

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

UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEM

Faculté des sciences de la nature et de la vie, de la terre et de l'univers

Département de Biologie

Laboratoire de Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition

Mémoire en vue de l'obtention du
diplôme de Master en Biologie
Option : physiopathologie cellulaire

Intitulé :

**Evaluation de quelques paramètres de la
balance oxydants / antioxydants chez des rats
diabétiques recevant de la quercétine**

Présenté et soutenu par :

BESSAOU D Sarra

Le 01 Juin 2014

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{me} BOUANANE S

Maitre de conférences A, Université de Tlemcen.

Examinatrice : M^{me} BABA-AHMED FZ

Maitre de conférences A, Université de Tlemcen.

Promotrice : M^{me} MOKHTARI N

Professeur, Université de Tlemcen.

Année Universitaire : 2013-2014

"Le vrai point d'honneur n'est pas d'être toujours dans le vrai. Il est d'oser, de proposer des idées neuves, et ensuite de les vérifier".

Pierre Gilles-De Gennes, 1991.

Dédicaces :

Avec l'aide de dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

♥ *A mes chers parents qui m'ont aidé à être ce que je suis, avec tant d'amour et d'affection.*

♥ *A mon cher frère « Abdel Hamid ».*

♥ *A mes chères sœurs « Zineb, Radia, et Djazia ».*

♥ *A mes chers neveux : « Sidi Mohammed et Younes ».*

♥ *Et à mon unique nièce : « Yasmine ».*

♥ *A ma famille maternelle et paternelle.*

♥ *A mes amis ainsi qu'à toutes les personnes qui me sont chères.*

Remerciements

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à mon encadreur « Mme MOKHTARI N », professeur à université de Tlemcen pour sa patience, ses précieux conseils, sa grande disponibilité pour l'aboutissement de ce travail.

J'adresse mes plus sincères remerciements à « Mme BOUANANE S », maître de conférences A à l'Université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de jury. J'aimerais lui manifester ma profonde gratitude.

J'adresse aussi mes remerciements à « Mme BABA AHMED FZ », Maître de conférences A à l'université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle nous a fait de bien vouloir faire partie de ce jury autant qu'examinatrice, je tiens à vous exprimer tout mon respect et mon estime.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous les enseignants qui m'ont suivi pendant mes 5 ans d'études.

Ce travail n'aurait pu aboutir sans l'aide de nombreuses personnes. Que me pardonnent celles que j'oublie ici. J'exprime toute ma sympathie à l'ensemble des membres du laboratoire «PPABIONUT».

En fin Je remercie toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel.

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

1. Liste des figures :

Figure 1	Structure de base des flavonoïdes	6
Figure 2	Structure du flavone	6
Figure 3	Structure du flavane	6
Figure 4	Schéma de la biosynthèse des flavonoïdes illustrant les voies de l'acétyle CoA et de la phénylalanine	7
Figure 5	Structure chimique deux flavonoïdes : la rutine ; la saponarine	9
Figure 6	Flavone	9
Figure 7	Isoflavone	9
Figure 8	Structure chimique de la quercétine	13
Figure 9	Principaux acteurs du stress oxydant et conséquences d'un déséquilibre de la balance pro-oxydants / antioxydants	17
Figure 10	Site d'action des nutriments antioxydants (en rouge), et des enzymes antioxydantes (en noir)	19
Figure 11	Protocol expérimental	26

2. Liste des tableaux :

Tableau 1	Teneur en flavonoïdes dans quelques fruits et légumes	11
------------------	---	----

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide DésoxyriboNucléique.
ATP	Adénosine TriPhosphate.
CAT	Catalase.
CoA	Coenzyme A.
Cu	Cuivre.
Cyt-450	Cytochrome-450.
DNPH	Initrophénylhydrazine.
DTNB	5,5 dithiodis-2-nitrobenzoïque réactif d'ELLMAN.
EDTA	Acide éthylène diamine tétraacétique.
ERN	Espèce réactive de l'azote.
ERO	Espèce réactive oxygéné.
Fe	Fer.
Fe³⁺	Fer ferrique.
GPx	Glutathion peroxydase.
GSH	Glutathion réduit.
H₂O	Eau.
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène.
LDL	Low density lipoprotein.
Mg	Milligramme
Mn	Manganèse.
NADPH	Nicotinamide adénine diphosphate réduit.
O₂^{•-}	Anion superoxyde.
PC	Protéines Carbonylées.
ROO[•]	Radical peroxyde.
SDS	Sodium DodecylSulfate.
Se	Sélénium.
SOD	Superoxyde dismutase.
TNB	Acide thionitrobenzoïque.
Zn	Zinc.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
ETAT ACTUEL DU SUJET	4
1. Les flavonoïdes	5
1.1. Définition	5
1.2. La biosynthèse	5
1.3. Structure et classification	7
1.4. Pharmacologie des flavonoïdes	10
1.4.1. Biodisponibilité	10
1.4.2. Absorption intestinale et métabolisme	10
1.5. Distribution des flavonoïdes	11
2. La quercétine	13
2.1. Définition	13
2.2. Activité biologique de la quercitrine	13
3. Le diabète sucré	16
3.1. Définition	16
3.2. Les différents types du diabète	16
4. Stress oxydatif	17
4.1. Radicaux libres	18
4.1.1. Définition	18
4.1.2. Origine des ERO	18
4.1.3. Implications des oxydations dans le fonctionnement de l'organisme	20
4.2. Système de défense antioxydants	20
4.2.1. Les antioxydants enzymatiques « endogènes »	21
4.2.2. Les antioxydants non enzymatiques « exogènes »	23
4.3. Stress oxydatif et diabète	25
MATERIEL ET METHODES	27
1. Population étudiée	28
2. Le sacrifice des animaux	30
3. Prélèvement de sang et d'organes	30
4. Détermination du statut oxydant /antioxydant	30

4.1. Dosage des protéines carbonylées (Levine et al., 1990)	30
4.2. Dosage du glutathion réduit (GSH) (Ellman, 1959)	31
4.3. Détermination de l'activité de la catalase (AEBI, 1974)	31
5. analyse statistique	32
RESULTATS ET INTERPRETATION	33
1. Caractéristique de la population étudiée	34
2. Les paramètres du stress oxydant chez les rats témoins et diabétiques	34
2.1. Teneurs plasmatiques en protéines carbonylées chez les rats témoins et diabétiques	34
2.2. Teneurs plasmatiques en glutathion réduit chez les rats témoins et diabétiques	34
2.3. Teneurs plasmatiques en activité de la catalase chez les rats témoins et diabétiques	34
3. Les paramètres du stress oxydant au niveau des organes chez les rats témoins et diabétiques	38
3.1. Teneurs en protéines carbonylées au niveau des organes	38
3.2. Teneurs en glutathion réduit au niveau des organes	38
3.3. Teneurs en activité de la catalase au niveau des organes	38
DISCUSSION	43
CONCLUSION	48
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	51

Introduction

INTRODUCTION

Ces dernières années, nous avons assisté à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les flavonoïdes, ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (AVIGNON et al., 2010).

Les flavonoïdes sont des substances naturelles issues des plantes, présentes dans tout le règne végétal. Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et d'autres parties de la plante (TSIMOGIANNINS et OREOPOULOU, 2006). Les flavonoïdes en particulier sont très étudiés en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (MIDDLETON et al., 2000 ; KSOURI et al., 2007). Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox (NIJVELDT et al., 2001).

Il est admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il constitue un terrain favorable au développement de pathologies diverses. Un stress oxydant «pathologique» est ainsi potentiellement impliqué dans de nombreuses affections ou dans le développement de complications associées à celles-ci comme le diabète (DEFRAIGNE et al., 2008).

En effet, de nombreuses études suggèrent que le diabète s'accompagne d'un stress oxydant qui favorise le développement de la maladie en perturbant l'insulinosécrétion, en favorisant l'insulinorésistance et les complications chroniques qui y sont associées.

Le pouvoir antioxydant des aliments est intéressant dans des études de prévention du stress oxydant associé aux maladies. Dans le cas du diabète, des études ont montré effectivement qu'une supplémentation en antioxydants naturels comme la quercétine qui renferme des flavonoïdes améliorerait la sensibilité à l'insuline (GRASSI et al., 2005).

INTRODUCTION

La quercétine produit naturel est un flavonoïde majeur dans l'alimentation humaine (fruits et légumes), de fortes concentrations se trouvent dans les pommes, le thé, les oignons et le vin rouge. Des recherches antérieures ont montré que la quercétine est antitumorale, anti-inflammatoire, anti-allergique, des activités antivirales et surtout antioxydantes (KRISHNAN et al., 2004).

C'est dans ce contexte que notre travail s'inscrit, il a pour but d'évaluer l'effet de la quercétine sur le stress oxydant chez des rats diabétiques en mesurant quelques marqueurs du statut oxydant (les protéines carbonylées) et antioxydants (le glutathion réduit et la catalase).

L'objectif de ce travail est de développer de nouveaux outils thérapeutiques et préventifs basés sur la supplémentation par des antioxydants d'origine alimentaire pour prévenir le stress oxydant dans la pathologie diabétique.

Etat actuel du sujet

1. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins.

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (MIDDLETON et CHITHAN, 1993), et aussi dans le miel. (GRANGE et DAVEY, 1990).

1.1. Définition :

Flavonoïdes (C6-C3-C6) : le nom flavonoïde provient du mot *Flavus* qui signifie « jaune » (MALESEV et KUNTIE, 2007). Ils ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (ERDMAN et al., 2005). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (EMERENCIANO et al., 2007) en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (MALESEV et KUNTIE, 2007) (figure1).

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau FLAVONE ou 2-PHENYL CHROMONE portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (figure2).

Le noyau FLAVONE est lui-même un dérivé du noyau FLAVANE de base (figure 3).

1.2. La biosynthèse :

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose.

Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p-coumaroyl-CoA.

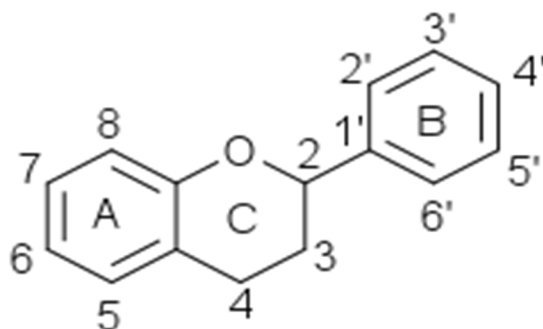
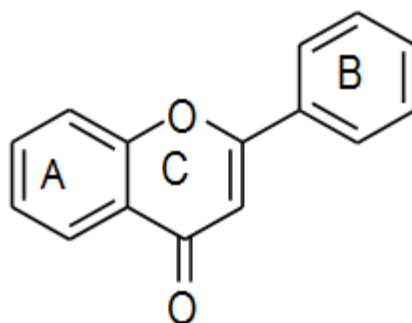
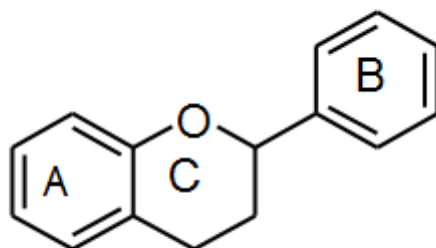


Figure 1 : structure de base des flavonoïdes (DACOSTA, 2003)



NOYAU FLAVONE

Figure 2 : Structure du FLAVONE (ELICOH-MIDDLETON, 2000).



NOYAU FLAVANE

Figure 3 : Structure du FLAVANE (ELICOH-MIDDLETON, 2000).

Le p-coumaroyl-CoA et les 3 malonyls-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthétase). Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(S)-flavone : la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (HELLER et FORKMANN, 1993) (figure 4).

1.1. Structure et classification :

Les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont les suivantes : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isoflavanones, chalcones, aurones et anthocyanes (HARBORNE et WILLIAMA, 2000 ; KURESH et al., 2002). Les composés de chaque sous classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle intermédiaire (JULIES et CHRISTIN, 2002).

Les flavonoïdes se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme d'hétérosides qui résultent de la combinaison du groupe réducteur d'un ose avec une substance non glucidique : l'aglycone ou la génine, avec élimination d'eau. La partie osidique peut être mono-, di- ou trisaccharidique. La partie glycarique est formée soit d'hexoses (D-glucose , D-galactose , D-allose ...) ou de pentoses (D-apiose , L-arabinose , L-ramnose ...) ou avec des acides (D-glucuronique , D-galacturonique ...). La partie osidique peut être linéaire ou ramifiée (GERHARD, 1993).

La liaison GENINE-OSE existe entre un hydroxyle phénolique ou d'un hydroxyle de l'hétérocycle oxygéné et un -OH ou un -CH de la fonction hémiacétalique du ou des ose(s). On obtient alors des O-HETEROSIDES ou des C-HETEROSIDES, (GERHARD, 1993) (figure 5).

Il existe de différentes génines :

- « FLAVONE » (figure 6).
- « ISOFLAVONE » (figure 7).

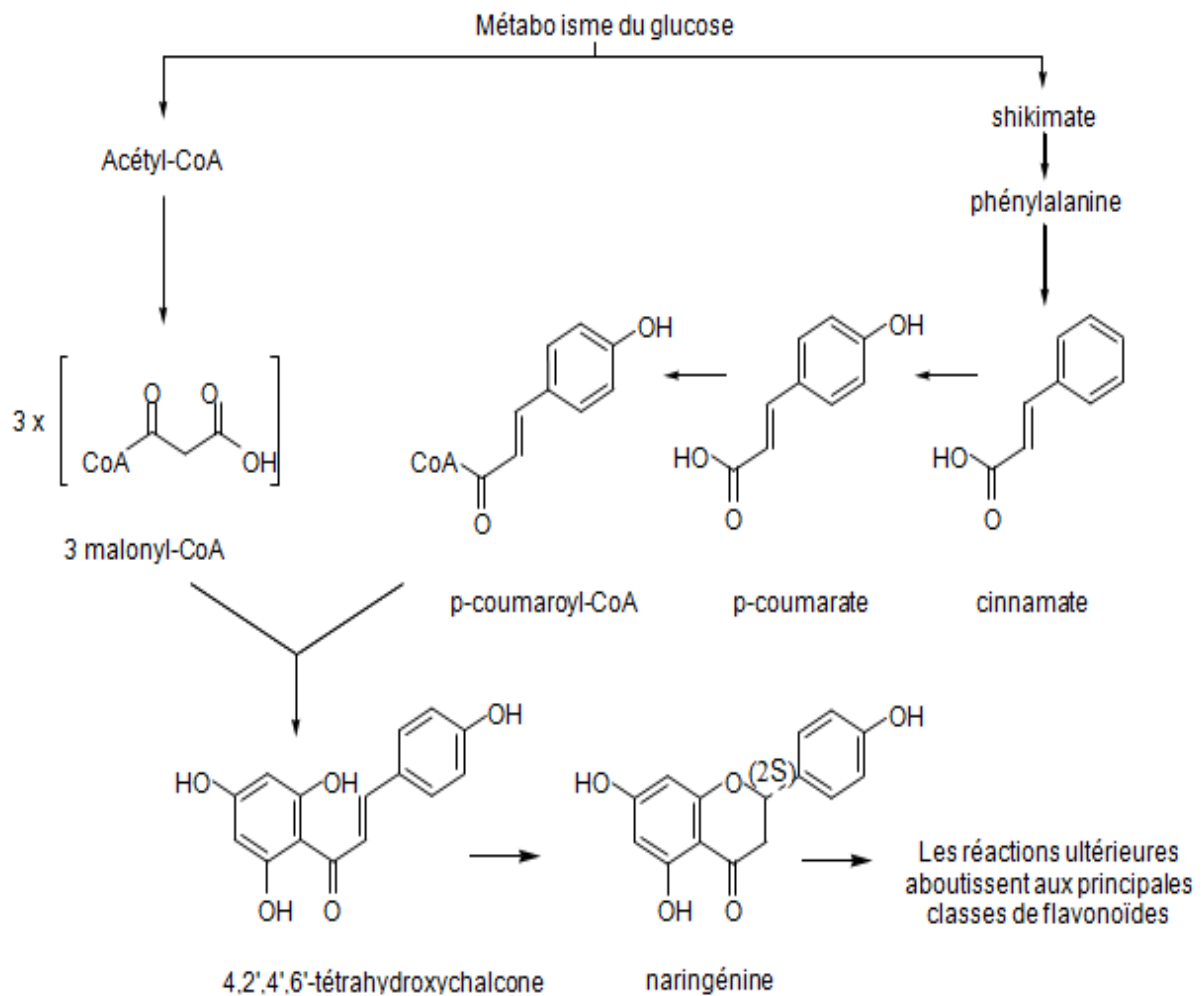
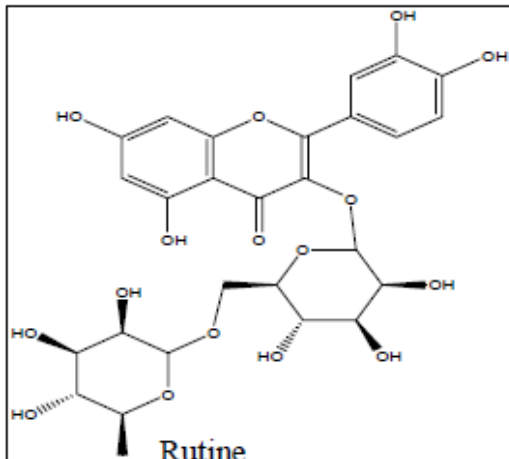


Figure 4 : schéma de la biosynthèse des flavonoïdes illustrant les voies de l'acétyle CoA et de la phénylalanine (HELLER et FORKMANN, 1993).

