

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

UNIVERSITE ABOU BAKR BELKAID TLMCEN

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

En vue de l'obtention du diplôme de master Académique

Filière : sciences biologiques

Spécialité : physiologie cellulaire et physiopathologie

THÈME

Étude des paramètres biochimiques du foie diabétique traité par le safran
chez les rats wistar.

Présenté par : MESSAOUDI DJAHIDA et HADDOU MAMA

Juin 2022

Devant le jury composé de :

PRÉSIDENT : Mme. H MERZOUK	PR	UNIVERSITE DE TLEMCEN
Examineur Mme. M. SAKER	PR	UNIVERSITE DE TLEMCEN
PROMOTEUR : Mme. B. LOUKIDI	PR	UNIVERSITE DE TLEMCEN

Année universitaire : 2021-2022

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pas pu aboutir à des résultats satisfaisants sans l'aide et les encouragements de plusieurs personnes que nous remercions.

Nous remercions tout d'abord le **Bon Dieu** pour nous avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

On tient tout particulièrement à remercier Madame « **LOUKIDI BOUCHRA** ». Notre encadrant, qui n'a pas ménagé le moindre effort pour nous assister dans le choix du thème et la réalisation du présent mémoire, l'expression de notre profonde gratitude quant à sa patience, le temps et l'attention qu'il nous a consacré.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions :

madame **MERZOUK HAFIDA**, Professeur à l'Université de Tlemcen. , pour m'avoir fait l'honneur d'assurer la présidence de ce jury

Madame **SAKER MERIEM**, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour avoir accepté d'être examinateur de ce travail.

Nous remercions tout particulièrement : la Doctorante mademoiselle « Nawel » qui nous a aidés et soutenus pendant la période de pratique dans notre mémoire, et qui n'a vraiment lésiné sur aucune information, merci profondément.

On remercie aussi tous les enseignants du Master « Physiologie cellulaire et physiopathologie ».

Finalement, Toute notre gratitude va pour ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

DÉDICACES

Je dédie ce travail à ma chère famille pour tous les sacrifices et leur soutien moral, avec toute mon affection et ma reconnaissance.

*A toi MAMAN « **ELMOUANI HASENAE** » la lumière de ma vie qui sans toi et sans le courage que tu m'as appris je n'aurai jamais pu continuer, Merci pour tout que tu m'as appris et tous ce que tu m'as donné.*

*A mon cher père « **BOUAZZA** » ma plus grande force.*

*A mes adorables sœurs **MERIEM, IKRAM, ZINEB** qui fait de mon univers une merveille, A mon frère Sid Ahmed, à qui je vous souhaite tout le bonheur du monde.*

*A mon cher marie « **Younes** » qui a toujours était à mes coté, merci pour sa patience et son encouragement et sa présence.*

*A ma fille « **Nihele Mourdjane** » que j'aime énormément et que dieu la protège*

*A ma sœur et mon binôme **MESSAOUDI DJAHIDA***

A mes beaux parents, Qui m'a toujours encouragé à approfondir mes connaissances.

*A mes beaux-frères : Mohamed **REDA, BILEL ET SIDAHMED**, à qui je souhaite une vie pleine de bonheur.*

À toute personne chère à mon cœur.

DÉDICACES

Je dédie ce travail à ma chère famille pour tous les sacrifices et leur soutien moral, avec toute mon affection et ma reconnaissance.

*A toi MAMAN « **DAHMANI RAFIKA** » la lumière de ma vie qui sans toi et sans le courage que tu m'as appris je n'aurai jamais pu continuer, Merci pour tout que tu m'as appris et tous ce que tu m'as donné.*

*A mon cher père « **Omar** » ma plus grande force.*

*A mes adorables sœurs, **YAMNA, SOUMIA** qui font de mon univers une merveille, A mon frère **ABDELALI** que j'aime énormément et que dieu la protège je vous souhaite tout le bonheur du monde.*

*A ma tante « **DAHMANI KARIMA** » ma deuxième mère merci pour sa patience et son encouragement et sa présence.*

*A ma sœur et mon binôme **HADDOU MAMA.***

À toute personne chère mon cœur.

LISTE DE FIGURE

- Figure 1:** extrait de safran **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 2:** les différents partie de la fleur de safran.....25
- Figure 3:** période d'adaptation **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 4:** l'induction de safran..... **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 5:** sacrifice des rats..... **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 6:**prélèvement des organes **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 7:** le broyage du foie **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 8:**taux de protéines carbonylée **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 9:** taux de protéine totale **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 10:** taux de catalase **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 11:** taux de cholestérol..... **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 12:**taux de triglycéride **Erreur ! Signet non défini.**

LISTE DE TABLEAUX

Tableau 1: taux de protéine carbonylées **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 2 :taux protéine totale **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 3:taux de catalase **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 4: taux de cholestérol..... **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 5:taux de triglycéride **Erreur ! Signet non défini.**

SOMMAIRE

Introduction	1
1_ Le diabète :	5
1-1 définition :	5
1_2 les type de diabète :	5
❖ Le diabète de type 1 :	5
❖ Le diabète de type 2 :	5
1_3 Effet du diabète sur le foie :	6
1_4 Effet du diabète sur le profil lipidique :	6
2_ Stress oxydatif :	6
2_1 Définition.	6
2_2 Relation stress oxydant et diabète :	7
2_3 Induction de stress oxydatif dans le foie	7
3_ Le safran :	8
3_2 Effets du safran sur le diabète :	9
3_3 Effet de safran sur le foie :	9
3_4 Effet de safran sur le stress oxydatif :	9
Matériel et méthode	10
1_ Récolte de safran :	11
2_ Le protocole de préparation de l'extrait :	11
3_ La préparation de la solution de gavage	11
4_ Le choix de l'animal :	12
5_ L'induction de diabète par La streptozotocine :	12
6_ Répartition des lots de rats.	13
7_ le gavage :	13
8_ La dissection :	13
8-1 prélèvements de foie :	14
9. Dosage des paramètres de stress oxydatif	16
9-1 Détermination des protéines carbonylées :	16
9-2 Dosage de l'activité de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) :	16
9_3 Cholestérol total :	16
9-4 Triglycérides :	17
Étude statistique :	18

<i>Résultats</i>	19
1_ <i>Protéines carbonylées</i> :	20
2_ <i>Protéines totales</i> :	21
3_ <i>Catalase</i>	22
4_ <i>Cholestérol total</i>	23
5_ <i>Triglycérides</i>	24
<i>Discussion</i> :	25
<i>Conclusion</i> :	30

Introduction

Le diabète est un groupe hétérogène des troubles caractérisés par une hyperglycémie due à un déficit absolu relatif de la production de l'insuline (Alimi et al, 2014). L'impact de cette pathologie sur les systèmes de santé est très lourd à travers les pertes humaines, aux coûts liés aux traitements, à la prise en charge et aux complications. (Azzi, 2013).

Selon les estimations 1,5 million de décès ont été directement provoqués par le diabète en 2019, tandis que 2,2 millions de décès étaient attribuables à l'hyperglycémie en 2012 (OMS, 2012).

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales sont associées à celle des civilisations. En effet, l'histoire des peuples à travers les régions du monde atteste que ces plantes ont toujours occupées une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (lahmadi et al, 2013).

