathion (GSH), l'acide thiobarbiturique (TBA), le 1-chloro,2,4- dinitrobenzène (CDNB) et tous les autres produits chimiques utilisés dans l'expérimentation ont été achetés auprès de Sigma (St. Louis, France).

4.1.3. Matériel animal

4.1.3.1 Entretien des rats

Le plan d'étude a été réalisé selon des protocoles autorisés par le Comité d'Ethique de l'Université d'Annaba, Algérie. Les animaux utilisés dans cette étude ont été traités conformément au guide pour

le soin et l'utilisation des animaux de laboratoire (Déclaration de Bâle, Abbott, 2010). Quarante rats mâles *Albinos wistar* pesant entre (160-200 g) ont été achetés de l'institut Pasteur d'Alger (Algérie). L'expérimentation animale et l'entretien des rats ont été réalisés au sein de l'animalerie du département de Biologie (UBMA), Algérie. Les rats ont été maintenus dans des cages en polypropylène adaptées dans un environnement contrôlé avec une température maintenue à (24 ± 3 °C), une photopériode (cycle lumière/obscurité de 12 h) et une humidité relative (40 ± 7 %). Ils ont été nourris avec de l'alimentation commune pour rongeurs achetée de l'Office national des aliments du bétail (ONAB)– El Kseur, Bejaia, Algérie. La composition de l'alimentation est détaillée dans le Tableau 4, cependant l'eau de boisson a été servie dans des biberons *ad libitum*. Les rats ont été soumis à une période d'adaptation de trois semaines avant le début de l'expérimentation.

Tableau 4 : Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment (ONAB)

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	620	62
Soja	260	26
Cellulose	100	10
Minéraux	10	1
Vitamines	10	1

4.1.3.2 Induction du diabète chez les rats

L'induction du diabète expérimental chez les rats a été faite par une injection intrapéritonéale d'une dose unique de la streptozotocine (STZ) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) dissoute dans le tampon citrate (0.1 M, pH 4.5) à raison de 60 mg/kg du poids corporel du rat (Ahmed *et al.*, 2014). Après l'injection, les rats ont reçu une solution glucosée à 5 % (Berredjem *et al.*, 2015) pendant une nuit afin de surmonter l'hypoglycémie induite par la STZ suite à la destruction des cellules β pancréatiques et la libération massive de l'insuline. Après cinq jours de l'injection de la STZ, la glycémie a été mesurée par un glucomètre (ACCU-CHEK, Roche Diagnostics, Paris, France). Les valeurs de la glycémie étaient supérieures à 350 mg/dl, les rats sont alors considérés comme diabétiques.

NB : Comme les rats rendus diabétiques, les groupes de rats témoins non diabétiques ont reçu dans les mêmes conditions expérimentales une seule injection intrapéritonéale de tampon citrate 0.1 M, pH 4.5.

4.1.3.3 Expérimentation animale

a/ Répartition des groupes

Les rats ont été répartis au hasard en quatre groupes de dix rats chacun aussi homogènes que possible en fonction de leurs poids. Les rats ont été traités pendant 28 jours (Devi *et al.*, 2012) successifs comme suit :

- ◆ **Groupe 1:** rats témoins non-diabétiques (ND-0) ayant été nourris par un régime alimentaire standard.
- ◆ **Groupe 2:** rats non-diabétiques (ND-BSGR) ayant été nourris par un régime standard contenant 2 % (Al-Yasiry *et al.*, 2016) de la poudre de la gomme-résine de Boswellie (BSGR).
- ◆ **Groupe 3:** rats diabétiques (D-0) ayant été nourris par un régime alimentaire standard.
- ◆ **Groupe 4:** rats diabétiques (D-BSGR) ayant été nourris par un régime alimentaire standard mélangé à 2 % (Al-Yasiry *et al.*, 2016) de la poudre de la gomme-résine de Boswellie (BSGR).

La consommation de l'aliment a été contrôlée quotidiennement et les animaux ont été pesés au début et à la fin de l'expérience.

NB: Dans cette partie pratique et juste pour l'abréviation, nous avons remplacé gomme-oléo-résine de la Boswellie par gomme-résine de la Boswellie (BSGR).

b/ Prélèvement sanguin

A la fin de la période de traitement et au 28^{ème} jour, les rats ont été sacrifiés par décapitation. Le sang a été immédiatement prélevé et recueilli dans deux tubes différents. Les tubes contenant l'EDTA ont servi à la réalisation de la formule de numération sanguine (FNS), alors que les tubes secs ont été centrifugés à 5000 g pendant 10 min à 4°C, le sérum obtenu a été congelé à -20°C jusqu'à l'analyse des paramètres biochimiques.

c/ Prélèvement des organes

Après la dissection, le pancréas, le foie, les reins, le cœur et la rate, ont été rapidement excisés, rincés au sérum physiologique et pesés puis congelés à -20 °C pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

En outre le pancréas, le foie et les reins ont été coupés en deux fragments. Un fragment de chaque tissu (pancréatique, hépatique et rénale) a été fixé dans du formol à 10 % et utilisé pour l'examen histologique. L'autre fragment a été conservé puis utilisé pour déterminer les marqueurs du stress oxydant.

Les différentes étapes du protocole expérimental sont schématisées dans la figure 21 :

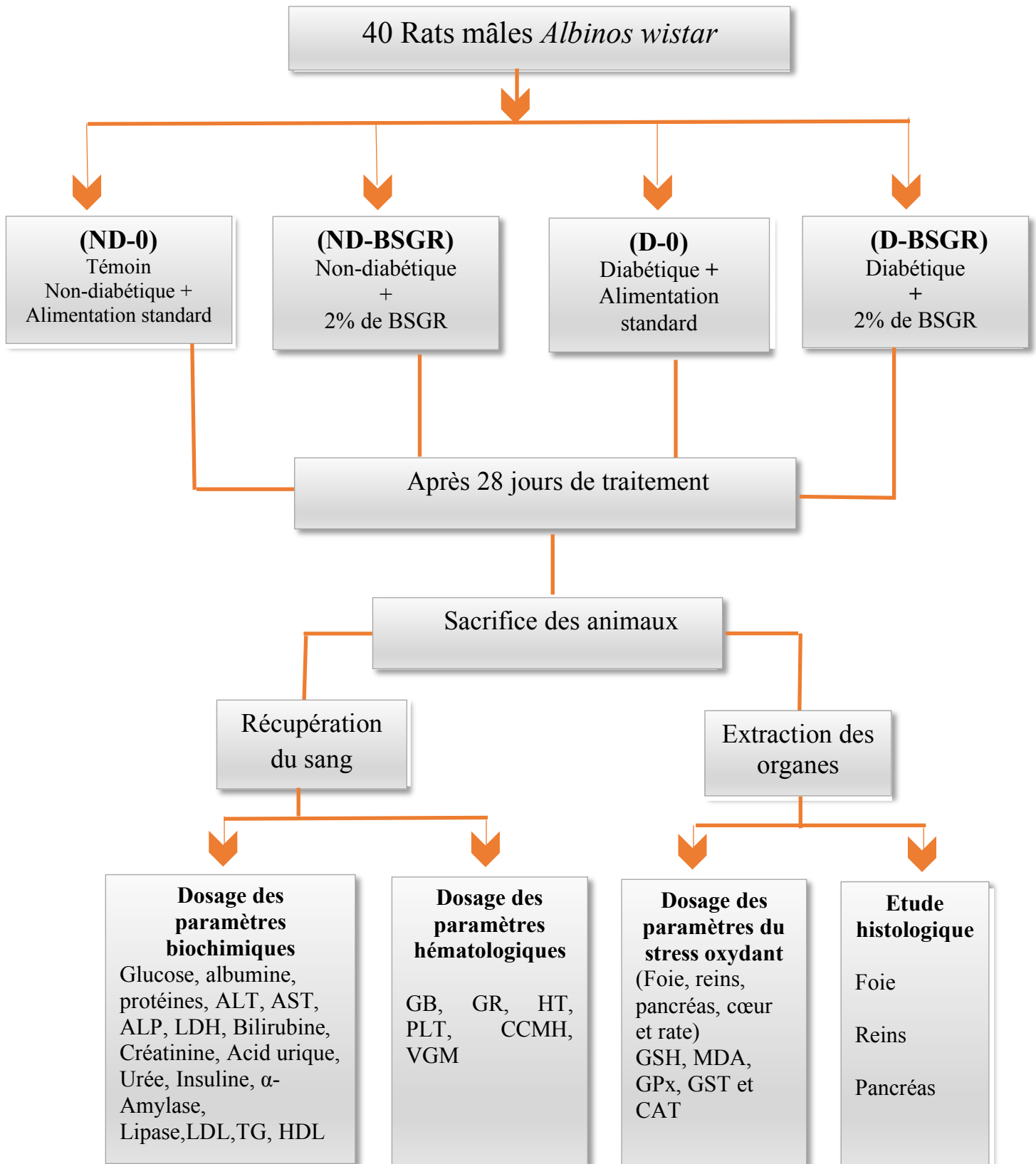


Figure 21 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

4.2 Méthodes de dosage

4.2.1 Etude phytochimique de la gomme-résine de Boswellie

4.2.1.1 Préparation de l'extrait éthanolique

L'extrait éthanolique a été préparé par macération de 100 g de poudre de résine de Boswellie dans 500 mL d'éthanol à 95% pendant 72 h. L'extrait a été filtré en utilisant du papier filtre Whatman N°1. Après filtration, le solvant a été éliminé à 50°C en utilisant un rotavapeur (Buchi Rotavapor R-200). L'extrait de la plante séchée a été stocké jusqu'à son utilisation pour l'analyse phytochimique (Sakuntala *et al.*, 2012).

4.2.1.2 Dosage des polyphénols totaux

Principe

La méthode utilisée est celle utilisant le réactif de Folin Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Wolfe *et al.*, 2003).

Mode opératoire

- 200 µL d'extrait ont été ajoutés à 1,5 mL de réactif de Folin Ciocalteu.
- Agiter puis laisser reposer 5 minutes.
- Ajouter 1,5 mL de carbonate de sodium à 2%.
- Laisser reposer pendant 90 minutes à l'obscurité totale.
- Lire les densités optiques à 725 nm contre le blanc.

Calcul de la concentration

La teneur totale en phénols a été calculée en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique réalisée dans les mêmes conditions (Figure A, Annexe 3). Les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalents d'acide gallique/g d'extrait (mg EAG /g d'extrait).

4.2.1.3 Dosage des flavonoïdes

Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes (Pourmorad *et al.*, 2006).

Mode opératoire

- 0,5 mL d'extrait a été ajouté à 1,5 mL de méthanol, 0,1 mL de réactif chlorure d'aluminium (AlCl_3) et 0,1 mL de solution d'acétate de sodium.
- Le volume final a été ajusté à 2,8 mL avec de l'eau distillée.
- Agiter et laisser le mélange réagir pendant 30 min à l'obscurité totale.
- Lire les densités optiques à 430 nm contre le blanc.

Calcul de la concentration

La teneur en flavonoïdes a été calculée en utilisant la courbe d'étalonnage de la quercétine réalisée dans les mêmes conditions (Figure B, Annexe 3). Les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalents de la quercétine/g d'extrait (mg EQ /mg d'extrait).

4.2.1.4 Dosage des tannins

Principe

Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode colorimétrique citée par Julkunen Titto (1985), qui est basée sur l'utilisation de la vanilline avec l'HCl. Sous l'effet de la vanilline, ces tanins se transforment en anthocyanidols de couleur rouge spécifique.

Mode opératoire

- 1 mL d'extrait a été ajouté à 5 mL de réactif d'analyse 1 % de vanilline
- Ajouter 5 mL d'une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 4 %.
- Mélanger et laisser agir pendant 20 min dans l'obscurité.
- Lire les densités optiques à 500 nm contre le blanc.

Calcul de la concentration

La teneur en tannins a été calculée en utilisant la courbe d'étalonnage de la catéchine réalisée dans les mêmes conditions (Figure C, Annexe 3). Les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalents de la catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g de l'extrait).

4.2.1.5 Conditions d'analyse par l'HPLC

L'analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance de l'extrait éthanolique de la résine de Boswellie a été réalisée en utilisant Agilent série 1260 (Waldbronn, Allemagne). L'HPLC système est équipé d'un détecteur à barrette de diodes (DAD). La séparation chromatographique a été effectuée sur une particule de 5 μm colonne C18 en phase inverse (250 \times 4,6 mm) -ACE Generix 5® en utilisant une phase mobile. Cette dernière est composée de solvant A : 85% (eau + 0,1 % d'acide

phosphorique) et solvant B : 17% (100 % Acétonitrile). L'élution est réalisée à un débit constant de 1 mL/min. Le volume d'injection était de 10 µL à 25 °C. Les longueurs d'onde utilisées sont 200 et 300 nm.

4.2.2 Dosage des paramètres hématologiques

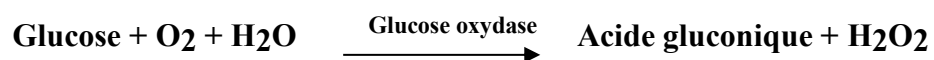
Le sang recueilli dans les tubes EDTA a permis de déterminer l'hémogramme le même jour en utilisant un analyseur (Beckmann Coulter SW 147, USA, Miami, FL). Les tubes à EDTA contenant le sang total ont été placés sur le portoir à tubes et le contenu de chaque tube est analysé. Les résultats s'affichent automatiquement sur l'écran et sont ensuite imprimés. Les paramètres mesurés sont : globule rouge (GR), globule blanc (GB), hémoglobine (Hb), hématocrite (HT), plaquettes (PLT), volume globulaire moyen des hématies (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

4.2.3 Dosage des paramètres biochimiques

Le dosage des paramètres biochimiques (hépatiques, pancréatiques et rénales) est réalisé par des kits fournis par Roche Diagnostic GmbH, Allemagne.

4.2.3.1 Dosage du glucose

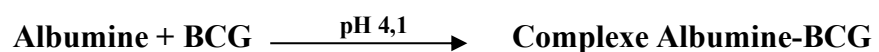
La mesure de la glycémie est réalisée chaque semaine pendant quatre semaines à l'aide d'un glucomètre (ACCU-CHEK Roche) qui utilise des bandelettes réactives. Le glucose présent dans l'échantillon réagit avec les réactifs présents sur la bandelette. Par une réaction d'oxydation catalysée par la glucose-oxydase, le glucose est transformé en acide gluconique avec libération d'eau oxygénée (Trinder, 1996).



4.2.3.2 Dosage des paramètres hépatiques

a/ Dosage de l'albumine

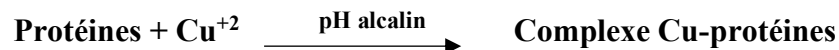
À un pH de 4,1, l'albumine présente un caractère suffisamment cationique pour se combiner avec le vert de bromocrésol (BCG) sous forme d'anion pour former un complexe bleu-vert.



L'intensité de la couleur du complexe bleu-vert développée est directement proportionnelle à la concentration en albumine. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 583 nm (Webster, 1974).

b/ Dosage des protéines totales

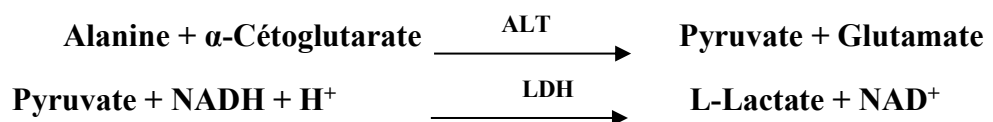
Les ions cuivriques réagissent en solution alcaline avec les liaisons peptidiques des protéines avec formation d'un complexe violet caractéristique. Le tartate de potassium et de sodium empêchent la précipitation de l'hydroxyde de cuivre, l'iodure de potassium empêche l'auto-réduction du cuivre.



L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration en protéines. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 552 nm (Burtis *et al.*, 1999).

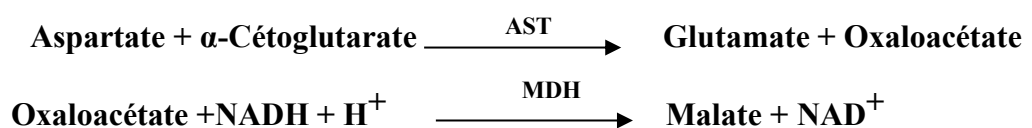
c/ Dosage de l'alanine aminotransférase (ALT)

L'alanine aminotransférase (ALT) catalyse la réaction entre la L-alanine et le α -cétoglutarate. Le pyruvate formé est réduit par le NADH dans une réaction catalysée par le lactate déshydrogénase (LDH) pour former du L-lactate et du NAD⁺. Le taux d'oxydation du NADH est directement proportionnel à l'activité catalytique de l'ALT. Elle est déterminée en mesurant la diminution de l'absorbance à 340 nm (Murray et Kaplan, 1984^a).



d/ Dosage de l'aspartate aminotransférase (AST)

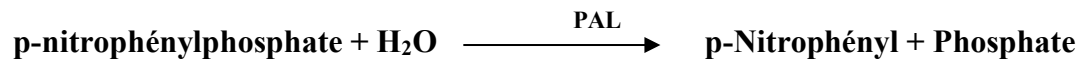
L'aspartate aminotransférase (AST) catalyse la réaction entre le L-aspartate et le α -cétoglutarate. L'oxaloacétate formé est réduit par le NADH dans une réaction catalysée par la malate déshydrogénase (MDH) pour former le L-malate et le NAD. La vitesse d'oxydation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'AST (Murray et Kaplan, 1984^b).



La vitesse d'oxydation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'AST. Elle est déterminée en mesurant la diminution de l'absorbance à 340 nm (Murray et Kaplan, 1984^b).

e/ Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)

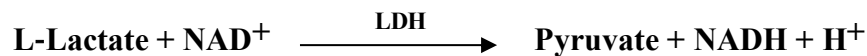
En présence d'ions Mg^{2+} et Zn^{2+} , le p-nitrophényl phosphate est scindé par les phosphatases alcalines en phosphate et p-nitrophénol.



La quantité de p-nitrophénol libérée est proportionnelle à l'activité de l'ALP. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 409 nm (Rosalki *et al.*, 1993).

f/ Dosage de lactate déshydrogénase (LDH)

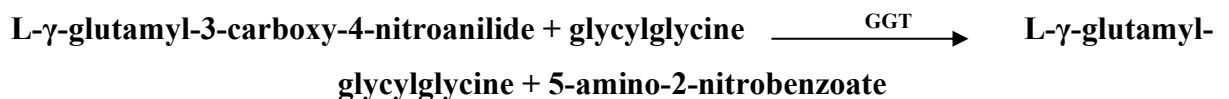
La lactate déshydrogénase catalyse la conversion du L-lactate en pyruvate; le NAD est réduit en NADH dans le processus : (Pesce, 1984).



Le taux de formation de NADH est directement proportionnel à l'activité catalytique de LDH. Elle est déterminée en mesurant spectrophotométriquement l'augmentation de l'absorbance à 340 nm (Pesce, 1984).

g/ Dosage de la γ -glutamyltransférase (GGT)

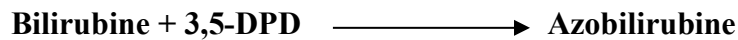
La γ -glutamyltransférase transfère le groupe γ -glutamyl du L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide à la glycyglycine (Persijn et Van, 1976 ; Szasz, 1974).



La quantité de 5-amino-2-nitrobenzoate libérée est proportionnelle à l'activité GGT dans l'échantillon. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance par photométrie à 405 nm (Persijn et Van, 1976 ; Szasz, 1974).

h/ Dosage de la bilirubine totale

La bilirubine réagit directement avec le sel de dichloro-3,5 phényldiazonium (3,5-DPD) dans un tampon acide pour former l'azobilirubine de couleur rouge.



L'intensité de la coloration rouge développée est directement proportionnelle à la concentration en bilirubine directe (conjuguée) et est mesurée par photométrie à 550 nm (Kaplan *et al.*, 1984^a).

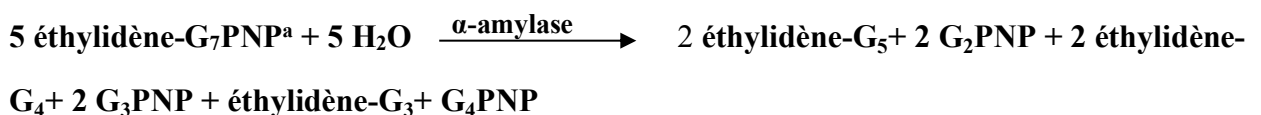
4.2.3.3 Dosage des paramètres pancréatiques

a/ Dosage de l'insuline

Le niveau d'insuline plasmatique a été mesuré à l'aide du kit Insuline ELISA. Le kit Insuline ELISA est un dosage immuno-enzymatique en phase solide basé sur le principe du sandwich. Les puits de microtitrage sont recouverts d'un anticorps monoclonal dirigé vers un site antigénique unique sur la molécule d'insuline. Une aliquote de l'échantillon contenant de l'insuline endogène est incubée dans le puits recouvert d'un conjugué enzymatique, qui est un anticorps anti-insuline conjugué à la biotine. Après incubation, le conjugué non lié est lavé. Au cours de la deuxième étape d'incubation, le complexe enzymatique streptavidine peroxydase se lie à l'anticorps biotine-anti-insuline. La quantité de complexe anticorps biotine-anti-insuline lié est proportionnelle à la concentration d'insuline dans l'échantillon. Après avoir ajouté la solution de substrat, l'intensité de la couleur développée est proportionnelle à la concentration d'insuline dans l'échantillon (Engvall et Perlmann, 1971).

b/ Dosage de l' α -amylase

Pour le dosage de l' α -amylase, le réactif COBAS Integra 400-Plus utilise un oligosaccharide bien défini. L'éthylidène-G₇PNP est dégradé sous l'action catalytique de α -amylase. Les fragments G₂PNP, G₃PNP et G₄PNP ainsi formés sont complètement hydrolysés en p-nitrophénol et glucose par la α -glucosidase (Winn-Deen *et al.*, 1988).



a) PNP = p-nitrophénol

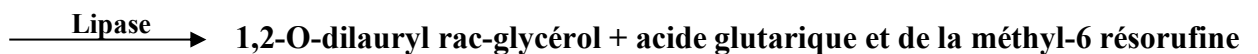
b) G= glucose

L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à l'activité de l' α -amylase. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 409 nm (Kurrle-Weitenhiller *et al.*, 1996 ; Lorentz, 1998).

c/ Dosage de la lipase

Le substrat chromogène de la lipase, l'ester de 1,2-O-dilauryl-rac-glycéro-3-acide glutarique et de la méthyl-6 résorufine est scindé en solution alcaline, sous l'action catalytique de la lipase en 1,2-O-dilauryl-rac-glycérol et en un produit intermédiaire instable, le monoester de l'acide glutarique et de la méthyl-6 résorufine. Ce monoester est décomposé spontanément en solution alcaline en acide glutarique et méthyl-6 résorufine. L'addition de détergent et de colipase augmente la spécificité du dosage pour la lipase pancréatique. En l'absence de colipase, on ne détermine pratiquement pas d'activité de la lipase. La colipase active uniquement la lipase pancréatique; les autres enzymes lipolytiques contenues dans le sérum ne sont pas activées (Neumann et al.1987).

Ester de 1,2-O-dilauryl-rac-glycéro-3-acide glutarique et de la méthyl-6 résorufine

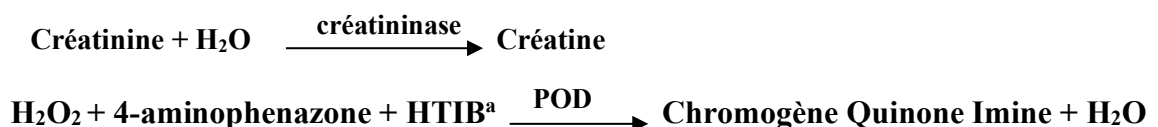


L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à l'activité de lipase. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 583 nm (Steinberg *et al.*, 1985 ; Leybold et Junge, 1998).

4.2.3.4 Dosage des paramètres rénaux

a/ Dosage de la créatinine

La méthode enzymatique est basée sur la détermination établie du peroxyde d'hydrogène après conversion de la créatinine à l'aide de la créatininase et de la sarcosine oxydase. Le peroxyde d'hydrogène libéré réagit avec la 4-aminophénazone et le HTIB pour former un chromogène quinone imine (Junge et al., 2004).



^{a)}HTIB = Acide 2,4,6-triiodo-3-hydroxybenzoïque

POD = peroxydase

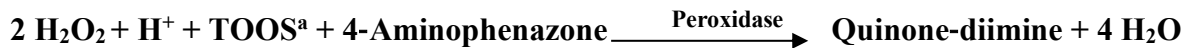
L'intensité de la couleur du chromogène quinone imine formé est directement proportionnelle à la concentration en créatinine et est mesurée par photométrie à 490 nm (Junge *et al.*, 2004).

b/ Dosage de l'acide urique

L'uricase clive l'acide urique pour former de l'allantoïne et du peroxyde d'hydrogène.



En présence de peroxydase, la 4-aminophénazone est oxydée par le peroxyde d'hydrogène en quinone-diimine.

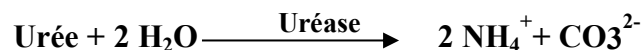


a) TOOS = N-éthyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-méthylaniline

L'intensité de la couleur de la quinone-diimine formée est directement proportionnelle à la concentration en acide urique et est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 505 (Schultz, 1984).

c/ Dosage de l'urée

L'urée est hydrolysée par l'uréase pour former de l'ammonium et du carbonate.



Dans la seconde réaction, le 2-oxoglutarate réagit avec l'ammonium en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH) et de la coenzyme NADH pour produire du L-glutamate. Dans cette réaction deux moles de NADH sont oxydées en NAD⁺ pour chaque mole d'urée hydrolysée.

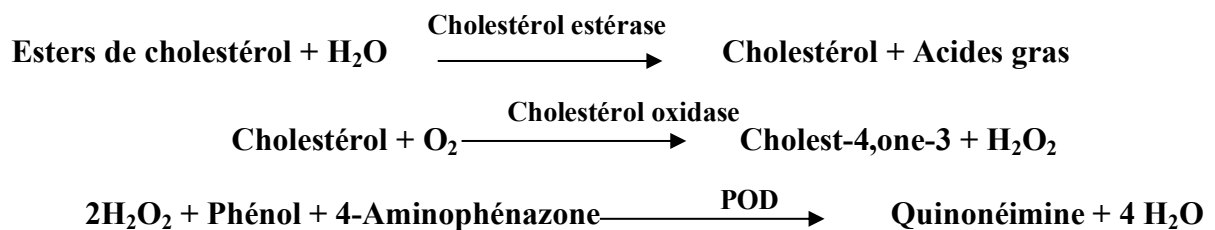


Le taux de diminution de la concentration de NADH est directement proportionnel à la concentration d'urée dans l'échantillon et elle est déterminée en mesurant l'absorbance à 340 nm (Tiffany *et al.*, 1972 ; Sampson *et al.*, 1980).

4.2.3.5 Dosage des paramètres lipidiques

a/ Dosage du cholestérol total

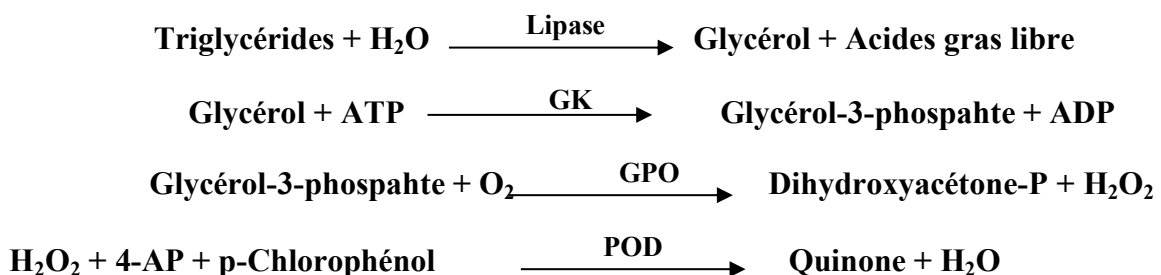
La cholestérol estérase hydrolyse des esters de cholestérol pour former du cholestérol et des acides gras. La cholestérol oxydase catalyse l'oxydation du cholestérol pour former le Cholest-4,one-3 et H₂O₂. En présence de peroxydase, le peroxyde d'hydrogène formé influence le couplage oxydatif de phénol et de 4-Aminophénazone pour former un colorant de couleur rouge-imine.