O-hétéroside



C-hétéroside

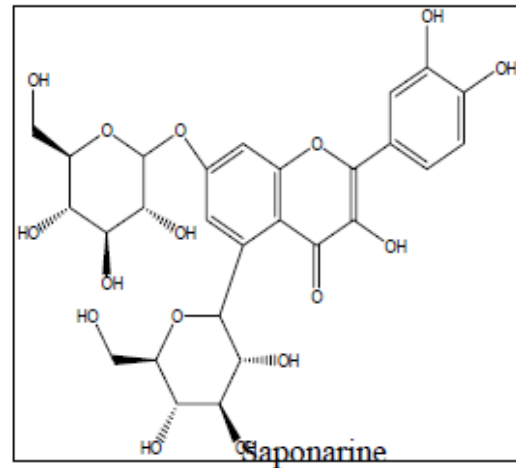


Figure 5 : Structure chimique deux flavonoïdes : la rutine ; la saponarine (GERHARD, 1993)

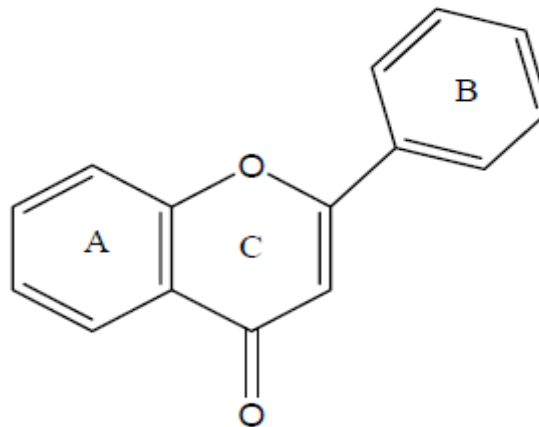


Figure 6 : flavone (ELICOH-MIDDLETON, 2000).

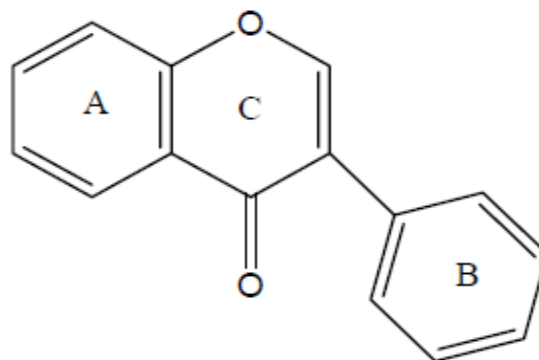


Figure 7 : isoflavone (FORKMANN et MARTENS 2001).

1.2. Pharmacologie des flavonoïdes :

1.2.1. Biodisponibilité :

L'organisme humain ne synthétise pas de flavonoïdes mais, de manière générale, elles sont largement rencontrées dans le règne végétal. Nous retrouvons les flavonoïdes dans notre alimentation quotidienne (PETRSON, 1998, MANACH, 2004). Les fruits (orange, raisin, etc..), les légumes (oignon, laitue, etc..) mais également les graines (fève, cacao) ou encore les racines des plantes sont, pour l'homme, des sources importantes de flavonoïdes. Les feuilles de thé sont également connues pour être riches en flavonoïdes (SCALBERT, 2000 ; AHERNE, 2002).

La quercétine et la lutéoline sont parmi les composés les plus représentatifs de cette famille en cela qu'elles présentent une activité importante dans les processus biologiques impliquant ces composés (FORMICA, 1995). La consommation journalière en flavonoïdes n'a jamais été étudiée de manière systématique au vu du très grand nombre de composés et de matrices naturelles à prendre en considération. Les seules estimations précises sur la consommation en flavonoïdes concernent essentiellement les flavonols et les flavones (HERTOG et al., 1993). Ainsi la consommation journalière en flavones et flavonols est de l'ordre de quelques dizaines à une centaine de mg.

1.2.2. Absorption intestinale et métabolisme :

Les flavonoïdes sont présents dans notre alimentation sous plusieurs formes. Cette particularité va leur conférer des métabolismes différents. Les formes libres (aglycones) peuvent être directement absorbées au niveau de l'intestin grêle (HOLLMAN et al., 1997 ; HOLLMAN et KATAN, 1998) tandis que les formes glycosylées doivent être hydrolysées, sous l'influence des glycosidases, par la flore intestinale au niveau du côlon avant d'être absorbées (MANACH et al., 1995 ; MANACH et al., 2004).

Cependant les formes libres issues de cette hydrolyse peuvent également être dégradées par la microflore en acide phénolique, lui-même absorbé ou éliminé via les fèces (WILLIAMS et al., 2004).

Les principaux sites de métabolisme sont la flore intestinale et le foie (HASLAM, 1998). Les métabolites, glucuro- et sulfoconjugués des flavonoïdes absorbés sont éliminés principalement par la bile, l'excrétion urinaire ne représentant que 3 à 6 % de

l'élimination totale (HASLAM, 1998). En effet, les flavonoïdes sont transformés, dans l'entérocyte, en flavonoïdes conjugués par méthylation, sulfatation, glucuronidation (CRESPY et al., 2004). Une partie de ces flavonoïdes est déversée dans le sang tandis qu'une autre est destinée vers la lumière intestinale ce qui constitue l'un des mécanismes de contrôle de l'absorption intestinale de ces substances phénoliques (GEE et al., 2000 ; CRESPY et al., 2004).

Dans le sang, les flavonoïdes ne sont pas présents sous leur forme native car ils ont été transformés, à cause de leur transformation au niveau du foie et de la cellule intestinale. La fraction des flavonoïdes conjugués destinée finalement vers les tissus pourrait avoir un effet biologique potentiel ou serait éliminée dans les urines.

Cependant, d'autres flavonoïdes conjugués pourraient être déversés dans l'intestin via la bile et y être hydrolysés par les enzymes de la flore intestinale libérant ainsi de nouveaux aglycones en constituant probablement un recyclage entérohépatique des flavonoïdes qui permet le maintien d'une concentration non négligeable dans le sang (MANACH et al., 1995 ; RECHNER et al., 2000).

1.3. Distribution des flavonoïdes :

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal. Le tableau 1 illustre la répartition des 4-oxo-flavonoïdes dans quelques fruits et légumes.

**Tableau 1 : Teneur en flavonoïdes dans quelques fruits et légumes
(REMESY et al., 1996).**

Fruits et légumes	Mg/Kg poids	Aglycones
Pamplemousse	2700/6000	Hespérétine
Orange	1700/2800	Naringénine
Persil	500	Apigénine
Laitue	320	Quercétine
Oignon	300	Quercétine + Kaempfèrol
Endives	290	Kaempfèrol
Myrtilles cultivées	165	Quercétine
Chou frisé	150	Quercétine + Kaempfèrol
Ciboulette	110	Quercétine + Kaempfèrol
Chou frisé (serré)	105	Quercétine + Kaempfèrol
Poireau	100	Quercétine + Kaempfèrol
Céleri	100	Apigénine + Lutéoline
Cerises aigres	100	Quercétine + Kaempfèrol
Cassis	80	Quercétine + Kaempfèrol
Haricots verts	70	Quercétine + Kaempfèrol
Chou de Bruxelles	65	Quercétine + Kaempfèrol
Raisins	50/100	Quercétine + Kaempfèrol
Abricots	55	Quercétine
Mûres	50	Quercétine + Kaempfèrol
Brocolis	35	Quercétine + Kaempfèrol
Pommes	30	Quercétine
Groseilles	30	Quercétine + Kaempfèrol
Framboises	30	Quercétine + Kaempfèrol
Prunes	30	Quercétine + Kaempfèrol
Cerises douces	12	Quercétine + Kaempfèrol

2. La quercétine :

2.1. Définition :

La quercétine est un flavonoïde qui fait partie du groupe des polyphénols et appartient au sous-groupe des flavonols ; la quercétine est le flavonoïde qui, jusqu'à ce jour, a été le mieux étudié. En tant qu'élément de base, la quercétine permet d'obtenir d'autres flavonoïdes. La quercétine tire son nom du latin « quercus » (chêne). C'est un colorant jaune que l'on trouve dans le chêne noir ou chêne des teinturiers, mais aussi dans les pommes et les oignons. On la trouve également dans la peau des raisins et dans le vin, en particulier lorsque celui-ci vieillit dans des fûts en chêne (RATH, 2010) (figure 8).

2.2. Activité biologique de la quercétine :

Effet antioxydant : (RATH, 2010)

En tant qu'antioxydant, elle protège les cellules, les membranes cellulaires et l'ADN contre les dommages causés par les radicaux libres et peut ainsi contribuer à faire de la prévention contre le cancer, ainsi que d'autres maladies.

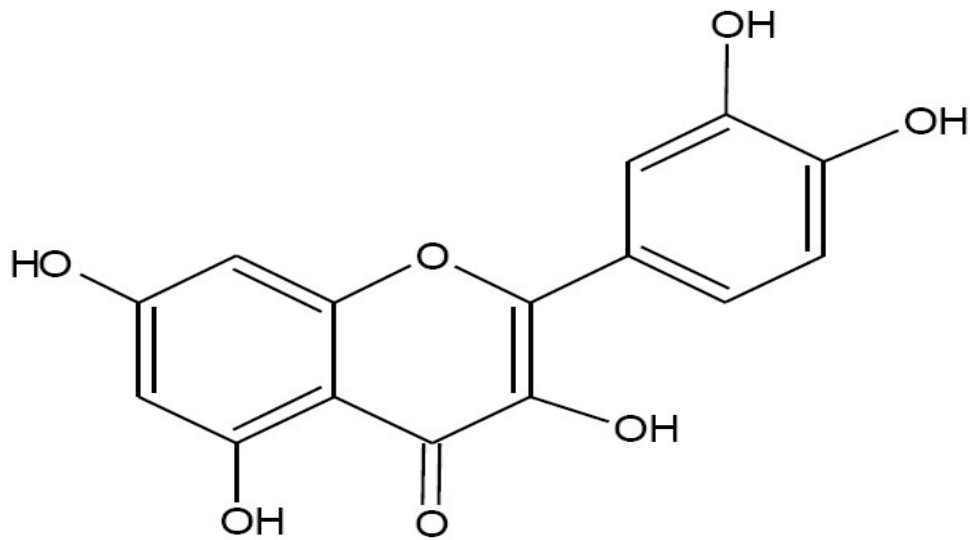
- La quercétine protège les lipoprotéines, qui transportent les graisses sanguines (par ex. le LDL) contre l'oxydation, ce qui permet de contrecarrer la formation d'athérosclérose et de maladies cardio-vasculaires.

Effet préventif contre le cancer : (BOOTS et al., 2008)

- La quercétine a la capacité de réguler la prolifération des cellules et les autres mécanismes du cancer qui entraînent la mort des cellules.
- Sous l'effet de la quercétine, les cellules cancéreuses sont bloquées dans la phase G2/M de la division cellulaire et les mécanismes de l'apoptose sont enclenchés (RATH, 2010).

Effet anti-inflammatoire : (BONINA et al., 2008)

- La quercétine freine l'engrenage des phénomènes inflammatoires, inhibe fortement les enzymes qui favorisent les inflammations et a, de ce fait, un effet positif sur le cours de tous les processus inflammatoires.
- La quercétine et l'EGCG ont un effet synergique permettant de lutter contre les inflammations et les allergies.



**Figure 8 : structure chimique de la quercétine (C₁₅H₁₀O₇)
(ARDHAOUI et al., 2004).**

- La vitamine E et la quercétine se complètent dans la modulation des processus inflammatoires, comme par ex : l'arthrite.
- La quercétine bloque la multiplication des virus dans les cellules (réplication intracellulaire des virus).
- La quercétine a un effet positif sur toutes les formes d'inflammation chronique.

Effet positif sur le système cardio-vasculaire : (SRIVASTAVA et al., 2009)

- La quercétine a une influence anti-thrombotique ; elle empêche la coagulation des plaquettes.
- La quercétine agit de façon décontractante sur les cellules du tissu musculaire lisse, ce qui se répercute positivement sur la tension artérielle.
- La quercétine et l'EGCG ont un effet synergique positif sur la biodisponibilité de monoxyde d'azote, un facteur endogène important, qui permet la dilatation des vaisseaux sanguins. Ceci a également un effet positif sur la normalisation de la tension artérielle.

Effet positif sur le diabète : (OSSOLA et al., 2009)

- La quercétine bloque une enzyme, qui est à l'origine de l'accumulation de sorbitol dans les cellules. Des quantités élevées de sorbitol peuvent laisser des séquelles chez les personnes diabétiques.
- La quercétine a un effet positif sur le risque de diabète de type 2.

La quercétine, un phytoœstrogène : (EDWARDS et al., 2007)

- La quercétine est un phytoœstrogène, une hormone végétale qui a un effet positif sur le métabolisme de cette hormone.
- La quercétine a, par ex., un effet inhibiteur sur le cancer du col de l'utérus.

Effet anti-allergique : (ARDHAOUI et al., 2004)

- La quercétine a un effet anti-allergique, car elle inhibe la libération de l'histamine.
- La fréquence des crises d'asthme est plus faible lors de l'absorption de quercétine.

Autres effets positifs de la quercétine : (BOOTS et al., 2008)

- Les flavonoïdes, telle que la quercétine, favorisent l'absorption de la vitamine C.
- La quercétine bloque une enzyme, l'aldose réductase, qui joue un grand rôle dans l'apparition de la cataracte.