Le safran « *Crocus sativus L.* » est une épice utilisée depuis plus de 3 000 ans. Ce n'est pas une plante sauvage car elle doit tout à l'homme qui l'a importée et cultivée, autour du bassin méditerranéen. Le safran ou « or rouge » est le produit alimentaire le plus chère au monde puisqu'il est vendu entre 30 et 40 euros le gramme. Il est obtenu à partir de stigmates, et toutes les opérations de récolte sont effectuées à la main (un stigmate sec dans la plante de safran pèse environ 2 mg et chaque fleur en contient trois, environ 150 000 fleurs de safran doivent être soigneusement récoltées pour la production de 1 kg d'épice (Loukidi et al., 2019).

Cette épice historique, réputée depuis l'antiquité pour son usage culinaire, est bien moins connue du grand public pour son emploi dans les domaines de la médecine et de la cosmétique. Pourtant, les anciens, n'ont cessé de l'utiliser et de la cultiver pour ses nombreuses vertus (Palomares , 2015)

Dans le cadre d'obtention de notre diplôme de Master 2, nous avons fait une étude *in vivo* sur le foie des rats wistar pour voir l'effet du safran sur celui-ci, et à partir de là, plusieurs études menées sur le safran ont prouvé et montré que le safran a un pouvoir antioxydant *in vitro*.

Des études réalisées au niveau du laboratoire de Tlemcen ont montré l'effet bénéfique de safran sur le foie et le diabète. (Loukidi et al., 2019 ; (Belyagoubi et al., 2021).

On sait que le safran est utilisé dans le domaine de la cuisine comme épice car il contient des stigmates et les restes sont éliminés et jetés, mais que se passerait-il si les propriétés des résidus étaient exploitées et testés pour leur effet sur le métabolisme du foie chez les patients diabétiques ?

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence la relation entre le diabète de type2 et L'effet du safran sur les paramètres du stress oxydatif, ainsi que sur les paramètres biochimiques.

État actuel du sujet

1_Le diabète :

1-1 définition :

Le diabète est une maladie chronique (carolin, Juliette 2019), caractérisée par une hyperglycémie qui survient lorsque la quantité ou l'activité de l'insuline, est insuffisante par rapport aux besoins de l'organisme. (Nathalie, Jean-Michel 2022).Le diabète associe des troubles de l'assimilation de l'utilisation et /ou du stockage du glucose, qui s'accumule alors dans la circulation sanguine. (Nicolas -laure 2021)

1_2 les type de diabète :

On distinguer différents type :

❖ Le diabète de type 1 :

Dit « diabète insulino-dépendant », le diabète de type 1 est une affection auto-immune caractérisée par la destruction immunitaire des cellules B pancréatiques. Les patients souffrant de diabète de type 1 ne produisent alors plus d'insuline et leur prise en charge repose sur une insulinothérapie. (Carolin, Juliette 2019).

❖ Le diabète de type 2 :

Appelé non insulino-dépendant, est associé à la résistance de l'organisme aux effets de l'insuline (Nicolas Anne-laure 2021). Le diabète de type 2 est une maladie complexe avec une prévalence croissant et une mortalité principalement provoquée par des complications cardiovasculaires et rénales. (André,Nicolas 2020).

1_3 Effet du diabète sur le foie :

Le foie est un organe volumineux remplissant des fonctions vitales comme l'assimilation de la plupart des nutriments et l'élimination des éléments toxiques, le stockage de nombreux éléments (protéines, des glucides, des vitamines, des ions). (flavien, alexis 2020)

Au cours des dernières années, le mode de vie a considérablement évolué vers une qualité de vie sédentaire et une mauvaise alimentation, entraînant l'émergence de maladies métaboliques chroniques. (Marine 2021).

Le foie remplissant des fonctions métaboliques est affecté par ces changements qui peuvent entraîner le développement de stéatose hépatique. (Marine 2021)

1_4 Effet du diabète sur le profil lipidique :

Il est bien établi que la dyslipidémie est un facteur de risque majeur de complications macro vasculaires chez les patients atteints de diabète sucré de type 2 et touche 10 à 73 % de cette population (Jani et al., 2017).

Les principales anomalies quantitatives sont une augmentation des taux de triglycérides, liées à une augmentation de la production hépatique de VLDL et à une réduction du catabolisme des VLDL et des IDL (dans le diabète de type 2), et une diminution des taux de HDL-cholestérol en raison d'un catabolisme accéléré des HDL. Les principales anomalies qualitatives incluent les grosses particules de VLDL (VLDL 1), relativement riche en triglycérides, petites particules denses de LDL, augmentation de la teneur en triglycérides des LDL et HDL (Vergèse, 2005).

2_ Stress oxydatif :

2_1 Définition.

Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants \ antioxydants en faveur des oxydants (Atamer et al 2008).

La présence excessive de radicaux oxygénés toxiques est potentiellement impliquée dans le développement du vieillissement ou des maladies liées au vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro dégénératives, cancer, diabète, asthme...), les sources de stress oxydatif peuvent avoir différentes origines endogènes et exogènes (J.HALENG, et al 2007).

2_2 Relation stress oxydant et diabète :

Plusieurs chercheurs scientifiques ont montré que les troubles d'hyperglycémie observés chez les personnes diabétiques sont accompagnés d'un stress oxydatif chronique avec augmentation des espèces réactives à l'oxygène et diminutions des antioxydants (Evan et al, 2002).

La production excessive des radicaux libres entraîne le développement d'un stress oxydatif qui à son tour provoque une accélération des complications diabétiques sur les micro-vaisseaux (Evans et al, 2002).

2_3 Induction de stress oxydatif dans le foie

Le foie est le principal organe attaqué par les espèces radicalaires réactives, car les cellules parenchymateuses, qui sont des cellules hépatiques primaires, sont exposées au stress oxydatif causé par une lésion hépatique. (Valle et al, 2012). De plus, les cellules de Kupffer et les cellules endothéliales du foie sont plus susceptibles ou sensibles aux molécules associées au stress oxydatif. Une variété de cytokines Le facteur de nécrose tumorale tel que le TNF- α peut être produit dans les cellules de couverture, ce qui peut entraîner une augmentation de l'inflammation et de l'apoptose, et le stress oxydatif par peroxydation lipidique entraîne la prolifération du collagène dans les cellules hépatiques étoilées (Sakaguchi et al,2011) pour maintenir l'équilibre oxydatif dans le foie. Lorsque les ROS sont excessifs, l'équilibre sera perturbé, entraînant un stress oxydatif, qui joue un rôle essentiel dans les maladies du foie et d'autres maladies chroniques et troubles dégénératifs (Li et al, 2014).

3_Le safran :

3-1_Description :

Le stigmate séché du safran des Iridacées (Eirini et al. 2015), a un arôme fort, un goût légèrement amer et produit une solution jaune-orange vif lorsqu'il est trempé dans de l'eau chaude (Seddiqi et al. 201).

Le safran est une espèce de plante bulbeuse (ou à corne de 5 cm de diamètre entouré d'un réseau

De filaments bruns) et résistants, géophytes de 10 à 30 cm de long émergent du sol, glabrescente à floraison automnale (de septembre à novembre), inexistante à l'état sauvage (Chevalier, 1926). La fleur de safran en forme de roadster ou entonnoir dressé, odorantes, de couleur violette clair ou foncé, aux nervures violettes obscures et aux taches sombres à la base, possède de longues et fines feuilles qui varient de 5 à 11 par bourgeon et se développeront avec ou après la fleur, avec 6 tépales (trois pétales et trois sépales pétaloïdes). (Abbara, 2017). Les 3 étamines jaunes de long de 22 mm et d'un pistil de 10 cm de long se compose d'un style mince, jaune orange et se divise en 3 longs stigmates de couleur orangé ou rouge (Abbara, 2017) d'une longueur de 3 à 4 mm (Gozet, 2012). Ils ont un aspect brillant à l'ouverture de la nageoire à la base et plus large à l'extrémité, les styles aussi appelés les tiges dépendantes un stigmate avec le reste de la plante (Ran, 1997 ; Hill, 2004).