L'intensité de la couleur du colorant rouge quinonéimine formé est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol. Il est déterminé en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 512 nm (Naito et Kaplan, 1984).

b/ Dosage des triglycérides

La méthode colorimétrique enzymatique utilise une lipoprotéine lipase pour l'hydrolyse rapide et complète des triglycérides au glycérol suivi d'oxydation au phosphate dihydroxyacétone et au peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène produit réagit avec 4-aminophénazone et 4-chlorophénol sous l'action catalytique de la peroxydase pour former un colorant rouge.

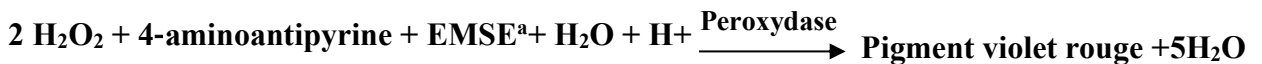
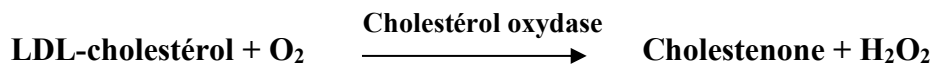


GK = glycérol kinase, GPO = glycérol phosphate oxydase, POD= peroxydase

L'intensité de couleur du colorant rouge formé est directement proportionnelle à la concentration de triglycérides et peut être mesurée photométriquement à 500 nm (Bucolo et David, 1973).

c/ Dosage de LDL

Les esters de cholestérol et le cholestérol libre dans LDL sont mesurés sur la base d'une méthode enzymatique de cholestérol utilisant l'estérase de cholestérol et le cholestérol oxydase en présence de tensioactifs qui solubilisent sélectivement uniquement les LDL. En présence de peroxydase, le peroxyde d'hydrogène généré réagit avec 4-aminoantipyrine et N-éthyl-N-(3-méthylphényl)-N-succinyléthylenediamine pour former un colorant violet rouge.

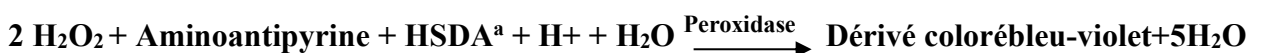
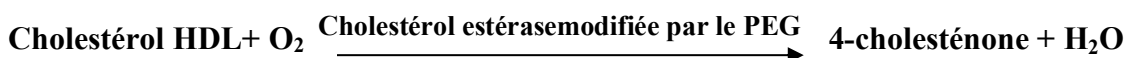
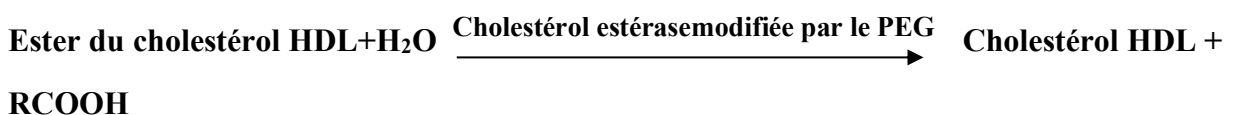


a) N-éthyl-N-(3-méthylphényl)-N-succinyléthylenediamine.

L'intensité de la couleur de ce colorant est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol et elle est mesurée photométriquement à 500 nm (Cohn *et al*., 1988).

d/ Dosage du HDL

La concentration en cholestérol HDL est déterminée par voie enzymatique à l'aide de cholestérol estérase et de cholestérol oxydase. Sous l'action de la cholestérol estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras. Dans une réaction ultérieure catalysée par le cholestérol oxydase modifiée par le PEG, le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en 4-cholesténone avec formation d'eau oxygénée.



a) Sodium N-(hydroxy-2 sulfo-3 propyl) diméthoxy-3,5 aniline, PEG = polyéthylène glycol

L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol HDL. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 583 nm (Sugiuchi *et al.*, 1995 ; Matsuzaki *et al.*, 1996).

4.2.4 Dosage des paramètres du stress oxydant

4.2.4.1 Dosage du glutathion (GSH)

Principe: le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de Weckbecker et Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

Préparation de l'homogénat : le dosage du glutathion a été fait au niveau du foie, des reins, du pancréas, de la rate et du cœur. 200 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 8 mL d'une solution d'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) à 0,02 M, puis ont été broyés à froid (4 °C) pendant 30 secondes en utilisant un broyeur ultra son pour obtenir un homogénat.

Mode opératoire

- Prélever 0,8 mL de l'homogénat.
- Déprotéiniser en ajoutant 0,2 mL d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25 %.
- Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- Prélever 0,5 mL du surnagent.
- Ajouter 1 mL du tampon Tris (0,4 M) + EDTA (0,02 M d'EDTA), pH 9,6.
- Mélanger et ajouter 0,025 mL de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
- Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

Calcul de la concentration : la concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$[\text{GSH}] (\mu\text{M GSH/mg protéines}) = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéines}}$$

Sachant que :

- DO: Densité optique.
- 1: Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 mL homogénat + 0.2 mL de l'acide salicylique).
- 1.525: Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 mL surnageant +1 mL Tris + 0.025 mL DTNB).
- 13100: Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm.
- 0.8: Volume de l'homogénat.
- 0.5: Volume du surnageant.

4.2.4.2 Dosage du malondialdéhyde (MDA)

✚ **Principe :** le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiée par les radicaux libres. Dans notre étude, les taux de MDA hépatique et rénal ont été évalués selon la méthode d'Ohkawa *et al.* (1979). Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100 °C) entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

✚ **Préparation de l'homogénat :** le dosage du MDA a été fait au niveau du foie, des reins, du pancréas, et du cœur. 500 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 5 mL d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

✚ **Mode opératoire**

- Prélever 0,5 mL de l'homogénat.
- Ajouter 0,5 mL de l'acide trichloracétique (TCA) 20 %.
- Ajouter 1 mL de l'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %.
- Mélanger et incubé au bain marie à une température de 100 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et additionner 4 mL de *n*-butanol.
- Centrifuger pendant 15 minutes à 3000 tours/min.

- Récupérer le surnageant et lire la densité optique à 530 nm contre le blanc.

✚ **Calcul de la concentration du MDA :** la quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nM/gramme de tissu (foie ou reins). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1',3,3'-tétraéthoxypropane faite dans les mêmes conditions (Figure D, Annexe 3).

4.2.4.3 Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

✚ **Principe :** la méthode utilisée dans le dosage de l'activité enzymatique de la CAT est celle d'Aebi (1984). 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 H₂O₂ à une température d'incubation de 25 °C.

✚ **Préparation de l'homogénat :** le dosage de l'activité enzymatique de la CAT a été fait au niveau du foie, du pancréas et des reins. 500 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 5 mL d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat, ce dernier est centrifugé à 5000 tours/min pendant 15 minutes.

✚ Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
Tampon phosphate (0,1 M) pH 7,5	800	780
H ₂ O 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.

✚ **Calcul de l'activité enzymatique de la CAT :** l'activité enzymatique de la CAT est calculée par la formule suivante :

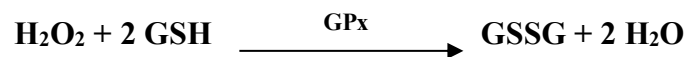
$$\text{Activité de la CAT } (\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{min/mg protéines}) = \frac{\Delta\text{DO} \times 10}{\varepsilon \times L \times X \times \text{Fd}}$$

Sachant que :

- 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 ou longueur du trajet optique (1 cm).
- X : Quantité des protéines en mg/mL.
- Fd : Facteur de dilution du H_2O_2 dans le tampon (0,02).

4.2.4.4 Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)

✚ **Principe :** l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohé et Günzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



✚ **Préparation de l'homogénat :** le dosage de la glutathion peroxydase a été fait au niveau du foie, du pancréas, et des reins. 500 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 5 mL d'une solution TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4), puis ont été broyés à froid (4°C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

✚ **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 H_2O_2 (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.

 **Calcul de l'activité enzymatique de la GPx:** la détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante :


$$Q = \frac{(\text{DO Echantillon} - \text{DO Etalon}) \times 0.04}{\text{DO Etalon}}$$


Sachant que:

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

$$\text{Activité de la GPx } (\mu\text{M GSH/min/mg protéines}) = \frac{Q}{\text{mg protéines}}$$

4.2.4.5 Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST)

 **Principe :** la mesure de l'activité des GSTs a été réalisée par la méthode de Habig *et al.* (1974), celle-ci consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du 1-chloro,2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui 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 qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

 **Mode opératoire :** la méthode utilisée dans cette étude consiste à faire agir les GSTs contenues dans l'homogénat sur un mélange (GSH + CDBN) 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

✚ **Calcul de l'activité enzymatique de la GST :** l'activité enzymatique de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GST (nM GSH-CDNB/min/mg protéines)} = \frac{(\text{DO Echantillon/min} - \text{DO Blanc/min})}{9,6 \times \text{mg protéines}}$$

Sachant que :

- DO Echantillon/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 $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

NB : On note que le dosage de plusieurs paramètres est mesuré par rapport à 1 mg de protéines. C'est pour cela le dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

4.2.4.6 Dosage des protéines

✚ **Principe :** la concentration de protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines ($-\text{NH}_2$) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. L'apparition de la couleur bleue 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 du réactif de Bradford.
- Agiter et laisser reposer 5 min.
- Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc.

✚ **Calcul de la concentration des protéines :** la densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1 mg/mL) réalisée dans les mêmes conditions (Figure E, Annexe 3).

4.2.5 Étude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées à l'hôpital Ibn Rochd, Annaba (Algérie), au niveau du service d'Anatomie Pathologique, suivant la technique décrite par Houlot (1984) dont elle comporte les étapes suivantes :

✚ **Fixation des échantillons :** le foie, le pancréas et les reins prélevés, ont été fixés dans une solution de formol à 10%. Les échantillons sont placés dans des cassettes spéciales à parois trouées afin de permettre le passage des liquides.

✚ **Déshydratation des échantillons :** le but de cette technique est d'éliminer l'eau contenue dans les organes. La déshydratation se fait grâce à un automate qui fait immerger les échantillons dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70 %, 95 % et 100 %), puis dans des bains de xylène qui constitue un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. Ensuite, le xylène s'évapore des pièces anatomiques dans l'étuve.

✚ **Inclusion des échantillons (l'enrobage) :** elle a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Les pièces anatomiques sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide, puis on procède à l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. Le passage du bloc de paraffine dans un microtome permet de réaliser des tranches de section de 5 µm d'épaisseur disposées en série régulières sous forme de rubans. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre.

✚ **La coloration :** pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine). L'échantillon est déparaffiné et réhydraté au préalable afin de permettre aux colorants polaires d'imprégner les tissus. Ainsi, les différents colorants peuvent entrer en contact avec les éléments à colorer en fonction de leur affinité. Une fois la coloration effectuée, la lame est rincée et déshydratée pour le montage. Les préparations ensuite ont été séchées puis observées au microscope optique et photographiées à l'aide d'un appareil photo.

4.2.6 Etude statistique

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 *Tukey*. Les résultats sont exprimés par la moyenne \pm SEM. Les différences ont été considérées significatives à $P < 0,05$.

Chapitre 5 : Résultats

5.1 Etude phytochimique

5.1.1 Rendement d'extraction

L'extrait éthanolique a été préparé à partir de la poudre de la gomme-oléorésine de Boswellie dont le rendement est présenté dans le tableau 5.

Tableau 5 : Le rendement d'extrait éthanolique de la gomme-oléorésine de Boswellie. Les résultats représentent la moyenne de trois répétitions.

Résine de Boswellie	Poids du matériel végétal (g)	Poids d'extrait sec (g)	Rendement (%)
	100	28	28 ± 0,18

Le rendement exprimé en pourcentage a été déterminé par rapport à 100g de la poudre fine de la résine de Boswellie. Selon le tableau 5, la résine de Boswellie a donné une masse en extrait sec éthanolique égale à 28 g correspondant à un rendement de 28,0 %.

5.1.2 Analyse quantitative

5.1.2.1 Teneur en polyphénols totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux de l'extrait éthanolique de la résine de Boswellie a été déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage dressée à partir d'une gamme de solutions standard d'acide gallique à différentes concentrations (Figure A, Annexe 3). La quantité des phénols totaux dans l'extrait est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par 1 gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 6. Les résultats de dosage des polyphénols révèlent que l'extrait contient $32,08 \pm 0,39$ mg EAG/g d'extrait.

5.1.2.2 Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). La quantité de flavonoïdes dans l'extrait a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage en utilisant à différentes concentrations la quercétine comme un standard (Figure B, Annexe 3). La teneur en flavonoïdes (Tableau 6) est exprimée en milligramme équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait). Les résultats obtenus montrent que l'extrait renferme une quantité de flavonoïdes égale à $11,9 \pm 0,52$ mg EQ/g d'extrait.

5.1.2.3 Dosage des tanins

Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode spectrophotométrique de la vanilline et l'étalon utilisé été la catéchine. La teneur des tanins est exprimée en milligramme d'équivalents de catéchine par 1 gramme d'extrait (mg EC/g de l'extrait). Le taux des tanins de l'extrait a été obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage à différentes concentrations (Figure C, Annexe 3). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 6. La teneur en tanins montre que l'extrait éthanolique contient $1,31 \pm 0,02$ mg EC/g d'extrait.

Tableau 6 : Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins de l'extrait de la gomme-oléorésine de Boswellie. Les résultats représentent la moyenne de trois répétitions

Paramètres	Teneur en polyphénols (mg EAG/g E)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g E)	Teneur en tannins (mg EC/ g E)
Valeurs	$32,08 \pm 0,39$	$11,9 \pm 0,52$	$1,31 \pm 0,02$

5.1.3 Analyse quantitative et qualitative de l'extrait de la résine de Boswellie par HPLC/DAD

La fraction d'extrait de la résine de Boswellie a été analysée par HPLC afin d'identifier sa composition chimique. L'identification des différents pics a été basée sur leurs temps de rétention en HPLC par rapport à certains standards d'acides phénoliques et de flavonoïdes. L'analyse HPLC de l'extrait de résine de Boswellie a révélé la présence de différents polyphénols qui sont les suivants : catéchine, épicatechine, acide gallique, acide caféique, acide sinapique et acide vanillique. Ainsi que la présence de flavonoïdes connus tels que : kaempférol, naringénine et rutine (Tableau 7 et Figure 22).

Tableau 7 : Analyse chromatographique par HPLC/DAD de l'extrait éthanolique de la gomme-oléorésine de Boswellie

Composé	Temps de Rétention (min)	Quantité en $\mu\text{g/g}$ de poids sec
Acide tartrique	1,62	207,27
Acide fumarique	1,81	27,35
Acide maléique	1,79	1,24
Acide ascorbique	1,88	302,65
Acide shikimique	1,85	39,78
Acide succinique	1,82	54,28
Acide citrique	1,79	90,12
Acide barbiturique	1,84	ND

Acide gallique	2,61	110,30
Galantamine	11,79	0,49
Acide salicylique	12,35	39,23
Acide chlorogénique	13,21	46,97
Acide vanillique	13,59	173,97
Acide caféique	13,98	35,38
4-hydroxybenzaldéhyde	13,98	5,18
Acide syringique	14,09	113,94
Épicatéchine	14,48	352,61
Catéchine	14,37	81,05
Acide carminique	15,07	35,82
Acide chicorique	15,04	40,43
Acide coumarique	15,91	155,38
Rutine	16,29	101,41
Acide trans- férulique	16,70	181,12
Acide sinapique	16,95	182,71
Cynaroside	16,73	21,84
Acide 4-hydroxybenzoïque	17,39	86,62
Apigetrin	18,10	371,78
Acide rosmarinique	18,02	267,83
Acide gentsique	18,32	112,22
Acide o-coumarique	18,32	4,52
Acide protocatéchique	18,68	61,40
Oleuropein	18,57	20,65
Acide Ellagique	21,29	97,81
Oleuropéine	21,02	17,49
Acide trans-cinnamique	21,55	113,05
Naringénine	23,12	7,91
Apigénine	22,84	30,99
Kaempférol	23,39	75,82
Curcumine	30,38	29,16

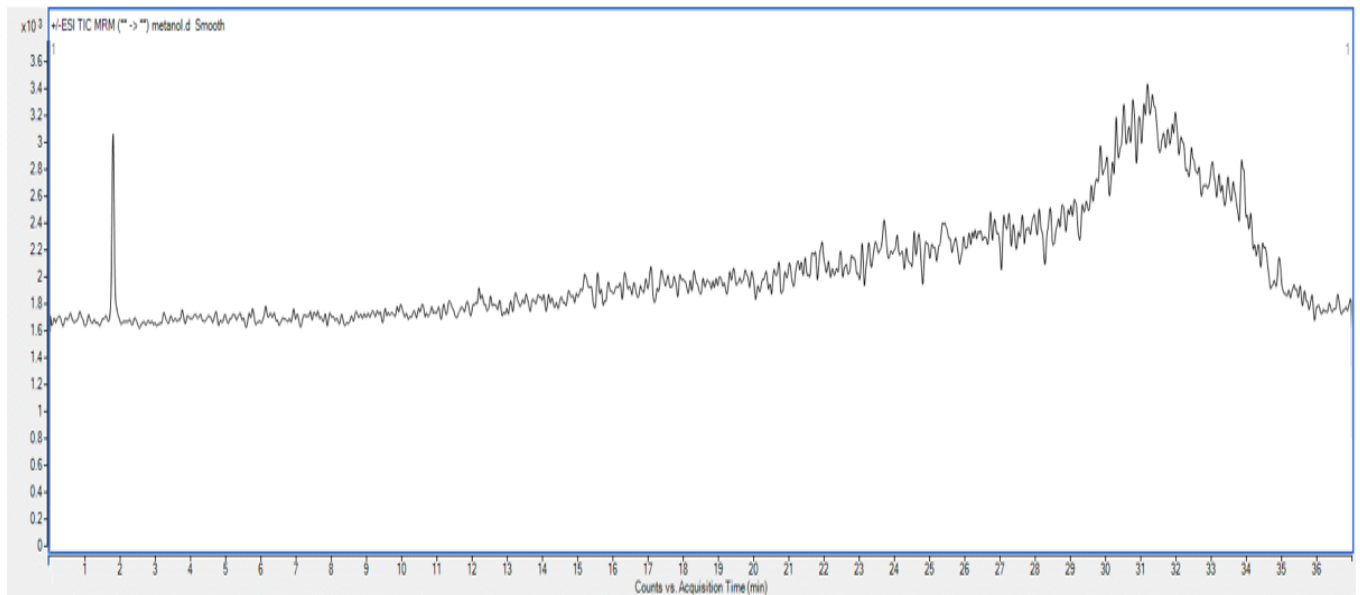


Figure 22 : Chromatogramme de l'analyse HPLC de l'extrait éthanolique de la résine de Boswellie

5.2 Étude pondérale

Les résultats et leurs discussions qui vont être exposés concernant l'expérimentation animale portent sur les variations significatives qui touchent les groupes (D-0) et (D-BSGR). Néanmoins, le groupe (ND-BSGR) n'a représenté aucun résultat significatif par rapport au témoin (ND-0) pour tous les paramètres étudiés. Ceci montre bien que la résine de Boswellie est non toxique, non néfaste pour la physiologie animale des rats.

5.2.1 Effet du traitement sur la croissance corporelle

Le tableau 8 et la figure 23 représentent les variations du poids corporel des différents groupes. Les résultats obtenus montrent une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de poids corporel et une perte de poids (-78 g) chez les rats diabétiques non traités par rapport au groupe témoin (ND-0). En revanche, l'ajout de 2 % de la poudre de résine de Boswellie dans le régime alimentaire des rats a amélioré significativement ($p < 0,01$) la croissance pondérale en comparaison avec le groupe diabétique non traité (D-0).

5.2.2 Effet du traitement sur les rapports organo-somatiques

La variation des rapports organo-somatiques (foie, pancréas et reins) chez les rats normaux, les rats rendus diabétiques par STZ et les rats traités par BSGR ; est illustrée dans le tableau 8.

Les résultats obtenus révèlent une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) des rapports hépto- et réno-somatiques chez le groupe (D-0) comparant au groupe témoin (ND-0).

Cependant, aucune différence significative n'a été observée dans les rapports organo-somatiques (foie, pancréas et reins) chez le groupe traité par la résine de Boswellie(D-BSGR) par rapport au groupe diabétique non traité (D-0).

Tableau 8 : Variation des poids corporels (g) et des rapports organo-somatiques (%) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10).

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Poids initial (g)	244 \pm 4,88	248 \pm 4,68	255 \pm 2,96	258 \pm 2,3
Poids final (g)	279 \pm 2,53	272 \pm 3,46	177 \pm 3,2 ^{***}	205 \pm 8,13 ^{***,##}
Variation du poids (g)	+35	+24	-78	-53
Rapport hépato-somatique (%)	3,00 \pm 0,06	3,04 \pm 0,08	4,27 \pm 0,13 ^{***}	4,18 \pm 0,14 ^{***}
Rapport Réno-somatique (%)	0,59 \pm 0,001	0,59 \pm 0,03	0,79 \pm 0,03 ^{***}	0,84 \pm 0,01 ^{***}
Rapport pancreas-somatique (%)	0,53 \pm 0,02	0,54 \pm 0,02	0,50 \pm 0,02	0,56 \pm 0,03

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$

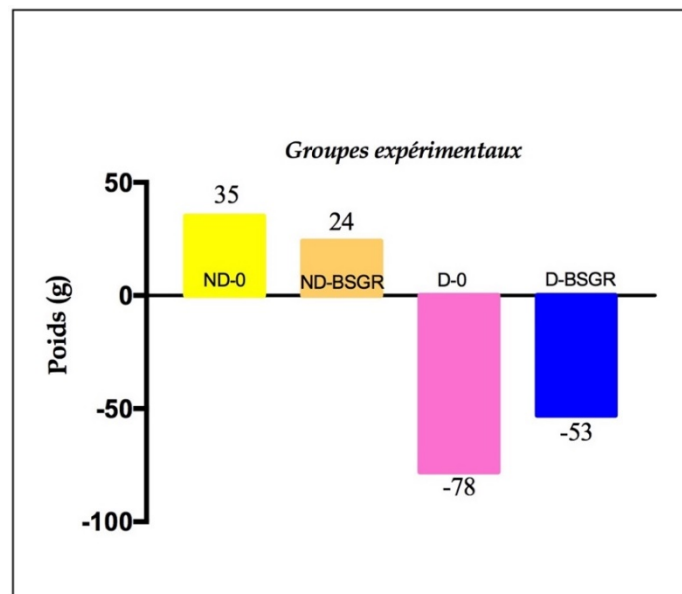


Figure 23 : Variation du gain du poids corporel chez les groupes expérimentaux à la fin de traitement

5.3 Etude hématologique

Les résultats des paramètres hématologiques sont présentés dans le tableau 9 et la figure 24. L'analyse des résultats montrent que l'induction du diabète par la STZ provoque une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) des globules blancs, de l'hémoglobine, de l'hématocrite et de CCMH et une diminution significative ($p < 0,05$) des globules rouges, des plaquettes et du volume globulaire moyen comparant au groupe témoin (ND-0). Par contre, l'administration de la poudre de résine chez les rats diabétiques (D-BSGR) pendant quatre semaines a rétabli significativement ($p < 0,05$) les paramètres hématologiques étudiés par rapport au groupe diabétique non traité (D-0).

Tableau 9 : Variation de quelques paramètres hématologiques chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Globules blancs (GB)(x10³/μL)	8,55±0,2	8,2±0,1	6,54±0,3***	7,41±0,2**,#
Globules rouges (GR)(x10⁶/μL)	7,99±0,03	7,71±0,11	7,33±0,22*	7,94±0,11 [#]
Taux d'hémoglobine (Hb) (g/dL)	15,65±0,26	15,03±0,17	13,78±0,19***	14,77±0,35 [#]
Taux d'hématocrite (HCT) (%)	45,68±0,51	41,04±0,61	39,01±0,76***	41,78±0,59***, [#]
Plaquettes (PLQ)(10³/μL)	532±25,7	516±31,1	358±44,9*	525±51,3 [#]
CCMH (pg)	36,03±0,21	36,88±0,19*	34,34±0,16***	35,88±0,2 ^{###}
VGM (fL)	52,96±0,52	52,03±0,68	50,4±0,33*	52,93±0,86 [#]

Différence significative comparant au groupe (ND-0): *p≤0,05 ; **p≤0,01 ; ***p≤0,001

Différence significative comparant au groupe (D-0): [#]p≤0,05; ^{###}p≤0,001

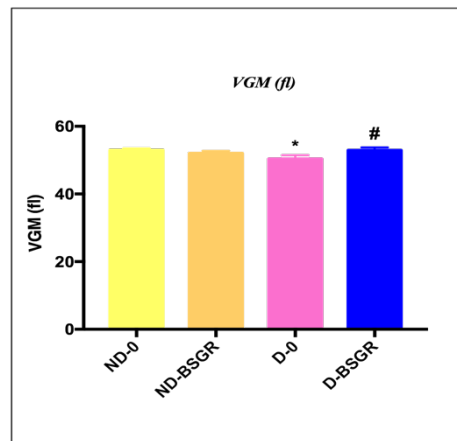
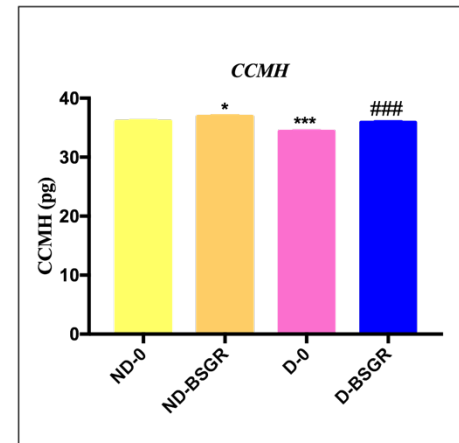
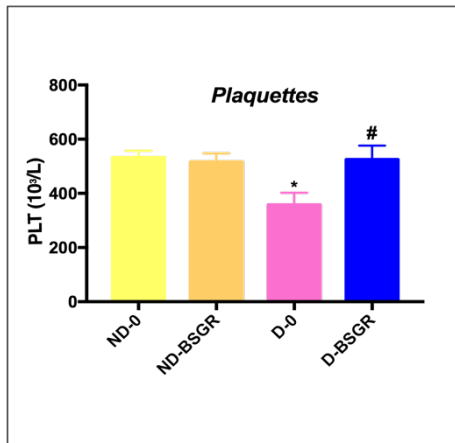
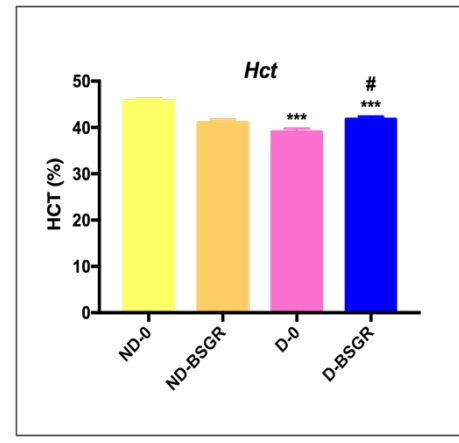
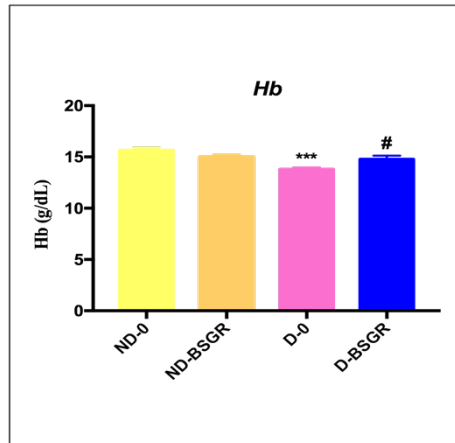
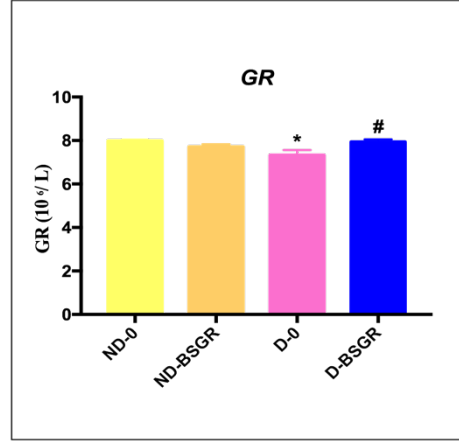
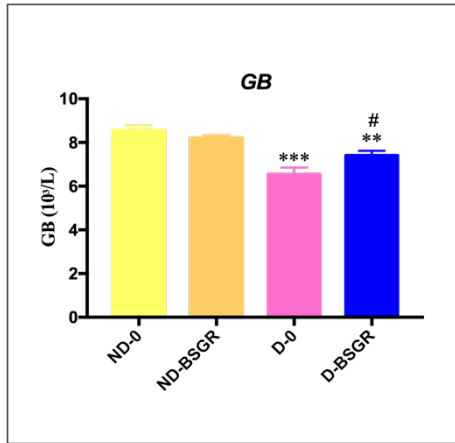


Figure 24 : Variation des globules rouges ($\times 10^6/\mu\text{L}$), des globules blancs ($\times 10^3/\mu\text{L}$), taux d'hémoglobine (g/dL), taux d'hématocrite (%), nombre des plaquettes ($\times 10^3/\mu\text{L}$), CCMH (pg) et VGM (fL) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours du traitement

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ### $p \leq 0,001$

5.4 Etude biochimique

5.4.1 Évolution de la glycémie

Le tableau 10 et la figure 26 illustrent la variation de la glycémie chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie durant les quatre semaines de traitement. L'injection des rats par la STZ à raison de 60 mg/kg provoque après 72 h (J0) de son administration une hyperglycémie très hautement significative ($p < 0,001$) chez les deux groupes de rats rendus diabétiques (non traité et traité) par rapport aux deux groupes de rats sains (ND-0) et (ND-BSGR).