3. Le diabète sucré :

3.1. Définition :

Le diabète sucré, condition caractérisée par une hyperglycémie, est un désordre métabolique chronique des carbohydrates, des lipides et des protéines, dû à un déficit relatif ou absolu de la sécrétion et/ou de l'action de l'insuline (JENKINS, 2007 ; RAHIMI et AL., 2005). Donc, le diabète n'est pas une maladie unique mais c'est une constellation d'anomalies métaboliques et pathologiques avec une variété de causes (LAVIS et al., 2008) environnementales et héréditaires (BEAUDEUX, 2005).

Le diabète sucré est défini par une glycémie supérieur à 1,26g/l. il est aussi défini par la présence des symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement) associés à une glycémie supérieur ou égale à 2g/l deux heures après une charge orale de 75g de glucose (MOTTA et al., 2006).

3.2. Les différents types du diabète :

On peut diviser le diabète en deux principaux types, type 1 et 2 qui ont de très différentes causes, il existe un autre type connu sous le nom de diabète gestationnel.

Diabète Type 1 :

Ce type 1 connue auparavant comme diabète juvénile, diabète dépendent de l'insuline, il est caractérisé par la destruction auto-immunitaire des cellules productrice de l'insuline suite de l'infiltration des macrophages dans les ilots de Langerhans ,10% des cas diabétiques sont affectés par ce type (KATHELEN, 2006).

Le développement de ce type passe par plusieurs étapes (DEVENDRA et EISENBARTH, 2003):

- Susceptibilité génétique.
- Déclenchement.
- Activation anti-immunitaire.
- La perte de la fonction des cellules β .
- Manifestation du diabète.

Diabète de type 2 :

Le diabète de type 2 apparaît généralement à l'âge adulte, voire avancé, chez des individus obèses la plupart du temps ; c'est généralement le résultat d'une résistance à l'insuline associée à un déficit relatif de la sécrétion d'insuline (JIWA, 1997). Le diabète de type 2 est la forme de diabète la plus répandue dans toutes les régions du globe. Comme il est fréquemment asymptomatique, on estime qu'il existe près de 50 % des cas qui ne sont pas diagnostiqués .Il existe probablement plusieurs étiologies spécifiques au diabète de type 2 :

- Résistance à l'insuline
- Dysfonction de la cellule β
- Surproduction hépatique du glucose.

4. Stress oxydatif :

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du« stress oxydant ».

Dans une cellule eucaryote normale, l'énergie nécessaire à son fonctionnement se fait de façon aérobie en utilisant des réactions d'oxydo-réduction. Ces réactions font intervenir des oxydants ou accepteurs d'électrons et des réducteurs ou donneurs d'électrons. Elles ont lieu dans la chaîne respiratoire de la mitochondrie, qui fournit 90% de l'énergie nécessaire (ROLFE et BROWN, 1997). Dans cet organite intracellulaire, l'oxygène est l'accepteur final d'électron après une cascade de réactions d'oxydo-réduction, faisant intervenir quatre complexes protéiques.

Lorsque l'oxygène est transformé en molécule d'eau, cela permet de générer de l'ATP (adénosine triphosphate), molécule à haut potentiel énergétique.

Cependant 2 à 3% de l'oxygène n'est pas réduit en eau ; il est dévié pour former des radicaux libres ou des espèces dérivées de l'oxygène très réactives (KOPPENOL, 2001). Ces entités oxydantes sont physiologiquement maintenues en équilibre par de nombreux systèmes antioxydants. Quand un déséquilibre apparaît entre molécules pro-oxydantes et antioxydantes, en faveur des entités oxydantes, on parle alors de stress

oxydant (SIES, 1991). Il peut être la cause de système antioxydant défectueux ou d'une quantité d'entités oxydantes produites trop importante (Figure 9).

4.1. Radicaux libres :

4.1.1. Définition :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante (HALLIWELL et GUTTERIDGE, 1999a). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (ERN). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices. Cette instabilité rend difficile leur mise en évidence au niveau des différents milieux biologiques ; leurs constantes de vitesse réactionnelles variables selon leurs natures, sont très élevées et peuvent aller de 10^5 à 10^{10} mol⁻¹.L.s⁻¹ (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2003).

Parmi les radicaux libres les plus connus : l'anion superoxyde, le radical hydroxyle, l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène, le monoxyde d'azote, le radical hydroxyle et les radicaux peroxydes.

4.1.2. Origine des ERO :

La production des ERO dans les cellules mammifères est essentiellement d'origine enzymatique et découle de plusieurs sources possibles. Il s'agit principalement de la NAD(P)H oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire, mais d'autres sources cytosoliques ou présentes au sein de différents organites cellulaires peuvent également jouer un rôle dans la modulation de la signalisation intracellulaire : xanthine oxydase, enzymes de la voie de l'acide arachidonique, enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et peroxyosomes. Les NO synthases, à l'origine de la synthèse du radical .NO mais peuvent aussi dans certaines conditions produire des anions superoxyde (LANDMESSER et al., 2002).

ETAT ACTUEL DU SUJET

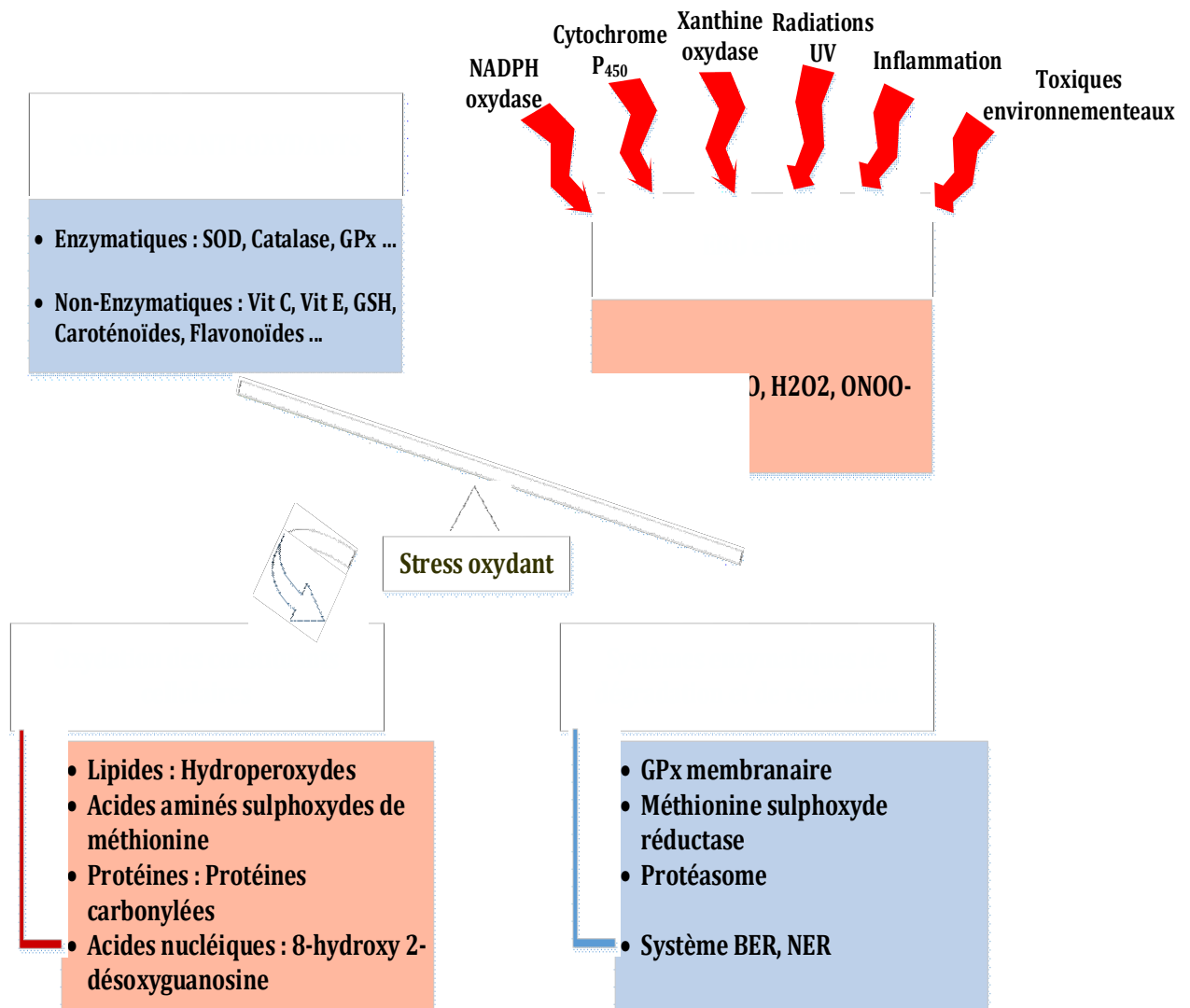


Figure 9 : principaux acteurs du stress oxydant et conséquences d'un déséquilibre de la balance pro-oxydant / antioxydants (DELATTRE, 2005).

4.1.3. Implications des oxydations dans le fonctionnement de l'organisme :

Les ERO dérivés de l'oxygène et de l'azote sont reconnus pour leur caractère ambivalent physiologique et physiopathologique (LAMPRECHT et al., 2004). Les effets physiologiques des ERO nécessitent de basses concentrations et contribuent à la synthèse de l'ADN, des hormones stéroïdes, des acides biliaires, des eicosanoïdes, des acides gras insaturés, aux réactions dépendantes de la Vitamine B12, à la biosynthèse des mitochondries, ... (DAVIES et al., 1982, KOOLMAN et al., 1999). Ils sont les médiateurs de multiples fonctions de signalisation (signaux redox) et de transcription essentielles pour le fonctionnement normal et la survie des cellules, ainsi que de la programmation de leur élimination (VERGANI et al., 2004 ; VALKO et al., 2007, KIRSCHVINK et al., 2008).

En contrepartie, au travers de réactions en chaîne, les ERO peuvent endommager la structure des macromolécules (acides nucléiques, protéines, lipides, hydrates de carbone), générer de nouveaux produits oxydants, provoquer de la toxicité cellulaire et des mutations génétiques (FINKEL, 2001 ; VERGANI et al., 2004, SAYRE et al., 2005). Leur impact dépendra de la fréquence et de la durée des attaques, ainsi que des défenses spécifiques présentes dans les tissus attaqués (WOLINSKY, 1998 ; CLARKSON et al., 2000 ; Bloomer et al., 2008). Les biomarqueurs des ERO ont été impliqués, par des études cliniques et épidémiologiques, dans de nombreuses maladies comme le diabète, les maladies respiratoires, les cancers, l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives, les ischémies reperfusion, l'inflammation, l'arthrite rhumatoïde, l'endométriose,... (BROWNE et al., 2008 ; RADAK et al., 2008ab ; HEMPEL et al., 2009).

4.2. Système de défense antioxydants :

Face à la production permanente des ERO, les organismes vivants ont développé des systèmes de défense qui les protègent des dommages liés aux formes radicalaires.

Ces molécules contrôlant cette production de défense sont désignées par le terme d'antioxydants et désignent « toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat » (HALLIWELL et GUTTERIDGE, 1990).

Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (figure 10).

4.2.1. Les antioxydants enzymatiques « endogènes » :

Les enzymes antioxydantes sont les premières lignes de défenses contre les entités oxydantes. Leur rôle est de diminuer la quantité des ERO présentes dans la cellule. Parfois ces enzymes nécessitent des oligo-éléments (Cu, Zn, Mn, Se, Fe) comme cofacteurs pour pouvoir exercer leur activité enzymatique.

La superoxyde dismutase (SOD) :

Les superoxyde dismutases sont capables d'éliminer l'anion superoxyde en produisant une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène. Il existe plusieurs isoenzymes qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. La structure des superoxydes dismutases est bien conservée lors de l'évolution et présente un puits hydrophobe au centre de la protéine dans lequel se glisse l'anion superoxyde. La nature du métal situé au centre de l'enzyme permet de distinguer les superoxyde dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, de celles à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules épithéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD) (ZELKO et al., 2002).

La catalase (CAT) :

La catalase est une enzyme héminique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes. Son nom a été donné à cause de la capacité de cette protéine à décomposer le peroxyde d'hydrogène (DELATTRE et al., 2005).

La catalase est formée de quatre sous-unité comporte un groupement ferriprotoporphyrine dans son site actif avec un atome de fer a l'état Fe^{3+} (KO et al., 2000).

Systeme de defense antioxydant

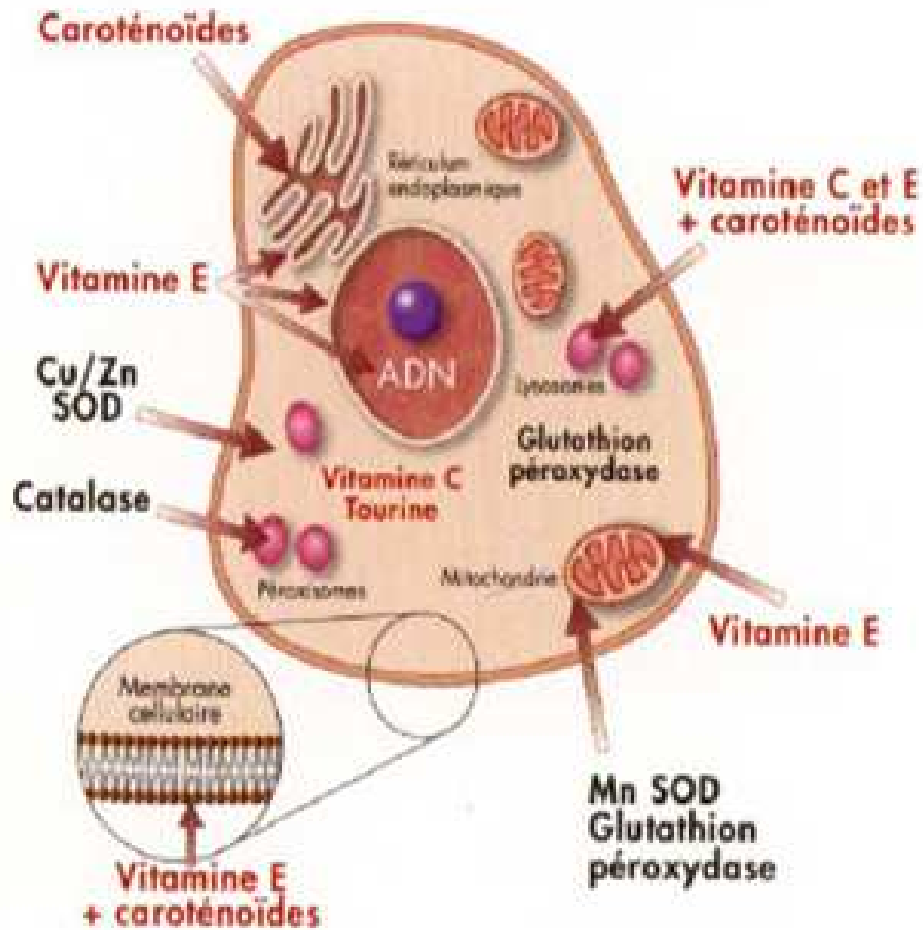


Figure 10 : site d'action des nutriments antioxydants (en rouge), et des enzymes antioxydantes (en noir). (OPARA, 2002)

La glutathion peroxydase (GPx) :

L'activité GPx fut découverte par Milles en 1957. Ces enzymes sont capables de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur. Dans le cas de la GPx ce substrat est le glutathion mais d'autres peroxydases existent utilisant le cytochrome c (cytochrome c peroxydases), le NADH (NADH peroxydases). L'ensemble des GPx catalysent la réduction des hydroperoxydes minéraux ou organiques en peroxyde d'hydrogène ou en alcool, tandis que le glutathion réduit (GSH) est transformé en glutathion oxydé. Toutes ces enzymes contiennent dans leurs sous unités un atome de sélénium (DELATTRE et al., 2005).