Figure 2 : les différentes parties de la fleur de safran (Mojtaba et al 2014)

Le safran utilisé pour des buts médicaux et culinaires (belyagoub , loukidi 2021) possède plusieurs activités biologiques et pharmacologiques parmi elles une activité antioxydante, antibactérienne, anti-tumorales, anti-Alzheimer. (djenouhhat,rais 2020).

3_2 Effets du safran sur le diabète :

Effet de safran sur le diabète Dans une étude, il a été constaté que l'extrait méthanolique du safran, de crocine et de safranal, notamment réduit la glycémie à jeûne. L'étude indique que la crocine a été trouvée pour réduire considérablement le glucose du sang, c'est l'effet hypoglycémique. L'administration orale d'extrait de safran régule l'insuline sérique chez les rats diabétiques par rapport aux groupes témoins de la maladie (Rahmani et al. , 2017) .

Les produits finaux de la glycation améliorée sont connus pour être des espèces réactives de l'oxygène qui conduisent souvent à l'apoptose endothéliale et donc à des complications vasculaires diabétiques. La crocétine, en raison de sa bonne capacité antioxydante et son activité de stabilisation anticalcique, peut être un bon traitement pour les complications du diabète vasculaire (Shen Qian, 2006).

3_3 Effet de safran sur le foie :

Des chercheurs biologistes de l'United Arab Emirates University (EAU), ont mis en évidence les mécanismes *in Vitro* et *in Vivo* par lesquels la crocine, (safran) protège contre le cancer du foie sur un modèle murin. L'étude démontre que l'extrait aqueux de safran peut protéger les reins et le foie des rats diabétiques contre les dommages causés (Ashrafi et al 2018).

3_4 Effet de safran sur le stress oxydatif :

Les caroténoïdes, dont fait partie les crocines et les crocétine, jouent un rôle important sur la santé en agissant en tant qu'antioxydants naturels. Ils protègent les cellules et les tissus des radicaux libres et des espèces réactives. (Palomares, 2015).

Matériel et méthode

1_ Récolte de safran :

La plante utilisée dans ce travail a été récoltée à Tlemcen en novembre 2021, les feuilles sont préparées par Pr. Loukidi sous forme de poudre.

2_ Le protocole de préparation de l'extrait :

L'extraction des constituants du matériel végétal a été effectuée par Infusion en Milieu hydro alcoolique.

Verser 100 ml d'eau distillée + Méthanol (30V /70V) bouillant sur 5 g du matériel Végétal séché (pétales+étamines) Pendant 15 min.

La solution de 100ml est placée dans appareil à Ultrason (28°C, 15min) (tonicateur).

Agiter, laisser le mélange refroidir puis filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

3_ La préparation de la solution de gavage

Une solution mère de gavage de concentration (400mg/ml) a été préparée à partir de l'extrait obtenu. L'extrait de safran a été dilué dans de l'eau physiologique à laquelle ont été additionnées quelques gouttes d'huile de maïs.

Les rats ont été gavés à raison de 400mg par kg de poids corporel.



Figure 1: extrait de safran

4_Le choix de l'animal :

Notre expérience a été réalisée sur douze rats Wistar élevés au niveau l'animalerie de laboratoire de recherche de l'université Abou Berk Belkaid de Tlemcen. Les rats sont logés dans des cages en condition contrôlées (température (25c°) et l'humidité (60% à 70%). Ils ont eu un accès libre à l'eau et nourriture pendant toute la période expérimentale.

Dans un premier temps les rats passent une période d'adaptation et reçoivent un régime cafeteria pendant 15 jours dans le but d'une prise de masse (le régime cafétéria est composé de régime standard additionné d'un mélange de biscuits, fromage, chocolat Etc.).



Figure 2: La période d'adaptation

5_L'induction de diabète par La streptozotocine :

Le diabète a été induit par la streptozotocine (STZ).la veille de l'induction, les rats ont été mis à jeun, le diabète a été induit par une dose unique de streptozocine diluée dans un tampon citrate, la streptozotocine a été administrée selon le poids corporel (45 mg/kg). les rats ont reçu une solution glucosée après l'induction pour éviter le choc hypoglycémique.

Une semaine après l'injection de streptozotocine.

Le diabète a été confirmé en mesurant la glycémie via la veine caudale. Les rats avec une glycémie à jeun supérieure à 250 mg/dl ont été considérés comme diabétiques et sélectionnés pour l'expérience.

6_ Répartition des lots de rats.

Les rats sont remis dans 4 lots :

- Un lot de 3 rats témoins (non diabétique) : avec un régime commercial fabriqué par l'O.N.A.B.
- Un lot de 3 rats diabétiques : nourris avec le même régime.
- Un lot de 3 rats diabétiques gravés au safran pendant 15 jours

7_ le gavage :

L'administration du safran aux rats a été faite par voie orale pendant 15 jours par un volume calculé selon le poids de chaque rat de l'extrait de safran (450 mg/kg de poids corporel).



figure3: l'induction de safran.

- Utiliser une sonde pour gavage de longueur appropriée à la grosseur de l'animal
- Maintenir l'animal fermement afin d'éviter qu'il ne bouge lors du gavage.
- Entrer l'aiguille à cote des incisives et insérer en longeant délicatement le palais descendre lentement sans forcer.
- Administrer le volume et retirer doucement l'aiguille.

8_ La dissection :

Après 15 jours de régime, les rats de chaque lot sont anesthésiés au chloral(C₂H₃C₁₃O₂) durant 3-4 min à 10%, à raison de 0,3 ml/100g de poids corporel, après un jeune de 12h.

ILS sont posés face dorsale contre le liège, les membres sont étires et fixées en extensions. Ensuite, nous avons procédé aux incisions cutanées et musculaires ventralement pour avoir accès aux organes.



Figure4: a) le sacrifice des rats

b) prélèvement des organes c) conserver dans le formol

8-1 prélèvements de foie :

Après la dissection le foie, est soigneusement prélevé, rincés avec l'eau physiologique, débarrassé de tout tissu adjacent et élément .Ensuite pesés le foie qui a été utilisé pour la quantification des lipides et pour le dosage des paramètres du stress oxydatif (protéine carbonylée, catalase. Etc.).