La concentration sérique de glucose a continué d'augmenter d'une manière significative chez le groupe diabétique non traité (D-0) et elle est arrivée à son maximum après la quatrième semaine de l'expérimentation. Par ailleurs, nous avons noté une baisse significative ($p < 0,001$) de la glycémie après le 7^{ème} jour, le 14^{ème}, le 21^{ème} jour du traitement, ainsi qu'une réduction très remarquable de la glycémie (70,1 %) au 28^{ème} jour chez le groupe des rats diabétiques traité (D-BSGR) suite à l'administration de 2 % de la poudre de la résine par rapport au groupe diabétique.

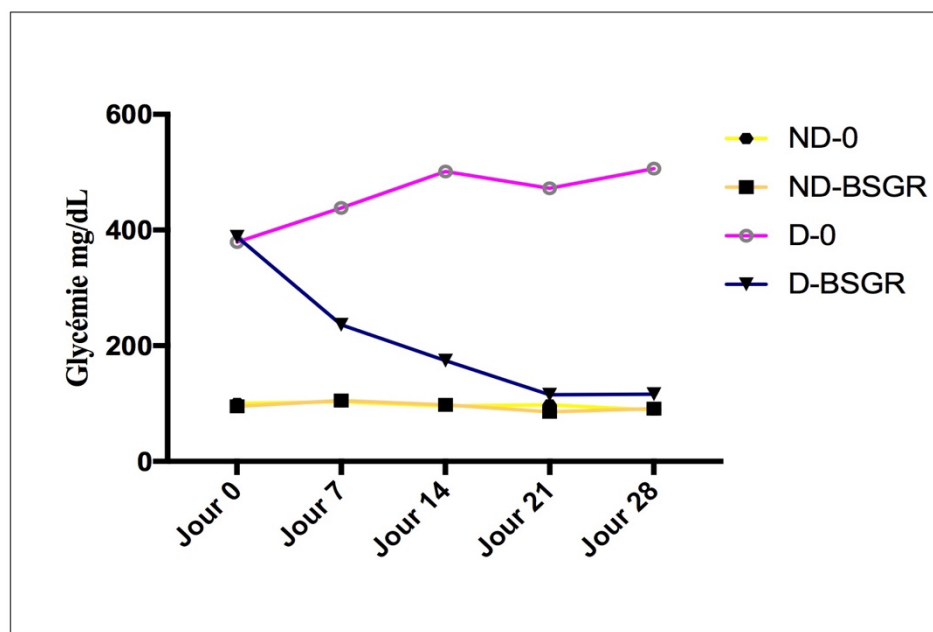


Figure 25 : Variation de la concentration du glucose sanguin (mg/dL) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Différence significative comparant au groupe (ND-0) : *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0) : ### $p \leq 0,001$

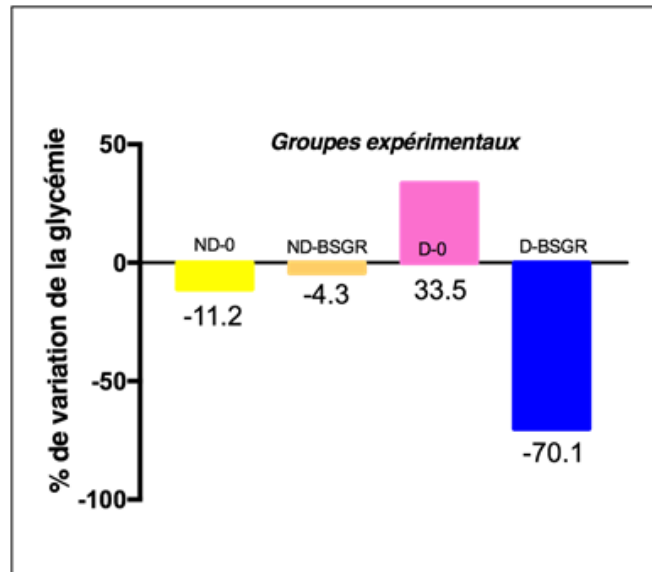


Figure 26 : Variation de la glycémie chez les groupes expérimentaux

Différence significative comparant au groupe (ND-0) : *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0) : ### $p \leq 0,001$

5.4.2 Effet du traitement sur la fonction hépatique

Les résultats du dosage des paramètres représentant la fonction hépatique sont répertoriés au niveau du tableau 10 et présentés dans la figure 27.

5.4.2.1 Effet du traitement sur les concentrations des protéines totales et de l'albumine

Chez le groupe des rats diabétiques nous avons constaté que le diabète a induit une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'albumine et une diminution significative ($p < 0,05$) de la teneur sérique en protéines totales comparant au groupe témoin (ND-0). D'autre part nous avons noté chez les rats diabétiques (D-BSGR) nourris par un régime alimentaire contenant 2 % de résine en poudre, une amélioration significative de la concentration de l'albumine et des protéines totales en comparaison avec les rats diabétiques (D-0) nourris par un régime alimentaire normal.

5.4.2.2 Effet du traitement sur les activités enzymatiques des AST, ALT, PAL et LDH

Nos résultats révèlent une augmentation significative de l'activité enzymatique des transaminases AST ($p < 0,05$), ALT ($p < 0,001$), lactate déshydrogénase ($p < 0,01$) et de la phosphatase alcaline ($p < 0,001$) des rats diabétiques par rapport aux rats témoins (ND-0). Tandis que les rats traités par la résine de Boswellie (D-BSGR) ont montré une réduction très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité de l'ALT et de la PAL et une diminution significative ($p < 0,05$) de l'activité AST et LDH en comparant aux rats diabétiques non traités.

5.4.2.3 Effet du traitement sur la concentration de la bilirubine totale et l'activité enzymatique de la gamma glutamyl-transpeptidase (GGT)

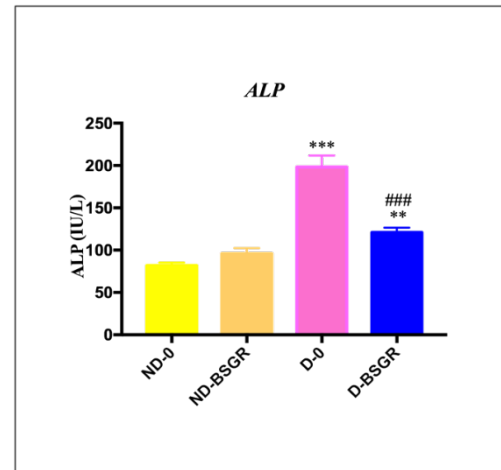
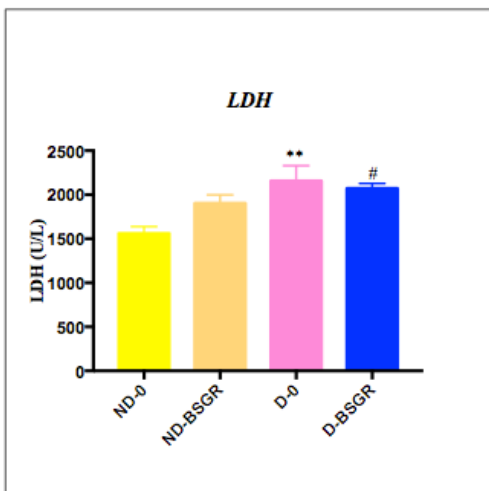
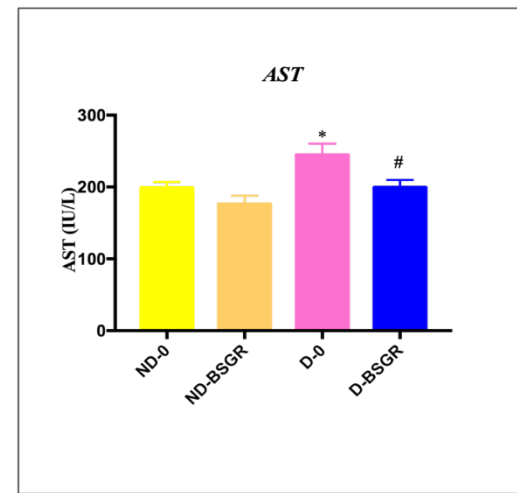
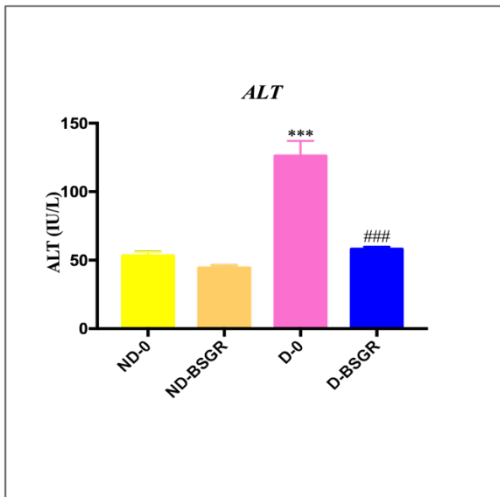
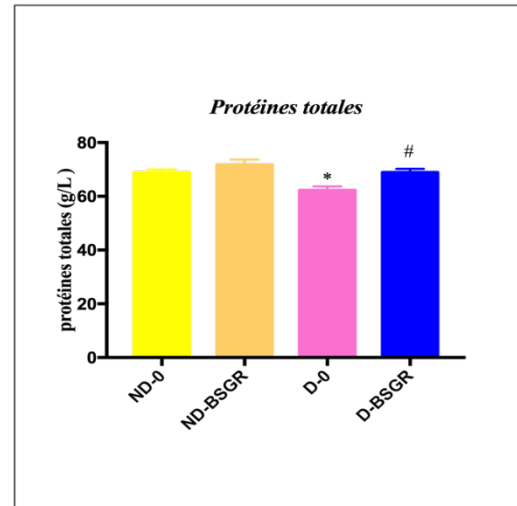
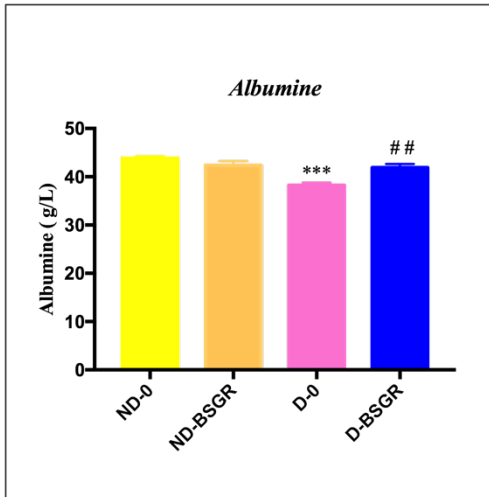
L'induction du diabète chez les rats par la STZ (60 mg/kg du poids corporel) a entraîné une augmentation hautement significative de l'activité de la GGT ($p < 0,01$) et de la concentration sérique de la bilirubine totale ($p < 0,05$) par rapport aux rats témoins (ND-0). Alors que, le traitement par la poudre de résine de Boswellie a réduit significativement les valeurs de ces paramètres en comparant aux rats diabétiques non traités (D-0).

Tableau 10 : Variation des paramètres hépatiques chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Albumine (g/L)	43,80 \pm 0,4	42,4 \pm 0,85	38,21 \pm 0,55 ^{***}	41,9 \pm 0,74 ^{##}
Protéines (g/L)	68,77 \pm 1,2	71,67 \pm 2,02	62,24 \pm 1,43 [*]	68,91 \pm 1,35 [#]
ALT (U/L)	53 \pm 3,11	44,4 \pm 1,93	126 \pm 11 ^{***}	58,1 \pm 1,75 ^{###}
AST (U/L)	199 \pm 7,97	176 \pm 11,8	245 \pm 15,6 [*]	200 \pm 10,3 [#]
ALP (U/L)	81,8 \pm 3,51	95,9 \pm 6,4	198 \pm 13,7 ^{***}	121 \pm 5,72 ^{**###}
LDH (U/L)	1562 \pm 77,3	1902 \pm 97,5	2157 \pm 173 ^{**}	2073 \pm 55,9 [#]
GGT (U/L)	1,47 \pm 0,34	2,14 \pm 0,41	25,3 \pm 2,87 ^{***}	8,88 \pm 0,79 ^{**###}
Bilirubine totale (μ mol/L)	1,43 \pm 0,16	1,14 \pm 0,2	2,27 \pm 0,18 [*]	1,55 \pm 0,13 [#]

Différence significative comparant au groupe (ND-0) : * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $P \leq 0,001$



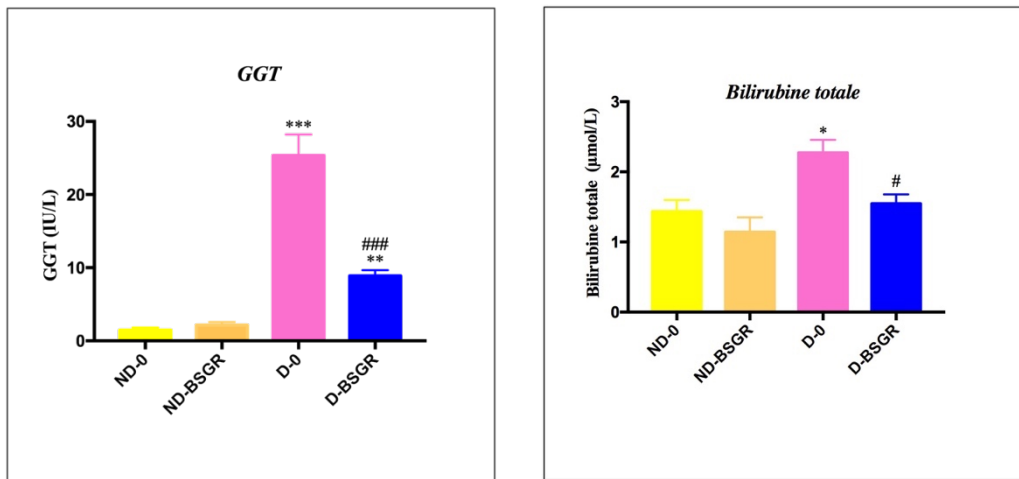


Figure 27 : Variation de la concentration sérique des protéines totales, de l'albumine, de la biliruribine totale, et variation de l'activité enzymatique des transaminases, de la lactate déshydrogénase, de la GGT et de la phosphatase alcaline chez les groupes expérimentaux après 28 jours du traitement

Différence significative comparant au groupe (ND-0) : * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0) : # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$

5.4.3 Effet du traitement sur les paramètres pancréatiques (taux de l'insuline et activité enzymatique de l' α amylase et lipase)

L'interprétation des résultats du tableau 11 et la figure 28 démontre une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de la concentration de l'insuline et de l'amylasémie chez le groupe diabétique non traité (D-0) par rapport au groupe sain (ND-0) et une augmentation significative ($p < 0,001$) de l'activité de la lipase chez les rats diabétiques non traités (D-0) en comparaison avec le groupe témoin (ND-0). Tandis que nous avons enregistré une réduction très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité de la lipase et une augmentation de l'insuline et de l'activité de l' α amylase chez les rats traités (D-BSGR) par la poudre de résine de Boswellie en comparant aux rats diabétiques non traités.

Tableau 11 : Variation de la concentration de l'insuline, de l'activité enzymatique de l' α -amylase et de la lipase chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Insuline (μU/mL)	1,04 \pm 0,12	0,97 \pm 0,12	0,28 \pm 0,06***	0,71 \pm 0,07#
α-amylase (U/L)	1946 \pm 102	2219 \pm 143	1070 \pm 43,8***	2043 \pm 150###
Lipase (U/L)	6,34 \pm 0,18	5,94 \pm 0,2	19,2 \pm 0,22***	8,17 \pm 0,26***.###

Différence significative comparant au groupe (ND-0): *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ### $p \leq 0,001$

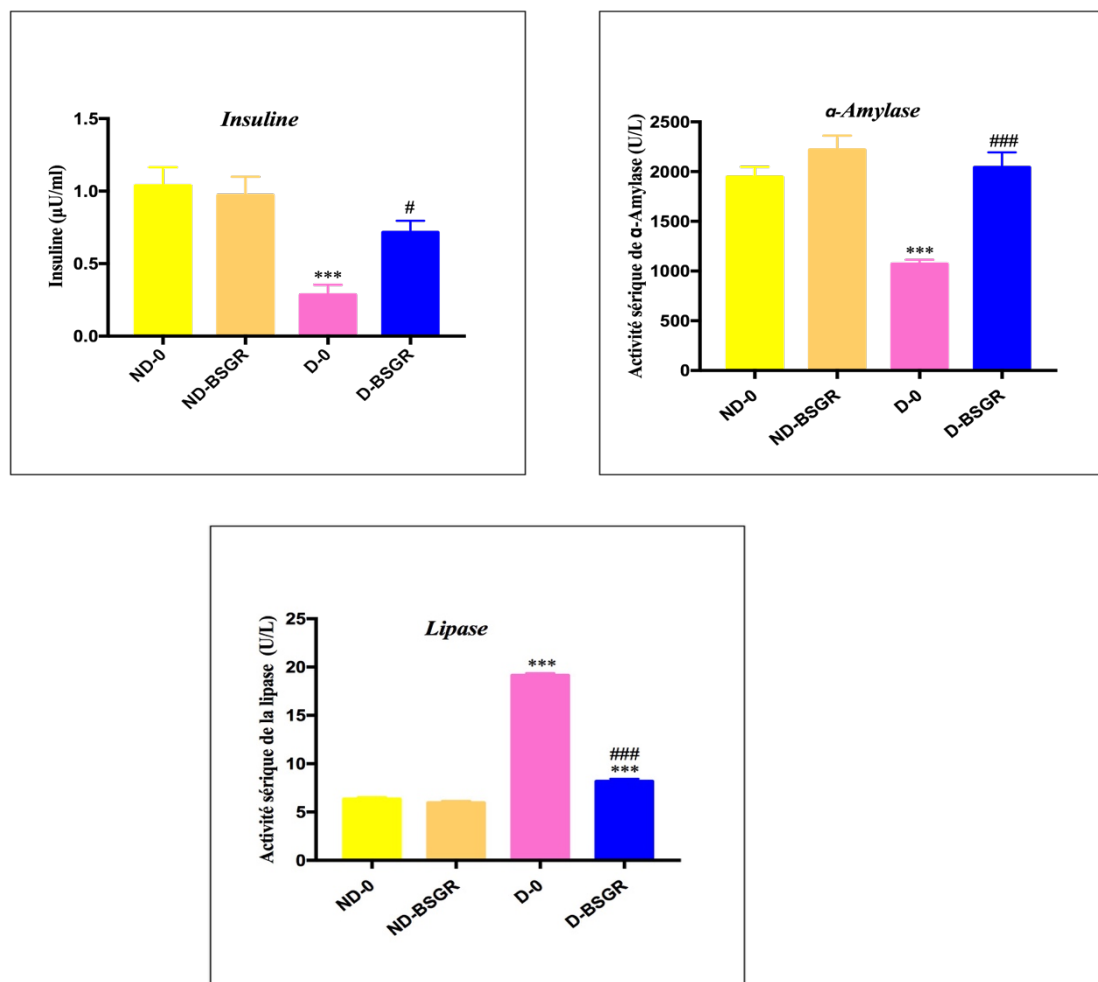


Figure 28 : Variation de la concentration de l'insuline, de l'activité sérique de l' α - amylase et de la lipase chez les groupes expérimentaux après 28 jours du traitement

Différence significative comparant au groupe (ND-0) : *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0) : # $p \leq 0,05$; ### $p \leq 0,001$

5.4.4 Effet du traitement sur la fonction rénale (concentrations de la créatinine, acide urique et urée)

La variation de la concentration sérique de la créatinine, de l'acide urique et de l'urée chez les groupes expérimentaux sont présentés dans le tableau 12 et la figure 29. La STZ a augmenté significativement ($p < 0,05$) les concentrations de la créatinine, l'acide urique et de l'urée ($p < 0,001$) chez les rats diabétiques (D-0) comparant au groupe témoin (ND-0). En outre, l'administration de la résine de Boswellie chez les rats diabétiques (D-BSGR) a notablement réduit les paramètres de la fonction rénale altérée en comparaison avec les rats diabétiques.

Tableau 12 : Variation des paramètres de la fonction rénale chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Créatinine (mg/dL)	0,31 \pm 0,01	0,33 \pm 0,02	0,38 \pm 0,02*	0,23 \pm 0,007*,###
Acid urique (mmol/dL)	2,54 \pm 0,1	2,17 \pm 0,08*	2,97 \pm 0,11*	1,65 \pm 0,06***,###
Urée (mg/dL)	3,81 \pm 0,56	3,13 \pm 0,73	19,02 \pm 0,64***	12,78 \pm 0,51***,###

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$

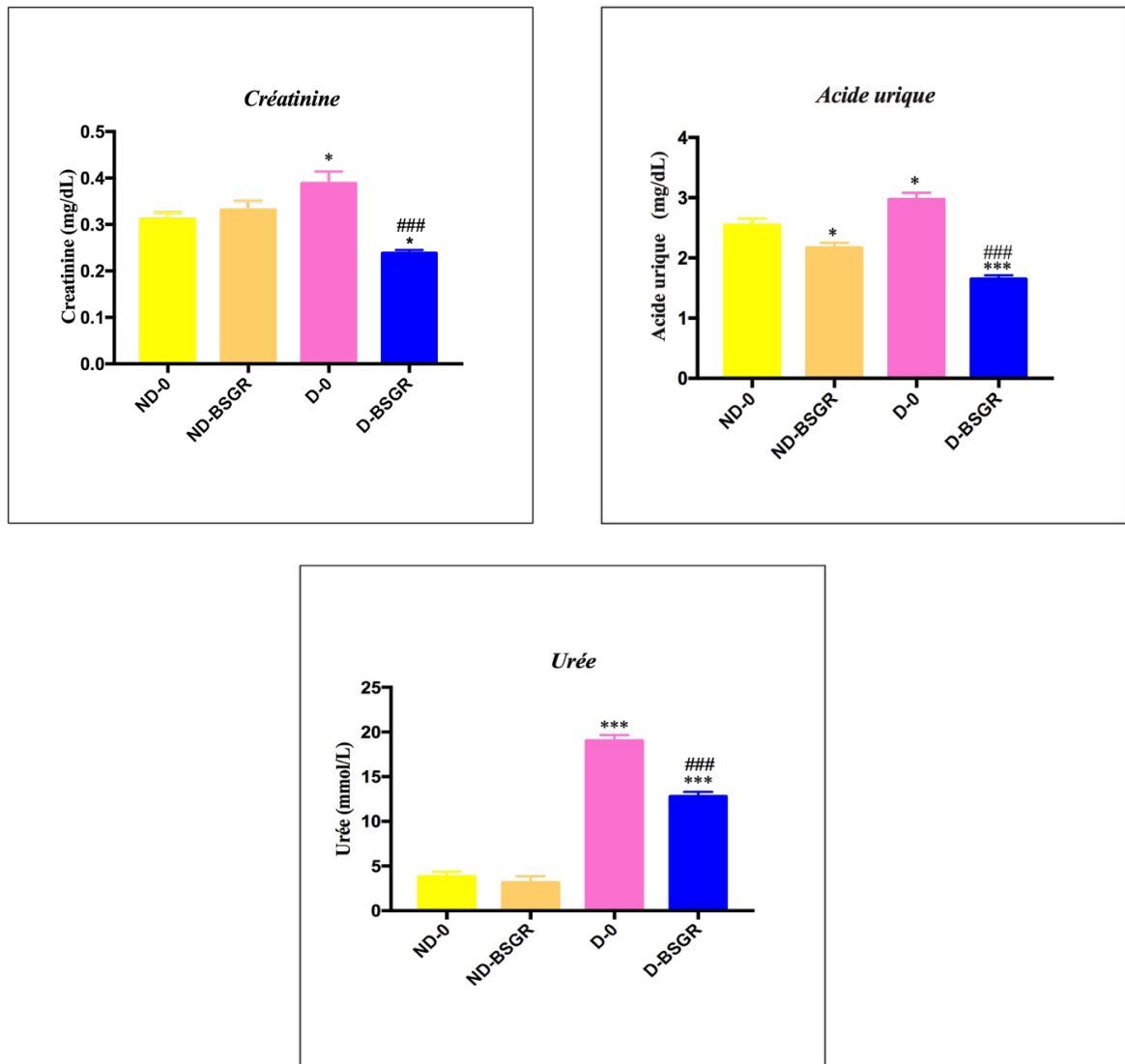


Figure 29 : Variation de la concentration sérique de la créatinine, de l'acide urique et de l'urée chez les groupes expérimentaux après 28 jours du traitement

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$

5.4.5 Effet du traitement sur la concentration du cholestérol total, triglycérides, LDL et HDL

Les résultats de la variation des paramètres du profil lipidique chez les rats sains et les rats rendus diabétiques par la STZ sont rassemblés dans le tableau 13 et la figure 30. Une augmentation significative du cholestérol total, des triglycérides ($p < 0,05$) et du LDL ($p < 0,001$) a été mentionnée chez le groupe diabétique (D-0) par rapport au groupe (ND-0). Cependant, le niveau de HDL était significativement ($p < 0,001$) réduit chez le groupe diabétique (D-0) par rapport au groupe témoin

(ND-0). Par contre, le traitement par la résine de Boswellie a réduit d'une manière significative les taux de cholestérol total ($p < 0,01$), de triglycérides et de LDL ($p < 0,05$) et a provoqué notamment une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de HDL chez les rats diabétiques traités (D-BSGR) par rapport aux rats diabétiques (D-0).