Il existe d'autres antioxydants endogènes mais non enzymatiques présents dans l'organisme humain qui comprennent le glutathion, la bilirubine, les hormones sexuelles (oestrogènes), l'acide urique, le coenzyme Q, la mélanine, la mélatonine et l'acide lipoïque.

4.2.2. Les antioxydants non enzymatiques « exogènes » :

Pour soutenir l'activité insuffisante des antioxydants enzymatiques, de nombreux antioxydants exogènes qui sont non enzymatiques ou bien secondaires sont présents dans notre alimentation tels que :

❖ La vitamine C (acide ascorbique) :

La vitamine C ou acide L-ascorbique est hydrosoluble. Elle joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant (KOOLMAN et al., 1999). Son action est directe et indirecte, elle agit directement sur les ERO (superoxydes, hydroxyle, singulet oxygène, radicaux lipidiques) et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH.

❖ La vitamine E (tocophérol) :

Le terme vitamine E regroupe la famille des tocophérols (α , β , σ , γ). D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l' α - et le γ -tocophérol.

Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes ($\text{ROO} \cdot$) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (HALENG et al., 2007).

❖ La vitamine A (β -carotène) :

Le précurseur de la vitamine A est le β -carotène. Les caroténoïdes piègent les molécules d'oxygène singulet (STAHL et SIES, 2002) formées par les radiations solaires. Grâce à leur longue chaîne carbonée, riche en doubles liaisons, ils sont également de bons piègeurs de radicaux peroxydes. Une molécule de caroténoïde peut piéger plusieurs espèces radicalaires avant d'être détruite (STAHL et SIES, 1997).

❖ Le sélénium :

Le sélénium est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, voisin de celui de la vitamine E. Cet effet antioxydant est capital dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire. Cet effet de détoxification serait responsable des effets anti-cancéreux et anti-âge, attribués au sélénium (WOLTERS et al., 2006).

❖ Le zinc :

Le zinc est un oligo-élément, un des cofacteurs essentiels de la SOD. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydantes comme les métallothionéines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (MEZZETTI et al., 1998).

❖ Les polyphénols :

Ces substances sont très utilisées dans la médecine traditionnelle et moderne pour leurs activités antioxydantes (RICE-EVANS et al., 1996 ; KOLESNIKOV et GINS, 2001). Vue leurs propriétés redox les plus élevées, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (RICE-EVANS et al., 1995; VALKO et al., 2006).

❖ Le cuivre :

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, le cytochrome C oxydase, la dopamine β -hydroxylase (HALENG et al., 2007).

❖ Le manganèse :

Le manganèse est un oligo-élément indispensable qui participe à l'utilisation des glucides et des lipides par l'organisme. Il a aussi comme vertu de lutter contre l'oxydation et les radicaux libres. Le manganèse entre en jeu dans de nombreux systèmes enzymatiques qui sont responsables de la croissance des os, la bonne santé des dents et gencives, de la lubrification des articulations, de la bonne utilisation des glucides. D'une manière générale, le manganèse participe à la dépollution de l'organisme et protège des cellules contre les attaques de radicaux libres (PINCEMAIL, 2004).

4.3. Stress oxydatif et diabète :

Le stress oxydant est augmenté dans les différents tissus à la fois dans le cas de diabète expérimentale ou pour les patients diabétiques, l'hyperglycémie induit une production prolongée des espèces réactives de l'oxygène intracellulaire et ceux-ci prolongent le gradient électrochimique des protons généré dans la chaîne mitochondriale menant à une surproduction d'anion superoxyde , qui est l'une des espèces réactives de l'oxygène qui peut endommager les cellules dans de nombreuses voies à travers le stress oxydatif, en l'absence d'une compensation appropriée de la réponse des réseaux antioxydants endogènes des cellules, le système est débordé, entraînant un déséquilibre d'oxydo-réduction, ce qui aggrave encore la situation (KORSHUNOV et al., 1997).

Les espèces réactives de l'oxygène généré lors de l'hyperglycémie causent principalement des dommages de l'ADN, des protéines et des lipides. en plus il est évident que dans le diabète de type 2, l'activation des voies de stress sensible par l'élévation du glucose et des acides gras conduit à deux niveaux de résistance à l'insuline et une diminution de la sécrétion d'insuline et la dysfonction des cellules B sécrétrice de l'insuline (EVANS et al., 2003).

Quatre principales hypothèses sont maintenant avancées pour expliquer comment l'hyperglycémie peut provoquer les complications observées au cours du diabète. Ces hypothèses sont de plus en plus étayées par de nombreuses données, aussi bien cliniques qu'expérimentales. Elles font toutes intervenir un déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants. Ces quatre hypothèses sont (FAURE et al., 2005):

- L'augmentation de la voie des polyols.
- La formation de protéines glyquées.
- L'activation du système rénine-angiotensine.
- La production de radicaux libres par la mitochondrie.

Matériel et méthodes

Protocol expérimental :

1. Population étudiée :

Notre travail est réalisé au niveau du laboratoire de Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition, au sein du département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature, Vie, Terre et Univers, Université de TLEMCEM.

Le travail a porté sur des rats adultes de souche « Wistar » (n=20) ; l'élevage a été fait au sein de l'animalerie (Département de Biologie).

Les rats sont maintenus dans des conditions favorables d'élevage à une température de 25 à 30° C et un taux d'humidité entre 60 à 70 %. Ces animaux sont nourris par un régime standard, fabriqués par l'ONAB (Office National d'Aliment de Bétail, Remchi Wilaya de Tlemcen), et boivent de l'eau à volonté.

Le diabète expérimental a été provoqué chez le rat maintenu à jeun pendant une nuit par une injection intrapéritonéale unique d'une solution de streptozotocine à raison de 45mg/kg. La solution de la streptozotocine est fraîchement préparée dans une solution froide de tampon citrate 0.1M (pH 4.5).

Les rats diabétiques (n=10) et les témoins (n=10) ont reçu des solutions par gavage, et ont été répartis sur 4 lots (n=5), comme suit :

- Lot N°1 : Groupe normal control (C), reçoit 1 ml de solution de gavage (DMSO+ eau physiologique).
- Lot N°2 : Groupe (Q) reçoit une dose de 25 mg/kg de quercétine solubilisée dans 1ml de solution de gavage.
- Lot N°3 : Groupe diabétique control (D), reçoit 1ml de solution de gavage.
- Lot N°4 : Groupe diabétique (DQ) reçoit une dose de 25 mg/kg de quercétine solubilisée dans 1ml de solution de gavage.

Le gavage a été réalisé tous les jours pendant 8 semaines d'expérimentation (figure 09).

MATERIELS ET METHODES

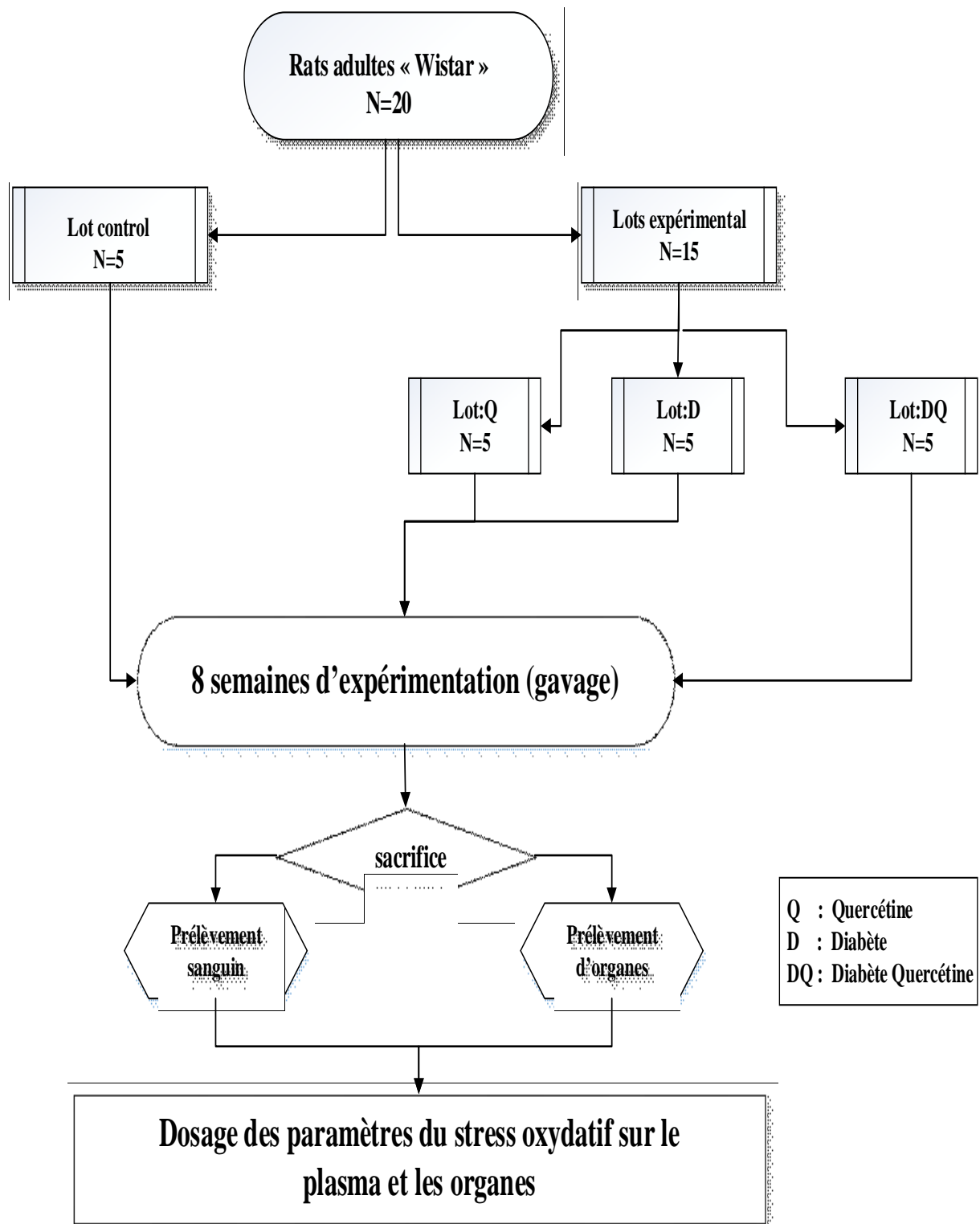


Figure 11 : Protocole expérimental

2. Le sacrifice des animaux :

A la fin de l'expérimentation (2 mois), les animaux sont mis à jeun pendant une nuit. La glycémie à jeun et le poids des rats après le dernier jour du gavage sont notés avant le sacrifice. Les rats sont anesthésiés au chloral à 10% (0.3ml/100g de poids du rat), et sacrifiés. Le prélèvement sanguin et des organes est réalisé.

3. Prélèvement de sang et d'organes :

Le sang est prélevé à partir de la veine abdominale et récupéré dans des tubes EDTA, puis centrifugé à 3000tr/min pendant 15 min.

Le plasma est récupéré pour doser les différents paramètres du stress oxydatif (protéines carbonylées, glutathion réduit, catalase).

Après prélèvement sanguin, le foie, et le tissu adipeux sont soigneusement prélevés, rincés avec du NaCl à 9‰ ensuite pesés. Une partie aliquote des différents organes sont broyées à l'utaturax dans le tampon phosphate/ EDTA, Ph=7.2, additionné de SDS, 1% (Sodium Dodécyl Sulfate), l'ensemble est centrifugé ensuite à 3000tr/min pendant 10min pour récupérer le surnageant qui constitue l'homogénat d'organe, qui sert à déterminer des paramètres du statut oxydant/antioxydant.

4. Détermination du statut oxydant /antioxydant :

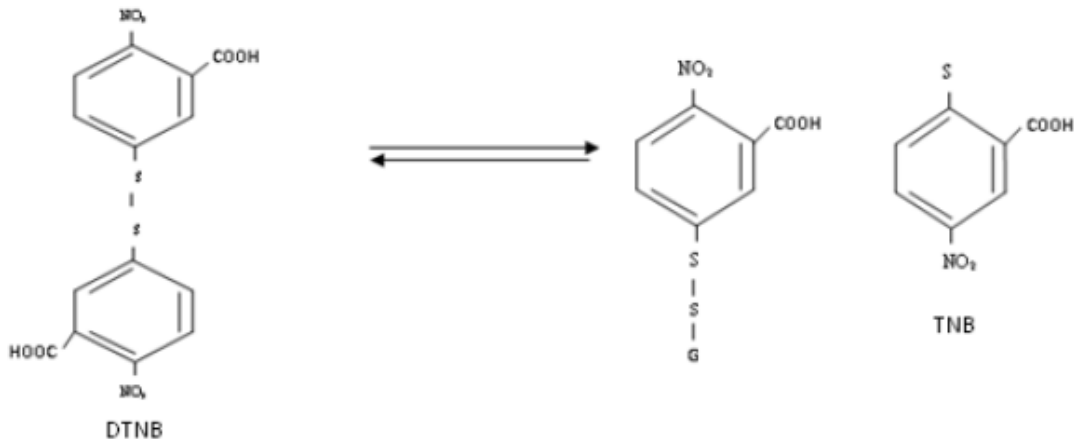
4.1. Dosage des protéines carbonylées (Levine et al., 1990) :

Les protéines carbonylées du plasma, du lysat érythrocytaire ou d'homogénats d'organes sont des marqueurs de l'oxydation protéique, qui sont mesurées par la réaction au 2-4 dinitrophénylhydrazine (DNPH) qui aboutit à la formation de la dinitrophényl hydrazone colorée.

Les concentrations des groupements carbonylées sont déterminées par lecture à des longueurs d'onde de 350 et 375 nm et calculées selon un coefficient d'extinction des PC ($\epsilon = 21,5 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$).

4.2. Dosage du glutathion réduit (GSH) (Ellman, 1959) :

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé par la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5 dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) selon la réaction suivante :



Le thionitrobenzoïque (TNB) à pH (8-9) alcalin présente une absorbance à 412 mn avec un coefficient d'extinction égal à 13,6 mM⁻¹.cm⁻¹.

4.3. Détermination de l'activité de la catalase (AEBI, 1974) :

Cette activité enzymatique est mesurée par l'analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène. En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H₂O₂ en fonction du temps. Le milieu réactionnel contient 1ml de surnageant (lysate dilué au 1/50 ou homogénat d'organe), 1 ml d'H₂O₂, et 1ml de tampon phosphate (50mmol/l, pH 7,0). Après incubation de 5 min, 1 ml du réactif titanium oxyde sulfate (TiOSO₄) (1,7 g dans 500 ml d'H₂SO₄ 2N) est ajouté. La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du H₂O₂ restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H₂O₂ avec le tampon phosphate et le réactif TiOSO₄ de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0,5 à 2 mmol/l.

Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :

$$A = \log A_1 - \log A_2.$$

A_1 est la concentration de H_2O_2 de départ

A_2 est la concentration de H_2O_2 après incubation (au bout de 5min)

L'activité spécifique est exprimée en U/min/ml de plasma ou du lysat érythrocytaire et en U/min/g d'organe.

5. analyse statistique :

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre les groupes de rats témoins et entre les groupes de rats diabétiques est effectuée par le test ANOVA à facteur. Cette analyse est complétée par un test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différentes ($P < 0.05$).