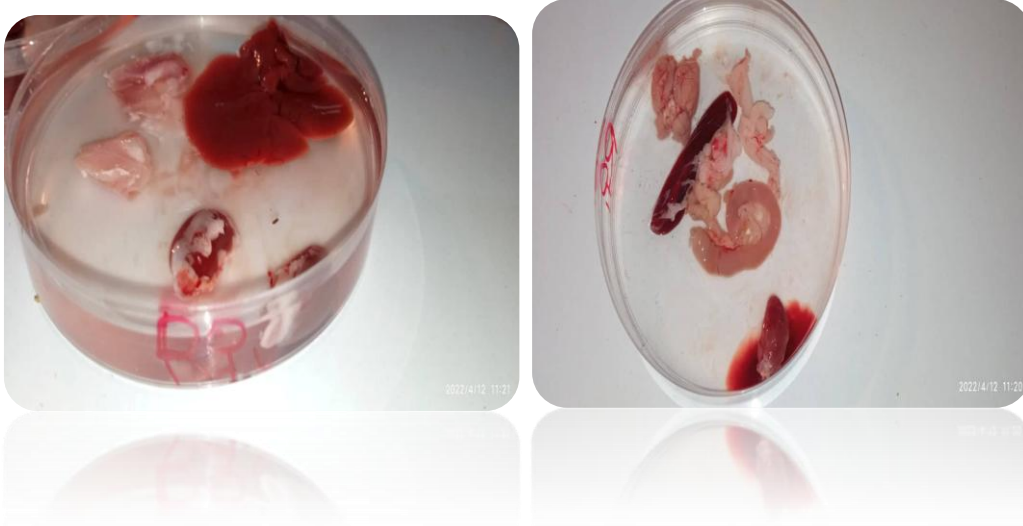


Figure 5: les organes prélever dans l'eau physiologie

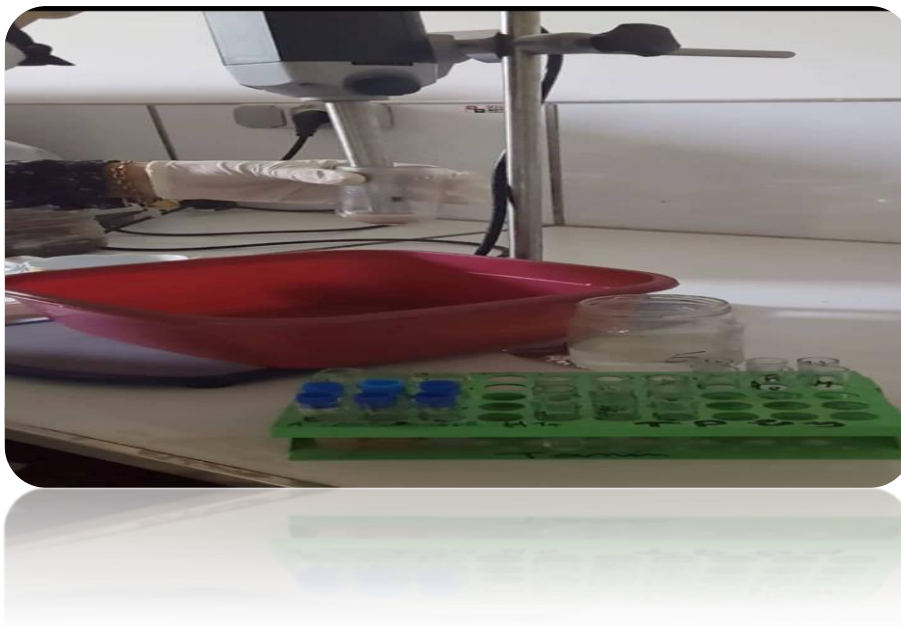


figure6 : le Broyage du foie.

9. Dosage des paramètres de stress oxydatif

9-1 Détermination des protéines carbonylées :

Les protéines carbonylées tissulaires (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées par la réaction au 2,4- dinitrophénylhydrazine selon la méthode de Levine et al. (1990). L'homogénat d'organes est incubé 1 h à température ambiante en présence de la dinitrophénylhydrazine (DNPH préparée dans HCL) ou avec seulement du HCL pour le blanc. Ensuite, les protéines sont précipitées avec l'acide trichloroacétique (TCA).

Le culot est solubilisé dans une solution de l'NaOH. Les lectures se font à 350 et 375nm. La concentration des groupements carbonylés est calculée selon un coefficient de extinction ($E = 21,5 \text{ mmol. L.cm}$).

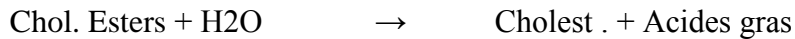
9-2 Dosage de l'activité de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) :

Cette activité enzymatique au niveau du lysat érythrocytaire est mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène selon la méthode d'Aebi (1974).

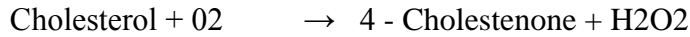
9_3 Cholestérol total :

Le cholestérol et ses esters sont libérés des lipoprotéines par des détergents. L'estérase de Cholestérol hydrolyse les esters et H₂O₂ est formé dans l'oxydation enzymatique suivante du cholestérol par la cholestérol - oxydase selon l'équation suivante. Dans la dernière réaction un composant coloré rouge dont l'intensité est proportionnelle à la concentration du cholestérol.

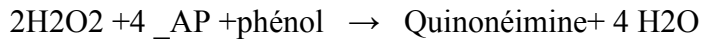
CHE



CHOD



POD



La production du Quinonéimine rouge est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon. (Cypress Diagnostic)

9-4 Triglycérides :

Les triglycérides sont dosés par la méthode colorimétrique enzymatique (KIT BIOLABO)
Méthode de Fossati et Principe couplée à une réaction de Trinder . Le schéma réactionnel est le suivant :

LIPASE



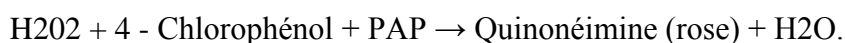
GK



GPO



POD



L'absorbance du complexe coloré (quinonéimine) , proportionnelle à la concentration en Triglycérides dans le spécimen, est mesurée à 500 nm.

Étude statistique :

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écartype. La comparaison des moyennes entre les témoins et expérimentaux est réalisée deux à deux par le test de student « t » Les valeurs sont considérées significative lorsque $P < 0.05$ (*) , très significatives lorsque $P < 0.01$ (**) , hautement significatives lorsque $P < 0.001$ (***) , et non significative si : $P > 0.05$ ns.

Résultats

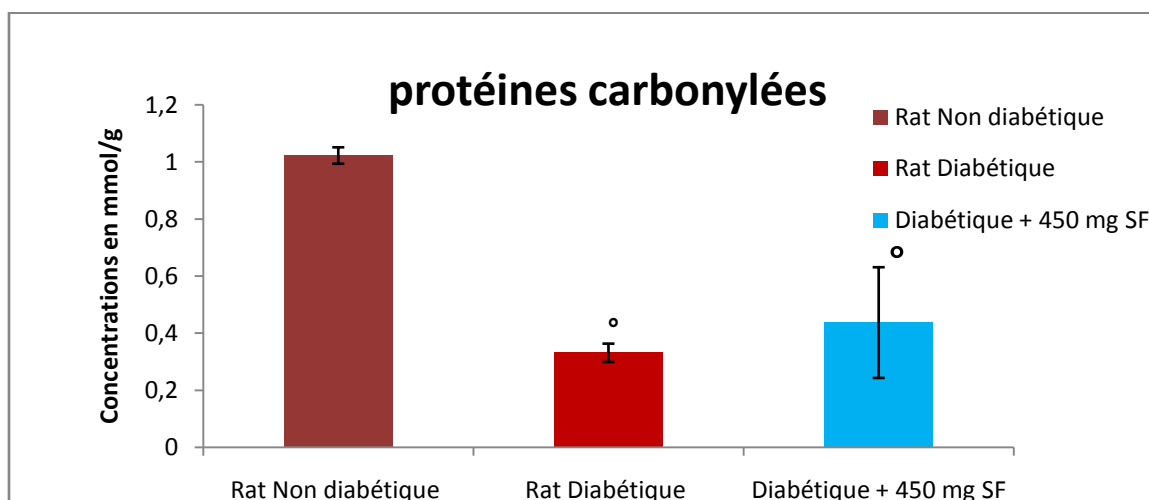
1_ **Protéines carbonylées :**

Les résultats du dosage de Protéines carbonylées au niveau du foie

Tableau 1 : taux de Protéines carbonylées au niveau du foie chez des 3 lots de rats Wistar

Lots de rats	ND	D	SF 450
Taux de Protéines carbonylées (mmol/g)	1,02±0,028	0,33±0,032	0,43±0,19

Figure 11 : taux de Protéines carbonylées au niveau du foie.



Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± ecartype. La comparaison des moyennes entre les témoins et expérimentaux est réalisée deux à deux par le test de student « t » Les valeurs sont considérées significative lorsque $P < 0.05$ (*)

ND : lot témoin non diabétique recevant le régime standard.

D : lot des rats diabétiques soumis au régime standard.

SF450 : lot du rat diabétique traité par safran

* **D vs SF450** > 0.05 → non significatif

° **ND vs SF450** < 0.05 → significatif

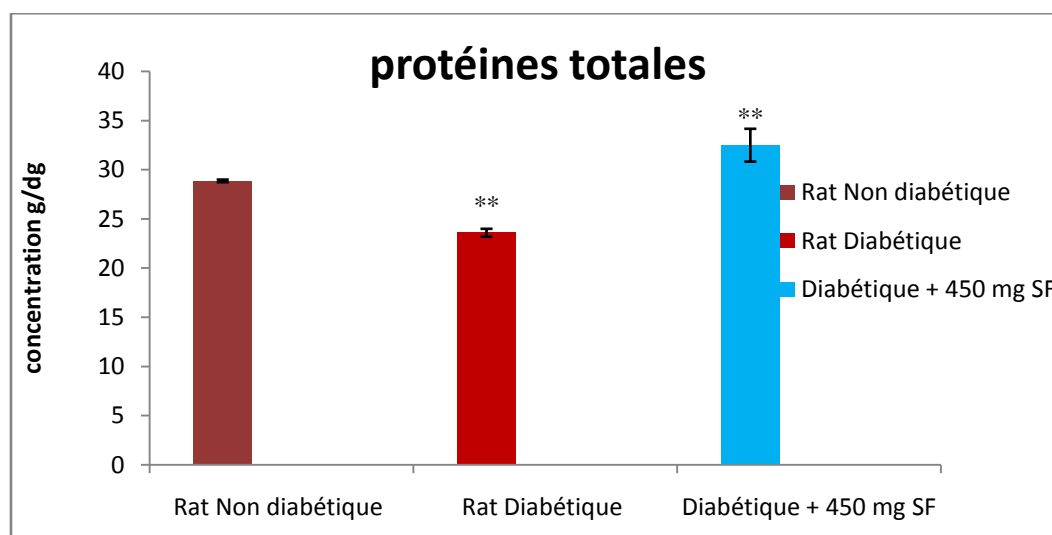
2_Protéines totales :

Les résultats du dosage de Protéines totales au niveau du foie.

Tableau 1 : taux de Protéines totales au niveau du foie chez des 3 lots de rats Wistar

Lots de rats	ND	D	SF450
Taux de protéines totales (mmol /g).	28,86±0,13	23,59±0,39	32,48±1,67

Figure 12 : taux de Protéines totales au niveau du foie.



Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écartype. La comparaison des moyennes entre les témoins et expérimentaux est réalisée deux à deux par le test de student « t » Les valeurs sont considérées significative lorsque $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**) hautement considérées significative

ND : lot témoin non diabétique recevant le régime standard.

D : lot des rats diabétiques soumis au régime standard.

SF450 : lot des rats diabétiques traités par safran.

***D vs SF450** ≤ 0.01 → très significatif

◦ **ND vs SF450** > 0.05 → non significatif

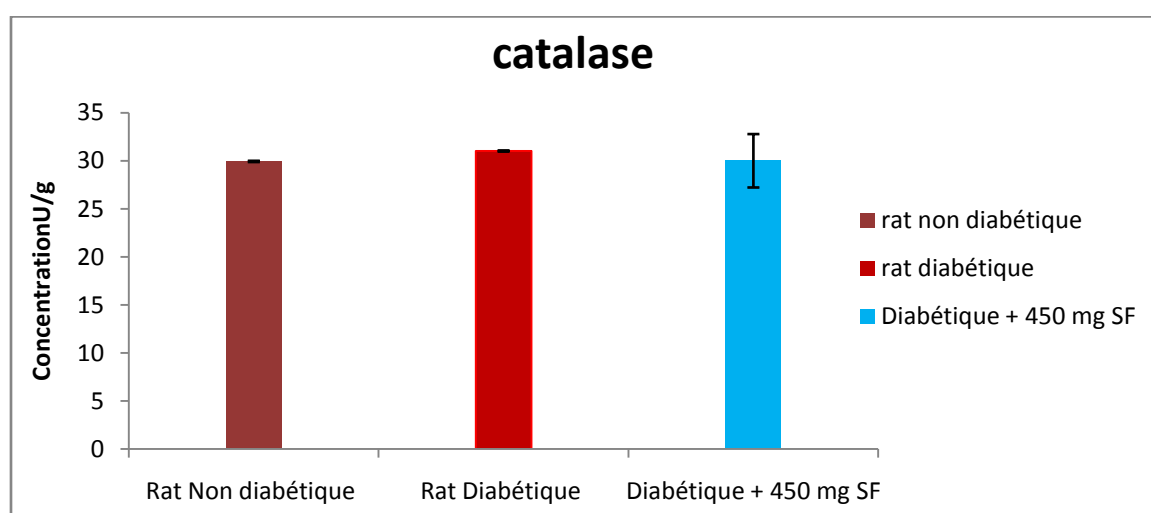
3_Catalase.

Les résultats du dosage de catalase au niveau du foie.

Tableau 1 : taux de la catalase au niveau du foie chez des 3 lots de rats Wistar.

Lots de rats	ND	D	SF450
Taux de catalase u/g	29,93± 0,063	31,016 ± 0,061	30,00 ± 2,78

Figure 13 : taux de catalase au niveau du foie.



Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écartype. La comparaison des moyennes entre les témoins et expérimentaux est réalisée deux à deux par le test de student « t »

ND : lot témoin non diabétique recevant le régime standard.

D : lot des rats diabétiques soumis au régime standard.

SF450 : lot des rats diabétiques traités par safran.

***D vs SF450** > 0.05 → non significatif

◦ **ND vs SF450** > 0.05 → non significatif

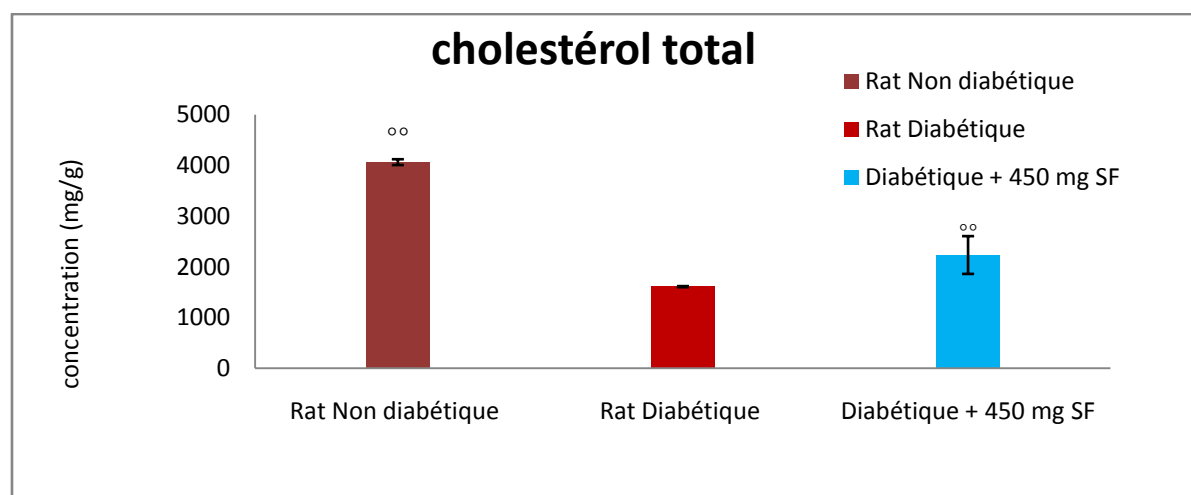
4_ Cholestérol total.