Tableau 13 : Variation de la concentration du cholestérol, triglycérides, LDL et HDL chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Cholestérol (mmol/L)	2,51 \pm 0,13	2,01 \pm 0,19	3,25 \pm 0,09*	2,42 \pm 0,19 ^{##}
Triglycérides (mmol/L)	0,79 \pm 0,06	0,94 \pm 0,14	1,33 \pm 0,19*	0,71 \pm 0,06 [#]
LDL-C (mmol/L)	0,09 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,24 \pm 0,02***	0,15 \pm 0,02 [#]
HDL (mmol/L)	0,30 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	0,11 \pm 0,02***	0,20 \pm 0,02 ^{**, #}

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ^{##} $p \leq 0,01$

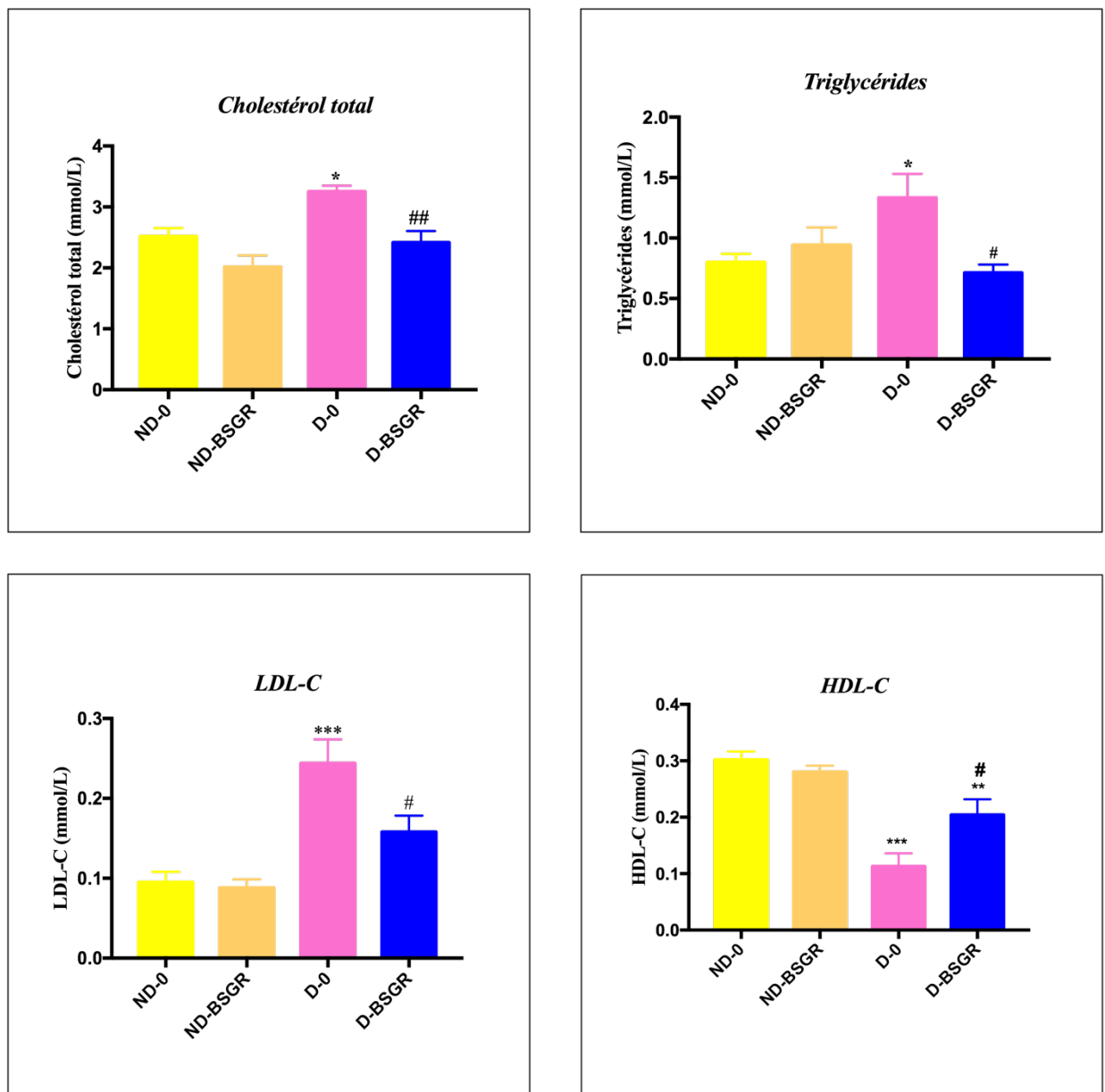


Figure 30 : Variation de la concentration du cholestérol, triglycérides, LDL et HDL chez les groupes expérimentaux après 28 jours du traitement

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$

5.5 Étude de quelques marqueurs du stress oxydant

5.5.1 Effet du traitement sur le taux du glutathion réduit (GSH)

Le traitement des rats par la STZ a entraîné une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de la teneur du glutathion tissulaire dans le foie, les reins, le pancréas et une diminution hautement significative ($p < 0,01$) dans la rate et le cœur chez les rats diabétiques (D-0) par rapport aux rats témoins (ND-0). En revanche, chez les rats diabétiques et traités (D-BSGR) par la poudre de résine, nous avons constaté une augmentation significative du taux de GSH dans les organes étudiés (foie, reins, pancréas, rate et cœur) en comparant avec le groupe diabétique non traité (D-0). Aucun changement significatif n'a été signalé chez le groupe (ND-BSGR). (Tableau 14 et Figure 31).

Tableau 14 : Variation du taux de glutathion (nmol/mg prot) dans les organes (foie, reins, pancréas, rate et cœur) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Organes	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Foie	84,28 \pm 1,17	79,59 \pm 1,7	60,82 \pm 2,3***	71,38 \pm 2,5***,##
Reins	78,43 \pm 1,64	71,44 \pm 1,61*	58,13 \pm 1,98***	66,78 \pm 1,44***,##
Pancréas	43 \pm 1,62	38,3 \pm 2,18	23,2 \pm 1,13***	32,9 \pm 2,05**,##
Rate	51,56 \pm 1,32	56,57 \pm 2,14	41,12 \pm 2,86**	48,03 \pm 2,11
Cœur	84,28 \pm 1,17	79,59 \pm 1,7	60,82 \pm 2,3***	71,38 \pm 2,5***,##

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$

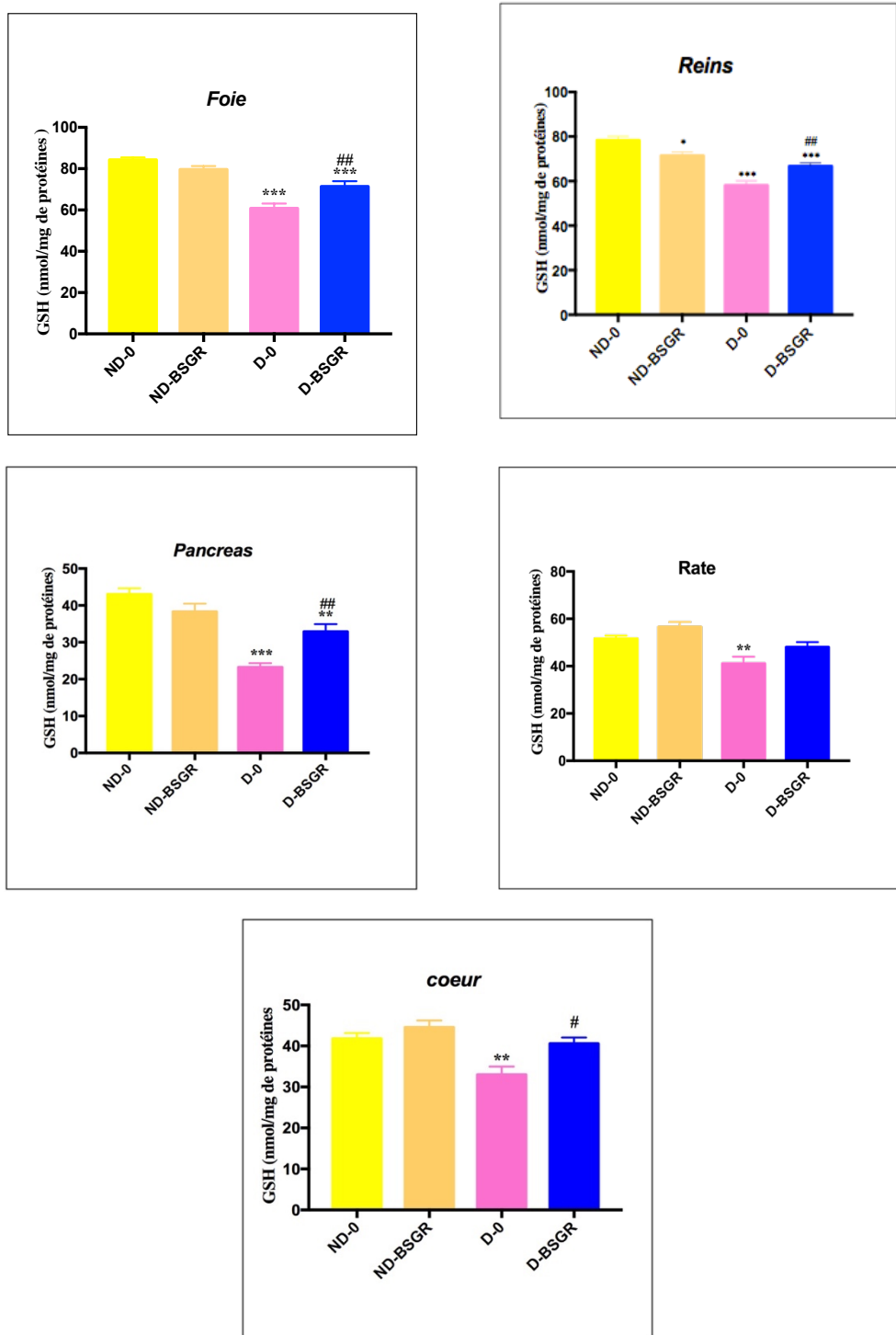


Figure 31 : Variation du taux de glutathion (nmol/mg prot) dans les organes (foie, reins, pancréas, rate et cœur) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours de traitement

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$

5.5.2 Effet du traitement sur le taux du Malondialdéhyde (MDA)

Les résultats de la variation du taux de malondialdéhyde dans le foie, les reins, le pancréas et le cœur des rats de chaque groupe sont résumés dans le tableau 15 et la figure 32. En effet, les résultats obtenus dans notre étude montrent une élévation très hautement significative du taux du MDA ($p < 0,001$) au niveau du foie, reins, cœur. Une augmentation significative ($p < 0,05$) est remarquée également au niveau du pancréas chez les rats diabétiques (D-0) par rapport aux rats non diabétiques (ND-0). D'autre part, nous avons remarqué une diminution significative de la teneur en MDA dans les organes étudiés chez les rats diabétiques (D-BSGR) et nourris par la poudre de la résine de Boswellie en comparant avec les rats nourris par un régime alimentaire standard (D-0).

Tableau 15 : Variation du malondialdéhyde (nmol/mg prot) dans les organes (foie, reins, pancréas et cœur) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Organes	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Foie	0,43 \pm 0,02	0,44 \pm 0,008	1,12 \pm 0,03***	0,58 \pm 0,02***,###
Reins	0,45 \pm 0,01	0,42 \pm 0,01	0,64 \pm 0,02***	0,58 \pm 0,01***,#
Pancréas	0,34 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01	0,42 \pm 0,02*	0,32 \pm 0,01##
Cœur	0,19 \pm 0,004	0,18 \pm 0,01	0,35 \pm 0,01***	0,32 \pm 0,01**

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$

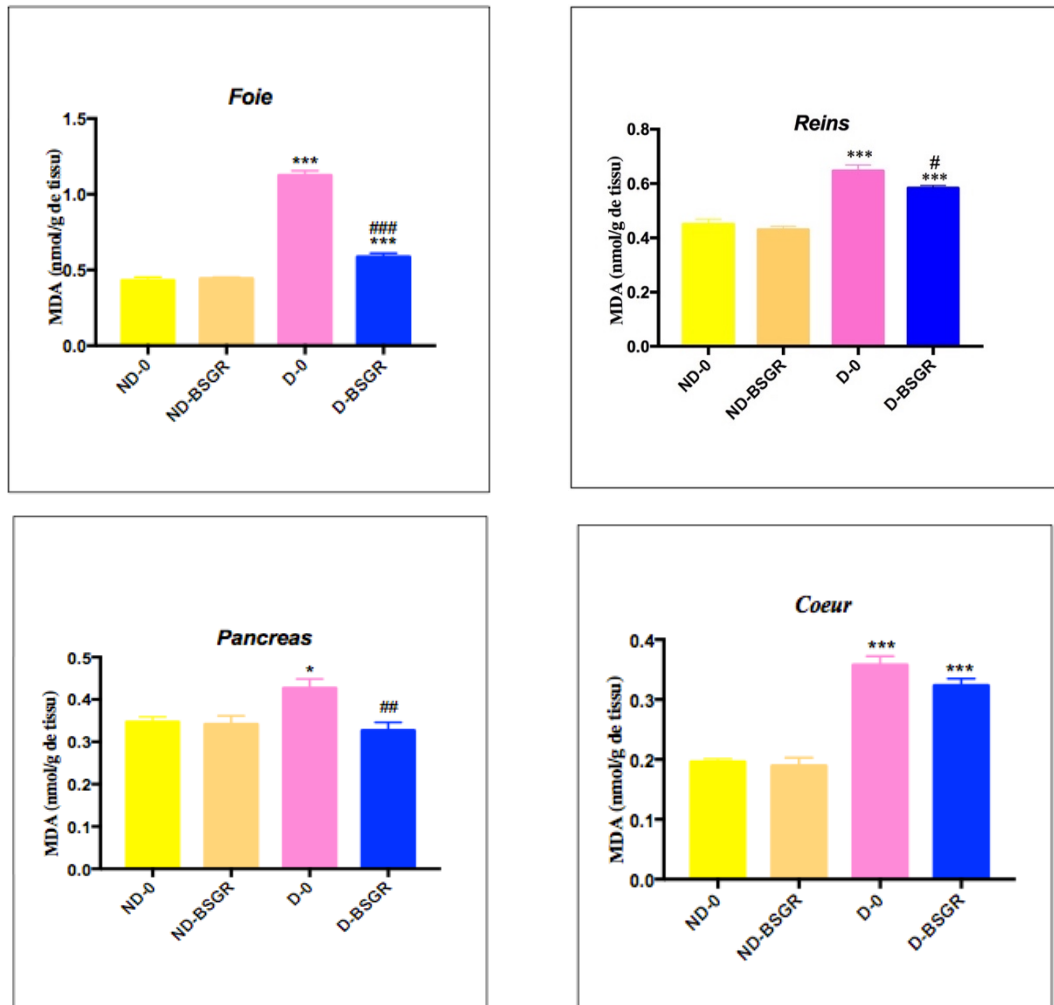


Figure 32 : Variation du malondialdéhyde (nmol/mg prot) dans les organes (foie, reins, pancréas et cœur) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours de traitement

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$

5.5.3 Effet du traitement sur les activités enzymatiques de la glutathion peroxydase (GPx) et glutathion S-transférase (GST)

Les résultats des activités enzymatiques de GPx et GST sont enregistrés dans les tableaux 16 et 17 et les figures 33 et 34. Ces résultats indiquent que les rats du groupe diabétique (D-0) ont montré une réduction hautement significative ($p < 0,001$) des activités de la GST et de la GPx au niveau des tissus hépatiques, rénales et pancréatiques par rapport aux activités enzymatiques du groupe

témoin (ND-0). Alors que le traitement des rats du groupe (D-BSGR) par la poudre de résine de Boswellie a amélioré significativement l'altération des activités enzymatiques du GST et GPx par rapport au groupe diabétique non traité (D-0), mais aucun changement significatif dans l'activité GPx du pancréas n'a été marqué.

Tableau 16 : Variation de l'activité enzymatique de la GST (nM GSH-CDNB/min/mg prot) dans les organes (foie, reins et pancréas) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Organes	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Foie	9,23 \pm 0,5	9,49 \pm 0,69	3,51 \pm 0,55***	8,94 \pm 0,70###
Reins	6,7 \pm 0,47	6,31 \pm 0,37	3,2 \pm 0,32***	5,33 \pm 0,33##
Pancréas	9,92 \pm 0,67	9,97 \pm 1,49	3,91 \pm 2,63***	7,05 \pm 3,45#

Différence significative comparant au groupe (ND-0): *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$

Tableau 17 : Variation de l'activité enzymatique de la GPx (μ M GSH/min/mg prot) dans les organes (foie, reins et pancréas) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Organes	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Foie	0,89 \pm 0,03	0,87 \pm 0,04	0,55 \pm 0,02***	0,74 \pm 0,03*.,##
Reins	0,58 \pm 0,02	0,58 \pm 0,02	0,19 \pm 0,01***	0,28 \pm 0,01***,##
Pancréas	0,69 \pm 0,11	0,33 \pm 0,04**	0,03 \pm 0,007***	0,05 \pm 0,006***

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$

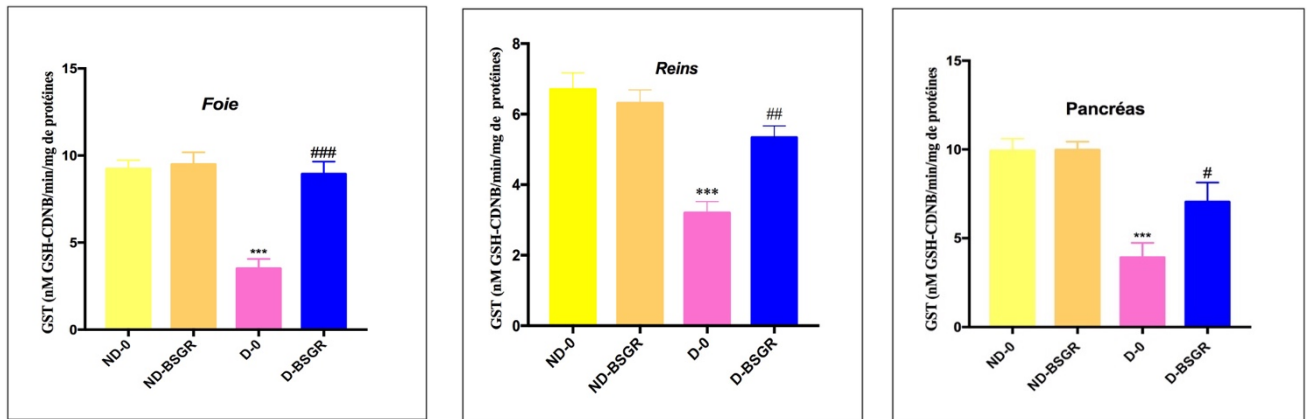


Figure 33 : Variation de l'activité enzymatique de la GST (nmol GSH-CDNB/min/mg prot) dans les organes (foie, reins et pancréas) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours de traitement

Différence significative comparant au groupe (ND-0): *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$

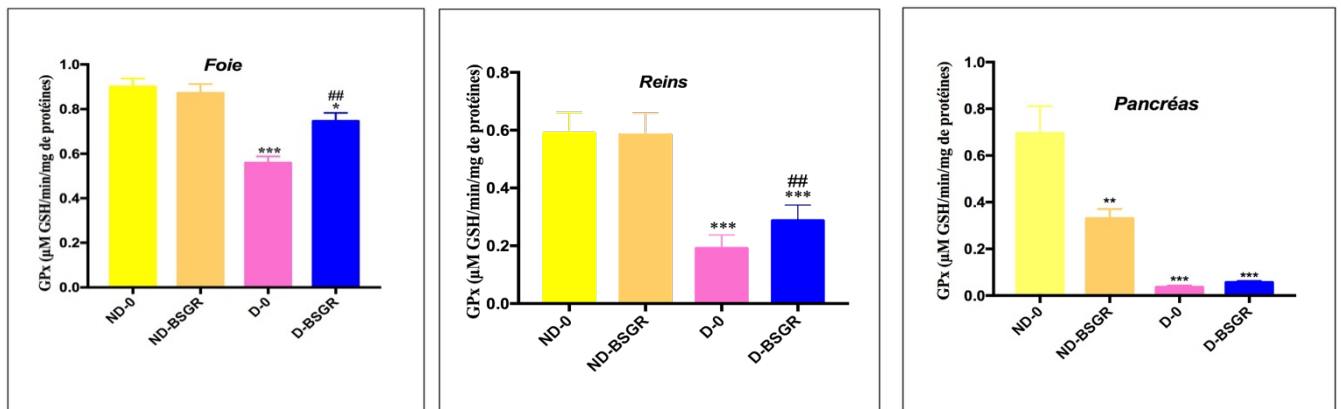


Figure 34 : Variation de l'activité enzymatique de la GPx (µM GSH/min/mg prot) dans les organes (foie, reins et pancréas) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours de traitement

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$

5.5.4 Effet du traitement sur l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

L'administration de la STZ (D-0) a entraîné une diminution hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité de la catalase au niveau du foie et pancréas et une baisse significative ($p < 0,01$) au niveau des reins et cœur par rapport au groupe témoin (ND-0). Par contre, une hausse significative de l'activité enzymatique de la CAT a été enregistrée chez les rats diabétiques traités (D-BSGR) par la poudre de résine par rapport aux rats non traités (D-0) (Tableau 18 et Figure 35).

Tableau 18 : Variation de l'activité enzymatique de la CAT ($\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg prot}$) dans les organes (foie, reins, pancréas et cœur) chez les rats témoins et traités par la gomme-oléorésine de Boswellie. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SEM (n=10)

Organes	Groupes expérimentaux			
	ND-0	ND-BSGR	D-0	D-BSGR
Foie	40,9 \pm 2,8	40,61 \pm 2,41	14,93 \pm 1,39***	23,11 \pm 1,53***,#
Reins	34,68 \pm 1,11	30,14 \pm 1,98	25,78 \pm 1,36**	31,51 \pm 1,31#
Pancréas	13,5 \pm 0,96	11,8 \pm 1,13	6,17 \pm 0,54***	10 \pm 0,85*#
Cœur	9,52 \pm 0,53	10,2 \pm 0,57	6,41 \pm 0,55**	8,77 \pm 0,66#

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$

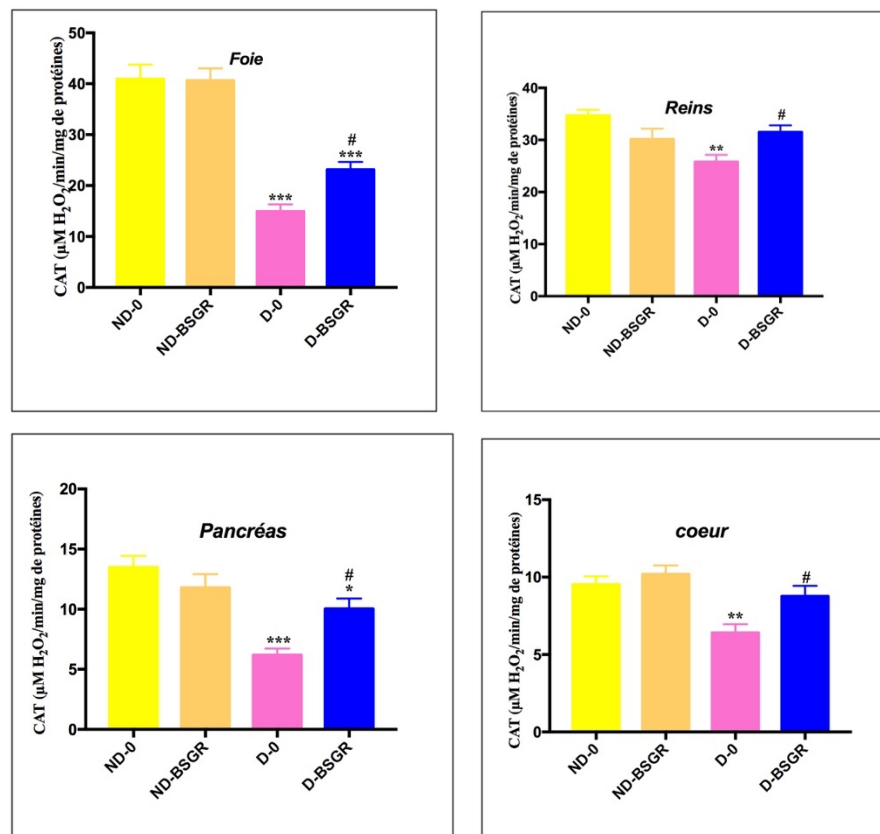


Figure 35 : Variation de l'activité enzymatique de la CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg prot}$) dans les organes (foie, reins, pancréas et cœur) chez les rats témoins et traités par la résine de Boswellie après 28 jours de traitement

Différence significative comparant au groupe (ND-0): * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Différence significative comparant au groupe (D-0): # $p \leq 0,05$

5.6 Analyse des coupes histologiques

5.6.1 Effet du traitement sur l'histologie du pancréas

L'analyse microscopique des coupes du pancréas des deux groupes témoins (ND-0) et (ND-BSGR) a montré la présence d'un tissu pancréatique normal constituée des îlots de Langerhans de taille normale, entourés par des acini intacts. Tandis que, les coupes du pancréas des rats diabétiques (D-0) ont démontré la présence d'une réduction du nombre de cellules des îlots de Langerhans accompagné d'une modification nécrotique aiguë de ces cellules avec une altération sévère des cellules acineuses. Par contre, le tissu pancréatique obtenu à partir du groupe traité (D-BSGR) par la poudre de résine de Boswellie a révélé une amélioration évidente de l'histoarchitecture du tissu pancréatique avec restauration de la taille et du nombre des îlots de Langerhans (Figure 36).

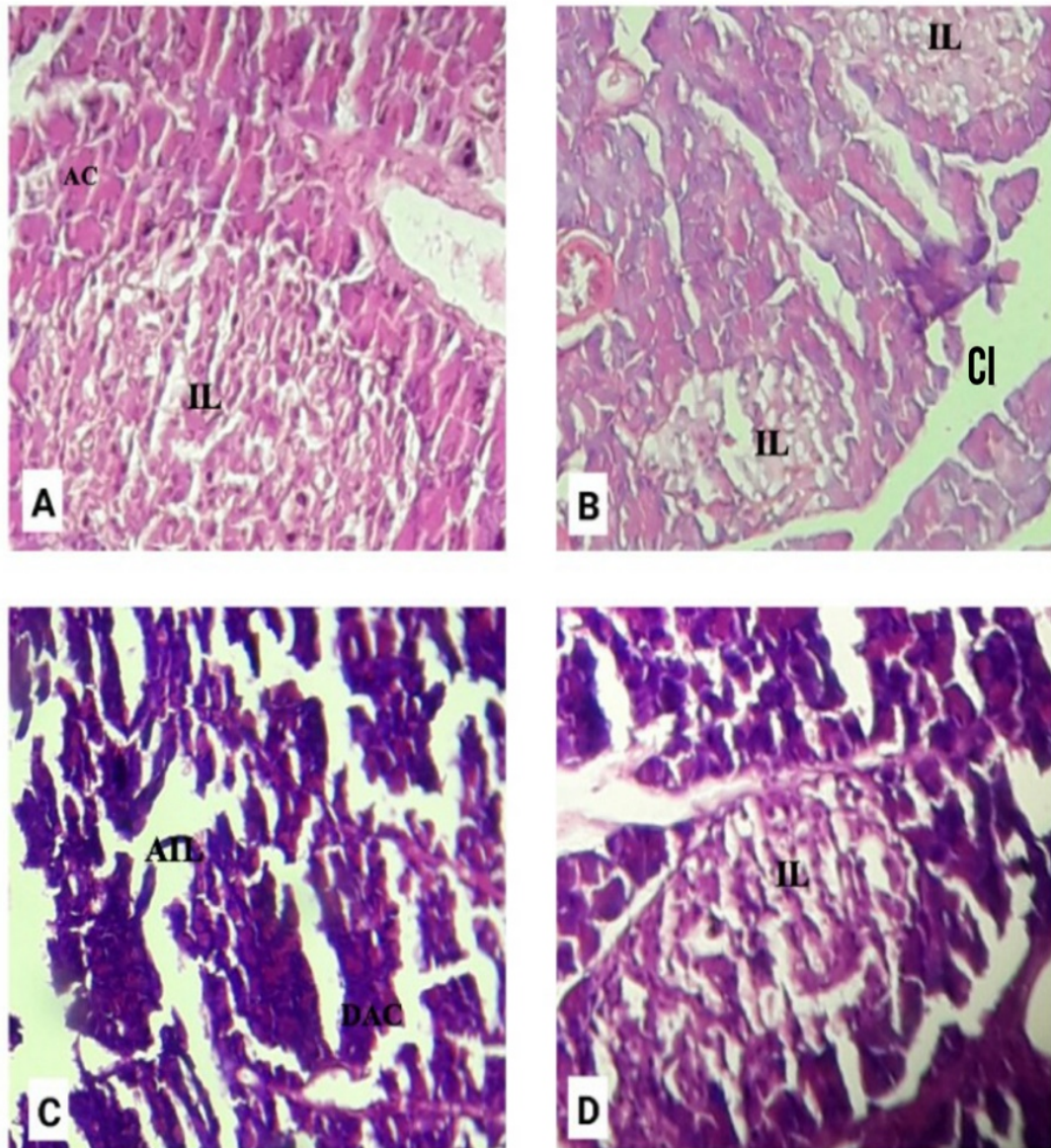


Figure 36 (A-D) : Coupes histologiques du pancréas des rats témoins (A), rats témoins sous régime alimentaire contenant 2 % de la résine de Boswellie (B), rats diabétiques (C), rats diabétiques sous régime alimentaire contenant 2 % de la résine de Boswellie (D) (x10).

IL : Ilots de Langerhans, AC : Cellules Acineuses, DAC : Dommage des Cellules Acineuses, AIL : Absence des Cellules Acineuses, CI : Cloison Interlobulaire.

5.6.2 Effet du traitement sur l'histologie du foie

L'observation microscopique des coupes du foie des rats témoins (ND-0) et (ND-BSGR) a montré une architecture histologique hépatique normale caractérisée par une veine centrale visible et des hépatocytes normaux avec un cytoplasme granuleux avec absence d'infiltration de lymphocytes. Alors que, l'examen du foie des rats diabétiques non traités (D-0) a révélé une déformation absolue de l'architecture hépatocellulaire qui a généré des dommages au niveaux des cellules hépatiques autour de la veine centrale, une nécrose et une dégénérescence vacuolaire cytoplasmique. Cependant, les altérations sévères des tissus hépatiques causées par la streptozotocine ont été presque restaurées après le traitement des rats diabétiques (D-BSGR) par la poudre de résine de Boswellie (Figure 37).