Résultats et interprétation

1. Caractéristique de la population étudiée :

L'analyse des caractéristiques de la population étudiée montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les tranches d'âge et de poids (kg) des rats témoins et diabétiques puisqu'ils sont tous des rats adultes âgés de deux mois et que leurs poids varient entre 210 à 260g.

2. Les paramètres du stress oxydant chez les rats témoins et diabétiques :

2.1. Teneurs plasmatiques en protéines carbonylées chez les rats témoins et diabétiques (figure 10) :

Chez les rats diabétiques, on note une augmentation significative des teneurs plasmatiques en protéines carbonylées par rapport aux rats témoins. Par contre chez les rats témoins recevant de la quercétine et les rats diabétiques recevant de la quercétine aucune variation n'est notée concernant ce paramètre. Ces teneurs plasmatiques en protéines carbonylées sont significativement diminuées chez les rats diabétiques recevant de la quercétine comparés aux rats diabétiques.

2.2. Teneurs plasmatiques en glutathion réduit chez les rats témoins et diabétiques (figure 11) :

Chez les rats diabétiques, les teneurs plasmatiques en glutathion réduit montrent une diminution significative par rapport aux valeurs des rats témoins. Cependant, chez les rats diabétiques recevant de la quercétine, les teneurs plasmatiques en glutathion réduit sont semblables à celles des rats témoins recevant de la quercétine, et on remarque aussi qu'il y a aucune différence entre les rats diabétiques recevant de la quercétine et les rats diabétiques.

2.3. Teneurs plasmatiques en activité de la catalase chez les rats témoins et diabétiques (figure12) :

Les rats diabétiques présentent des activités de la catalase plasmatiques significativement diminuées par rapport à celle des rats témoins, et cette activité de la catalase plasmatique présente aussi une diminution significative chez les rats diabétiques recevant de la quercétine comparés aux rats témoins recevant de la quercétine. Cependant il y a une augmentation significative de l'activité de la catalase plasmatiques chez les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats diabétiques.

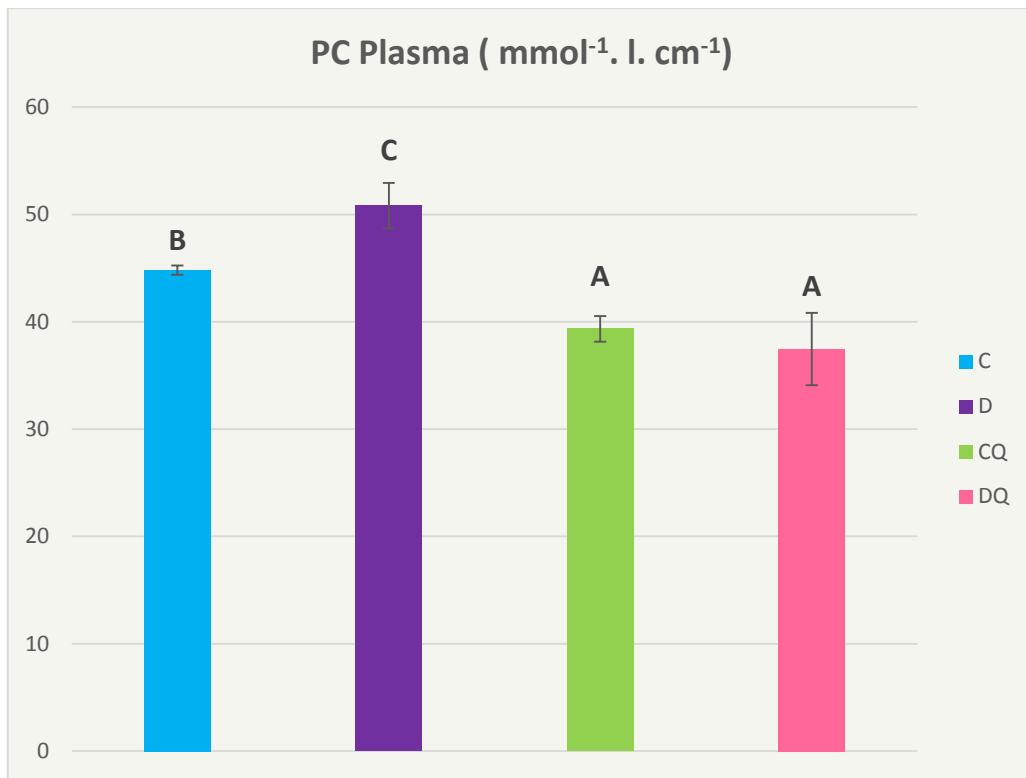


Figure 10 : teneur plasmatique en protéines carbonylées chez les rats témoins et diabétique.

Chaque valeur représente la moyenne \pm erreur standard. C : rats témoins (control) ; D : rats diabétiques ; CQ : rats control recevant de la quercétine ; DQ : rats diabétique recevant de la quercétine. La comparaison des moyennes entre les quatre groupes de rats (C, D, CQ, DQ) est effectuée par le test ANOVA à facteur. Cette analyse est complétée par un test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux a deux. Les moyennes indiquées par les lettres différentes (A, B, C, D) sont significativement différentes ($P < 0.05$).

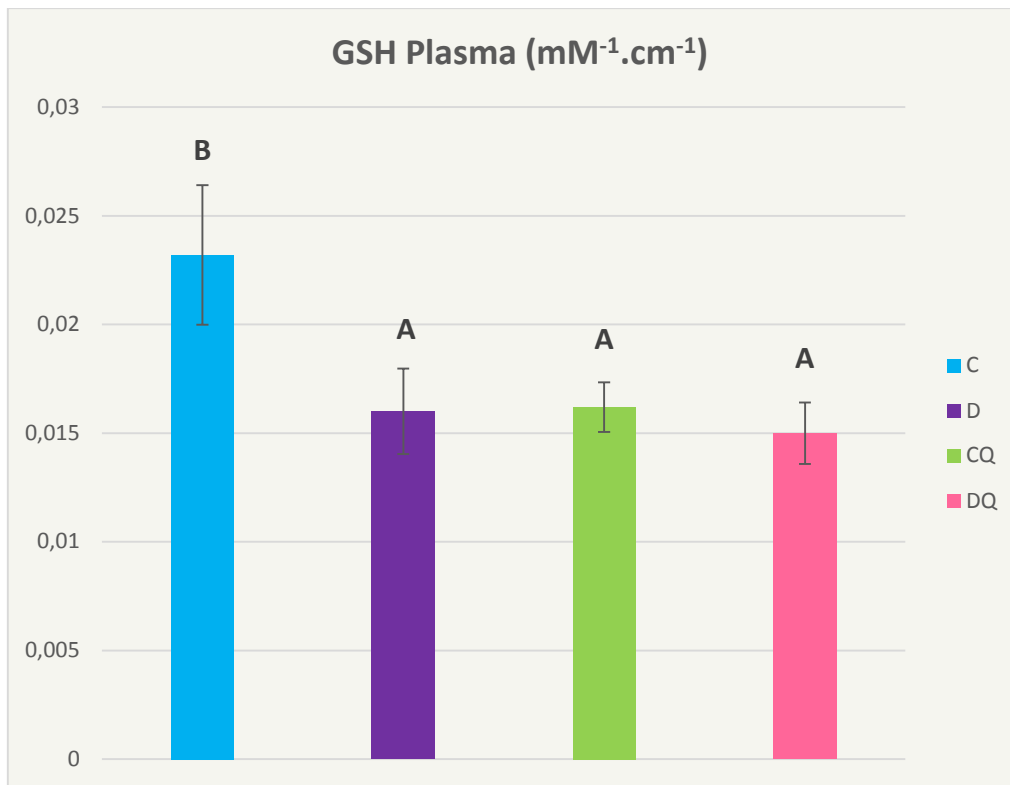


Figure 11 : Teneurs plasmatiques en glutathion réduit chez les rats témoins et diabétiques.

Chaque valeur représente la moyenne \pm erreur standard. C : rats témoins (control) ; D : rats diabétiques ; CQ : rats control recevant de la quercétine ; DQ : rats diabétique recevant de la quercétine. La comparaison des moyennes entre les quatre groupes de rats (C, D, CQ, DQ) est effectuée par le test ANOVA à facteur. Cette analyse est complétée par un test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux a deux. Les moyennes indiquées par les lettres différentes (A, B, C, D) sont significativement différentes ($P < 0.05$).

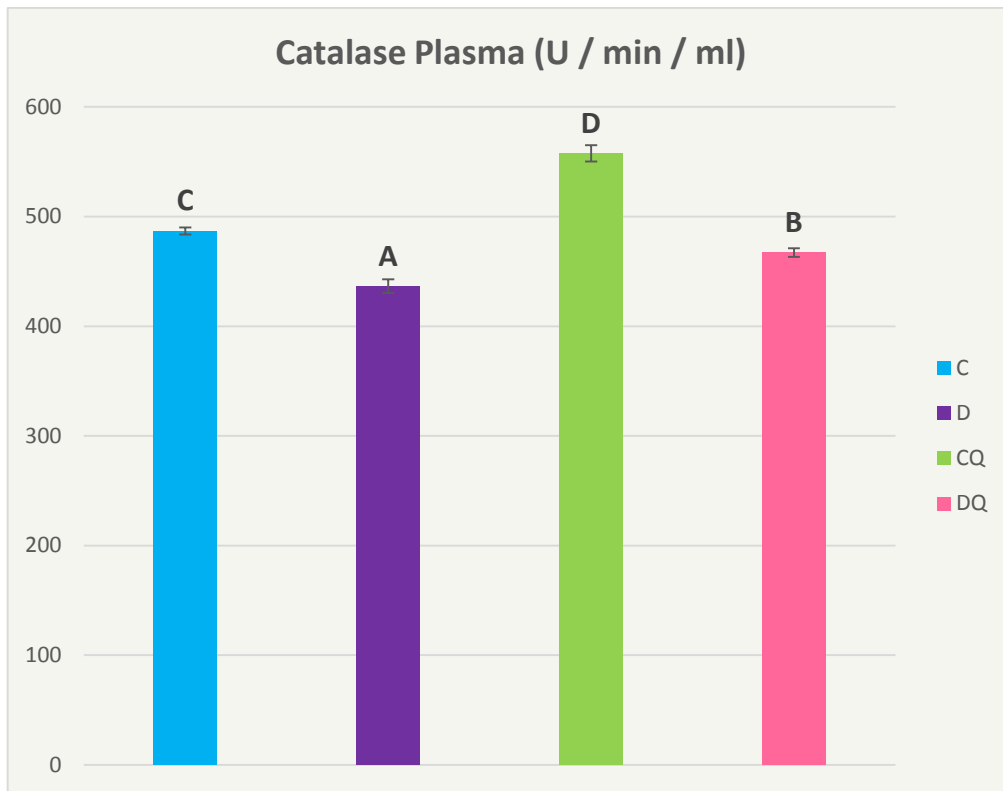


Figure12 : Teneurs plasmatiques en activité de la catalase chez les rats témoins et diabétiques.

Chaque valeur représente la moyenne \pm erreur standard. C : rats témoins (control) ; D : rats diabétiques ; CQ : rats control recevant de la quercétine ; DQ : rats diabétique recevant de la quercétine. La comparaison des moyennes entre les quatre groupes de rats (C, D, CQ, DQ) est effectuée par le test ANOVA à facteur. Cette analyse est complétée par un test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux a deux. Les moyennes indiquées par les lettres différentes (A, B, C, D) sont significativement différentes ($P < 0.05$).

3. Les paramètres du stress oxydant au niveau des organes chez les rats témoins et diabétiques :

3.1. Teneurs en protéines carbonylées au niveau des organes (figure 13) :

Les teneurs en protéines carbonylées du foie sont significativement augmentées chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins, alors qu'il y a une diminution significative pour les rats diabétiques recevant de la quercétine comparés aux rats témoins recevant de la quercétine. On remarque aussi que les teneurs en protéines carbonylées du foie sont significativement diminuées chez les rats diabétiques recevant de la quercétine comparés aux rats diabétiques.

Chez les rats diabétiques il existe une diminution significative des teneurs en protéines carbonylées du tissu adipeux par rapport aux rats témoins, et on remarque aussi cette diminution chez les rats diabétiques recevant de la quercétine comparés aux rats témoins recevant de la quercétine. Par ailleurs on note que les teneurs en protéines carbonylées du tissu adipeux sont significativement supérieurs chez les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats diabétiques.

3.2. Teneurs en glutathion réduit au niveau des organes (figure 14) :

Chez les rats diabétiques, les teneurs en glutathion réduit du foie sont plus élevées que chez les rats témoins, et ces teneurs aussi sont significativement augmentées chez les rats diabétiques recevant de la quercétine comparés aux rats témoins recevant de la quercétine. Alors qu'on remarque qu'il n'y a pas de différence significative entre les rats diabétique recevant de la quercétine et les rats diabétiques.

Par ailleurs on n'observe aucune variation des teneurs en glutathion réduit au niveau du tissu adipeux pour tous les rats témoins et rats diabétiques ainsi que les rats témoins recevant de la quercétine et les rats diabétiques recevant de la quercétine.

3.3. Teneurs en activité de la catalase au niveau des organes (figure 15) :

Il n'y pas de différence significative concernant les teneurs en activité de la catalase du foie entre les rats diabétiques et les rats témoins, et c'est le cas aussi entre les rats diabétiques recevant de la quercétine et les rats témoins recevant de la quercétine, alors qu'on observe une diminution significative des teneurs en activité de la catalase du foie pour les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats diabétiques.

RESULTATS ET INTERPRETATION

On note une élévation significative des teneurs en activité de la catalase du tissu adipeux chez les rats diabétiques comparés aux rats témoins, avec une augmentation significative aussi de ces teneurs pour les rats diabétiques recevant de la quercétine comparés aux rats témoins recevant de la quercétine. Cependant on remarque que des teneurs en activité de la catalase du tissu adipeux ne varient pas entre les rats diabétiques recevant de la quercétine et les rats diabétiques.

