



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



UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS. MOSTAGANEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Sciences et Technologies Alimentaires

Option : Nutrition et Technologies Alimentaire

THESE

Présentée pour l'obtention du diplôme de

Doctorat 3^{ème} cycle LMD

Présentée par :

Mme El HABITRI Nassima

Thème

**Evaluation de la composition nutritionnelle et du potentiel
nutraceutique de l'algue verte invasive *Caulerpa racemosa var cylindracea*
récoltée sur la côte Mostaganémoise**

Devant le jury :

Président	AIT SAADA Djamel	Professeur	Université de Mostaganem
Directrice de thèse	BELKACEMI Louiza	Professeur	ESA- Mostaganem
Examinatrice	Rebai Ouafa	Professeur	Université de Mostaganem
Examineur	BELBACHIR Noreddine	MCA	Université de Mostaganem
Examinatrice	CHERAIT Asma	MCA	ESA- Mostaganem

Année universitaire : 2024 - 2025

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de thèse Professeur **BELKACEMI Louiza** pour sa disponibilité, son soutien ses précieux conseils et orientations et particulièrement pour son humanité et sa gentillesse.

Je remercie également Monsieur **AIT SAADA Djamel**, en tant que président du jury mais surtout en tant que Directeur du laboratoire de technologies alimentaires et nutrition, pour sa disponibilité, son écoute et ses encouragements.

Mes vifs remerciements vont également à Madame **REBAI Ouafa**, professeur à l'université de Mostaganem, Monsieur **BELBACHIR Noredine**, Maitre de conférences A à l'université de Mostaganem et Madame **CHERAIT Asma**, Maitre de conférences A à l'ESAM, qui m'ont fait l'honneur d'examiner mon travail.

Je remercie chaleureusement **Docteur ADNANE Hassane** propriétaire du laboratoire d'analyses médicales qui a eu la gentillesse de me faire une réduction substantielle du tarif.

Un remerciement particulier à Monsieur **AMAMRA Laid**, ingénieur en informatique à l'école normale supérieure à Mostaganem, qui a été, pendant une certaine période mon conseiller informatique.

J'exprime également mes remerciements à **Mr MEKKI Mohamed** directeur des ressources humaines et **Mr ADDA Abelouaheb** technicien du laboratoire au niveau de l'entreprise Adwan Chemical Industries qui m'ont permis tous les deux de procéder en laboratoire, au dosage des métaux lourds et minéraux de mes échantillons.

Ma gratitude envers **BELAID Sid Ali**, plongeur professionnel et doctorant en Valorisation et Gestion des Ressources Marines et Littorales, qui a été à l'origine de la récolte de la *Caulerpa racemosa* et ce, par tous les temps.

Un grand merci à **Docteur LARBI Amine**, vétérinaire, pour sa disponibilité et pour le temps consacré lors du sacrifice des rats expérimentaux.

PS : Un hommage posthume au défunt **BENMAHDI Tarek** qui malheureusement vient de nous quitter. Paix à son âme. Il m'a été d'une précieuse aide pour la réalisation des coupes histologiques ainsi que ses conseils techniques et scientifiques.

Une pensée pour le défunt **HALBOUCHE Miloud**, qui de son vivant, nous a permis d'utiliser le laboratoire dont il était le directeur (au niveau de l'INES).

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Toute ma famille

Mes parents

Mes sœurs Imène et Wassila

Ma belle famille

Ma petite famille

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Productions scientifiques

Introduction 1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les algues

1. Définition	4
2. Composition des algues marines	4
3. Utilisation des algues marines	5
3.1. En alimentation humaine	5
3.2. En industrie pharmaceutique	6
3.3. En cosmétique	6
3.4. En thalassothérapie	7
3.5. En agriculture	7
3.6. En élevage	8
4. Présentation de l'espèce <i>Caulerpa racemosa</i>	9
4.1. Morphologie	9

4.2. Classification des algues vertes <i>Caulerpa racemosa</i>	10
4.3 Reproduction	10
4.4. Répartition de <i>Caulerpa racemosa</i>	11
4.4.1. En méditerranée	11
4.4.2. En Algérie	13
5. Valeurs nutritionnelles et composés bioactifs de <i>C. racemosa</i>	14
5.1. Protéines	14
5.2. Lipides	15
5.3. Glucides et fibres	15
5.4. Minéraux	16
5.5. Caroténoïdes et chlorophylles	16
5.6. Vitamines	17
6. Utilisation de la <i>Caulerpa racemosa</i>	17
6.1. En Agriculture	17
6.2. En alimentation humaine	17
6.3. En alimentation animale	18
6.4. En industrie	18
6.5. Dans le domaine de la santé	18