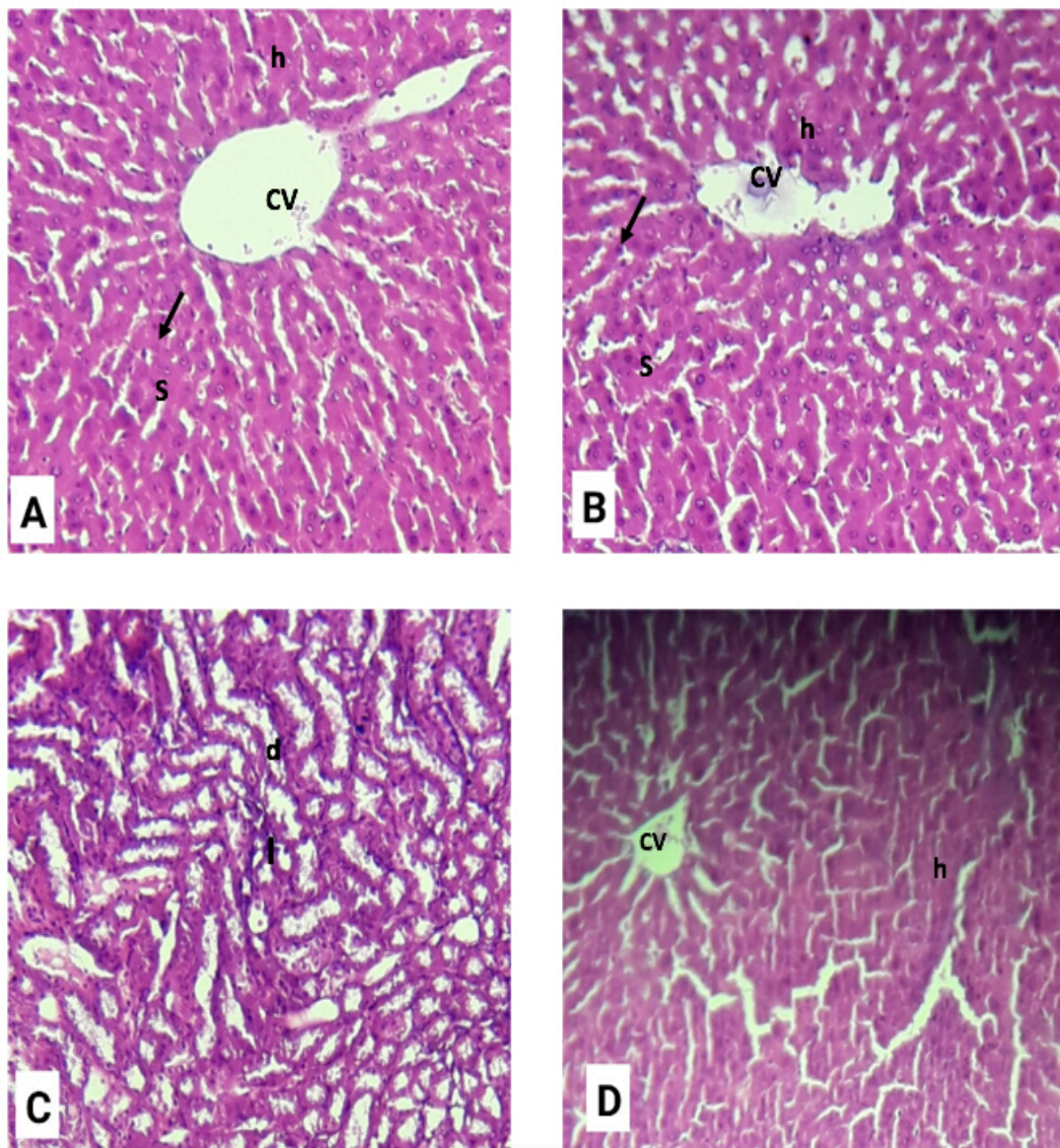


Figure 37 (A-D) : Coupes histologiques du foie des rats témoins (A), rats témoins sous régime alimentaire contenant 2 % de la résine de Boswellie (B), rats diabétiques (C), rats diabétiques sous régime alimentaire contenant 2 % de la résine de Boswellie (D) (x10).

H : Cellules Hépatiques, Cv : Veine Centrolobulaire, S : Sinusoïdes, I : Inflammation, d : Détérioration des cellules hépatiques, —→ Cellules de Kupffer.

5.6.3 Effet du traitement sur l'histologie des reins

Les rats témoins n'ont montré aucun changement morphologique anormal au niveau de leurs tissus rénaux. Une architecture, une taille glomérulaire et une épaisseur de membrane basale normales ont été observées dans le cas du groupe témoin (ND-0) et (ND-BSGR). En revanche, l'examen histologique des coupes de reins des rats diabétiques non traité (D-0) a montré une dégénérescence des glomérules et une nécrose des tubules. En effet, le groupe des rats diabétiques traités (D-BSGR) à la poudre de résine de Boswellie a montré une architecture rénale normale dans la plupart des capsules de Bowman et aucune hémorragie n'a été observée (Figure 38).

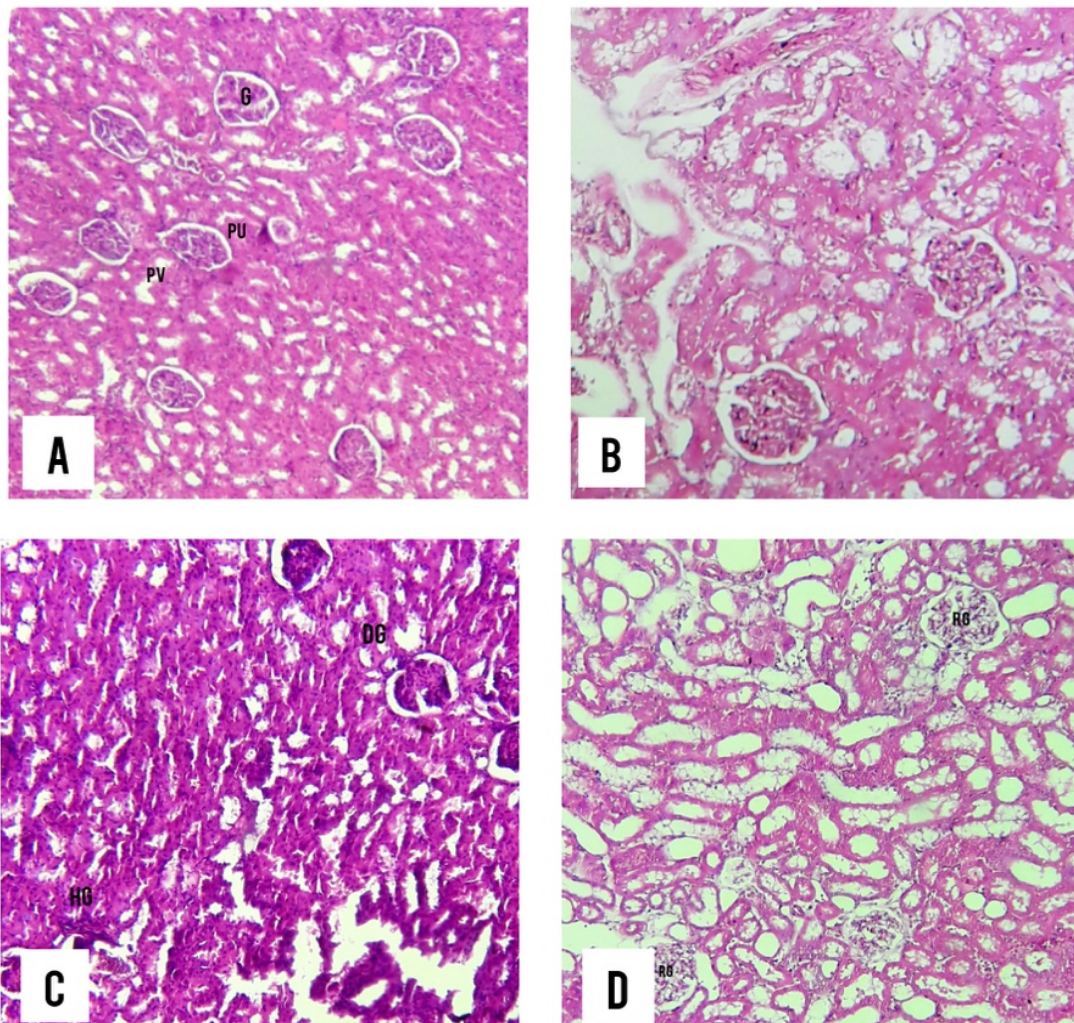


Figure 38 (A-D) : Coupes histologiques des reins des rats témoins (A), rats témoins sous régime alimentaire contenant 2 % de la résine de Boswellie (B), rats diabétiques (C), rats diabétiques sous régime alimentaire contenant 2 % de la résine de Boswellie (D)(x10).

G : Glomérule, PV : pôle Vasculaire, PU : Pôle Urinaire, HG : Hémorragie Glomérulaire, DG : Dégénérescence Glomérulaire, RG : Régénération des Glomérules

Chapitre 6 : Discussion

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique caractérisée par des taux élevés de glucose dans le sang et une insuffisance de la production et de l'action de l'insuline (Maritim *et al.*, 2003). La prévalence du diabète augmente rapidement dans le monde entier à un rythme alarmant, et il est devenu une cause majeure de morbidité et de mortalité qui affecte les jeunes et les personnes d'âge mûr (Thent et Latiff, 2018). De nombreuses études ont montré que le diabète sucré est associé à une formation accrue de radicaux libres et à une diminution du potentiel antioxydant. Dans les deux types de diabète sucré, il existe une augmentation du stress oxydatif qui résulte d'un déséquilibre entre la génération de radicaux dérivés de l'oxygène et le système antioxydant (Naziroğlu et Butterworth, 2005). Les effets indésirables sévères des médicaments utilisés pour la gestion du diabète ont conduit de nombreux chercheurs à trouver de nouvelles substances à activité antidiabétique afin de prévenir et ralentir la survenue des complications résultantes de l'hyperglycémie chronique (Huynh *et al.*, 2014). Chez les patients atteints de diabète, les niveaux de marqueurs antioxydants diminuent, c'est pourquoi de nombreuses études suggèrent que les substances phytochimiques peuvent exercer des activités antioxydantes, inactiver les radicaux libres et améliorer la sensibilité à l'insuline. Plusieurs composés phytoactifs sont également considérés comme des substances puissantes pour lutter contre les complications du diabète (Lee *et al.*, 2016). Actuellement, environ 80 % des patients diabétiques font appel à la phytothérapie pour leurs traitements (Ezuruike et Prieto, 2014). À cet égard, nous nous sommes intéressés à étudier l'effet antidiabétique de la gomme-résine de Boswellie ainsi que ses propriétés antioxydantes. Dans cette étude, l'analyse phytochimique de la gomme-résine de Boswellie a révélé la présence de composés bioactifs tels que les polyphénols 32,08 mg (EAG/g d'extrait), les flavonoïdes 11,9 mg (EQ/g d'extrait) et les tanins 1,31 mg (EC/ g d'extrait). Le taux des polyphénols dans notre étude était supérieur à celui obtenu par Beghelli *et al* (2017) qui a trouvé une quantité de polyphénols égale à $7,68 \pm 0,9$ mg (EAG/g d'extrait). Tandis que, les teneurs phytochimiques obtenus par Devi *et al.*, (2014) étaient supérieurs aux notre (277 mg de polyphénols, 150 mg de flavonoïdes et 240,67 mg de tannins).

De plus, l'analyse qualitative et quantitative de l'extrait éthanolique de la gomme-résine de Boswellie par HPLC a confirmé que cet extrait contient plusieurs composés phytochimiques tel que l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide vanillique, Kaempférol, Catéchine, l'acide rosmarinique, la rutine et la raringénine. Des études ont prouvé que ces composés phytochimiques présentaient des effets protecteurs contre les maladies faisant intervenir le stress oxydatif,

notamment le diabète (Chanwitheesuk *et al.*, 2005). Il a été aussi démontré que les flavonoïdes (kaempférol et naringénine) jouent un rôle positif dans la réduction de la glycémie, le contrôle de l'absorption du glucose, la régénération des îlots pancréatiques et l'augmentation de la libération d'insuline avec une forte activité de piégeage des superoxydes (Thent et Das, 2015).

L'activité antidiabétique de la gomme-résine de Boswellie a été évaluée *in vivo* chez des rats Wistar sains et des rats rendus diabétiques par la streptozotocine à raison de 60 mg/kg de poids corporel. La streptozotocine est un agent chimique capable d'induire un diabète insulino-dépendant de type 1 chez le rat par destruction des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas par alkylation des constituants cellulaires et fragmentation de l'ADN (Kim *et al.*, 2019).

Dans notre expérimentation, la STZ a provoqué une diminution significative du poids corporel chez les rats diabétiques qui ont subis une perte de 78 g par rapport à leur poids initial après quatre semaines de la confirmation du diabète. Cependant les rats témoins ont gagnés 35 g durant la même période. Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par Saini et Sharma (2013), qui ont constaté que l'injection de la STZ chez des rats a causé une perte significative du poids corporel par rapport aux témoins non diabétiques. Kusari *et al.*, (2007) ont associé la perte de poids corporel chez les rats diabétiques à l'augmentation du débit urinaire qui provoque une déshydratation et un manque de liquides important pour le corps ou à la dégradation des muscles en raison de l'hyperglycémie. De même, Tebboub et Kechrid (2021) ont eux aussi enregistré des résultats similaires et suggèrent que la perte de poids corporel chez le groupe diabétique peut être expliquée par la dégradation des protéines structurelles suite à l'incapacité des tissus périphériques à utiliser les glucides comme source d'énergie. Tandis que, l'administration de 2% de la poudre de résine de Boswellie dans l'alimentation des rats pendant quatre semaines a amélioré d'une manière remarquable le poids corporel, ce qui en accord avec les résultats obtenus par Helal *et al.*, (2005). Nos résultats sont aussi en concordance avec l'étude effectuée par Al-Yasiry *et al.* (2016) qui a rapporté que la Boswellie conduit à l'amélioration du processus de digestion et d'absorption car elle stimule la sécrétion d'enzymes pancréatiques et augmente le débit des sucs digestifs ce qui stimule l'appétit.

En ce qui concerne les effets sur le poids des organes étudiés, nous avons remarqué une diminution de poids absolu du foie, des reins et du pancréas chez les rats diabétiques, ces résultats sont en accord avec des travaux précédents (Ramalingam *et al.*, 2020). La diminution de poids absolu des organes observés dans le groupe (D-0) était probablement due à l'augmentation de la néoglucogenèse ou à la dégradation du glycogène dans le cas du foie. Pour le pancréas, la

diminution de son poids est possiblement liée aux dommages sélectifs des cellules bêta et à la perturbation de l'îlot pancréatique (Zafar et Naqvi, 2010). Alors que, la diminution du poids des reins peut être due aux complications néfastes du diabète telle la néphropathie diabétique ou tout autre complications microvasculaires (Mawa *et al.*, 2019). En revanche, l'ajout de 2 % de la Boswellie au régime alimentaire des rats diabétiques a entraîné une amélioration des poids absolus et relatifs des organes. Ceci indique que la résine de Boswellie a la capacité d'apaiser le diabète en régénérant les cellules du foie, des reins et en restaurant l'architecture des îlots de Langerhans (Abdelhay *et al.*, 2013).

L'analyse des résultats obtenus a montré une élévation significative du taux de glucose sanguin accompagnée d'une diminution du taux d'insuline plasmatique chez les rats diabétiques. Cela est probablement due à la dégénérescence des cellules bêta pancréatiques et à la réduction de la sécrétion d'insuline endogène, diminuant ainsi l'absorption du glucose par les tissus. Ces résultats sont cohérents avec ceux des travaux de Cakir *et al.* (2018) qui ont indiqué que les changements marqués dans les taux de glucose et d'insuline dans le sang après l'administration de la STZ (60 mg/kg) aux rats, pouvaient être causés par une réduction ou une insuffisance de la libération d'insuline. Cependant, nous avons constaté que le traitement quotidien avec la Boswellie des rats diabétiques a baissé d'une manière significative la concentration sérique de glucose (70,1 %) et augmenté les niveaux d'insuline plasmatique. De même, Mehrzadi *et al.* (2018) ont rapporté les effets anti-hyperglycémiant de la résine de Boswellie lors des études réalisées sur des rats et ont également révélé l'effet anti-hyperglycémiant de la Boswellie chez les patients diabétiques via l'augmentation de la sécrétion d'insuline dans un rapport clinique. L'effet anti-hyperglycémiant peut être attribué aux composés bioactifs de la résine de Boswellie notamment les phénylpropanoïdes, les terpénoïdes, les composés phénoliques et les flavonoïdes (Vinayagam *et al.*, 2015).

Les lésions hépatiques en tant que complication du diabète ont déjà été rapportées dans de nombreuses études antérieures (Mota *et al.*, 2016). La libération des enzymes hépatocytaires dans la circulation sanguine a été signalée comme le principal indicateur de lésion hépatocytaires (Sharkawi *et al.*, 2020). Pour confirmer le trouble hépatique chez les rats diabétiques, des biomarqueurs et des métabolites qui reflètent la fonction du foie ont été évalués. Nos résultats ont prouvé que l'administration de la STZ a causé de graves dommages à l'organe, qui ont été démontrés par l'augmentation significative de l'activité des transaminases (ATL et AST), la phosphatase alcaline (PAL), la lactate déshydrogénase (LDH) et la gamma glutamyl-transpeptidase (GGT) chez le groupe (D-0) comparativement au groupe témoin (ND-0). Nos données étaient conformes à celles obtenues par Al-Jaghtmi et Zeid (2020) et Selvaraj *et al.*

(2016). Ceci pourrait être expliqué par la modification de la perméabilité des membranes hépatiques ce qui crée une perturbation dans le transport des métabolites conduisant à une fuite des enzymes du tissu vers le sang (Zhang *et al.*, 2010 ; Mehana *et al.*, 2012).

Nos résultats indiquent chez les rats diabétiques une diminution significative des taux des protéines totales sériques et d'albumine tandis que les taux de la bilirubine totale ont augmenté, en comparant avec le lot de rats témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Al-Jaghtmi et Zeid (2020) qui ont révélé que la diminution du niveau de protéines totales était associée à la diminution de l'absorption des acides aminés ainsi qu'à une réduction de la biosynthèse des protéines au niveau du foie. Tandis que la diminution du taux d'albumine peut être due à une nécrose hépatique, à une intolérance à l'insuline ou à une réduction de la fonction de synthèse du foie. D'un autre point de vue, Masubuchi *et al.* (2016) ont expliqué que l'augmentation des taux de la bilirubine totale chez les rats diabétiques pourrait faire référence au blocage des voies biliaires causé par l'inflammation hépatique. Par ailleurs, la supplémentation en résine de Boswellie a permis de rétablir de manière significative les paramètres hépatiques à des niveaux proches des valeurs normales et de prévenir les lésions hépatocytaires induites par la streptozotocine. Ces résultats qui mentionnent clairement l'amélioration du tissu hépatique sont en accord avec les travaux réalisés par Saad *et al.* (2018) qui ont démontré le pouvoir hépatoprotecteur de l'encens (Frankincense) en diminuant les dommages hépatiques et en améliorant les fonctions hépatiques chez les rats. Des études antérieures ont démontré que l'effet hépatoprotecteur de *Boswellia serrata* est dû à son principe actif l'acide boswellique qui inhibe la synthèse de la 5-lipoxygénase qui est responsable de l'inflammation des cellules du foie (Al-Yasiry *et al.*, 2017).

La néphropathie diabétique est l'une des complications majeures du diabète. L'hyperglycémie due au diabète détruit les petits vaisseaux sanguins des reins, ce qui entraîne une altération de la fonction rénale (Schena et Gesualdo, 2005). Des taux élevés de l'urée, de la créatinine et de l'acide urique sont considérés comme des marqueurs de dysfonctionnement rénal chez les diabétiques. Ceci était observé chez le groupe de rats (D-0) prouvant la corrélation positive entre l'hyperglycémie et le développement de la néphropathie. Ces résultats ont été confirmés par Ronco *et al.* (2010) qui ont suggéré que les niveaux anormalement élevés de l'urée, l'acide urique et la créatinine étaient liés à l'insuffisance rénale. L'augmentation des paramètres de la fonction rénale observée dans cette étude pourrait être associée aux anomalies métaboliques de la gluconéogenèse et au catabolisme accru des protéines plasmatiques chez les rats diabétiques (Punithavathi *et al.*, 2008). Néanmoins, les niveaux de marqueurs de fonction rénale ont été restaurés à des valeurs presque normales après traitement par 2% de la résine de Boswellie

indiquant ainsi l'effet néphroprotecteur de la résine. En effet, ces résultats ont déjà été observés dans d'autres études menées par Rafiq *et al.* (2012). Abdulmumin *et al.* (2015) ont suggéré que les constituants phytochimiques de l'extrait aqueux de *Boswellia papyrifera* tels que les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les saponines et les glycosides peuvent être responsables de l'effet néphrocuratif de *Boswellia papyrifera*.

La lipase sérique et l' α -amylase sont considérées comme les principales enzymes pancréatiques. L'amylase contribue à la digestion de l'amidon dans l'intestin grêle en agissant sur les liaisons α -1-4-glycosidiques de l'amidon, les convertissant en maltose qui est ensuite hydrolysé en unités de glucose et seront absorbés dans l'intestin grêle et transporté dans la circulation sanguine (Saxena, 2006). De multiples études ont démontré que l'activité de l' α -amylase était significativement réduite dans des modèles de rats diabétiques. Cette diminution de l'activité α -amylase observée dans notre étude, est probablement due à la streptozotocine qui a inhibé l'homéostasie du calcium et du magnésium et l'expression du gène de l'amylase (Omoruyi *et al.*, 2013). La lipase pancréatique est une enzyme cruciale dans le métabolisme des lipides, elle hydrolyse les triglycérides en monoglycérides et c'est le marqueur hautement recommandé pour la pancréatite. Son augmentation permanente offre un meilleur diagnostic que l'amylase (Ismail et Bhayana, 2017). Dans la présente étude, une élévation significative de la lipase pancréatique a été marquée chez les rats diabétiques (D-0) par rapport au rats témoins (ND-0). Ces résultats d'altération de la lipase pancréatique étaient en harmonie avec des études précédentes menées par Eleazu *et al.* (2013). Cette augmentation est expliquée par la modification de la sécrétion exocrine pancréatique (Cakir *et al.*, 2018). Au contraire, après le traitement des rats diabétiques par la résine de Boswellie, nous avons constaté une amélioration significative des biomarqueurs pancréatiques. Cela pourrait s'expliquer par l'amélioration de la sécrétion d'insuline, ce qui indique les effets protecteurs de la résine de Boswellie sur le système endocrinien du pancréas et ses effets anti-inflammatoires (Elzahraa *et al.*, 2014).

Les lipides jouent un rôle important dans la pathogénèse du diabète sucré. Le niveau des lipides sériques est généralement élevé dans le diabète, et une telle hausse représente un facteur de risque de maladie coronarienne (Daisy et Kani, 2013). Les résultats de notre expérimentation suggèrent une augmentation bien claire de la concentration sérique du profil lipidique. Les rats diabétiques non traités ont présenté une élévation du cholestérol total, des triglycérides, du LDL-c et une réduction du HDL-c en comparant avec le groupe témoins. Ces résultats étaient semblables à ceux obtenus par Aboulthana *et al.*, (2018). Les taux inhabituellement élevés du profil lipidique sont principalement dus à l'action illimitée des hormones lipolytiques sur les dépôts de graisse, suite à l'action de l'insuline. Dans des conditions normales, l'enzyme lipoprotéine lipase est activée

par l'insuline, qui à son tour hydrolyse les TG. Cependant, dans l'état diabétique, l'enzyme lipoprotéine lipase est inactivée en raison d'un déficit en insuline entraînant une hypertriglycéridémie. La carence en insuline est également liée à l'hypercholestérolémie en raison des dérèglements métaboliques (Adefegha *et al.*, 2017). Selon Madhuri et Naik (2017), la réduction du HDL est principalement due à l'élévation du LDL-C et du VLDL-C puisqu'il existe une relation mutuelle entre la concentration de VLDL-C et de HDL. De plus, l'augmentation du taux de TG, la diminution des taux de HDL et la prédominance des particules LDL-C dans le diabète ont été désignés comme le "trépied lipidique athérogène" impliqué dans l'athérogénèse, qui sont de puissants indicateurs des maladies touchant le cœur et les vaisseaux sanguins (Ikewuchi, 2009). Au contraire, le taux du HDL était significativement élevé et ceux du cholestérol total, TG et LDL-C étaient réduits après l'administration de la résine de Boswellie chez le groupe (D-BSGR) par rapport au groupe (D-0). Nos résultats sont en harmonie avec ceux de Gomaa *et al.*, (2019) qui ont constaté que l'administration orale d'un extrait de *Boswellia serrata* (300 et 400 mg/kg) chez des rats nourris avec un régime riche en graisses améliore significativement le profil lipidique. Ahangarpour *et al.* (2014) ont mentionné que l'effet hypolipidémique de la résine de Boswellie peut être attribué à l'amélioration de la fonction des cellules β et à la stimulation de la sécrétion d'insuline, car cette hormone a la capacité de réduire le profil lipidique sérique et aussi à l'action antioxydante de la Boswellie.

L'apparition de l'anémie dans le diabète sucré est due à l'augmentation de la glycosylation non-enzymatique des protéines de la membrane des globules rouges (Oyedemi *et al.*, 2011^a). L'oxydation de ces protéines et l'hyperglycémie entraînent une augmentation de la production de peroxydes lipidiques qui cause une hémolyse des globules rouges (Arun et Rames, 2002). Les globules rouges sont des porteurs d'hémoglobine impliqués dans le transport de l'oxygène dans l'organisme, un nombre réduit de globules rouges indique une réduction du niveau d'oxygène. Les globules blancs sont destinés à combattre les infections et à défendre l'organisme contre l'invasion des corps étrangers (Sodipo *et al.*, 2020). Il a été observé dans cette étude que les niveaux de GB, GR, Hb, hématocrite, plaquettes, CCMH et VGM chez les animaux diabétiques étaient réduits par rapport à ceux des rats sains. Cette observation concorde avec le rapport d'Oyedemi *et al.* (2011^b). Au regard de ces résultats, nous avons constaté que la STZ a provoqué une anémie. La réduction des globules rouges, de l'Hb et de l'HCT est probablement due aux dommages cellulaires sur la membrane érythrocytaire résultant du stress oxydatif (Saliu *et al.*, 2012). En outre, la diminution du nombre de globules blancs pourrait être liée à la suppression de la leucocytose de la moelle osseuse, ce qui pourrait expliquer la faiblesse des mécanismes de défense contre les infections. Pourtant, l'administration de la résine de Boswellie à raison de 2% dans l'alimentation du groupe

(D-BSGR) a entraîné une amélioration significative des paramètres hématologiques. Les résultats de cette étude concordent avec ceux de Singh *et al.* (2012), qui ont indiqué que l'administration de la résine de Boswellie chez les animaux a présenté une amélioration des principaux paramètres hématologiques. La résine de Boswellie a un effet positif sur la santé des animaux (Al-Yasiry *et al.*, 2016).

L'oxygène est indispensable à la vie humaine, mais il peut affecter ou détruire les cellules lorsqu'il génère des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les espèces réactives de l'oxygène sont créées par la réduction de l'oxygène moléculaire ou par l'oxydation de l'eau pour donner des produits comme l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle. La surproduction de ERO ou la réduction de la capacité antioxydante peuvent développer un stress oxydatif. Le stress oxydatif provoque des dysfonctionnements et des dommages structurels des cellules saines, de l'ADN et des macromolécules importantes, ce sont les principales raisons des maladies chroniques comme le diabète (Bacanli *et al.* 2019). L'hyperglycémie chronique associée au diabète augmente la production de ERO par diverses voies comme l'auto-oxydation du glucose et la glycation non enzymatique des protéines (Atalay et Laaksonen, 2002).

Les composés MDA sont des sous-produits de la peroxydation des phospholipides de la membrane et sont principalement des peroxydes instables. Ces produits d'oxydation lipidique peuvent être utilisés comme marqueurs dans le suivi de pathologie ou de traitement (Zhang *et al.*, 2003 ; Hockenberry *et al.*, 2013). Une peroxydation lipidique excessive provoque une dégradation des lipides qui altère la fonction des membranes cellulaires, ce qui entraîne des lésions tissulaires et conduit à de nombreux états pathologiques et à la cytotoxicité dans l'organisme (Hünkar *et al.*, 2002). Dans cette étude, le MDA a été estimé dans les tissus de quatre organes différents: le foie, les reins, le cœur et le pancréas. Nous avons observé une augmentation significative du niveau du MDA dans tous les organes étudiés des rats diabétiques par rapport aux rats contrôles. Ce résultat est en accord avec les études précédentes (Ali *et al.*, 2017, Doghmane *et al.*, 2021). De même, Aloud *et al.* (2017) ont suggéré que l'augmentation des marqueurs de peroxydation lipidique chez les rats diabétiques pourrait être la preuve de la génération accrue de radicaux libres. En effet, l'ajout de la poudre de résine de Boswellie dans l'alimentation du groupe (D-BSGR) a permis de réduire le taux du MDA dans le tissu hépatique, rénale, pancréatique et cardiaque en comparant au groupe (D-0). Ceci est en concordance avec d'autres études comme celle de Zaki *et al.*, (2014) qui ont indiqué que la diminution des taux du MDA est probablement due aux effets cytoprotecteurs de *Boswellia carteri*.