Les résultats du dosage de Cholestérol total au niveau du foie.

Tableau 1 : taux de Cholestérol total au niveau du foie, chez des 3 lots de rats Wistar

Lots de rats	ND	D	SF450
Taux de cholestérol (mg/g)	4065,51±56,76	1611,26± 10,236	2234,48± 372,41

Figure 14 : taux de cholestérol au niveau du foie.



Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écartype. La comparaison des moyennes entre les témoins et expérimentaux est réalisée deux à deux par le test de student « t » Les valeurs sont considérées significative lorsque $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**) hautement considérées significative

ND : lot témoin non diabétique recevant le régime standard.

D : lot des rats diabétiques soumis au régime standard.

SF450 : lot des rats diabétiques traités par safran.

* **D vs SF450** > 0.05 \rightarrow **non significatif**

° **ND vs SF450** ≤ 0.01 \rightarrow **très significatif**

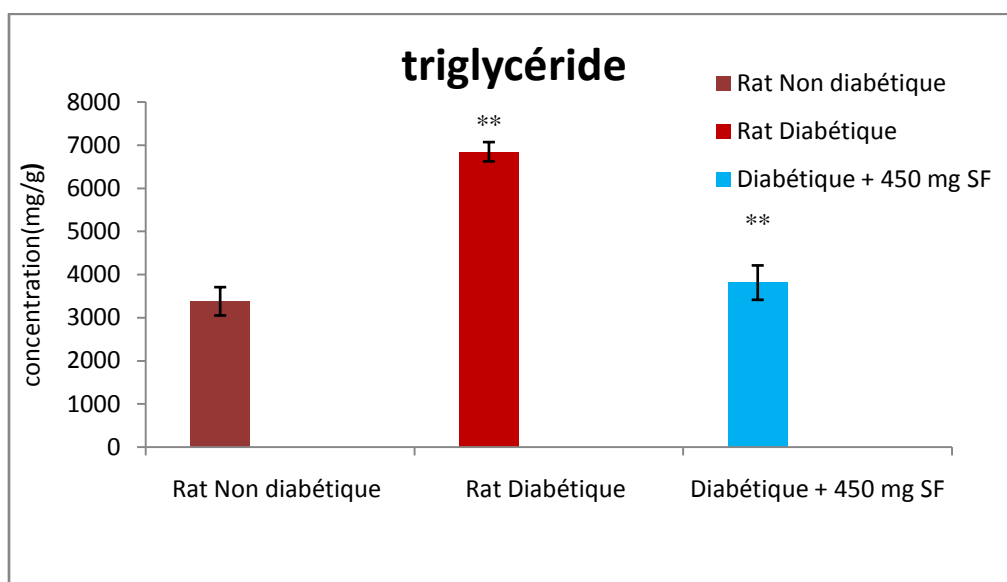
5_ Triglycérides.

Les résultats du dosage de triglycérides au niveau du foie

Tableau 1 : taux de triglycéride au niveau du foie chez des 3 lots de rats Wistar.

Lots de rat	ND	D	SF450
Taux de Triglycéride (mg/g)	3377,21±328,46	6846,12±224,109	3810,97±398,84

Figure 15 : taux de triglycéride au niveau du foie.



Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écartype. La comparaison des moyennes entre les témoins et expérimentaux est réalisée deux à deux par le test de student « t » Les valeurs sont considérées hautement significative lorsque $P < 0.01$ (**)

ND : lot témoin non diabétique recevant le régime standard.

D : lot des rats diabétiques soumis au régime standard.

SF450 : lot des rats diabétiques traités par safran.

* **D vs SF450** ≤ 0.01 → très significatif

◦ **ND vs SF450** > 0.05 → non significatif

Discussion :

Dans notre étude nous avons induit le diabète par une dose unique de streptozocine dans l'objectif de voir l'effet du safran sur les paramètres du stress oxydant chez les rats rendus diabétiques.

Nous avons ensuite comparé les rats diabétiques avec les rats diabétiques + safran et les rats non diabétiques.

L'une des méthodes les plus couramment utilisées pour induire le diabète consiste à endommager le pancréas par l'administration de produits chimiques tels que la streptozotocine (STZ) et l'alloxane (Skudelsky, 2001).

Le diabète induit par streptozocine est associé à des altérations du stress oxydant et le profil lipidique (Armaghani, Reza al.2019) et aussi des vaisseaux sanguins et le foie (Chloé Turpin 2022)

L'évaluation de stress oxydant se fait par des marqueurs de stress oxydatif (catalase, GSH, MDA. Etc.) Et aussi par des marqueurs de l'oxydation de lipide (triglycéride, cholestérol..), (Annales 2020). Dans notre étude nous avons dosé, les protéines carbonylées, les protéines totales, catalase, triglycéride, cholestérol.

La carbonylation des protéines, l'une des modifications protéiques oxydatives irréversibles les plus nocives, est considérée comme une caractéristique majeure des troubles liés au stress oxydatif. (Alves-bezerra et Cohen, 2018)

Les résultats obtenus dans notre étude, montrent une diminution de taux de protéines carbonylées et protéines totales chez les rats diabétiques et chez les rats diabétiques traités par l'extrait de safran.

Cette diminution est plus marquée chez les diabétiques non traités par l'extrait de safran.

La diminution de protéine peut être due à plus d'une raison, comme le manque de l'absorption des acides aminés, ou diminution de quantité de l'ARNm à cause de l'insuline insuffisante voire absente chez les rats rendus diabétiques.

L'augmentation significative de taux de protéine chez les rats traités par safran peut probablement être le résultat de l'effet de l'extrait sur la résistance de l'insuline (Armaghani, Reza al.2019)

La catalase est une enzyme hémique transformant le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes, les érythrocytes, les hépatocytes et les reins.

Dans notre travail, on note une augmentation du taux de CAT chez les rats diabétique comparés aux rats non diabétiques. Nos résultats sont similaires à ceux de l'étude de (yazdanparast, et al 2007) qui signifie que le STZ produit un déséquilibre entre le contenu en oxydants et en antioxydants du plasma, ce qui entraîne la progression du diabète et de ses complications. Il est bien établi que Le stress oxydatif joue un rôle important dans les complications et la pathogenèse du diabète. L'hyperglycémie entraîne une surproduction de radicaux libres d'oxygène, ce qui contribue aux complications du diabète et à sa progression.

De plus, on observe une similitude entre les rats diabétique traité par le safran et les rats non diabétique, ces résultats concordent avec l'hypothèse de (**Samarghandi 2013**) qui montre, qu'il n'y avait pas de différence significative dans l'activité CAT entre les rats diabétiques traités avec une concentration élevée de crocine (30 mg / kg / jour) et le groupe témoin.

Les personnes atteintes le diabète de type 2 présentent un risque très élevé d'événements cardiovasculaires. Ces patients ont souvent un profil lipidique athérogène, avec des taux élevés de triglycérides, un faible cholestérol HDL et pas toujours un cholestérol LDL élevés. Il n'est pas clair si les patients diabétiques atteints de syndrome coronarien aigu reçoivent des traitements hypolipémies différents ou plus efficaces. (Jean, Dominik, al. 2020)

Dans notre étude nous avons noté une diminution de cholestérol total plus marquée chez les rats diabétiques que les rats traités par safran.