RESULTATS ET INTERPRETATION

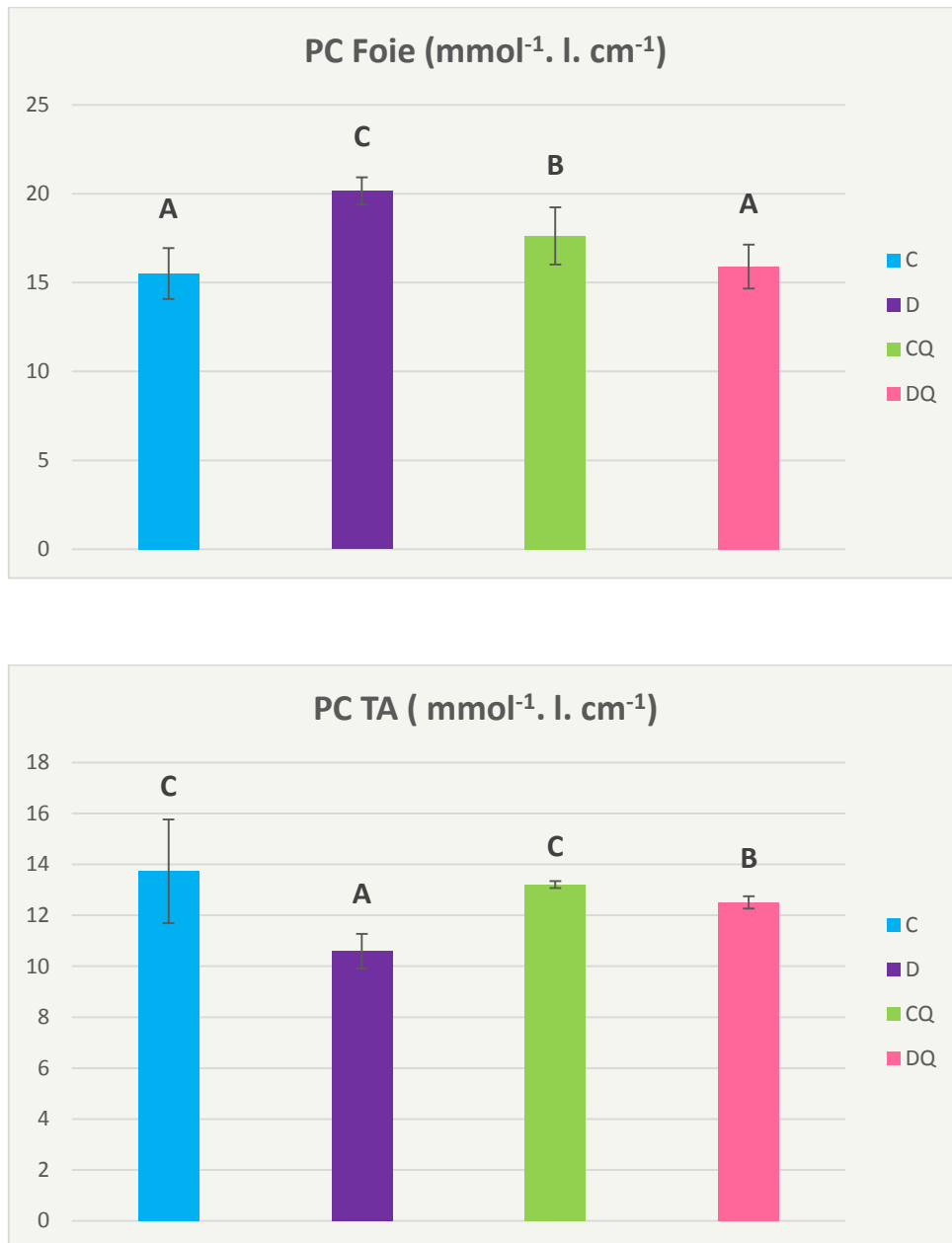


Figure 13 : Teneurs en protéines carbonylées au niveau des organes.

Chaque valeur représente la moyenne \pm erreur standard. C : rats témoins (control) ; D : rats diabétiques ; CQ : rats control recevant de la quercétine ; DQ : rats diabétique recevant de la quercétine. La comparaison des moyennes entre les quatre groupes de rats (C, D, CQ, DQ) est effectuée par le test ANOVA à facteur. Cette analyse est complétée par un test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux a deux. Les moyennes indiquées par les lettres différentes (A, B, C, D) sont significativement différentes ($P < 0.05$).

RESULTATS ET INTERPRETATION

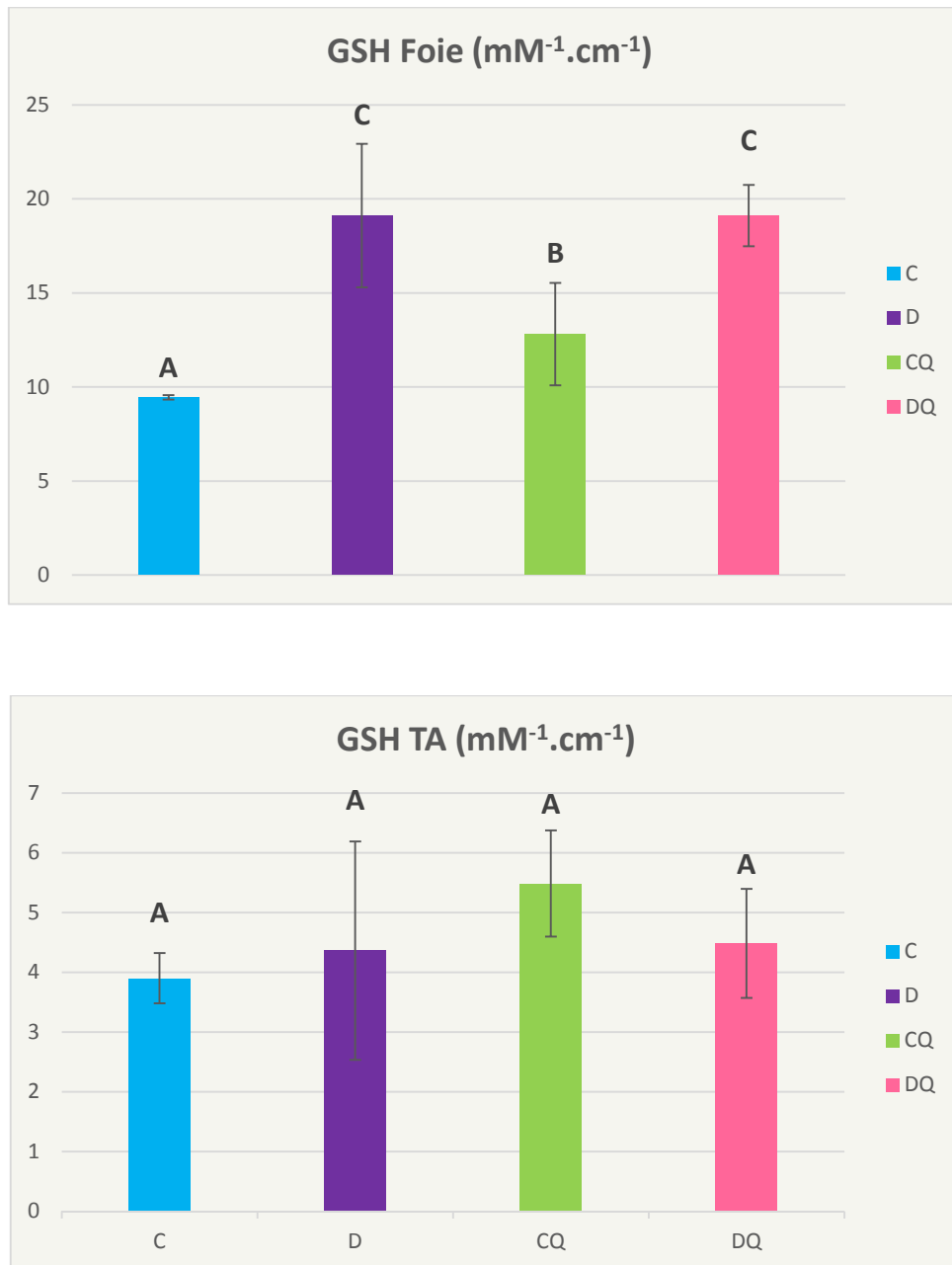


Figure 14 : Teneurs en glutathion réduit au niveau des organes.

Chaque valeur représente la moyenne \pm erreur standard. C : rats témoins (control) ; D : rats diabétiques ; CQ : rats control recevant de la quercétine ; DQ : rats diabétique recevant de la quercétine. La comparaison des moyennes entre les quatre groupes de rats (C, D, CQ, DQ) est effectuée par le test ANOVA à facteur. Cette analyse est complétée par un test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux a deux. Les moyennes indiquées par les lettres différentes (A, B, C, D) sont significativement différentes ($P < 0.05$).

RESULTATS ET INTERPRETATION

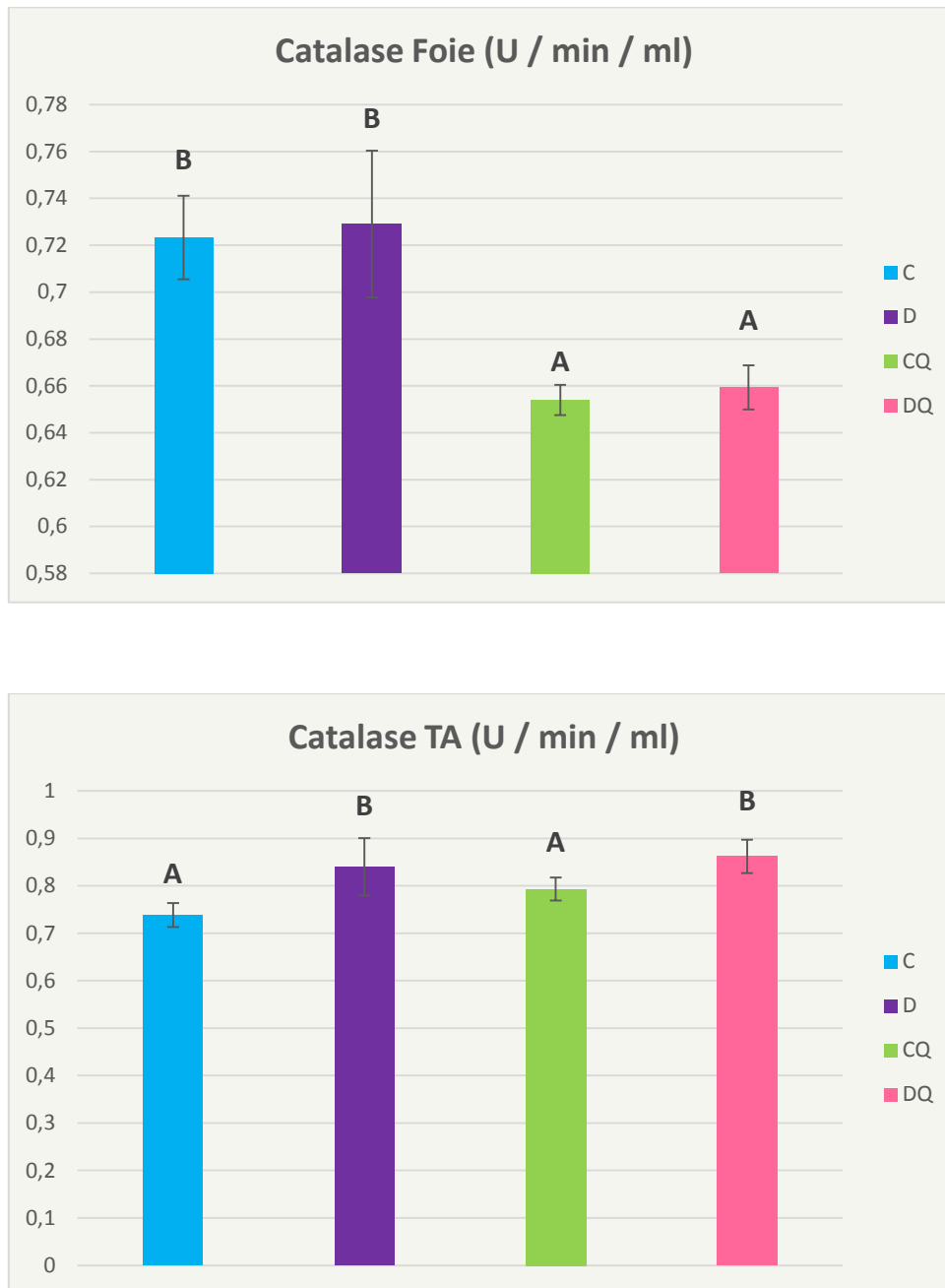


Figure 15 : Teneurs en activité de la catalase au niveau des organes

Chaque valeur représente la moyenne \pm erreur standard. C : rats témoins (control) ; D : rats diabétiques ; CQ : rats control recevant de la quercétine ; DQ : rats diabétique recevant de la quercétine. La comparaison des moyennes entre les quatre groupes de rats (C, D, CQ, DQ) est effectuée par le test ANOVA à facteur. Cette analyse est complétée par un test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux a deux. Les moyennes indiquées par les lettres différentes (A, B, C, D) sont significativement différentes ($P < 0.05$).

Discussion

Le diabète sucré est un désordre métabolique chronique résultant d'une variété d'interactions entre des facteurs héréditaires et environnementaux. Il est caractérisé par une perturbation de la sécrétion de l'insuline ou de l'action des récepteurs ou des postrécepteurs de l'insuline ce qui affecte, par conséquent, le métabolisme des carbohydrates, des protéines et des lipides. En plus, il engendre des lésions au niveau du foie, des reins et des cellules β pancréatiques (SINGH et al., 2005). Il existe une évidence croissante que les complications reliées au diabète sont associées au stress oxydant, et que la production des radicaux libres augmente pendant le diabète (ARMSTRONG et al., 1996).

Le stress oxydant représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des radicaux libres (KOECHLIN-RAMONZTXO, 2006). Il est généralement lié à l'existence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et les défenses antioxydantes (PARIS et al., 2003 ; HALENG et al., 2007).

Ce stress oxydant joue un rôle prépondérant dans l'apparition du diabète. Le diabétique est particulièrement sensible au stress oxydant car il n'exprime que faiblement les enzymes de détoxification. Ainsi, l'augmentation des ERO pourrait constituer un facteur inducteur d'altérations précoces. Par conséquent, le traitement par des molécules antioxydantes pourrait protéger des agressions oxydantes et constituerait ainsi une nouvelle approche pharmacologique dans la prévention du diabète (YOUL et al., 2008). L'objectif de notre travail est d'étudier les effets protecteurs de la molécule polyphénolique de la famille des flavonoïdes : la Quercétine, sur le système redox des rats diabétiques, lors d'un stress oxydant induit de façon exogène.

Dans cet axe, notre travail porte sur l'évaluation de quelques paramètres du statut oxydant/antioxydant (protéines carbonylées, glutathion réduit, catalase) au cours du diabète expérimental induit chez les rats Wistar comparés aux rats témoins qui ne présentent aucune pathologie.

Les teneurs en protéines carbonylées sont en fait le marqueur le plus couramment utilisé de l'oxydation des protéines. L'accumulation des protéiques carbonylées a été observée dans plusieurs maladies humaines, y compris la maladie d'Alzheimer, le diabète, la maladie inflammatoire de l'intestin et l'arthrite (DALLE-DONNE et al., 2003).

DISCUSSION

Les protéines carbonylées sont des molécules chimiquement stables. Cette caractéristique les rend facile à détecter (JAMEL et al., 2010). Dans notre travail, on note une augmentation significative des taux de protéines carbonylées plasmatique chez les rats diabétiques comparés aux rats témoins, ces résultats concordent avec l'hypothèse de ÇAKATAY (2005) que l'hyperglycémie chronique induit une augmentation de l'oxydation des protéines.

Cependant une diminution significative est notée chez les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats diabétiques, ce qui suggère que le traitement par la quercétine a provoqué une diminution de la teneur en protéines carbonylées plasmatiques. Ceci est dû à la forte propriété antioxydante de la quercétine (PANDEY et RIZVI, 2010).

Les teneurs en protéines carbonylées au niveau du foie révèlent une augmentation significative chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins Il semblerait que nos résultats soient en accord avec la littérature car GILLERY (2006) a montré une augmentation de la glycation des protéines au cours du diabète, les liens entre glycation et stress oxydant sont très étroits, et les deux phénomènes sont souvent regroupés sous le terme de " glycoxydation ". Tous les stades de la glycoxydation génèrent la production de radicaux libres oxygénés. Par ailleurs, les protéines glyquées induisent un stress oxydant intracellulaire et un état pro-inflammatoire. Ainsi, les protéines glyquées peuvent moduler les fonctions des cellules impliquées dans le métabolisme oxydatif et induire une réponse inappropriée. En revanche, une diminution significative est notée chez les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats témoins recevant de la quercétine et par rapport aux rats diabétiques, ce qui a été expliqué par VINCENT et al., (2013). En effet la distribution de la quercétine au niveau du foie entraîne un effet bénéfique sur la santé en diminuant la glycoxydation chez les rats diabétiques.