En outre, l'organisme possède généralement son propre mécanisme de défense caractérisé par des activités antioxydantes enzymatiques endogènes telles que la SOD, la CAT, la GPx, la

GST et l'antioxydant non enzymatique GSH (Vipin *et al.* 2017). Ces mécanismes de défense jouent un rôle important dans le maintien des niveaux physiologiques d'oxygène et de peroxyde d'hydrogène et neutralise la génération de radicaux libres pour protéger les organes des dommages induits par la STZ via la formation de peroxydes lipidiques (Valko *et al.*, 2007).

Le glutathion (GSH) est un antioxydant intracellulaire qui joue un rôle fondamental dans le contrôle de diverses fonctions cellulaires. Il préserve le système cellulaire des espèces réactives de l'oxygène en piégeant efficacement les radicaux libres, et agit en outre comme cofacteur de la GPx et la GST (Abdelaziz *et al.*, 2015). Les données obtenues dans le présent travail ont montré une diminution de la teneur en GSH dans les organes (foie, reins, pancréas, rate et cœur) des rats diabétiques non traités. Des résultats similaires ont été rapportés dans les mêmes organes chez des rats diabétiques (Ahmed *et al.*, 2014). Ceci confirme que dans les conditions d'hyperglycémie, le glucose est utilisé par la voie des polyols en consommant le NADPH indispensable dans la régénération des molécules de glutathion par la GSH réductase (West, 2000). Il a été suggéré également que la baisse du taux du GSH tissulaire peut être liée à l'utilisation accrue du GSH pour piéger les radicaux libres, et à son importante consommation par la GPx et la GST (Aloud *et al.*, 2017).

La GPx et la GST sont des enzymes antioxydantes situées dans le cytoplasme, jouent un rôle clé dans la dégradation des substances toxiques. Ces deux enzymes décomposent le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes en produits non toxiques en utilisant le GSH comme substrat (Slama *et al.*, 2020). Les activités des enzymes GPx et GST ont significativement diminué dans le foie, les reins et le pancréas des rats diabétiques (D-0) par rapport au groupe contrôle (ND-0). La réduction des activités GPx et GST était similaire aux données obtenues par Doghmane *et al.* (2021). Cet effet est probablement dû à une quantité insuffisante de GSH ou à l'inactivation des deux enzymes par les espèces réactives de l'oxygène (Rajasekaran *et al.*, 2005).

La CAT est une hémoprotéine considérée comme l'une des enzymes antioxydantes importantes qui catalyse la réduction des hydroperoxydes et préserve l'homéostasie redox cellulaire (Nandi *et al.*, 2019). Dans cette étude, les rats du groupe (D-0) ont montré une diminution significative de l'activité de la CAT dans les organes étudiés (foie, reins, pancréas et le cœur). De même, Molehin *et al.* (2018) ont rapporté une diminution de l'activité de la CAT chez les rats diabétiques. La diminution de l'activité de la CAT peut être liée à l'inactivation de l'enzyme par l'anion superoxyde, par sa glycation ou par les deux mécanismes en même temps (Husain *et al.*, 2004). Par ailleurs, les rats traités avec la résine de Boswellie (D-BSGR) ont montré une augmentation significative de l'activité des enzymes antioxydantes (GPx, GST et CAT), ainsi que la réduction du GSH a été rétablie par rapport aux rats diabétiques contrôles (D-0). Ces résultats

sont en accord avec les études de Elzahraa *et al.*, (2014). Hartmann *et al.*, (2012) qui ont démontré que la résine de Boswellie a une action antioxydante importante dans la régénération des enzymes. Une étude menée par Afsar *et al.*, (2012) a également rapporté que l'extrait de la résine de Boswellie possède des quantités considérables de composés phénoliques et flavonoïques qui ont de puissantes activités antioxydantes et anti-inflammatoires. En outre, l'acide boswellique (le composant majeur de la résine de Boswellie) est caractérisé par des triterpènes pentacycliques contenant des propriétés antioxydantes (Gomaa *et al.*, 2019). Hartmann *et al.*, (2012) ont déduit que les composants actifs de la résine de Boswellie agissent comme des piègeurs de radicaux libres, et parfois comme des chélateurs de métaux, agissant comme une étape d'initiation dans la propagation du processus antioxydant.

Tous ces résultats ont été prouvés par les résultats de l'études histologique. L'examen des coupes histopathologiques des différents organes a montré que la STZ a provoqué un rétrécissement, des lésions nécrotiques, une destruction des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas, une dégénérescence des glomérules rénaux avec infiltrat inflammatoire, une vacuolisation des lobules hépatiques et une nécrose dégénérative des hépatocytes chez les rats diabétiques. Néanmoins, il a été observé dans l'étude actuelle que le traitement avec la résine de Boswellie a amélioré les changements histologiques des tissus hépatiques, rénales et pancréatiques. Selon une étude menée par Helal *et al.*, (2005) sur le *Boswellia Carterii Birdw* (BCB) qui a amélioré la sécrétion d'insuline pouvant être liée à la réparation des cellules β des îlots de Langerhans comme il a été montré histologiquement. Par ailleurs, le BCB pourrait avoir des effets protecteurs directement sur le pancréas via son action antioxydante (Altman *et al.*, 2004). En accord avec notre analyse histopathologique, Gomaa *et al.*, (2019) ont révélé que l'administration orale d'extrait de résine de Boswellie a montré une architecture hépatique normale des rats nourris avec un régime riche en graisses. Ce résultat peut s'expliquer par l'effet hépatoprotecteur des composés polyphénoliques et des triterpènes pentacycliques présents dans l'extrait de la résine de Boswellie (Gomaa *et al.*, 2019). Une étude réalisée par Sami *et al.* (2019) a indiqué que les acides boswelliques ont rétabli la fonction rénale et ont également amélioré l'examen histologique du rein.

Conclusion et perspectives

La médecine traditionnelle mérite d'être valorisée car elle dispose de ressources immédiates telle que les plantes pour lutter contre les maladies. En Algérie, la médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement du diabète. La recherche de nouvelles médications antidiabétiques à base de plantes médicinales, constitue l'ancienne/récente voie adoptée dans le traitement du diabète et ses complications. Dans le cadre de confirmer l'intérêt pharmacologique de ces plantes médicinales et l'évaluation de leurs activités protectrices, nous avons choisi d'étudier l'effet antidiabétique (antihyperglycémiant, antioxydant et cytoprotecteur) de la résine de Boswellie sur des rats sains et des rats rendus diabétiques par la streptozotocine. A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que:

- L'analyse phytochimique quantitative de l'extrait éthanolique de la résine de Boswellie a révélé la présence des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés.
- L'injection intrapéritonéale de la streptozotocine à 60 mg/kg de poids corporel des rats mâles adultes a induit des perturbations du métabolisme glucidique représentées par une hyperglycémie.
 - Une diminution remarquable du poids corporel et du poids absolu des organes étudiés (foie, reins et pancréas) après la période de traitement.
 - En ce qui concerne les paramètres hématologiques l'administration de la STZ a provoqué une diminution du nombre de globules rouges, de globules blancs, du taux de l'hémoglobine, de l'hématocrite et du volume globulaire moyen.
 - Le traitement par la STZ a induit aussi des perturbations au niveau des paramètres biochimiques (biomarqueurs hépatiques, pancréatiques et rénales). Ces altérations ont été exprimées par une augmentation de l'activité enzymatique de l'ALAT, ASAT, LDH, PAL, lipase et alpha amylase, des taux sériques de la créatinine, l'urée, l'acide urique, du cholestérol, des triglycérides et de l'insuline.
 - A propos de l'étude des paramètres du stress oxydatif, les résultats des rats diabétiques ont montré une augmentation de la peroxydation lipidique au niveau des organes étudiés, accompagnée d'une diminution du taux de glutathion réduit (GSH) et d'une baisse de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion S-transférase (GST) et la catalase (CAT).
 - Quant au niveau histologique, le diabète a provoqué des lésions cellulaires et des altérations au niveau du pancréas, foie et reins, ceci prouve l'effet cytotoxique de la streptozotocine.

En revanche, l'administration journalière de la poudre de la gomme-résine de Boswellie pendant 28 jours dans l'alimentation des rats diabétiques a amélioré la plupart des paramètres étudiés. Nous pouvons récapituler que :

- La résine a montré un effet antihyperglycémiant illustré par une baisse de la glycémie.
- La poudre de résine supplémentée (2%) a ajusté et amélioré les valeurs perturbées des paramètres du profil hépatique (ASAT, ALAT, PAL et LDH), rénale (urée, créatinine et acide urique), pancréatique (lipase, l'alpha amylase et l'insuline) et lipidique (cholestérol total, triglycérides, LDL et HDL).
- La résine a montré une puissante action antioxydante en réduisant la peroxydation lipidique et en renforçant la défense antioxydante par augmentation du taux de glutathion réduit (GSH) et de l'activité enzymatique de la catalase (CAT), de la glutathion peroxydase (GPx) et de la glutathion S-transférase (GST).
- L'analyse des coupes histologiques (foie, reins et pancréas) des rats diabétiques traités par la résine de Boswellie a révélé une restauration de l'architecture tissulaire de ces organes.

En conclusion et en se basant sur les résultats obtenus, nous pouvons dire que la poudre de résine de Boswellie peut jouer un rôle préventif empêchant le développement du diabète sucré et de ses complications car elle possède un effet bénéfique sur la régulation de la glycémie, l'ajustement du profil lipidique et la réparation des dommages oxydatifs. Vu ce rôle protecteur, la poudre de Boswellie peut être envisagée comme un supplément alimentaire fiable et crédible pour les diabétiques.

En perspectives, il sera nécessaire d'élargir l'expérimentation animale sur un échantillon plus grand. Il sera important aussi de compléter d'une part le dosage des autres paramètres du statut antioxydant tels que le monoxyde d'azote, la SOD, la GSH-R, le rapport GSH/GSSG, les vitamines (E, C). D'autre part, le dosage des radicaux libres au cours du diabète semble être primordiale pour une bonne évaluation du statut oxydant/antioxydant. Une étude *in vitro* peut également enrichir les résultats afin de comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires.

Une attention particulière devrait être accordée à la composition chimique de cette résine. Il serait intéressant de développer cette recherche par une investigation approfondie en cherchant la caractérisation structurale des fractions de la résine de Boswellie par des techniques analytiques couplées comme la spectrométrie d'absorption atomique, la spectrométrie ultraviolet-visible et l'RMN afin de mettre en évidence la partie de la molécule responsable de l'activité antihyperglycémiant et antioxydante.

Références Bibliographiques

- Abbott, A. (2010). Basel Declaration defends animal research. *Nature*, 468(7325), 742.
- Abdelaziz, D. H., Ali, S. A., & Mostafa, M. M. (2015). Phoenix dactylifera seeds ameliorate early diabetic complications in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 53(6), 792-799.
- Abdelhay, W. M., Elsharawy, A. F., Eisa, M. A., Mohammad, A. A., Elrab, W. M. G., & Abdelrhman, A. S. A. (2013). Evaluation of protective effect of some traditional antidiabetic plants on liver of the alloxan-induced diabetes in adult albino rat. *Al- Azhar Assiut Medical Journal*, 2, 51–73.
- Abdelrazek, H., Kilany, O. E., Muhammad, M. A., Tag, H. M., & Abdelazim, A. M. (2018). Black seed thymoquinone improved insulin secretion, hepatic glycogen storage, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic male wistar rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.
- Abdulmumin, Y., Matazu, K., Wudil, A.M., Alhassan, A.J., & Imam, A. (2015). Phytochemical Screening and Toxicological Studies of Aqueous Stem Bark Extract of *Boswellia papyrifera* (DEL) in Albino Rats. *International Journal of Chemical and Molecular Engineering*, 2.
- Abeeleh, M. A., Ismail, Z. B., Alzaben, K. R., Abu-Halaweh, S. A., Al-Essa, M. K., Abuabeeleh, J., & Alsmady, M. M. (2009). Induction of diabetes mellitus in rats using intraperitoneal streptozotocin: a comparison between 2 strains of rats. *European Journal of Scientific Research*, 32(3), 398-402.
- Aboulthana, W. M., El-Feky, A. M., Ibrahim, N. E., Sahu, R. K., & El-Sayed, A. E. K. B. (2018). Evaluation of the pancreatoprotective effect of *Nannochloropsis oculata* extract against streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(6), 046-058.
- ADA (American Diabetes Association). (2000). Nutrition recommendations and principles for people with diabetes mellitus (Position Statement). *Diabetes Care*, 23, pp. 43-6
- ADA (American Diabetes Association). (2006). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 29:S43–S48.
- ADA (American Diabetes Association). (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37(supplement 1), S81-S90.

- ADA (American Diabetes Association). (2016). Diabetes Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*, 39(Suppl. 1):S13–S22.
- Adefegha, S. A., Oboh, G., & Adefegha, O. M. (2017). Ashanti pepper (*Piper guineense* Schumacher et Thonn) attenuates carbohydrate hydrolyzing, blood pressure regulating and cholinergic enzymes in experimental type 2 diabetes rat model. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 28(1), 19-30.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74(7), 636-643.
- Afsar, V., Reddy, M., & Saritha, K. V. (2012): in vitro antioxidant activity and anti-inflammatory activity of methanolic leaf extract of *Boswellia serrata*. *International journal of life sciences biotechnology and pharma research*, 1(4), 15–23.
- Ahangarpour, A., Heidari, H., Fatemeh, R. A. A., Pakmehr, M., Shahbazian, H., Ahmadi, I., & Mehrangiz, B. H. (2014). Effect of *Boswellia serrata* supplementation on blood lipid, hepatic enzymes and fructosamine levels in type2 diabetic patients. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 13(1), 29.
- Ahmed, D., Kumar, V., Verma, A., Gupta, P. S., Kumar, H., Dhingra, V., & Sharma, M. (2014). Antidiabetic, renal/hepatic/pancreas/cardiac protective and antioxidant potential of methanol/dichloromethane extract of *Albizia Lebbeck Benth.* stem bark (ALEx) on streptozotocin induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 1-17.
- Akpan, O. U., Ikpi, D. E., & Etim, B. E. (2013). *Ocimum gratissimum* alleviates derangements in serum and biliary bilirubin, cholesterol and electrolytes in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 3(3), 171.
- Al-Awar, A., Kupai, K., Veszelka, M., Szűcs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., & Varga, C. (2016). Experimental diabetes mellitus in different animal models. *Journal of Diabetes Research*, 2016.
- Al-Jaghthmi, O. H. A., & Zeid, I. E. M. E. A. (2020). Hypoglycemic and hepatoprotective effect of *Rhizophora mucronata* and *Avicennia marina* against streptozotocin-induced diabetes in male rats. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 7(1), 177.
- Al-Yasiry, A. R. M., & Kiczorowska, B. (2016). Frankincense-therapeutic properties. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 70.

- Al-Yasiry, A. R. M., Kiczorowska, B., Samolińska, W., Kowalczyk-Vasilev, E., & Kowalczyk-Pecka, D. (2017). The effect of *Boswellia serrata* resin diet supplementation on production, hematological, biochemical and immunological parameters in broiler chickens. *Animal*, 11(11), 1890-1898.
- Al-Yasiry, R. M. A., Jawad, S. A. H., Menati, K. J., Naji, S. A., & Lokman, I. H. (2016). Effects of *Boswellia carterii* and *Boswellia serrata* in drinking water on the growth performance, hematology traits and immune response of broiler chicken. *International Journal of Dairy Technology*, 4, 27-37.
- Alberti, K. G. M. M., & Zimmet, P. Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine*, 15(7), 539-553.
- Ali, M., Paul, S., Tanvir, E. M., Hossen, M., Rumpa, N. E. N., Saha, M., & Khalil, M. (2017). Antihyperglycemic, antidiabetic, and antioxidant effects of *Garcinia pedunculata* in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- Aloud, A. A., Veeramani, C., Govindasamy, C., Alsaif, M. A., El Newehy, A. S., & Al-Numair, K. S. (2017). Galangin, a dietary flavonoid, improves antioxidant status and reduces hyperglycemia-mediated oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Redox Report*, 22(6), 290-300.
- Altmann, A., Poeckel, D., Fischer, L., Schubert-Zsilavec, M., Steinhilber, D., & Werz, O. (2004). Coupling of boswellic acid-induced Ca²⁺ mobilisation and MAPK activation to lipid metabolism and peroxide formation in human leucocytes. *British Journal of Pharmacology*, 141(2), 223-232.
- Anderson, T., Schein, P. S., McMenamin, M. G., & Cooney, D. A. (1974). Streptozotocin diabetes correlation with extent of depression of pancreatic islet nicotinamide adenine dinucleotide. *The Journal of Clinical Investigation*, 54(3), 672-677.
- Andreelli, F., Jacquier, D., Dierick-Gallet, A., & Amouyal, C. (2011). Pharmacogénétique des antidiabétiques: Pharmacogenetics of antidiabetic drugs. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 5(5), 512-519.
- Arun, G. S., & Ramesh, K. G. (2002). Improvement of insulin sensitivity by perindopril in spontaneously hypertensive and streptozotocin-diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 34(3), 156.
- Atal, C. K., Gupta, O. P., & Singh, G. B. (1981). Salai-guggal-a promising anti-arthritic and anti-hyperlipidemic agent. In *British Journal of Pharmacology*, 74(1), 203-204.

- Atalay, M., & Laaksonen, D. E. (2002). Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *Journal of Sports Science & Medicine*, 1(1), 1.
- Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., & Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 383(9911), 69-82.
- Azemi, M. E., Namjoyan, F., Khodayar, M. J., Ahmadpour, F., Padok, A. D., & Panahi, M. (2012). The antioxidant capacity and anti-diabetic effect of *Boswellia serrata* triana and planch aqueous extract in fertile female diabetic rats and the possible effects on reproduction and histological changes in the liver and kidneys. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 7(4), 168.
- Bacanli, M., Dilsiz, S. A., Başaran, N., & Başaran, A. A. (2019). Effects of phytochemicals against diabetes. *Advances in Food and Nutrition Research*, 89, 209-238.
- Bagchi, K., & Puri, S. (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease: A review. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*, 4 (2), 350-360, 1998.
- Baratta, M. T., Dorman, H. D., Deans, S. G., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., & Ruberto, G. (1998). Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(4), 235-244.
- Barja, G. (2000). The flux of free radical attack through mitochondrial DNA is related to aging rate. *Aging Clinical and Experimental Research*, 12(5), 342-355.
- Basar, S. (2005). Phytochemical investigations on *Boswellia* species: Comparative studies on the essential oils, pyrolysates and boswellic acids of *Boswellia carterii* Birdw., *Boswellia serrata* Roxb., *Boswellia frereana* Birdw., *Boswellia neglecta* S. Moore and *Boswellia rivae* Engl (Doctoral dissertation, Hamburg Univerdity). <https://d-nb.info/975255932/34>
- Beghelli, D., Isani, G., Roncada, P., Andreani, G., Bistoni, O., Bertocchi, M., ... & Alunno, A. (2017). Antioxidant and ex vivo immune system regulatory properties of *Boswellia serrata* extracts. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Ben-smail, S.F., Benmansour,I. (2019). Intérêt de l'éducation thérapeutique des enfants atteints de diabète de type 1 au sein du service de pédiatrie A de l'EHS et B du CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen.
- Berger, M. M. (2006). Nutritional manipulation of oxidative stress: review of the evidence. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(1), 48.
- Berredjem, H., Reggami, Y., Benlaifa, M., Berredjem, M., & Bouzerna, N. (2015). Antidiabetic and hypolipidemic potential of 3, 4-dihydroisoquinolin-2 (1H)-sulfonamide in alloxan induced diabetic rats. *International Journal of pharmacology*, 11(3), 226-235.

- Bojestig, M., Arnqvist, H. J., Hermansson, G., Karlberg, B. E., & Ludvigsson, J. (1994). Declining incidence of nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 330(1), 15-18.
- Bonnefont-Rousselot, D. (2002). Glucose and reactive oxygen species. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 5(5), 561-568.
- Bonnefont-Rousselot, D. (2004). The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. *Treatments in endocrinology*, 3(1), 41-52.
- Borges, K., Bautista, H., & Guilera, S. (2008). Diabetes—utilization of medicinal plants as an optional form of treatment. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 5(2), 12-20.
- Boulangier, E., Dequiedt, P., & Wautier, J. L. (2002). Les produits de glycation avancée (AGE): de nouvelles toxines. *Néphrologie*, 23(7), 349-57.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteinbinding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F. J., & Krause, K. H. (2012). Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Medical Weekly*, 142, w13659.
- Brownlee, M. (2005). The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*, 54(6), 1615-1625.
- Bucolo, G., & David, H. (1973). Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clinical chemistry*, 19(5), 476-482.
- Burk, R. F. (2002). Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutrition in Clinical Care*, 5(2), 75-79.
- Burlando, B., Parodi, A., Volante, A., & Bassi, A. M. (2008). Comparison of the irritation potentials of *Boswellia serrata* gum resin and of acetyl-11-keto- β -boswellic acid by in vitro cytotoxicity tests on human skin-derived cell lines. *Toxicology letters*, 177(2), 144-149.
- Burlando, B., Parodi, A., Volante, A., & Bassi, A. M. (2008). Comparison of the irritation potentials of *Boswellia serrata* gum resin and of acetyl-11-keto- β -boswellic acid by in vitro cytotoxicity tests on human skin-derived cell lines. *Toxicology Letters*, 177(2), 144-149.
- Burtis, C.A, Ashwood, E.R, Saunders,W.B. (1999). Tietz text book of clinical chemistry. 3rd edition. P: 477-530.
- Buse, M. G. (2006). Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 290(1), E1-E8.
- Buysschaert, M. (2006). *Diabétologie clinique*. 3^{ème} édition. De Boeck Supérieur. 15-79.

- Caballero, A. E. (2009). Long-term benefits of insulin therapy and glycemic control in overweight and obese adults with type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and its Complications*, 23(2), 143-152.
- Cadet, J., Douki, T., Gasparutto, D., & Ravanat, J. L. (2003). Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 531(1-2), 5-23.
- Cakir, S., Eren, M., Senturk, M., & Sarica, Z. S. (2018). The effect of boron on some biochemical parameters in experimental diabetic rats. *Biological Trace Element Research*, 184(1), 165-172.
- Calope J, Limat S, Frnandez C. (2008). *Pharmacie clinique et thérapeutique*. 3^{ème} Edition: Elsevier Masson. Paris, 417-427.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.
- Carr, A. C., & Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 9(11), 1211.
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., & Rakariyatham, N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food chemistry*, 92(3), 491-497.
- Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3), 481-493.
- Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61(2), 192-208.
- Chhabra, N., & Chhabra, S. (Eds.). (2012). *A case oriented approach towards biochemistry*. JP Medical Ltd.
- Church, D. F., & Pryor, W. A. (1985). Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environmental Health Perspectives*, 64, 111-126.
- Cohn, J. S., McNamara, J. R., & Schaefer, E. J. (1988). Lipoprotein cholesterol concentrations in the plasma of human subjects as measured in the fed and fasted states. *Clinical chemistry*, 34(12), 2456-2459.
- Crabbé, J.M. (2015). *Tempête sur le diabète: autopsie d'une épidémie planétaire*. Academia/L'Harmattan. 145 p. ISBN: 978-2-8061-0194-5.
- Cunningham, J. M., & Green, I. C. (1994). Cytokines, nitric oxide and insulin secreting cells. *Growth Regulation*, 4(4), 173-180.

- Daisy, P., & Kani, G. F. (2013). Hypolipidemic and hepatoprotective effects of Cassia auriculata Linn bark extracts on streptozotocin induced diabetics in male Wister albino rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(2), 43-48.
- Dan, R. (2015). Five safe and rich sources of Boswellic acids form Frankincense. Apothecary's Garden
- Dasgupta, A., & Klein, K. (2014). Antioxidants in food, vitamins and supplements: prevention and treatment of disease. Academic Press.
- De Duve, C. A. B. P., & Baudhuin, P. (1966). Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiological Reviews*, 46(2), 323-357.
- Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). *Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques*. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales, Paris, 1-405.
- Delfaut, B. (2018). *Boswellia serrata* Roxb. ex Colebr.: une plante ancienne aux propriétés nouvelles. (Thèse de doctorat, Université de Bordeaux). <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01845371/document>
- Devaraj, S., Hirany, S. V., Burk, R. F., & Jialal, I. (2001). Divergence between LDL oxidative susceptibility and urinary F2-isoprostanes as measures of oxidative stress in type 2 diabetes. *Clinical Chemistry*, 47(11), 1974-1979.
- Devi, P. S., Adilaxmamma, K., Rao, G. S., Srilatha, C., & Raj, M. A. (2012). Safety evaluation of alcoholic extract of *Boswellia ovalifoliolata* stem-bark in rats. *Toxicology international*, 19(2), 115.
- Devi, P. S., Satyanarayana, B., & Naidu, M. T. (2014). Phytochemical Screening for Secondary Metabolites in *Boswellia serrata* Roxb. and *Wrightia tinctoria* (Roxb.) R. Br. *Notulae Scientia Biologicae*, 6(4), 474-477.
- Doghmane, A., Aouacheri, O., Laouaichia, R., & Saka, S. (2021). The investigation of the efficacy ratio of cress seeds supplementation to moderate hyperglycemia and hepatotoxicity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 1-13.
- Dos Santos, J. M., Tewari, S., & Mendes, R. H. (2019). The Role of Oxidative Stress in the Development of Diabetes Mellitus and Its Complications. *Journal of Diabetes Research*, 2019, 4189813.
- Ducobu, J. (2003). Les antidiabétiques oraux en 2003. *Revue Médicale de Bruxelles*, 24(4), A361-A368.

- Duperon, J. (1993). L'encens et les Boswellia: historique. Apport de l'anatomie à la systématique de trois Boswellia de Somalie et du Yemen. *Revue de Cytologie et de Biologie Végétales, Le Botaniste*, 16(3-4), 185-209.
- Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M. L., & Jouad, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of ethnopharmacology*, 82(2-3), 97-103.
- Eizirik, D. L., & Mandrup-Poulsen, T. (2001). A choice of death—the signal-transduction of immune-mediated beta-cell apoptosis. *Diabetologia*, 44(12), 2115-2133.
- Eleazu, C. O., Iroaganachi, M., Okafor, P. N., Ijeh, I. I., & Eleazu, K. C. (2013). Ameliorative potentials of ginger (*Z. officinale* Roscoe) on relative organ weights in streptozotocin induced diabetic rats. *International Journal of Biomedical Science: IJBS*, 9(2), 82.
- Elzahraa, F., Salem, H., Lokman, M.S., Kassab, R.B., & Elzahraa, H.F. (2014). Ameliorative effects of watery extracts of *Boswellia serrata* and *syzygium aromaticum* on l-arginine induced acute pancreatitis in rats. *World journal of Pharmaceutical Research*, 3(10), 71-87.
- Engvall, E., & Perlmann, P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8(9), 871-874.
- Ercal, N., Gurer-Orhan, H., & Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1(6), 529-539.
- Ezuruike, U. F., & Prieto, J. M. (2014). The use of plants in the traditional management of diabetes in Nigeria: Pharmacological and toxicological considerations. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(2), 857-924.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Favier, F., Fianu, A., Naty, N., Le Moullec, N., & Papoz, L. (2005). Essai de prévention primaire du diabète de type 2 et du syndrome métabolique à la Réunion. *Revue Médicale de l'Assurance Maladie*, (1), 5-13.
- Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239-247.
- Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, 105, 114-120.
- Francis, B. (2010). Cactus et plantes succulentes du monde. *Quae*. 232p

- Geiss, L. S., Herman, W. H., & Smith, P. J. (1995). Mortality in non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes in America*, 2, 233-55.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Gimenez, F., Brasier, M., Calop, J., Dine, T., & Tchiakpé, L. (2002). Pharmacie clinique et thérapeutique. 2^{ème} édition, Masson Paris ; 387-395.
- Girard, J. (2001). Mécanisme d'action des Thiazolidinediones. *Diabetes Metabolism*, 27(2), 271-278.
- Goldin, A., Beckman, J. A., Schmidt, A. M., & Creager, M. A. (2006). Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*, 114(6), 597-605.
- Gomaa, A. A., Farghaly, H. S., Dalia, A., Farrag, M. M., & Al-Zokeim, N. I. (2019). Inhibition of adiposity and related metabolic disturbances by polyphenol-rich extract of *Boswellia serrata* gum through alteration of adipo/cytokine profiles. *Inflammopharmacology*, 27(3), 549-559.
- González, R. G., Barnett, P., Aguayo, J., Cheng, H. M., & Chylack, L. T. (1984). Direct measurement of polyol pathway activity in the ocular lens. *Diabetes*, 33(2), 196-199.
- Góth, L., Rass, P., & Páy, A. (2004). Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *Molecular Diagnosis*, 8(3), 141-149.
- Gregg, E. W., Li, Y., Wang, J., Rios Burrows, N., Ali, M. K., Rolka, D., & Geiss, L. (2014). Changes in diabetes-related complications in the United States, 1990–2010. *New England Journal of Medicine*, 370(16), 1514-1523.
- Griendling, K. K., Sorescu, D., & Ushio-Fukai, M. (2000). NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circulation Research*, 86(5), 494-501.
- Grimaldi A, Jacqueminet S, Heurtier A, Bosquet F, Masse-Bœuf N, Halbron M, Sachon C. (2005). *Guide pratique du Diabète*. 3^{ème} Edition Masson. Paris; 19-102.
- Guillaume, L. (2004). *L'age moyen de découverte du diabète de type 2 differe significativement selon la catégorie sociale* (Thèse de Doctorat, Université paris 7).
- Gumieniczek, A., Krzywdzińska, M., & Nowak, M. (2009). Modulation of nitrosative/oxidative stress in the lung of hyperglycemic rabbits by two antidiabetics, pioglitazone and repaglinide. *Experimental Lung Research*, 35(5), 371-379.

- Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1993). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radical Research Communications*, 19(3), 141-158.
- Habig, W., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). The first enzymatic step in mercapturic acid formation. Glutathione-S-transferase. *Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- Halliwell, B. (2007). Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health?. *Cardiovascular Research*, 73(2), 341-347.
- Halliwell, B. (2011). Free radicals and antioxidants—quo vadis?. *Trends in Pharmacological Sciences*, 32(3), 125-130.
- Hartemann, A., & Grimaldi, A. (2013). *Guide pratique du diabète*. in : Le diabète insulino dépendant ou diabète de type 1. Elsevier Health Sciences.
- Hartmann, R. M., Martins, M. I. M., Tieppo, J., Fillmann, H. S., & Marroni, N. P. (2012). Effect of *Boswellia serrata* on antioxidant status in an experimental model of colitis rats induced by acetic acid. *Digestive Diseases and Sciences*, 57(8), 2038-2044.
- Helal, E. G., Mostafa, A. M., Ashour, F. A., & Kahwash, A. A. (2005). Effect of *Boswellia carterii* Birdw on carbohydrate metabolism in diabetic male albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 20(1), 38-45.
- Hockenberry, M. J., Taylor, O. A., Gundy, P. M., Ross, A. K., Pasvogel, A., Montgomery, D., & Moore, I. (2014). F2-isoprostanes: A measure of oxidative stress in children receiving treatment for leukemia. *Biological Research for Nursing*, 16(3), 303-309.
- Houlot, R. (1984). *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Ed. Maloine, 19- 21, 225-227.
- Hudson, B. I., Wendt, T., Bucciarelli, L. G., Rong, L. L., Naka, Y., Yan, S. F., & Schmidt, A. M. (2005). Diabetic vascular disease: it's all the RAGE. *Antioxidants & Redox Signaling*, 7(11-12), 1588-1600.
- Huemer, M., Vonblon, K., Födinger, M., Krumpholz, R., Hubmann, M., Ulmer, H., & Simma, B. (2006). Total homocysteine, folate, and cobalamin, and their relation to genetic polymorphisms, lifestyle and body mass index in healthy children and adolescents. *Pediatric Research*, 60(6), 764-769.
- Hünkar, T., Aktan, F., Ceylan, A., & Karasu, C. (2002). Effects of cod liver oil on tissue antioxidant pathways in normal and streptozotocin-diabetic rats. *Cell Biochemistry and Function*, 20(4), 297-302.

- Husain, K., Mejia, J., Lalla, J., & Kazim, S. (2004). Time response of alcohol-induced alterations in blood pressure, nitric oxide and oxidant to antioxidant balance in the plasma of rats. *Experimental and clinical cardiology*, 9(4), 229–234.
- Huynh, K., Bernardo, B. C., McMullen, J. R., & Ritchie, R. H. (2014). Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacology & Therapeutics*, 142(3), 375-415.
- IDF: The International Diabetes Federation International Diabetes Federation Diabetes Atlas 9th Edn Brussels. (2019). Belgium
- IDF: The International Diabetes Federation International Diabetes Federation, 2019. Diabetes atlas. 9th ed. Brussels, Belgium: IDF. Available from: diabetesatlas.org/
- Ikwuchi, C. C. (2009). Alteration of plasma lipid profiles and atherogenic indices by *Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl). *Biokemistri*, 21(2).
In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. Clin Chem Toronto.1238-41.
- Inoguchi, T., Sonta, T., Tsubouchi, H., Etoh, T., Kakimoto, M., Sonoda, N., & Nawata, H. (2003). Protein kinase C–dependent increase in reactive oxygen species (ROS) production in vascular tissues of diabetes: role of vascular NAD (P) H oxidase. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14(suppl 3), S227-S232.
- Inzucchi, S. E., Maggs, D. G., Spollett, G. R., Page, S. L., Rife, F. S., Walton, V., & Shulman, G. I. (1998). Efficacy and metabolic effects of metformin and troglitazone in type II diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 338(13), 867-873.
- Iserin, P., Masson, M., Restellini, J., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., & Vican, P. (2001). Larousse des plantes médicinales: identification, préparation, soins. 2^{ème} édition Larousse, VUEF, pp13-16, 291-296.
- Ismail, O. Z., & Bhayana, V. (2017). Lipase or amylase for the diagnosis of acute pancreatitis? *Clinical Biochemistry*, 50(18), 1275-1280.
- Issad, T., & Kuo, M. (2008). O-GlcNAc modification of transcription factors, glucose sensing and glucotoxicity. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 19(10), 380-389.
- Jarald, E., Joshi, S. B., & Jain, D. (2008). Diabetes and herbal medicines. *Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics*, 97-106.
- Ji, M., Barnwell, C. V., & Grunden, A. M. (2015). Characterization of recombinant glutathione reductase from the psychrophilic antarctic bacterium *Colwellia psychrerythraea*. *Extremophiles*, 19(4), 863–874. <https://doi.org/10.1007/s00792-015-0762-1>.

- Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(2), 213-217.
- Junge, W., Wilke, B., Halabi, A., & Klein, G. (2004). Determination of reference intervals for serum creatinine, creatinine excretion and creatinine clearance with an enzymatic and a modified Jaffe method. *Clinica Chimica Acta*, 344(1-2), 137-148.
- Kanti Das, T., Wati, M. R., & Fatima-Shad, K. (2015). Oxidative stress gated by Fenton and Haber Weiss reactions and its association with Alzheimer's disease. *Archives of Neuroscience*, 2(2).
- Kaplan LA, Rubaltelli FF, Hammerman C, Vilei MT, Leiter C, Abramov A. (1984). Bilirubin.
- Karimulla, S., Kumar, B.P., 2011. Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology Anti diabetic and Anti hyperlipidemic activity of bark of Bruguiera gymnorhiza on streptozotocin induced diabetic rats. *Asian J. Pharm. Sci. Technol.* 1, 4– 7.
- Kashikar, V. S., & Kotkar, T. (2011). Indigenous remedies for diabetes mellitus. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 22-29.
- Ketterer, B. (2001). A bird's eye view of the glutathione transferase field. *Chemico-Biological Interactions*, 138(1), 27-42.
- Khajuria, A., Gupta, A., Suden, P., Singh, S., Malik, F., Singh, J., & Qazi, G. N. (2008). Immunomodulatory activity of biopolymeric fraction BOS 2000 from *Boswellia serrata*. *Phytotherapy Research*, 22(3), 340-348.
- Khan, M. A., Ali, R., Parveen, R., Najmi, A. K., & Ahmad, S. (2016). Pharmacological evidences for cytotoxic and antitumor properties of Boswellic acids from *Boswellia serrata*. *Journal of ethnopharmacology*, 191, 315-323.
- Kilpatrick, E. S., Rigby, A. S., & Atkin, S. L. (2007). Insulin resistance, the metabolic syndrome, and complication risk in type 1 diabetes: “double diabetes” in the diabetes control and complications trial. *Diabetes care*, 30(3), 707-712.
- Kim, J., Kim, J. H., Sohn, K. Y., Yoon, S. Y., & Kim, J. W. (2019). 1-Palmitoyl-2-linoleoyl-3-acetyl-rac-glycerol attenuates streptozotocin-induced pancreatic beta cell damage by promoting glucose transporter 2 endocytosis. *Molecular and Cellular Biology*, 39(21), e00157-19.
- King, K. D., Jones, J. D., & Warthen, J. (2005). Microvascular and macrovascular complications of diabetes mellitus. *American Journal of Pharmaceutical Education*, 69(5).

- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(4), 165-177.
- Kofoed-Enevoldsen, A., Jensen, T., Borch-Johnsen, K., & Deckert, T. (1987). Incidence of retinopathy in type I [insulin-dependent] diabetes: association with clinical nephropathy. *Journal of Diabetic Complications*, 1(3), 96-99.
- Kolm-Litty, V., Sauer, U., Nerlich, A., Lehmann, R., & Schleicher, E. D. (1998). High glucose-induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *The Journal of Clinical Investigation*, 101(1), 160-169.
- Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrović, P., & Van Griensven, L. (2015). Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules*, 20(10), 19489-19525.
- Krentz, A. J., & Bailey, C. J. (2005). Oral diabetic agents current role in type 2 diabetes melitus. *Review Article*, 65(3), 394.
- Krippeit-Drews, P., Lang, F., Häussinger, D., & Drews, G. (1994). H₂O₂ induced hyperpolarization of pancreatic B-cells. *Pflügers Archiv*, 426(6), 552-554.
- Krisanapun, C., Peungvicha, P., Temsiririrkkul, R., & Wongkrajang, Y. (2009). Aqueous extract of *Abutilon indicum* Sweet inhibits glucose absorption and stimulates insulin secretion in rodents. *Nutrition research*, 29(8), 579-587.
- Krüger, P., Daneshfar, R., Eckert, G. P., Klein, J., Volmer, D. A., Bahr, U., & Abdel-Tawab, M. (2008). Metabolism of boswellic acids in vitro and in vivo. *Drug Metabolism and Disposition*, 36(6), 1135-1142.
- Kulshreshtha, M. J., Kulshreshtha, D. K., & Rastogi, R. P. (1972). The triterpenoids. *Phytochemistry*, 11(8), 2369-2381.
- KurrleWeittenhiller, A., Holzel, W., Engel, D., Finke, J., & Klein, G. (1996). Method for the determination of total and pancreatic alpha-amylase based on 100% cleavage of the protected substrate ethylidene-4-nitrophenyl-maltoheptaoside. *Clinical Chemistry*, 42(6), 14-14.
- Kusari, J., Zhou, S., Padillo, E., Clarke, K. G., & Gil, D. W. (2007). Effect of memantine on neuroretinal function and retinal vascular changes of streptozotocin-induced diabetic rats. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 48(11), 5152-5159.
- Landon, M.B and Gabbe, S.G. (2011). Gestational Diabetes Mellitus. *Obstetrics & Gynecology*, 118(6), 1379- 1393.

- Langenheim, J. H. (2003). *Plant resins: chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany* (No. 620.1924 L275p). Oregon, US: Timber Press.
- Langsjoen, P. H., & Langsjoen, A. M. (2003). The clinical use of HMG CoA-reductase inhibitors and the associated depletion of coenzyme Q10. A review of animal and human publications. *Biofactors*, *18*(1-4), 101-111.
- Lazo-de-la-Vega-Monroy, M., & Fernández-Mejía, C. Oxidative stress in diabetes mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Disease s-A Role for Antioxidants*.
- Lee, A. L., Chen, B. C., Mou, C. H., Sun, M. F., & Yen, H. R. (2016). Association of traditional Chinese medicine therapy and the risk of vascular complications in patients with type II diabetes mellitus: a nationwide, retrospective, Taiwanese-registry, cohort study. *Medicine*, *95*(3).
- Levine, R. L. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radical Biology and Medicine*, *32*(9), 790-796.
- Leybold, A., & Junge, W. (1986). Importance of colipase for the measurement of serum lipase activity. *Advances in Clinical Enzymology*, *4*, 60-7.
- Lorentz, K. (1998). Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes part 9. IFCC method for α -amylase (1, 4- α -D-Glucan 4-Glucanohydrolase, EC 3.2. 1.1). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, *36*(3)
- Maahs, D. M., West, N. A., Lawrence, J. M., & Mayer-Davis, E. J. (2010). Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, *39*(3), 481-497.
- Madhuri, K., & Naik, P. R. (2017). Modulatory effect of garcinol in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, *123*(5), 322-329.
- Majeed, M., Narayanan, N. K., Choudhury, A., Mundkur, L., & Nanjundaiah, S. (2020). Boswellin anti-Inflammatory adaptogen from nature. Nutriscience Publishers.
- Mamun-or-Rashid, A. N. M., Hossain, M. S., Hassan, N., Dash, B. K., Sapon, M. A., & Sen, M. K. (2014). A review on medicinal plants with antidiabetic activity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *3*(4), 149-159.
- Manallah, A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. (Mémoire de Master, Université Ferhat Abbas-Sétif). <https://mmagister.univ-setif.dz/images/facultes/SNV/2012/manallah%20ahlem.PDF>
- Maritim, A. C., Sanders, A., & Watkins Iii, J. B. (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, *17*(1), 24-38.

- Marnett, L. J. (1999). Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424(1-2), 83-95.
- Marrs K. A. (1996). The functions and regulation of glutathione s-transferases in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47, 127–158.
- Masubuchi, N., Sugihara, M., Sugita, T., Amano, K., Nakano, M., & Matsuura, T. (2016). Oxidative stress markers, secondary bile acids and sulfated bile acids classify the clinical liver injury type: Promising diagnostic biomarkers for cholestasis. *Chemico-Biological Interactions*, 255, 83-91.
- Mathe, C., Culioli, G., Archier, P., & Vieillescazes, C. (2004). Characterization of archaeological frankincense by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1023(2), 277-285.
- Matsuzaki, Y., Kawaguchi, E., Morita, Y., Mashige, F., Ohisa, S., & Nakahara, K. (1996). Evaluation of two kinds of reagents for direct determination of HDL-cholesterol. *Journal of Analytical Bio-Science*, 19, 419-27.
- Mawa, J., Rahman, M. A., Hashem, M. A., & Hosen, M. J. (2019). *Leea macrophylla* root extract upregulates the mRNA expression for antioxidative enzymes and repairs the necrosis of pancreatic β -cell and kidney tissues in fructose-fed Type 2 diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110, 74-84.
- Mehana, E. E., Meki, A. R. M., & Fazili, K. M. (2012). Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxicity in rats. *Experimental and Toxicological Pathology*, 64(4), 291-295.
- Mehrzadi, S., Tavakolifar, B., Huseini, H. F., Mosavat, S. H., & Heydari, M. (2018). The effects of *Boswellia serrata* gum resin on the blood glucose and lipid profile of diabetic patients: A double-blind randomized placebo-controlled clinical trial. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 23, 2515690X18772728.
- Molehin, O. R., Oloyede, O. I., & Adefegha, S. A. (2018). Streptozotocin-induced diabetes in rats: effects of white butterfly (*Clerodendrum volubile*) leaves on blood glucose levels, lipid profile and antioxidant status. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 28(8), 573-586.
- Monnier, L. (2014). *Diabétologie*. 2e édition. Elsevier Masson. 2014. 432 p. ISBN : 978-2-294-73954-5.
- Morón, Ú. M., & Castilla-Cortázar, I. (2012). Protection against oxidative stress and “IGF-I deficiency conditions”. *Antioxidant Enzyme*, 89.

- Mota, M., Banini, B. A., Cazanave, S. C., & Sanyal, A. J. (2016). Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*, 65(8), 1049-1061.
- Murray, R. L., & Kaplan, A. (1984). Alanine aminotransferase. *Clinical Chemistry. Theory, analysis and correlation*. Kaplan LA, Pesce AJ (Eds), CV Mosby St Louis, 1090.
- Murray, R., & Kaplan, A. (1984). Aspartate aminotransferase. *Clinical Chemistry. Theory, analysis and correlation*. Kaplan LA, Pesce AJ (Ed), CV Mosby Company, 1105-8.
- Naito, H. K., & Kaplan, A. Q. (1984). High-density lipoprotein (HDL) cholesterol. *Clinical Chemistry Toronto. Princeton*, 1207-1213.
- Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019.
- Narayanan, P. K., Goodwin, E. H., & Lehnert, B. E. (1997). α particles initiate biological production of superoxide anions and hydrogen peroxide in human cells. *Cancer Research*, 57(18), 3963-3971.
- Naziroğlu, M., & Butterworth, P. J. (2005). Protective effects of moderate exercise with dietary vitamin C and E on blood antioxidative defense mechanism in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30(2), 172-185.
- Negre-Salvayre, A., Salvayre, R., Augé, N., Pamplona, R., & Portero-Otin, M. (2009). Hyperglycemia and glycation in diabetic complications. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11(12), 3071-3109.
- Neumann, U., Junius, M., & Batz, H. (1987). New substrates for the optical determination of lipase. Eur Patent, 207252.
- Nightingale, J. A., Rogers, D. F., & Barnes, P. J. (1999). Effect of inhaled ozone on exhaled nitric oxide, pulmonary function, and induced sputum in normal and asthmatic subjects. *Thorax*, 54(12), 1061-1069.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A., & Olokoba, L. B. (2012). Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman Medical Journal*, 27(4), 269.
- Omoruyi, F. O., Budiaman, A., Eng, Y., Olumese, F. E., Hoesel, J. L., Ejilemele, A., & Okorodudu, A. O. (2013). The potential benefits and adverse effects of phytic acid supplement in streptozotocin-induced diabetic rats. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013.

- Organisation mondiale de la santé. Classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization; 2019. Available from: [https:// apps.who.int/iris/handle/10665/325182](https://apps.who.int/iris/handle/10665/325182).
- Oyedemi, S. O., Adewusi, E. A., Aiyegoro, O. A., & Akinpelu, D. A. (2011). Antidiabetic and haematological effect of aqueous extract of stem bark of *Azela africana* (Smith) on streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(5), 353-358.
- Oyedemi, S. O., Yakubu, M. T., & Afolayan, A. J. (2011). Antidiabetic activities of aqueous leaves extract of *Leonotis leonurus* in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(1), 119-125.
- Ozcan, A., & Ogun, M. (2015). Biochemistry of reactive oxygen and nitrogen species. Basic principles and clinical significance of oxidative stress, 3, 37-58.
- Panta, S., Malviya, R., & Sharma, P. (2015). Extraction and Characterization of *Boswellia Serrata* Gum as Pharmaceutical Excipient. *Polimery w Medycynie*, 45(1), 25-30.
- Persijn, J. P., & van der Slik, Á. (1976). A new method for the determination of γ -glutamyltransferase in serum.
- Pesce, A. (1984). Lactate dehydrogenase. Kaplan A et al. *Clinical Chemistry. The CV Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*, 1124-1117.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26.
- Pillon, F., Tan, K., Jouty, P., & Frullani, Y. (2014). Le traitement médicamenteux du diabète de type 2. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(541), 23-28.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11).
- Prasad, A. S., Bao, B., Beck, F. W., Kucuk, O., & Sarkar, F. H. (2004). Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(8), 1182-1190.
- Prasad, S. K., Kulshreshtha, A., & Qureshi, T. N. (2009). Antidiabetic activity of some herbal plants in streptozotocin induced diabetic albino rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(5), 551-557.
- Prouillac, C. (2006). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III).

- Punithavathi, V. R., Anuthama, R., & Prince, P. S. M. (2008). Combined treatment with naringin and vitamin C ameliorates streptozotocin-induced diabetes in male Wistar rats. *Journal of Applied Toxicology*, 28(6), 806-813.
- Raccach, D. (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*, 1(1), 29-42.
- Rafiq, M.D., Viswanatha, G. L., Azeemuddin, M. M., Suryakanth, D. A., Kumar, V. U., & Patki, P. S. (2012). Cystone, a well-known herbal formulation improves renal function in rats with acute renal failure (ARF) induced by Glycerol intoxication. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*, 11(2), 40-44.
- Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2), 219.
- Rajagopal, K., & Sasikala, K. (2008). Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of *Nymphaea stellata* in alloxan-induced diabetic rats. *Singapore Medical Journal*, 49(2), 137.
- Rajasekaran, S., Sivagnanam, K., & Subramanian, S. (2005). Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacological Reports*, 57(1), 90-6.
- Rajendiran, D., Packirisamy, S., & Gunasekaran, K. (2018). A review on role of antioxidants in diabetes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(2), 48–53.
- Ramalingam, S., Karuppiah, M., & Thiruppathi, M. (2020). Antihyperglycaemic potential of rosmarinic acid attenuates glycoprotein moiety in high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic rats. *All Life*, 13(1), 120-130.
- Raverot, G. (2005). Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. *Hippocrate*. Paris, 6-20.
- Rodier, M (2011). Définition et classification du diabète. Médecine nucléaire imagerie fonctionnelle et métabolique. *Edition Centre Hospitalier Universitaire-Nimes*, 25(2): 91-93.
- Ronco, C., Grammaticopoulos, S., Rosner, M., De Cal, M., Soni, S., Lentini, P., & Piccinni, P. (2010). Oliguria, creatinine and other biomarkers of acute kidney injury. *Fluid Overload*, 164, 118-127.
- Saad, E. A., El-Gayar, H. A., El-Demerdash, R. S., & Radwan, K. H. (2018). Frankincense administration antagonizes adenine-induced chronic renal failure in rats. *Pharmacognosy Magazine*, 14(58), 634.

- Saini, S., & Sharma, S. (2013). Antidiabetic effect of *Helianthus annuus* L., seeds ethanolic extract in streptozotocinnicotinamide induced type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 382-387.
- Sakuntala, D. P. R. (2012). Safety Evaluation of Alcoholic Extract of *Boswellia ovalifoliolata* Stem-bark in Rats. *Toxicology International*, 19, 115-120.
- Saliu, J. A., Elekofehinti, O. O., Komolafe, K., & Oboh, G. (2012). Effects of some green leafy vegetables on the haematological parameters of diabetic rats. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 2(4), 482-5.
- Sami, M. M., Ali, E. A., Galhom, R. A., Youssef, A. M., & Mohammad, H. M. (2019). Boswellic acids ameliorate doxorubicin-induced nephrotoxicity in mice: a focus on antioxidant and antiapoptotic effects. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(1), 10-24.
- Sampson, E. J., Baird, M. A., Burtis, C. A., Smith, E. M., Witte, D. L., & Bayse, D. D. (1980). A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. *Clinical Chemistry*, 26(7), 816-826.
- Saxena A. (2006). *Textbook of biochemistry*. New Dehli: Discovery. Chapter, Fundamentals of Biochemistry; p56-7.
- Schena, F. P., & Gesualdo, L. (2005). Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(3 suppl 1), S30-S33.
- Schrader, M., & Fahimi, H. D. (2006). Peroxisomes and oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1763(12), 1755-1766.
- Selvaraj, G., Kaliamurthi, S., & Thirugnasambandan, R. (2016). Effect of glycosin alkaloid from *Rhizophora apiculata* in non-insulin dependent diabetic rats and its mechanism of action: in vivo and in silico studies. *Phytomedicine*, 23(6), 632-640.
- Selvaraj, N., Bobby, Z., & Sathiyapriya, V. (2006). Effect of lipid peroxides and antioxidants on glycation of hemoglobin: an in vitro study on human erythrocytes. *Clinica Chimica Acta*, 366(1-2), 190-195.
- Seven, A., Güzel, S., Seymen, O., Civelek, S., Bolayırlı, M., Uncu, M., & Burçak, G. (2004). Effects of vitamin E supplementation on oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats: investigation of liver and plasma. *Yonsei Medical Journal*, 45(4), 703-710.
- Sharkawi, S. M., El-Shoura, E. A., Abo-Youssef, A. M., & Hemeida, R. A. (2020). The potential hepatoprotective effects of lovastatin combined with oral hypoglycemic agents in

- streptozotocin-induced diabetes in rats. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 42(2), 165-173.
- Shelowann, D. (2006). *Boswellia* spp. frankincense plant monograph. *Herbal Medicine*, 7(14), 2-8.
- Siddiqui, M. Z. (2011). *Boswellia serrata*, a potential antiinflammatory agent: an overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(3), 255.
- Silva, J. P., & Coutinho, O. P. (2010). Free radicals in the regulation of damage and cell death--basic mechanisms and prevention. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 4(3).
- Simó, R., & Hernández, C. (2002). Treatment of diabetes mellitus: general goals, and clinical practice management. *Revista española de cardiología*, 55(8), 845-860
- Simon, É. (2012). Participation des facteurs nutritionnels et environnementaux au vieillissement de la rétine et aux rétinopathies liées à l'âge (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne).
- Singh, P., Chacko, K. M., Aggarwal, M. L., Bhat, B., Khandal, R. K., Sultana, S., & Kuruvilla, B. T. (2012). A-90 Day Gavage Safety Assessment of *Boswellia serrata* in Rats. *Toxicology International*, 19(3), 273–278. <https://doi.org/10.4103/0971-6580.103668>.
- Singh, S., Khajuria, A., Taneja, S. C., Johri, R. K., Singh, J., & Qazi, G. N. (2008). Boswellic acids: A leukotriene inhibitor also effective through topical application in inflammatory disorders. *Phytomedicine*, 15(6-7), 400-407.
- Slama, K., Boumendjel, M., Taibi, F., Boumendjel, A., & Messarah, M. (2020). Atriplex halimus aqueous extract abrogates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity by modulating biochemical and histological changes in rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 126(1), 49-60.
- Sodipo, M. A., Oluwamukomi, M. O., Agbede, J. O., & Oboh, G. (2020). In vitro antioxidants and haematological and nephroprotective effects of biscuits produced from three medicinal flour blends fed to high-fat diet/streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. *Comparative Clinical Pathology*, 29(6), 1137-1145.
- Stamler, J., Vaccaro, O., Neaton, J. D., Wentworth, D., & Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. (1993). Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care*, 16(2), 434-444.
- Starkov, A. A. (2008). The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and signaling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1147, 37.

- Steinberg, W. M., Goldstein, S. S., Davis, N. D., Shamma'a, J. O. H. N., & Anderson, K. (1985). Diagnostic assays in acute pancreatitis: a study of sensitivity and specificity. *Annals of Internal Medicine*, 102(5), 576-580.
- Stevenson, D. E., & Hurst, R. D. (2007). Polyphenolic phytochemicals—just antioxidants or much more? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(22), 2900-2916.
- Sugiuchi, H., Uji, Y., Okabe, H., Irie, T., Uekama, K., Kayahara, N., & Miyauchi, K. (1995). Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated alpha-cyclodextrin. *Clinical Chemistry*, 41(5), 717-723.
- Szasz, G. (1974). Gamma-Glutamyltranspeptidase: [Methoden der enzymatischen Analyse//HU Bergmeyer].
- Takamoto, I., & Kadowaki, T. (2011). Treatment of diabetes mellitus with oral hypoglycemic agents. *Nihon rinsho. Japanese Journal of Clinical Medicine*, 69(3), 563-572.
- Tan, L., Showalter, A. M., Egelund, J., Hernandez-Sanchez, A., Doblin, M. S., & Bacic, A. F. (2012). Arabinogalactan-proteins and the research challenges for these enigmatic plant cell surface proteoglycans. *Frontiers in Plant Science*, 3, 140.
- Tang, J., Neidigh, J. L., Cooksey, R. C., & McClain, D. A. (2000). Transgenic mice with increased hexosamine flux specifically targeted to beta-cells exhibit hyperinsulinemia and peripheral insulin resistance. *Diabetes*, 49(9), 1492-1499.
- Tebboub, I., & Kechrid, Z. (2021). Effect of curcuma on zinc, lipid profile and antioxidants levels in blood and tissue of streptozotocin-induced diabetic rats fed zinc deficiency diet. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 127(2), 162-169.
- Thannickal, V. J., & Fanburg, B. L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279(6), L1005-L1028.
- Thent, Z. C., & Abd Latiff, A. (2018). Savior of diabetes: Antioxidants. *Diabetes Food Plan*.
- Thent, Z. C., & Das, S. (2015). Piper sarmentosum maintains blood pressure and morphological integrity of liver in type 1 diabetic rats. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 4, 24-28.
- Thomas, C. C., Philipson, L. H. (2015). Update on diabetes classification. *Medical Clinics of North America*, 99(1), 1-16.
- Tiffany, T. O., Jansen, J. M., Burtis, C. A., Overton, J. B., & Scott, C. D. (1972). Enzymatic kinetic rate and end-point analyses of substrate, by use of a GeMSAEC fast analyzer. *Clinical Chemistry*, 18(8), 829-840.
- Trinder P. (1996). *Ann Clin biochem*. 6: 24-33.