D'après les auteurs. (Shirali et al, 2013 et samarghandian 2013) montrent que les extraits de safran diminuent significativement les niveaux de cholestérol chez les rats diabétiques.

Le cholestérol présent dans l'organisme peut provenir de deux sources, soit l'alimentation qui constitue un apport exogène, soit la biosynthèse du cholestérol dont le foie est capable de produire lui-même la moitié.

Le cholestérol dans le foie devient par l'insuline, d'après (Jean, Drouin 2018) la résistance de l'insuline c'est un facteur efficace dans la genèse de l'athérosclérose (augmentation de LDL).

Alors la diminution de cholestérol chez les rats diabétique peut être due à l'insuffisance de l'insuline chez les rats diabétique, d'où résulte une inhibition de la pénétration de cholestérol, et du glucose dans les tissus (hypoglycémie). C'est un signe de métabolisme ralenti dans le cas des rats diabétiques.

Les Triglycérides, représentent la principale forme de stockage et de transport des acides gras dans les cellules et dans le plasma. Le foie est l'organe central du métabolisme des acides gras.

Dans notre étude, nous avons remarqués une augmentation des taux de triglycérides chez les diabétiques plus marqués que chez les rats non diabétiques. De plus, il a été démontré que la carence en insuline dans le diabète entraîne de nombreuses perturbations dans les processus métaboliques. Entraînent une augmentation des lipides tels que les taux de TG (Goldberg 1981). Nos résultats confirment cette notion car le traitement par la streptozotocine a provoqué une augmentation significative des taux plasmatiques de triglycéride.

Dans des circonstances normales, le foie ne stocke que de petites quantités d'acides gras sous forme de triglycérides, si bien que les acides gras sont éliminés par oxydation intracellulaire ou par sécrétion plasmatique au sein de lipoprotéines de très basse densité riches en triglycérides. Dans le cadre de la suralimentation et de l'obésité, le métabolisme des acides gras hépatiques est altéré, conduisant généralement à l'accumulation de triglycérides dans les hépatocytes (Laure, 2015).

En revanche, on a noté une diminution significative de taux de TG chez les rats diabétiques traité par le safran 450 mg par apport aux rats diabétiques, ces résultats concordent avec l'hypothèse de (Shirali et al. 2013) qui montre que le safran dans l'extrait de stigmaté a significativement diminué les niveaux de TG chez les rats diabétiques en améliorant la résistance à l'insuline chez les rats diabétiques. De plus (Samarghandian et al. 2013), ont indiqué que le safranal inhibe l'élévation du taux de lipides plasmatiques en contrôlant le stress oxydatif et inotonatif.

L'étude actuelle a montré l'effet pharmacologique de l'extrait de safran (*C. Sativus L*) sur les complications hépatiques du diabète sucré. Par conséquent, l'extrait de safran semble avoir

des effets positifs dans la prévention des lésions hépatiques prématurées dans le diabète sucré en raison du stress oxydatif (Rahbani, Mohajeri, Rezaie, Doustar, Nazari, 2011).

Conclusion :

Dans le but d'évaluer l'efficacité de l'extrait de safran sur des rats rendus diabétiques par l'injection de STZ comparés à un lot de rats diabétiques non traités et un lot de rats non diabétiques. Le lot de rats traités, reçoit 450 mg/kg d'extrait de safran.

Puis nous avons comparés les taux des marqueurs de stress oxydatif chez les rats diabétiques traités par le safran avec les rats non diabétiques et les rats diabétiques sans traitement.

_ Nos résultats montrent que le taux des protéines totales, et des Protéines carbonylées est diminuer chez les rats diabétiques et augmenter chez les rats diabétiques traité par safran.

_ Concernant la catalase on a observé une augmentation chez les rats diabétique par rapport aux rats non diabétiques sous l'effet de STZ et pas de différence chez les rats traités par le safran. De plus, on note une diminution du taux du CT chez les rats diabétiques et nous avons remarqué une augmentation chez les rats diabétiques traités par safran. Cependant, une augmentation de la concentration de TG chez les rats diabétique accompagnée d'une diminution chez les rats avec traitement est observée.

Les résultats de notre étude, suggèrent que le diabète provoque des perturbations du profil lipidique et du stress oxydatif.

La consommation de safran peut améliorer la protéinémie et le profile lipidique de tissu hépatique chez les rats diabétiques induits par STZ.

D'autres études sont nécessaires pour confirmer les effets positifs de safran et de ses composants sur divers marqueurs de stress oxydatif.

- ✓ Abbara A. 2017 <https://www.alyabbara.com/museum/photographie/Iridaceae/Crocus/Safran-Crocus-sativus-01.html>
- ✓ André Scheen, Nicolas Paquot Revue Médicale de Liège 75(5-6), 2020
- ✓ Aria Alimi, Martin Lubke, Olaf Wûnsh (2014). Modélisation et simulation du processus de dégazage.
- ✓ Atamer A, Bilici A, Yenice N, Selek S, Ilhan N & Atamer Y (2008) The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. J Int Med Res 36, 771-776.
- ✓ Azzi R. (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique : Analyse pharmaco – toxicologique de Figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthis) chez le rat Wistar. Thèse de Doctorat, université Tlemcen
- ✓ Chevalier, A. (1926). La culture de safran In : Revue de botanique et L'agriculture coloniale, 6 ans bulletin (59), juillet 1926, P 407-419
- ✓ Chloé Turpin La Réunion, 2022.
- ✓ Crozet, A, Durfort, S. Et Sus-Rousset, H. (2012). Crocus sativus L. (Iridacées), le safran. Phytothérapie, 10(2), P 121-125.
- ✓ Eirini, C., Nikolaos, P., Kolaos, K., et Georgia, V. 2015. Saffron a natural product with potential pharmaceutical applications. Royal Pharmaceutical Society, Journal of Pharmacy and Pharmacology, Vol. 16 n° 67, p. 1635-1636-1645
- ✓ FFD (Fédération Française des Diabétiques 2022).
- ✓ Flavien Bessaguet, Alexis Desmoulière Actualités pharmaceutiques 60 (605), 57-61, 2021.
- ✓ Goldberg IJ. (1996). Lipoprotein lipase and lipolysis : central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis Lipid Res. 37 : 693-707.
- ✓ Hill, T. L'Encyclopédie contemporaine des herbes et des épices : Assaisonnements pour la cuisine mondiale, 1ère éd.; Wiley : Hoboken, New Jersey, États – Unis, 2004