Au niveau du tissu adipeux, les teneurs en protéines carbonylées montrent une diminution chez les rats diabétiques et les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats témoins et rats témoins recevant de la quercétine respectivement, ceci est dû probablement au fait que le tissu adipeux est pauvre en protéines c'est pour cela que les résultats ne peuvent pas être concluants.

Concernant les marqueurs de la défense antioxydante, nous avons mesuré le taux de glutathion réduit, et l'activité de la catalase.

Le glutathion réduit antioxydant non enzymatique, constitue la première ligne de défense antiradicalaire (RAJA et al., 2007). C'est un réducteur efficace. Il joue un rôle important dans une variété de processus de détoxification. Il neutralise les radicaux hydroxyles, qui sont considérés comme une source importante du stress oxydant (PATIL et al., 2008).

Dans notre étude, nos résultats révèlent que les taux du glutathion réduit plasmatique sont significativement diminués chez les rats diabétiques par rapport aux témoins. Ces résultats sont en faveur d'une diminution des défenses antioxydantes chez les rats diabétiques et d'après BABUJANARTHANAM et al., (2011) la diminution de la concentration de GSH pourrait être due à l'épuisement ou de la consommation de GSH dans l'élimination des peroxydes.

Alors qu'on ne note aucune différence significative pour les rats témoins recevant de la quercétine et les rats diabétiques recevant de la quercétine, ceci s'explique probablement par le fait que la quercétine ne stimule pas le glutathion réduit plasmatique chez les diabétiques.

Au niveau du foie, les résultats montrent une stimulation du glutathion réduit chez les rats diabétiques et les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats témoins et rats témoins recevant de la quercétine respectivement. Pour la première comparaison le diabète induit une stimulation de défense antioxydante d'où l'augmentation du GSH. et pour les rats diabétiques recevant de la quercétine, d'après les études de ARREDONDO et al (2010) ce flavonoïde peut induire l'expression des gènes des enzymes antioxydantes, ce qui augmente les niveaux de glutathion (GSH) au niveau du foie par l'action de la GSH réductase. Cependant aucune variation significative entre les rats diabétiques recevant de la quercétine et les rats diabétiques n'est observée.

Les résultats obtenus des teneurs en glutathion réduit au niveau du tissu adipeux ne montrent aucune différence significative pour les rats témoins, les rats diabétiques, les rats témoins recevant de la quercétine, ainsi que les rats diabétiques recevant de la quercétine, ceci peut être lié aux propriétés de la biodisponibilité du GSH au niveau du tissu adipeux (VINCENT et al., 2013).

L'enzyme antioxydante la catalase constitue la deuxième ligne de défense antioxydante en détoxifiant le H_2O_2 en H_2O (BAUSENWEIN et al., 2010). Nos résultats concernant l'activité de la catalase plasmatique révèlent une diminution significative chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins, des résultats similaires ont été observés par plusieurs auteurs (SANTINI et al., 1997 ; RAMAZAN-SEKEROGLU et al., 2000) qui montrent une diminution de l'activité de la catalase plasmatique chez les diabétiques.

Plusieurs études ont montré que la catalase est l'une des cibles de cette glycation ce qui conduit à son inhibition et par la suite à la diminution de son activité chez les rats diabétiques (WIERNSPERGER 2003).

En comparant les rats diabétiques recevant de la quercétine avec les rats témoins recevant de la quercétine, une diminution de l'activité de la catalase plasmatique est notée. Cependant on remarque une stimulation de l'activité de la catalase plasmatique chez les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats diabétiques. L'étude de BABUJANARTHANAM et al., (2011) a mis en évidence la stimulation de la catalase par la quercétine dans le cas d'un stress oxydatif.

Nos résultats au niveau du foie ne montrent aucune différence significative concernant l'activité de la catalase chez les rats diabétiques et les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats témoins et rats témoins recevant de la quercétine respectivement. Cependant nos résultats révèlent une diminution significative de l'activité de la catalase chez les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats diabétiques. A notre connaissance aucune donnée de la littérature ne reporte une telle observation mais il est probable que la supplémentation en quercétine ne stimule pas l'activité de la catalase au niveau du foie. en revanche Il y aurait une augmentation de l'activité de la catalase, ce qui a été décrit par BABUJANARTHANAM et al., (2011).

Au niveau du tissu adipeux, l'activité de la catalase montre une augmentation significative chez les rats diabétiques et les rats diabétiques recevant de la quercétine par rapport aux rats témoins et rats témoins recevant de la quercétine respectivement, ceci est probablement dû à l'augmentation de la défense contre le stress oxydant au cours du diabète.

DISCUSSION

Par contre, on ne remarque aucune différence significative entre les rats diabétiques recevant de la quercétine et les rats diabétiques, ceci est dû probablement au fait que la quercétine ne stimule pas l'activité de la catalase au niveau du tissu adipeux, puisque VINCENT et al., (2013) ont prouvé que la quercétine et ses métabolites sont en concentration faible au niveau du tissu adipeux.

Nos résultats montrent une altération significative de la balance oxydante/antioxydante chez les rats diabétiques et l'effet bénéfique de la quercétine sur les quelques marqueurs de la balance oxydant/antioxydant étudiés.

Conclusion

CONCLUSION

Le diabète est une pathologie grave qui est liée au développement du stress oxydant. Ce concept de « stress oxydant » décrit une situation dans laquelle la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques.

Dans le cas du diabète, de nombreux composés dont des molécules antioxydantes, sont utilisés pour limiter le développement du stress oxydant.

Le but de notre étude est de trouver de nouvelles approches thérapeutiques dans la prévention du diabète en diminuant le stress oxydant dans cette pathologie. C'est pour cela l'étude est consacré à l'impact de la consommation de la quercétine sur les modifications du stress oxydant chez les rats diabétiques.

D'après nos résultats on a une altération de la balance oxydante/antioxydante au cours du diabète.

Nos résultats obtenus montrent que les teneurs plasmatiques en protéines carbonylées sont diminuées chez les rats diabétiques traités par la quercétine comparés aux rats diabétiques non traités, ainsi qu'une augmentation de l'activité de la catalase chez les rats diabétiques traités par la quercétine par apport aux rats diabétiques non traités, par contre on ne remarque aucune différence pour le glutathion réduit.

Par ailleurs, notre travail révèle un déséquilibre la balance oxydante/antioxydante au niveau des organes «le foie et le tissu adipeux». Concernant le foie nos résultats indiquent une diminution des teneurs en protéines carbonylées et de l'activité de la catalase chez les rats diabétiques traités par la quercétine comparé aux rats diabétique non traités, alors qu'il n'y a aucune variance pour le glutathion réduit. Au niveau du tissu adipeux, les résultats ont été mitigés car la distribution de la quercétine au niveau de ce tissu qui est minime.

Nos résultats sont en faveur d'un déséquilibre de la balance oxydante/antioxydante chez les rats diabétiques non traités, du a un épuisement des défenses antioxydante et /ou à une augmentation de la production des ERO, alors que ce déséquilibre est mieux géré chez les rats diabétiques traités a la quercétine vu son effet antioxydant.

CONCLUSION

La recherche de tous les marqueurs représente une étape incontournable pour améliorer les programmes de prévention.

Notre étude montre clairement que la quercétine a un effet antioxydant dans le diabète expérimental, avec une probabilité émergente concernant la prévention des complications hépatiques.

La quercétine, par un mécanisme d'action original, pourrait ouvrir la voie à une thérapeutique préventive innovante.

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

1. **AHERNE SA, O'BRIEN NM** (2002). Dietary flavonols: chemistry, food content, and métabolisme. *Nutrition*. 18(1): 75-81.
2. **ARDHAOU M, FALCIMAIGNE A, ENGASSER J M, MOUSSOU P, PAULY G, GHOUL M** (2004). Acylation of natural flavonoids using lipase of candida Antarctica as biocatalyst. *J Mol Catal B: Enzym* 29: 63-67.
3. **ARMSRONG AM, YOUNG IS** (1996). The effect of dietary treatment on lipids peroxidation and antioxidants status in newly diagnosed non insulin dependent diabetes. *Free radical Biol Med*, 21: 719-735.
4. **ARREDONDO F, ECHEVERRY C, ABIN-CARRIQUIRY JA, BLASINA F, ANTUNEZ K, JONES DP, GO YM, LIANG YL, DAJAS F** (2010). After cellular internalization, quercetin causes Nrf2 nuclear translocation, increases glutathione levels, and prevents neuronal death against an oxidative insult. *Free Radic Biol Med*. 49: 738-747.
5. **AVIGNON ANTOINE, LAMBERT KAREN, BISBAL CATHERINE** (2010). Thé, chocolat, raisin... ou les polyphénols comme outils de prévention du diabète de type 2: 125-136.
6. **BABUJANARTHANAM R, KAVITHA P, MAHADEVA RAO US, RAJASEKARA PANDIAN M** (2011). Quercetin a bioflavonoid improves the antioxidant status in streptozotocin: induced diabetic rat tissues. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 358: 121-129.
7. **BAUSENWEIN J, SERKE H, EBERLE K, HIRRLINGER J, JOGSCHIES P, HMEIDAN FA, BLUMENAUER V, SPANEL-BOROWSKI K** (2010). Elevated levels of oxidized low-density lipoprotein and of catalase activity in follicular fluid of obese women. *Molecular Human Reproduction*. 16(2): 117-124.
8. **BEAUDEUX JL, DOMINIQUE BR** (2005). Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. *Edition médicales internationales* : 550.
9. **BLOOMER RJ, FISHER-WELLMAN KH** (2008). Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. *Gender Medicine*. 5(3): 218-228.
10. **BONINA FP, PUGLIA C, FRASCA G** (2008). Protective effects of a standardized red orange extract on air pollution-induced oxidative damage in traffic police officers. *Natural Product Research*. 22(17): 1544-1551.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

11. **BONNEFONT-ROUSSELOT D, THÉRON D, DELATTRE J** (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. In Delattre J, Durand G, Jardillier JC. Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires. Médecine-sciences Flammarion : 59-81.
12. **BOOTS AW, HAENEN GM, BAST A** (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. Eur J Pharmacol. 585: 325-337.
13. **BROWNE RW, BLOOM MS, SCHISTERMAN EF, HOVEY K, TREVISAN M, WU C, LIU A, WACTAWSKI-WENDE J** (2008). Analytical and biological variation of biomarkers of oxidative stress during the menstrual cycle. Biomarkers. 13(2): 160-183.
14. **ÇAKATAY U** (2005). Protein oxidation parameters in type 2 diabetic patients with good and poor glycaemic control. Diabetes Metab 31: 551-555.
15. **CLARKSON PM, THOMPSON HS** (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? American Journal of Clinical Nutrition. 72(2): 637-646.
16. **CRESPY V, MORAND C, BESSON C, MANACH C, DENIGNE C, REMESY C** (2004). Comparaison of the intestinal absorption of quercetin, phloretin and their glucosides in rats. J Nutr, 131: 2109-2114.
17. **DACOSTA E** (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed): 317.
18. **DALLE-DONNE I, ROSSI R, GIUSTARINI D, MILZANI A, COLOMBO R** (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. Clinica Chimica Acta. 329: 23-38.
19. **DAVIES KJ, QUINTANILHA AT, BROOKS GA, PACKER L** (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. Biochem Biophys Res Commun. 31;107(4): 1198-1205.
20. **DEFRAIGNE J O, PINCEMAIL J** (2008). STRESS OXYDANT ET ANTIOXYDANTS : mythes et réalités. Rev Med Liège (Belgique) 63: 10-19.
21. **DELATTRE J, BEAUDEUX JL, BONNEFONT-ROUSSELOT** (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier Edition TEC & DOC éditions médicales internationales : 1-376.
22. **DEVENDRA D, EISENBARTH GS** (2003). Immunologic endocrine disorders. J Allergy Clin Immunol .111: 624-636.
23. **EDWARDS RL, LYON T, LITWIN SE** (2007). Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. 137: 2405-2411.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

24. **ELICOH-MIDDLETON Jr, CHITHAN K, THEOHARIS C** (2000). Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental therapeutics*, 4(52): 673-751.
25. **EMERENCIANO VP, BARBOSA K O, SOOTTI MT, FERRIRO MJP** (2007). Self organising mops in chemotaxonomie studie of asterracea classification of tribes using flavonoid data. *Journal of Brazilian chemical society*.18(5): 891-899
26. **ERDMAN W, BALENTINEJ J, ARAB D, BEECHER L, DWYER G, FOLTS J T, HARNLY J, HOLLMAN J P, L-KEEN C** (2007). Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids work shop. *Washigton journal of nutrition*. 137: 718-737.
27. **EVANS JL, GOLDFINE ID, MADDUX B, GRODSKY GM** (2003). Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and bêta-cell dysfunction? *Diabetes*. 52: 1-8.
28. **FACCHINI FS, HUA NW, REAVEN GM, STOOHS RA** (2000). Hyperinsulinemia: the missing link among oxidative stress and age-related diseases? *Free Radic. Biol. Med*, 29(12): 1302-1306.
29. **FAURE P, BONNEFONT-ROUSSELOT D** (2005). Stress oxydant, diabète surcé et produit de glycation avancée : Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier edition TEC & DOC éditions médicales internationales : 353-376.
30. **FINKEL T** (2001). Reactive oxygen species and signal transduction. *IUBMB Life*. 52: 3-6.
31. **FORKMANN G, MARTENS S** (2001). Metabolic engineering and applications of flavonoids. *Current Opinion in Biotechnology* 12: 155-160.
32. **FORMICA JV, REGELSON W** (1995). Review of the biology of quercetin and related, bioflavonoids, *Food Chem. Toxicol.*, 33(12): 1061-1080.
33. **GEE J, DUPONT MS, DAY AJ, PLUMB GW, WILLIAMSON G, JOHNSON IJ** (2000). Intestinal transport of quercetin glucosides in rats involves both deglycosylation and interaction with the hexose transport pathways. *J Nutr*, 130: 2765-2771.
34. **GERHARD R** (1993). *Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie*. Lavoisier Tec and Doc : 333-339.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

35. **GILLERY P** (2006). Stress oxydant et glycation des protéines au cours du diabète sucré. *Annales de Biologie Clinique*. 64(4): 309-314.
36. **GRANGE JM, DAVEY RW** (1990). Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. R. Soc. Med.* 83: 159-160.
37. **GRASSI D, LIPPI C, NECOZIONE S, DESIDERI G, FERRI C** (2005). Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *Am. J. Clin. Nutr.* 81(3): 611-614.
38. **HALENG J, PINCEMAIL J, DEFRAIGNE JO, CHARLIER C, CHAPELLE JP** (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege* 62-10: 628-638.
39. **HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC** (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. In Halliwell B., Gutteridge JMC, eds. a: 1-543.
40. **HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC** (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. In: *Methods in Enzymology*. Academic Press, San Diego. 186: 1-85.
41. **HARBORNE JB, WILLIAMS CA** (2000). Advances in flavonoids research since 1992. *Phyto chemistry*. 55: 481-504.
42. **HASLAM ET** (1998). Bitterness and astringency. In: *Practical polyphenolics (from structure to molecular recognition and physiological action)* Cambridge University Press: 178-225.
43. **HELLER W, FORKMANN G** (1993). Biosynthesis of Flavonoids. In *The Flavonoids: Advances in research since 1986*. Harborne J.B. Ed. Chapman & Hall: 499.
44. **HEMPEL N, YE H, ABESSI B, MIAN B, MELENDEZ JÁ** (2009). Altered redox status accompanies progression to metastatic human bladder cancer. *Free Radical Biology and Medicine*. 46: 42-50.
45. **HERTOG MGL, HOLLMAN PCH, KATAN MB, KROMHOUT D** (1993). Estimation of daily intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the netherlands. *Nutr. Cancer*. 20: 21-29.
46. **HOLLMAN PCH, KATAN MB** (1998). Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man. *Arch. Toxicol.suppl.* 25: 237-239.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