- Tuomilehto, J., Lindström, J., Eriksson, J. G., Valle, T. T., Hämäläinen, H., Ilanne-Parikka, P., & Uusitupa, M. (2001). Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New England Journal of Medicine*, *344*(18), 1343-1350.
- Upaganlawar, A., & Ghule, B. (2009). Pharmacological activities of *Boswellia serrata* Roxb.-mini review. *Ethnobotanical Leaflets*, *2009*(6), 10.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *39*(1), 44-84.
- Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, *160*(1), 1-40.
- Vinayagam, R., & Xu, B. (2015). Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutrition & Metabolism*, *12*(1), 1-20.
- Vipin, A. V., Rao, R., Kurrey, N. K., KA, A. A., & Venkateswaran, G. (2017). Protective effects of phenolics rich extract of ginger against Aflatoxin B1-induced oxidative stress and hepatotoxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *91*, 415-424.
- Wautier, M. P., Tessier, F. J., & Wautier, J. L. (2014). Advanced glycation end products: A risk factor for human health. In *Annales pharmaceutiques francaises*, Vol. 72, No. 6, pp. 400-408.
- Webster, D., Bignell, A. H. C., & Attwood, E. C. (1974). An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clinica Chimica Acta*, *53*(1), 101-108.
- Weckbecker, G., & Cory, J. G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*, *40*(3), 257-264.
- Weiss, W. P., & Spears, J. W. (2006). Vitamin and trace mineral effects on immune function of ruminants. *Ruminant Physiology*, 473-496.
- West, I. C. (2000). Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*, *17*(3), 171-180.
- Whiteman, M., Ketsawatsakul, U., & Halliwell, B. (2002). A reassessment of the peroxynitrite scavenging activity of uric acid. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *962*(1), 242-259.
- Winn-Deen, E. S., David, H., Sigler, G., & Chavez, R. (1988). Development of a direct assay for alpha-amylase. *Clinical chemistry*, *34*(10), 2005-2008.

- Wolf, G. (2005). Mécanismes moléculaires de l'atteinte rénale d'origine diabétique. *Actualités Néphrologiques Jean Hamburger*, 205-216.
- Wolfe, K., Wu, X., & Liu, R. H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 609-614.
- Wolff, S. P., & Dean, R. T. (1987). Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of 'autoxidative glycosylation' in diabetes. *Biochemical journal*, 245(1), 243-250.
- World Health Organisation. (2011^a). Global status report on non-communicable diseases 2010.
- World Health Organization. (2011^b). Statistiques sanitaires mondiales 2011.
- Xia, P., Inoguchi, T., Kern, T. S., Engerman, R. L., Oates, P. J., & King, G. L. (1994). Characterization of the mechanism for the chronic activation of diacylglycerol-protein kinase C pathway in diabetes and hypergalactosemia. *Diabetes*, 43(9), 1122-1129.
- Xie, Z., Wu, B., Shen, G., Li, X., & Wu, Q. (2018). Curcumin alleviates liver oxidative stress in type 1 diabetic rats. *Molecular Medicine Reports*, 17(1), 103-108.
- Young, I. S., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176-186.
- Zafar, M., & Naqvi, S. N. U. H. (2010). Effects of STZ-Induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats: a comparative study. *International Journal of Morphology*, 28(1).
- Zaki, A. A., Hashish, N. E., Amer, M. A., & Lahloub, M. F. (2014). Cardioprotective and antioxidant effects of oleogum resin "Olibanum" from *Boswellia carteri* Birdw. (Bursaceae). *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(5), 345-350.
- Zhang, H., & Forman, H. J. (2012). Glutathione synthesis and its role in redox signaling. In *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 23(7), 722-728.
- Zhang, Q., Li, N., Zhou, G., Lu, X., Xu, Z., & Li, Z. (2003). In vivo antioxidant activity of polysaccharide fraction from *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) in aging mice. *Pharmacological Research*, 48(2), 151-155.
- Zhang, Y., Lu, X., Hong, J., Chao, M., Gu, W., Wang, W., & Ning, G. (2010). Positive correlations of liver enzymes with metabolic syndrome including insulin resistance in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*, 38(2), 181-187.


**Annexe 1 : Dosage des paramètres biochimiques selon les fiches techniques «
Roche »**

1. Dosage de l'albumine


 **Echantillon:** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	Tampon citrate	95 mmol/L
R2	-Vert de bromocrésol pH 4,1 - Tampon citrate	0,66 mmol/L 95 mmol/L

 **Mode opératoire**

	Quantité en μL	Diluant (H_2O) μL
R1	100	0
Echantillons	2	20
R2	20	0

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

2. Dosage des protéines totales

 **Echantillons :** Sérum


 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	-Hydroxyde de sodium -Tartrate de potassium et de sodium (pH 13,4)	400 mmol/L 89 mmol/L
R2	-Hydroxyde de sodium	400 mmol/L 89 mmol/L

	-Tartrate de potassium et de sodium	61 mmol/L
	-Iodure de potassium	24,3 mmol/L
	-Sulfate de cuivre (pH 13,2)	

Mode opératoire

	Quantité en μL	Diluant (H ₂ O) μL
R1	90	0
Echantillons	2	28
R2	32	0

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

3. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALT)

 **Echantillons :** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	-Tris -L-alanine -Albumine -LDH	224 mmol/L 1120 mmol/L 0,25 % >45 ukat/L
R2	- α -Cétoglutarate -NADH	94 mmol/L 1,7 mmol/L

Mode opératoire

	Quantité en μL	Diluant (H ₂ O) μL
R1	59	0

Echantillons	9	15
R2	17	0

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

4. Dosage de l'aspartate aminotransférase (AST)

 **Echantillons :** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	-Tris pH 7,8	264 mmol/L
	-L-aspartate	792 mmol/L
	-MDH	24 ukat/L
	-LDH	48 ukat/L
	-Albumine	0,25 %
R2	- α -Cétoglutarate	94 mmol/L
	-NADH	1,7 mmol/L

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

5. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)

 **Echantillons :** Sérum


 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	-Amino-2 méthyl-2 propanol	1,724 mmol/L
	-Acétate de magnésium	3,38 mmol/L

	-Sulfate de zinc	0,766 mmol/L
	-Acide N-(hydroxy-2 éthyl)-éthylènediaminetriacétique	3,83 mmol/L
R2	-p-nitrophénylphosphate	132,8 mmol/L

Mode opératoire

	Quantité en μL	Diluant (H_2O) μL
R1	75	0
Echantillons	2,75	20
R2	17	0

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

6. Dosage de la lactate déshydrogénase (LDH)

 **Echantillons:** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	-N-méthylglucamine -Acétate de lithium	400 mmol/L 62 mmol/L
R2	- NAD	62 mmol/L

Mode opératoire

R1(μL)	100
Echantillons (μL)	2,8
R2(μL)	20


 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en de chaque échantillon.

7. Dosage de la γ -glutamyltransférase (GGT)

 **Echantillons :** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	-Tris pH 8,25	492 mmol/L
	-Glycylglycine	492 mmol/L
R2	-L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide	22,5 mmol/L
	-Acétate pH 4,5	10 mmol/L

 **Mode opératoire**

	Quantité en μ L	Diluant (H ₂ O) μ L
R1	25	0
Echantillons	3	15
R2	20	0

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

8. Dosage de la bilirubine totale

 **Echantillons :** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	- Acide phosphorique	85 mmol/L
	- NaCl	50 mmol/L

R2	- Dichloro-3,5 phényldiazonium	1,5 mmol/L
-----------	-----------------------------------	------------

Mode opératoire

R1 (µL)	120
Echantillons (µL)	6,7
R2 (µL)	24

9. Dosage de l'α-amylase

 **Echantillons** : Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	-Tampon HEPES -Chlorure de sodium -Chlorure de calcium -Chlorure de magnésium -α-Glucosidase	52,4 mmol/L 87 mmol/L 0,08 mmol/L 12,6 mmol/L 66,8 µkat/L
R2	-HEPES -Ethylidène-G ₇ -PNP	52,4 mmol/L 22 mmol/L

HEPES : acide [(hydroxy-2 éthyl)-4 pipérazino-1]-2 éthanesulfonique

Mode opératoire

	Quantité en µL	Diluant (H ₂ O) µL
R1	100	0
Echantillons	4	4
R2	20	0

 **Calcul des résultats** : les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

10. Dosage de la lipase

 **Echantillons:** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	-Tampon BICINE -Colipase -Chlorure de calcium -Déoxycholate sodique	50 mmo/L 0,9 mg/L 10 mmo/L 1,6 mmol/L
R2	-Tampon tartrate -Eester de 1,2-O-dilauryl-rac-glycéro3-acide glutarique et de la méthyl-6 résorufine -Taurodésoxycholate	10 mmo/L 0,27 mmo/L 0,88 mmo/L

 **Mode Opérateur**

	Quantité en μL	Diluant (H ₂ O) μL
R1	80	0
Echantillons	2	20
R2	48	0

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

11. Dosage de la créatinine


 **Echantillons:** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	- Tampon TAPS - Créatinase - Sarcosine oxidase - Ascorbate oxidase - Catalase - HTIB	30 mmo/L 332 µkat/L 132 µkat/L 33 µkat/L 1,67 µkat/L 1,2 g/l
R2	- Tampon TAPS - Créatininase - Peroxidase - L'4-aminophenazone	50 mmo/L 498 µkat/L 16,6 µkat/L 0,5 g/l

Mode opératoire

	Quantité en µL	Diluant (H ₂ O) µL
R1	77	0
Echantillons	2	5
R2	38	0

 **Calcul des résultats** : les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

12. Dosage de l'acide urique

 **Echantillons**: Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	- Tampon phosphate - TOOS - Éther de polyglycol d'alcool gras - Ascorbate oxydase	0,05 mol/L 7 mmol/L 4,8 % 83,5 µkat/L

R2	- Tampon phosphate	0,1 mmo/L
	- Hexacyanoferrate de potassium	0,3 mmol/L
	- 4-aminophenazone	3 mmol/L
	- Uricase	83,4 μ kat/L
	- Peroxydase	50 μ kat/L

Mode opératoire

	Quantité en μ L	Diluant (H ₂ O) μ L
R1	72	0
Echantillons	3	20
R2	14	0

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

13. Dosage de l'urée


 **Echantillons:** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	- NaCl	9 %
R2	- Tampon Tris pH 8,6	220 mmol/L
	- 2-oxoglutarate	73 mmol/L
	- NADH	2,5 mmol/L
	- ADP	6,5 mmol/L
	- Urease	300 μ kat/L
	- GLDH	80 μ kat/L

Mode opératoire

	Quantité en μL	Diluant (H_2O) μL
R1	10	0
Echantillons	2	110
R2	38	0


 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

14. Dosage du cholestérol total

 **Echantillons :** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	- PIPES pH 6,8 - Mg^{+2} - Cholate de sodium - Phénol	225 mol/L 10 mmol/L 0,6 mmol/L 12,6 mmol/L
R2	- Cholestérol estérase (CHE) - Cholestérol oxydase (CHOD) - Peroxydase (POD) - 4 - Aminophénazone (4-AF)	25 $\mu\text{kat/L}$ 7,5 $\mu\text{kat/L}$ 12,5 $\mu\text{kat/L}$ 0,45 mmol/L

 **Mode opératoire**

	Quantité en μL	Diluant (H_2O) μL
R1	47	0
Echantillons	2	93
R2	20	0


 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

15. Dosage des triglycérides


 **Echantillons:** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	- PIPES pH 6,8 - Cholate de sodium - ATP	50 mol/L 0,20 mmol/L 1,4 mmol/L
R2	- Amino-4 phénazone - Chloro-4 phénol: - Lipoprotéine-lipase - Glycérokinase - Peroxydase - Glycérophosphate- oxydase	0,13 mmol/L 4,7 µkat/L 83 µkat/L 12,5 µkat/L 1,6 mmol/L 41 µkat/L

 **Mode opératoire**

	Quantité en µL	Diluant (H ₂ O) µL
R1	120	0
Echantillons	2	28
R2	20	0

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

16. Dosage de LDL


 **Echantillons:** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Mode opératoire

Réactifs	Composition	Concentration
R1	- Tampon Bis Tris pH=7,4 -4 – Aminophénazone - Ascorbate oxydase - Peroxydase - BSA	20,1 mol/L 0,98 mmol/L 66,7 µkat/L 166,7 µkat/L 4 g/L
R2	- MOPS Tampon pH=7 - Cholesterol esterase - Cholesterol oxydase - Peroxydase - BSA	20,1 mmol/L 33,3 µkat/L 31,7 µkat/L 333,3 µkat/L 4 g/L

	Quantité en µL
R1	150
Echantillons	2
R2	50

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

16. Dosage du HDL

 **Echantillons:** Sérum

 **Réactifs utilisés**

Réactifs	Composition	Concentration
R1	- HEPES ^b - CHES ^c - Sulfate de dextran - Nitrate de magnésium	10,7 mol/L 96,95 mmol/L 1,5 mmol/L 11,7 mmol/L


	- POD	16,7 μ kat/L
R2	- HEPES ^b - POD - CHOD - Amino-4 phénazone	10,7 mmol/L 333 μ kat/L 127 μ kat/L 2,46 mmol/L

b) acide [(hydroxy-2 éthyl)-4 pipérazino-1]-2 éthanesulfonique.

c) acide 2-(N-cyclohexylamino)-éthanesulfonique.

Mode opératoire

	Quantité en μ L	Diluant (H ₂ O) μ L
R1	150	0
Echantillons	2,5	7
R2	50	0

 **Calcul des résultats :** les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration de chaque échantillon.

Annexe 2 : Préparation des solutions

1. Dosage du glutathion (GSH)

- EDTA (0,02 M) : dissoudre 5,613 g EDTA dans 750 mL d'eau distillée.
- DTNB (0,01 M) : dissoudre 200 mg DTNB dans 50 mL de méthanol absolu.
- Acide salicylique (0,25%) : dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100 mL d'eau distillée.

2. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

- TCA (20 %) : dissoudre 20 g de TCA dans 100 mL d'eau distillée.
- Tris : dissoudre 0,15 g de tris dans 50 mL d'eau distillée.
- TBA (0,67 %) : dissoudre 0,33 g de TBA dans 50 mL de la solution tris

3. Dosage de la catalase (CAT)

- Tampon phosphate (0,1 M):
 - ✓ Solution (A): dissoudre 35,8 g de Na_2HPO_4 dans 1 L d'eau distillée
 - ✓ Solution (B): dissoudre 13,8 g de NaH_2PO_4 dans 1 L d'eau distillée.
 - ✓ Mélanger 61,5 ml de la solution (A) et 438,5 ml de la solution (B), et ajouter 21,39 g de saccharose.

4. Dosage de la glutathion peroxydase (GPx)

- TBS : Tris (50 mM), NaCl (150 mM) :
 - ✓ Dissoudre 8,775 g NaCl dans 1 L d'eau distillée, puis peser 6,057 g Tris et compléter le volume à 1 L par la solution NaCl (150 mM) et ajuster le pH à 7,4 en ajoutant HCl ou NaOH.
- GSH (0,1 mM) :
 - ✓ Dissoudre 3,073 mg GSH dans 100 mL d'eau distillée.
- TCA (1 %) :
 - ✓ Dissoudre 1g TCA dans 100 mL d'eau distillée.
- DTNB (0,1 mM) :

- ✓ Dissoudre 100 mg DTNB dans 250 mL de méthanol absolu.

5. Dosage de la glutathion S-transférase (GST)

- CDNB (0,02 M) :
 - ✓ Dissoudre 202,55 mg CDNB dans 50 mL d'éthanol absolu.
- GSH (0,1 M) :
 - ✓ Dissoudre 153,65 mg GSH dans 50 mL d'eau distillée.

6. Dosage des protéines

- BSA (1mg/ml) :
 - ✓ Dissoudre 5 mg BSA dans 5 mL d'eau distillée.
- Réactif de Bradford :
 - ✓ Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G250) dans 50 mL d'éthanol (95 %). Agiter avec un agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 mL d'acide orthophosphorique (85 %) et 850 mL d'eau distillée (pour obtenir 1 L de solution). Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1 mois au maximum à une température de 4 °C et à l'abri de la lumière.

Annexe 3: Courbes d'étalonnage

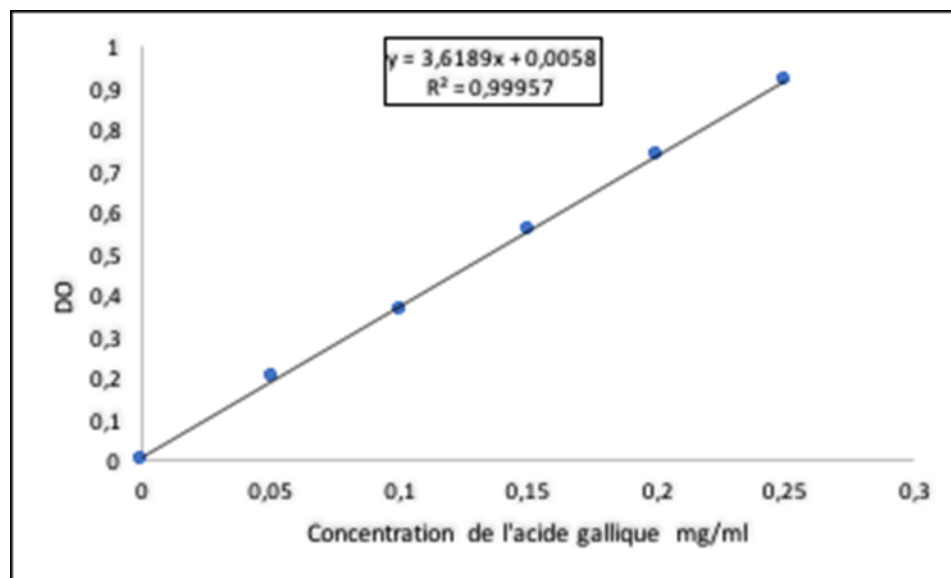


Figure A : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

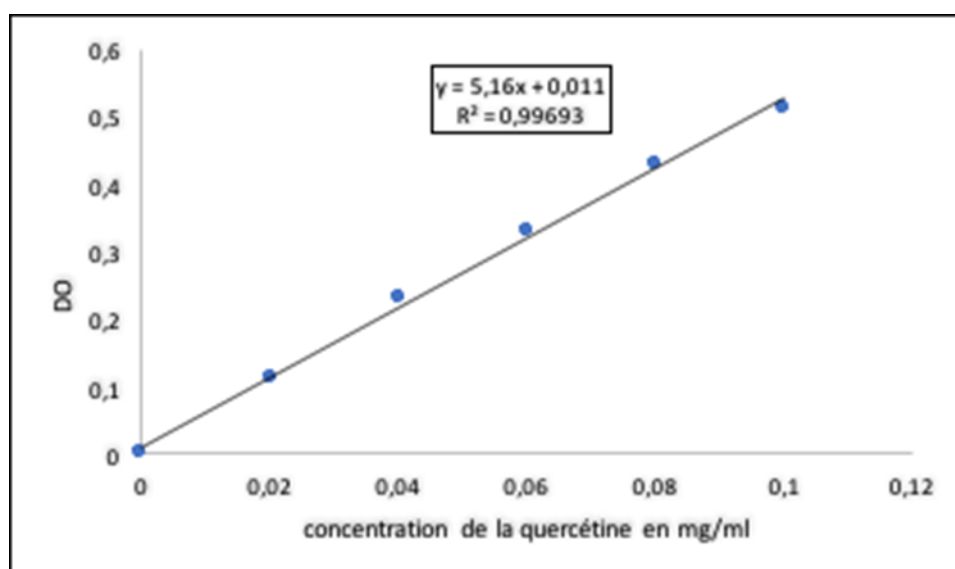


Figure B : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

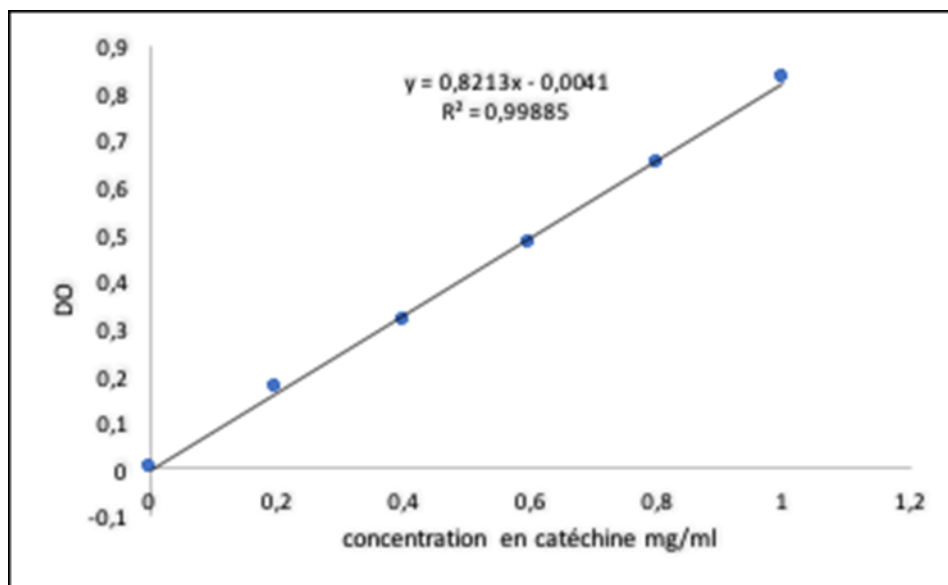


Figure C : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins

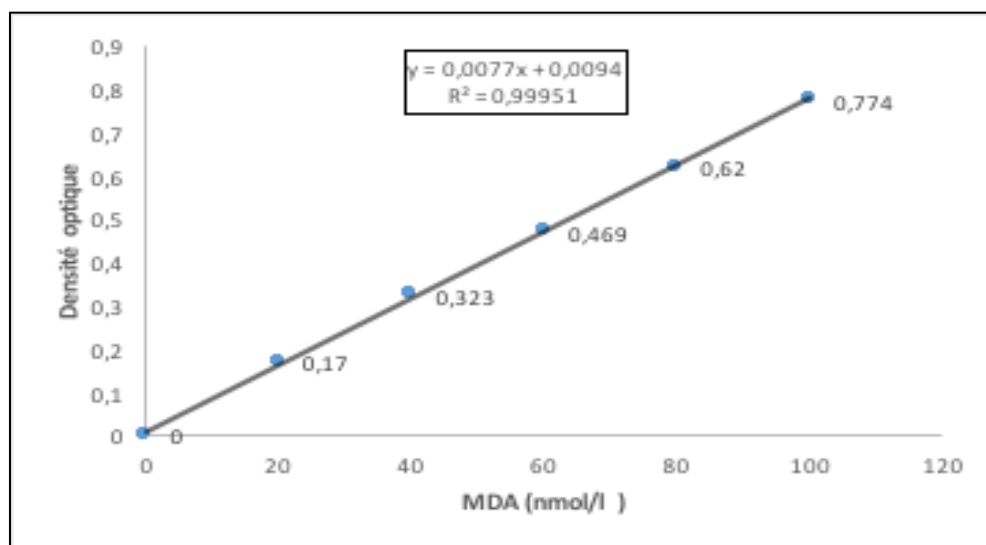


Figure D : Courbe standard pour le calcul du MDA

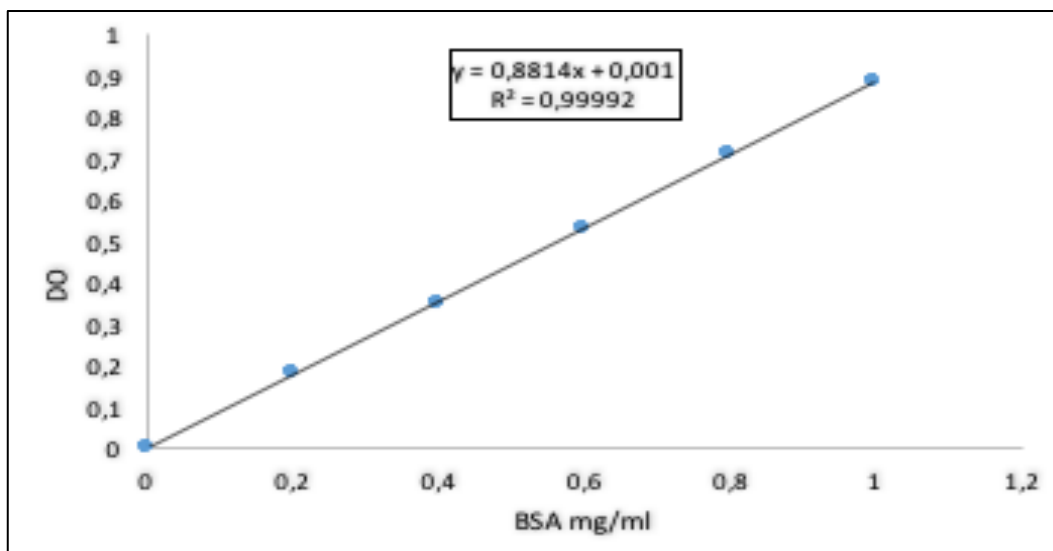


Figure E : Courbe d'étalonnage des protéines

Productions Scientifiques

Publication

- 1- **Kherouf, A.**, Aouacheri, O., Tichati, L., Tebboub, I., Kherouf, M., & Saka, S. (2021). Potential antioxidant properties and anti-diabetic and hepatic/pancreatic protective effects of dietary *Boswellia serrata* gum resin powder against oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comparative Clinical Pathology*, 30(6), 891-904.

Communications

- 1- **Kherouf A.**, kherouf M., Tebboub I., Chiniki M., Aouacheri O. The Antidiabetic and hypolipidemic effect of *Boswellia* resin in STZ induced diabetic rats. Sixième congrès international de biotechnologie et valorisation des bio-Ressources 20-23 Mars 2018 Tabarka – Tunisie.
- 2- **Kherouf A.**, kherouf M., Tebboub I., Chiniki M., Aouacheri O. Effect of dietary *Boswellia* resin on serum Biochemical parameters in the STZ induced diabetic rats. Premier colloque international de bio-ressources et économie bleue et verte 26-29 Avril 2018 Hammamet –Tunisie.
- 3- **Kherouf A.**, Chiniki M., SAAD S., Aouacheri O. Hepatoprotective and blood glucose lowering effects of *Boswellia* resine supplementation in STZ diabetic albino wistar rats. Séminaire National Biologie Environnement et Santé 8-9 Octobre 2018 université 20 Aout 1955 Skikda.
- 4- **Kherouf A.**, kherouf M., SAAD S., Aouacheri O. Etude de l'effet protecteur et du pouvoir antioxydant de la Résine de *Boswellia* (Frankincense) contre les conséquences métaboliques du diabète chez le rat wistar. 6ème Congrès Franco- Tunisien de Zoologie - 6ème Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie –Les 119èmes Journées Annuelles de la SZF 21-23 Novembre 2018 Paris-France.
- 5- **Kherouf A.**, SAAD S., Aouacheri O. Beneficial effects of Frankincense on physiological responses in STZ induced diabetic rats. Première journée national de médecine interne de Guelma (JNMIG) 22 Décembre 2018.
- 6- **Kherouf A.**, Aouacheri O., SAAD S., kherouf M. The protective effect of *Boswellia* Resin SUPPLEMENTATION IN STZ-induced diabetic rats : Evaluation of pancreatic biomarkers in

the serum. Première journée national sur cancer, environnement et Alimentation Boumerdès 4 Février 2019.

- 7- Kherouf M., Habbeche A., **Kherouf A.**, Ladjama A. Use of some agro industrial by products for Amylase production by *Actinomyces keratinilytica* strain under submerged fermentation. Séminaire international environnement et Toxicologie Sinentox Constantine 2019 18-19 Février 2019.
- 8- **Kherouf A.**, Aouacheri O., SAAD S. Estimation of plasma glucose level and differential effect of Frankincense *Burseraceae* supplemented diet on some indices of toxicity in nondiabetic and diabetic rats. 3th international congress of the Tunisian society of Biological Sciences (ATSB) 25-28 Mars 2019 Sousse- Tunisia.