- ✓ Jani Y, Xhunga S, Serani A, Pocesta B, Ferati F, Lala D, Zeqiri A, Mirto A, A Rexhepi, A Kamberi .(2017).Control of Diabetic Dyslipidemia among Type-II Diabetics in Western Region of the Republic of Macedonia. *Advances in Diabetes and Metabolism* 5(2): 31-38.
- ✓ Jean Ferrières, Dominik Lautsch, Peter Bramlage, Martin Horack, Carl A Baxter, Baishali Ambegaonkar, Peter P Toth, Kian-keong Poh, Gaetano Maria De Ferrari, Anselme K Gitt, *Archives of cardiovascular diseases* 113 (10), 617-629, 2020.
- ✓ Jean-Philippe, Drouin- Chartier Université Laval, Québec, 2018.
- ✓ La révolution biotechnologique et la médecine de demain, 83,2021
- ✓ Lahmadi S. , Guesmia H. , Zeguerrou R. , Maaoui M. , & Belhamra M. (2013) . La culture du safran (*Crocus sativus* L.) en régions arides et semi arides : cas du sud est Algérien . *Journal Algérien des Régions Arides* , 18-27 .
- ✓ Larbi belyagoubi , Bouchra loukidi , Nabila belyagoubi – Benhammou Angelo Gismondi Gabriele Di Marco Alassia D’Agostino Antonella camini Assia Benmahieddine karimat Rouigeub Dounia Benmenni fawzia Atik – Bekkara (2021) Valorisation of Algerian saffron stigmas and flowers as source of bioactive compounds waste and biomass valorization
- ✓ Li , A.N. , Li , S. , Zhang , Y.J. , Xu , X.R. (6) Chen , Y.M. , Li , H.B. (2014) . Resources and biological activities of natural polyphenols . *Nutrients* , 6 , 6020-6047
- ✓ Loukidi B, G Baya, R Karima, L Alima, A Rachid... - GENETICS AND ..., 2020 .Phenotypic And phytochemical diversity of saffron (*Crocus Sativus* L.)
- ✓ Marine Andres Lille, 2021.
- ✓ Mechele Alves-Bezerra and David Cohen (2018). Triglyceride metabolism in the liver
- ✓ Nathalie Delzenne, Jean-Michel Lecerf, Jean Girard *Médecine des maladies Métaboliques* 16, 112, 2022.
- ✓ OMS (organisation mondial de la santé 2012)
- ✓ Palomares, C. (2015). Le safran précieuse épice ou précieux médicament. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lorraine, Faculté de pharmacie, P 14-105.

- ✓ Rahmani , AH . , Khan , AA . , et Aldebasi , YH . 2017. Saffron (*Crocus sativus*) and its active ingredients : Role in the Prevention and Treatment of Disease . *Pharmacognosy Journal* , Vol . 9 n ° 6 , p . 874-876 .
- ✓ Rajaei Z , Hadjzadeh MA , Nemati H , Hosseini M , Ahmadi M , Shafiee S. Antihyperglycemic and antioxidant activity of crocin in streptozotocin – induced diabetic rats . *J Med Food* 2013 ; 16 : 206-10 .
- ✓ Rau , S. R. (1969) . *The Cooking of India* , Time Life Education , P 53. ISBN0-8094-0069-3 et Hill , T. (2004) . *The Contemporaray Encyclopedia of Herbs and spices : Seasonings for The Global Kitchen* , Wiley , P 272 , ISBN 0-471-21423 – X .
- ✓ Sakaguchi , S. , Takahashi , S. , Sasaki , (5) T. , Kumagai , T. , Nagata , K. (2011) . Progression of alcoholic and non alcoholic steatohepatitis : Common metabolic aspects of innate immune system and oxidative stress . *Drug Metab . Pharmacokinet* , 26 , 30-46
- ✓ Samarghandian S , Borji A , Delkhosh MB , Samini F. Safran treatment improves hyperglycemia , hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats . *J Pharm Pharm Sci* 2013 ; 352-62.
- ✓ Sanchez – Valle , V. , Chavez – Tapia , N. , (4) Uribe , M. , Mendez – Sanchez , N. (2012) . Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis : A review . *Curr . Med . Chem* . 19, 4850-4860.
- ✓ Shen XC, Qian ZY. (2006) “ Effects of crocetin on antioxidant enzymatic activities in cardiac hypertrophy induced by norepinephrine in rats “. *Pharmazie* . 61 (4) : 348-52 .
- ✓ Shirali S, Zahra Bathaie S , Nakhjavani M. Effect of crocin on the insulin resistance and lipid profile of streptozotocin – induced diabetic rats . *Phytother Res* 2013 ; 27 : 1042-7 .
- ✓ Siddiqui , M J. , Saleh , S M. , Binti Basharuddin , N B. , Binti Zamri , S H. , Mohd Najib , M H. , Muhammad , Z B. , binti Mohd Noor , N A. , Hanin , N . , Binti , M. , Norazian , M H et Alfi K. 2018. Saffron (*Crocus sativus* . L) : As an antidepressant . *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* , Vol . 10 n ° 4 , p . 173 .
- ✓ Valente, M.J., Carvalho, F., Bastos, M., de Pinho, P.G., Carvalho, M. (2012). Contribution of oxidative metabolism to cocaine-induced liver and kidney damage. *Curr. Med. Chem.*, 19, 5601–5606.

- ✓ Vergès B. (2005). New insight into the pathophysiology of lipid abnormalities in type 2 diabetes . Diabet Metab . 31 : 429-39

مرض السكري هو وباء عالمي حسب منظمة الصحة العالمية و مرض مزمن يدوم مدى الحياة إذ ينشأ عندما لا ينتج البنكرياس ما يكفي من الأنسولين، أو عندما لا يستطيع الجسم أن يستخدم بفعالية الأنسولين المنتج. أفادت دراسة طبية حديثة بأن خصائص الزعفران المضادة للالتهابات قد تساعد في تحسين الحالة المرضية لمرضى السكري، حيث أن مستخلص الزعفران له جودة عالية في زيادة إفراز الأنسولين وهو مادة مضادة للأكسدة لامتلاكه محتوى عالي من المضادات الحيوية المتنوعة. الغرض من هذه الدراسة هو استكشاف تشوهات التمثيل الغذائي في نموذج حيواني لمرض السكري على 3 دفعات من فئران غير مصابة بالسكري و دفعة من فئران مصابة بالسكري، و دفعة مصابة بالسكري و معالجة بمستخلص الزعفران و هذا لغرض التعرف على فعالية الزعفران على العوامل الكيميائية الحيوية و الدهون عند الفئران المصابة بالسكري .

الكلمات المفتاحية داء السكري الزعفران فئران ويستار المعايير البيوكيميائية.

Résumé :

Selon l'Organisation mondiale de la santé, le diabète est une épidémie mondiale et une maladie chronique qui dure toute la vie et qui survient lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou lorsque l'organisme ne peut pas utiliser efficacement l'insuline produite. Une étude Médicale récente a révélé que les propriétés anti-inflammatoires du safran peut aider à améliorer L'état pathologique des diabétiques, car l'extrait de safran a une grande qualité pour augmenter la Sécrétion d'insuline et est un antioxydant car il a une teneur élevée en divers antibiotiques. Le but De cette étude est d'explorer des anomalies métaboliques dans un modèle animal de diabète sur 3 Lots de rats « Wister », un lot de rats Wister non diabétiques, un lot de rats diabétiques Wister, et un lot de diabétiques traités au safran dans le but de identifier l'efficacité du safran sur les facteurs biochimiques et les lipides chez les souris diabétiques.

Mot clé : STZ, diabète, Crocus sativus L, rat wister, paramètres biochimique.

Abstract :

Diabetes is a global epidemic according to the World Health Organization and a chronic, lifelong disease that arises when the pancreas does not produce enough insulin, or when the body cannot effectively use the insulin produced. A recent medical study reported that the anti-inflammatory properties of saffron may help improve the pathological condition of diabetics, as saffron extract has a high quality in increasing the secretion of insulin and is an antioxidant because it has a high content of various antibiotics. The purpose of this study is to explore metabolic abnormalities in an animal model of diabetes on 3 batches of "Wister" rats, a batch of non-diabetic, batch of diabetic Wistar rats, and a batch of diabetics treated with saffron for the purpose of identifying the efficacy of saffron on Biochemical factors and lipids in diabetic mice.

Key word: diabet mellitus, STP, Chemical standards, Wistar rat.