47. **HOLLMAN PCH, VAN TRIJP JMP, GAAG MVD, MENGELERS MJB, KATAN MB** (1997). Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Lett.* 418: 152-156.
48. **JAMEL MJ, PEREIRA LPM, MELLO NB, ELEUTHERIO ECA, SCHANAIDER A** (2010). Blood carbonyl protein measurement as a specific oxidative stress. Blood carbonyl protein measurement as a specific oxidative stress biomarker after intestinal reperfusion in rats. *Acta Cirurgica Brasileira.* 25(1): 59-62.
49. **JENKINS AJ, HILL MA, ROWLEY KG** (2007). Diabetes and Oxidant Stress. Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective. Holtzman J.L (ed): 123-160.
50. **JIWA F** (1997). Diabetes in the 1990s-an overview. *DiabetesCare.* 20: 1183-1197.
51. **JULIES A, CHRISTIN M** (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects and safety. *Annual Review of Nutrition.* 22: 19-44.
52. **KASHIWAGI A, SHINOZAKI K, NISHIO Y, OKAMURA T, TODA N, KIKKAWA R** (1999). Free radical production in endothelial cells as a pathogenetic factor for vascular dysfunction in the insulin resistance state. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 45(2-3): 199-203.
53. **KATHLEN G** (2006). Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. *CMAJ.* 175: 165-170.
54. **KIRSCHVINK N, DE MOFFARTS B, LEKEUX P** (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal.* 177: 178-191.
55. **KO T-Z, SAFO MK, MUSAYEV FN, DI SALVO ML, WANG C, WU SH, ABRAHAM DJ** (2000). Structure of human erythrocyte catalase. *Acta Cryst, D56:* 241-246.
56. **KOLESNIKOV MP, GINS VM** (2001). Phenolic substances in medicinal plants. *Appl. Biochem. Micro.* 37 (4): 392-399.
57. **KOOLMAN J, ROHM KH** (1999). *Atlas de Poche de Biochimie.* Flammarion.
58. **KOPPENOL WH** (2001). 100 years of peroxynitrite chemistry and 11 years of peroxynitrite biochemistry. *Redox Rep.* 6(6): 339-341.
59. **KORSHUNOV SS, SKULACHEV VP, STARKOV AA** (1997). High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS letters.* 416: 15-18.

60. **KRIEGER-BRAUER HI, KATHER H** (1992). Human fat cells possess a plasma membrane-bound H₂O₂-generating system that is activated by insulin via a mechanism bypassing the receptor kinase. *J. Clin. Invest.* 89(3): 1006-1013.
61. **KRISHNAN HARI-NAIR, KESAVA V K RAO, STANLEY A SCHWARTZ** (2004). Inhibition of Prostate Cancer Cell Colony Formation by the Flavonoid Quercetin Correlates with Modulation of Specific Regulatory Genes. *Clin diagn lab immunol jan.* 11 (1): 63-69.
62. **KSOURI R, MEGDICHE W, DEBEZ A, FALLEH H, GRIGNON C, ABDELLY C** (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch.* 45: 244-249.
63. **KURESH A, YAUDIM A, JEREMY PE, SPENCER, HANGEN S, RICE-EVANS C** (2002). Dietary flavonoids as potential neuroprotectants. *Biol Chem.* 383: 503-519.
64. **LAMPRECHT M, GREILBERGER J, OETTL K** (2004). Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. *Nutrition.* 20(7-8): 728-730.
65. **LANDMESSER U, DIKALOV S, PRICE SR, MCCANN L, FUKAI T, HOLLAND SM, MITCH WE, HARRISON DG** (2002). Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. *J Clin Invest.* 111: 1201-1209.
66. **LAVIS VR, PICOLOS MK, WILLERSON JT** (2008). Endocrino disorders and the heart. *ISC:* 2295-2315.
67. **MALSEV D, KUNTIC V** (2007). investigation of metal.flavonoids chelates and the determination of flavonoids via metal.flavonoids complexing reations. *Journal of the Serbian chemical society.* 72(10): 921-939.
68. **MANACH C, MORAND C, TEXIER O, FAVIER M L, AGULLO G, REGERAT F, REMESY C** (1995). Quercetin metabolites in plasma of rats fed diets contaming rutin or quercetin. *J Nutr.* 125: 1911-1922.
69. **MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, REMY C, JIMÉNEZ L** (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. nutr.* 79(5): 727-747.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

70. **MEZZETTI A, PIERDOMENICO SD, COSTANTINI F, ROMANO F, DE CESARE D, CUCCURULLO F, IMBASTARO T, RIARIO-SFORZA G, DI GIACOMO F, ZULIANI G, FELLIN R** (1998). Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic Biol Med.* 25(6): 676-681.
71. **MIDDLETON E, KANDASWAMI C, THEOHARIDES T C** (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev.* 52: 673-839.
72. **MIDDLETON JR E, CHITHAN K** (1993). The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne J.B., editor. *The Flavonoids: advances in research since 1986.*
73. **MOTTA M, BENNATI E, FERLITO L, PASSAMONTE M, MALAQUARNERA M** (2006). Value and significance of new diagnostic criteria of diabetes mellitus in older people. *Arch Gerontol Geriatr.* 632: 1-6.
74. **NIJVELDT R J, NOOD E, HOORN D E, BOELENS P G, NORREN K, LEEUWEN P** (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin Nutr.* 74: 418-425.
75. **OPARA ES** (2002). Oxidative stress, micronutriments, diabetes mellitus and its complications. *J of the Royal Soc for the promotion of Health.* 122: 28-34.
76. **OSSOLA B, KAARIAINEN TM, MANNISTO PT** (2009). The multiple faces of quercetin in neuroprotection. *Expert Opin Drug Saf.* 8(4): 397-409.
77. **PANDEY KANTI BHOOSHAN, RIZVI SYED IBRAHIM** (2010). Protection of protein carbonyl formation by quercetin in erythrocytes subjected to oxidative stress. *Med Chem Res.* 19: 186-192.
78. **PARIS M, BERNAD-KARGAR C, BERTHAULT MF, BOUWENS, KTORZA** (2003). Specific and combined effects of insulin and glucose on functional pancreatic B cell. *Endocrinology.* 144: 2727.
79. **PATIL SB, KODLIWADMATH MV, KODLIWADMATH SM** (2008). Correlation between lipid peroxidation and non-enzymatic antioxidants in pregnancy induced hypertension. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 23(1): 45-48.
80. **PETRSON J, DWYER J** (1998). Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutr. Res.* 18 (12): 1995-2018.
81. **PINCEMAIL** (2004). Comment évaluer votre état de stress oxydant ? *J santé :* 2-4.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

82. **RADAK Z, CHUNG HY, GOTO S** (2008a). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology Medicine*. 44: 153-159.
83. **RADAK Z, CHUNG HY, KOLTAI E, TAYLOR AW, GOTO S** (2008b). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Research Reviews*. 7: 34-42.
84. **RAHIMI R, NIKFAR S, LARIJANI B, ABDOLLAHI M** (2005). A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine and pharmacotherapy*. 59: 365-373.
85. **RAJA S, NAZEER AHAMED, KUMAR K F H, MUKHERJEE V, BANDYOPADYAY K, MUKHERJEE A** (2007). Antioxidant effect of *Cytisus scoparius* against carbon tetrachloride treated liver injury in rats. *Journal of ethnopharmacology*. 109: 41-47.
86. **RAMAZAN-SEKEROGLU M, SAHIN H, DULGEN E, ALGUN E** (2000). The effects of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem*. 33: 669-674.
87. **RATH** (2010). SUBSTANCES PHYTOBIOLOGIQUES (Phytobiologicals) 1ère partie: La quercétine. 1217/01-03-10/F: 1-2.
88. **RECHNER AR, SPENCER JPE, KUHINE G, RICE-EVANS C** (2000). Novel biomarkers of the metabolism of caffeic acid and derivatives in vivo. *Free Radic Biol Med*. 30: 1213-1222.
89. **REMESY C, MANACH C, DEMIGNE C, TEXIER O, REGERAT F** (1996). Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Méd. Nut*. 32 (1): 17-27.
90. **RICE-EVANS CA, MILLER NJ, BOLWELL PG, BRAMLEY PM, PRIDHAM JB** (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res*. 22(4): 375-383.
91. **RICE-EVANS CA, MILLER NJ, PAGANGA G** (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med*. 20 : 933-956.
92. **ROLFE DF, BROWN GC** (1997). Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. *Physiol. Rev*. 77(3): 731-758.
93. **SANTINI SA, MARRA G, GIARDIN A** (1997). Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. *Diabetes*. 46: 1853-1858.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

94. **SAYRE LM, MOREIRA PI, SMITH MA, PERRY G** (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*. 41(2): 143-164.
95. **SCALBERT A, WILLIAMSON G** (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* 130(8S Suppl): 2073S-2085S.
96. **SIES H** (1991). Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klin. Wochenschr.* 69(21-23): 965-968.
97. **SINGH N, KAMATH V, RAJINI PS** (2005). A H enuation of hyperglycemia and associated biochemical parameter in STZ induced diabetic rats by dietary supplementation of potato peel powder. *Clinica chemical Acta*. 353: 165-175.
98. **SRIVASTAVA G, MEHTA JL** (2009). Currying the heart: Curcumin and cardioprotection. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 14(1): 22-27.
99. **STAHL W, SIES H** (1997). Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*. 46(Suppl 2): S14-18.
100. **STAHL W, SIES H** (2002). Carotenoids and protection against solar UV radiation. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 15(5): 291-296.
101. **TSIMOGIANNINS D I, OREOPOULOU V** (2006). The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech.* 7: 140-146.
102. **VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN MT, MAZUR M, TELSER J.** (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Intj Biochem Cell Biol.* 39: 44-84.
103. **VALKO M, RHODES C, MONCOL J, IZAKOVIC M, MAZUR M** (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol Interact.* 160: 1-40.
104. **VERGANI L, FLOREANI M, RUSSELL A, CECCON M, NAPOLI E, CABRELL A, VALENTE L, BRAGANTINI F, LEGER B, DABBENI-SALA F** (2004). Antioxidant defences and homeostasis of reactive oxygen species in different human mitochondrial DNA depleted cell lines. *Eur J Biochem.* 271: 3646-3656.
105. **VINCENT CJ DE BOER, ASHWIN A DIHAL, HESTER VAN DER WOUDE, ILJA CW ARTS, SIEGFRIED WOLFFRAM, GERRIT M ALINK, IVONNE MCM RIETJENS, JAAP KEIJER, PETER CH HOLLMAN** (2013). Tissue Distribution of Quercetin in Rats and Pigs. *Nutrient Metabolism.* 135: 1617-1618.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

106. **WIERNSPERGER NF** (2003). Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes:revisiting the controversy. *Diabetes Metab.* 29: 579-585.
107. **WILLIAMS RI, SPENCER JP, RICE-EVANS C** (2004). Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules. *Free Radic Biol Med.* 36(7): 838-849.
108. **WOLINSKY I** (1998). *Nutrition in Exercise and Sport.* 3th edition. New York: CRC Press.
109. **WOLTERS M, HERMANN S, GOLF S, KATZ N, HAHN A** (2006). Selenium and antioxidant.
110. **YOUL E, MAGOUS R, BATAILLE D, CROS G, OIRY C** (2008). Effet protecteur de la Quercétine sur la viabilité et la fonctionnalité de la cellule bêta pancréatique lors de l'induction d'un stress oxydant. *Elsevier Masson SAS.* 08: 1016-1262.
111. **ZELKO IN, MARIAN TJ, FOLZ RJ** (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Rad Biol Med.* 33 (3): 337-349.

Résumé

L'objectif de notre travail est de déterminer l'effet des polyphénols « la quercétine » au cours du diabète comme étant un antioxydant en évaluant le statut oxydant/antioxydant chez les rats diabétiques traités par la quercétine comparés aux rats diabétiques au niveau du plasma et des organes « le foie et le tissu adipeux ».

Nos résultats montrent que le diabète favorise le stress oxydatif, sa présence est marquée par une augmentation des protéines carbonylées, une diminution de l'activité de la catalase ainsi que le glutathion réduit chez les rats diabétiques, par contre les rats diabétiques traités par la quercétine montrent des modifications bénéfiques en diminuant les protéines carbonylées, en augmentant l'activité de la catalase, mais aucune variation pour le glutathion réduit, et ceci est noté au niveau plasmatique et au niveau du foie.

Concernant les résultats obtenus pour le tissu adipeux ils ne sont pas significatifs vu la distribution minimale de la quercétine au niveau de ce tissu.

En conclusion, une supplémentation en « quercétine » pourrait améliorer le déséquilibre de la balance oxydante/antioxydante au cours du diabète.

Mots clés : quercétine, diabète, stress oxydatif.

Abstract

The aim of our study was to determine the effect of polyphenols " quercetin " in diabetes as an antioxidant in assessing oxidant/ antioxidant status in diabetic rats treated with quercetin compared to diabetic rats in plasma and organs " liver and adipose tissue ."

Our results showed that oxidative stress promotes diabetes , its presence is marked by an increase in carbonyl proteins, a decrease in the activity of catalase and reduced glutathione in diabetic rats , otherwise diabetic rats treated with quercetin showed beneficial changes in reducing carbonyl proteins , by increasing the activity of catalase , but no change to reduced glutathione , and this is noted in the plasma and in the liver . Regarding the obtained results for the adipose tissue which are not significant due to the minimal distribution of quercetin at this tissue.

In conclusion, " quercetin " supplementation could improve the imbalance of oxidant / antioxidant balance in diabetes .

Keywords : quercetin, diabetes, oxidative stress.

المخلص

الهدف من دراستنا هذه هو تحديد تأثير البوليفينول « كيرسيتين » في داء السكري كمضاد للسموم في تقييم لحالة الأكسدة / المضاد للأكسدة عند الجرذان المصابة بداء السكري المعالجة بالكيرسيتين مقارنة مع الجرذان المصابة بداء السكري في البلازما و الاعضاء " الكبد و الأنسجة الدهنية" .

تظهر نتائجنا أن داء السكري يعزز الأكسدة ، و يتضح وجوده بزيادة في أكسدة البروتينات و انخفاض في نشاط الكاتالاز و كذا انخفاض في الجلوتاثيون لدى الجرذان المصابة بداء السكري ، بالمقابل لاحظنا تغييرات مفيدة لدى الجرذان المصابة بداء السكري المعالجة بالكيرسيتين حيث اظهرت نقصا في أكسدة البروتينات من خلال زيادة نشاط الكاتالاز ، ولكن لم يحدث أي تغيير في الجلوتاثيون المنخفض، و يلاحظ هذا في البلازما و الكبد. اما فيما يخص النتائج التي تم الحصول عليها في الأنسجة الدهنية فانها لا تعتبر مهمة نظرا للتوزيع الضئيل للكيرسيتين في هذه الأنسجة. في الختام، يمكن لمكملات " الكيرسيتين " تحسين الخلل التوازن أكسدة / مضاد للأكسدة اثناء داء السكري.

الكلمات المفتاحية: كيرسيتين، داء السكري، الأكسدة.