Chapitre 2 : Le diabète

1. Définition du diabète	20
2. Prévalence du diabète	20
3. Classification du diabète	23
3.1. Diabète de type 1	23
3.2. Diabète de type 2	24
3.3. Diabète gestationnel	24
3.4. Autres types de diabète rares	24
3.4.1. Diabètes monogéniques	24
3.4.2. Diabètes induits par certaines maladies	25
3.4.3. Diabètes induits par des médicaments	25

3.4.4. Formes hybrides de diabète	25
a. Diabète auto-immun à développement lent	25
b. Diabète de type 2 cétosique	25
4. Le pré diabète	26
4.1. Définition du prédiabète	26
4.2. Diagnostic du prédiabète	26
4.3. Complications du pré diabète	26
4.4. Traitement du pré diabète	28
5. Diabète de type 2	28
5.1. Symptômes du diabète de type 2	28
5.2. Diagnostic du diabète de type 2	29
5.3. Causes et facteurs de risques du diabète de type 2	29
a. Âge	29
b. Hérité	29
c. Alimentation	30
d. Sédentarité	30
e. Obésité	30
f. Tabagisme	31
g. Diabète gestationnel	31
5.4. Complications du diabète de type 2	32
5.5. Complications du diabète de type 2	33

Partie expérimentale

1^{ère} partie

*Caractérisation physico-chimique de *Caulerpa racemosa**

Matériels et méthodes

1. Objectifs	35
2. Choix du site de récolte	35
3. Récolte de l'algue	35

4. Techniques analytiques	36
4.1. Détermination de la matière sèche	36
4.2. Détermination de la matière minérale	36
4.3. Dosage des lipides totaux	36
4.4. Dosage des protéines	37
4.5. Dosage des sucres totaux	38
4.6. Dosage des métaux lourds	38
4.7. Dosage des acides gras	39
4.7.1. Préparation des échantillons	39
4.7.2. Analyse GC-MS des esters méthyliques d'acides gras	39
4.8. Etude phytochimique de l'extrait méthanolique	40
4.8.1. Extraction par Macération	40
4.8.2. Détermination du rendement de l'extrait méthanolique	40
4.8.3. Screening phytochimique	40
a. Test pour les flavonoïdes	40
b. Test des tanins	41
c. Test pour les coumarines	41
d. Test pour les saponines	41
e. Test pour les quinones	41
4.8.4. Dosage des polyphénols totaux	41
4.8.5. Dosage des flavonoïdes	42
4.9. Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH	42
4.10. Analyses statistiques	43

Résultats et discussions

1. Humidité	44
2. Matière minérale	44
3. Lipides totaux	46
4. Protéines	47
5. Sucres totaux	48
6. Métaux lourds et minéraux	49
7. Acides gras	52

8. Etude phytochimique de l'extrait méthanolique	55
a. Rendement d'extraction	55
b. Screening phytochimique	56
c. Polyphénols	58
d. Flavonoïdes	59
e. Activité de piégeage du radical DPPH (IC50)	60

2^{ème} Partie

Potentiel nutraceutique

de *Caulerpa racemosa* sur des rats Wistar rendus diabétiques

Matériels et méthodes

1. Objectifs	62
2. Induction du diabète de type 2	62
3. Supplémentation orale à la <i>Caulerpa racemosa</i>	63
4. Test de tolérance au glucose par voie intrapéritonéale (IPGTT)	63
5. Consommation alimentaire et poids corporel	64
6. Sacrifice des animaux	64
7. Mesures biochimiques	64
8. Estimation de la peroxydation lipidique par la méthode de Tbars	64
9. Etude histologique	65
10. Analyses statistiques	65

Résultats et discussions

1. Consommation de l'aliment et suivi du poids	66
2. Le test de tolérance intrapéritonéale au glucose (IPGTT)	69
3. Paramètres sanguins	72
4. Estimation de la peroxydation lipidique dans le foie	75
5. Coupes histologiques	76
5.1. Coupes histologiques du pancréas	76

5.2. Coupes histologiques du foie	78
5.3. Coupes histologiques du rein	79
Conclusion et perspectives	82
Références bibliographiques	
Annexe	
Publication	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Morphologie de <i>Caulerpa racemosa</i> var. <i>cylindracea</i>	10
Figure 2	Cycle de vie de la <i>Caulerpa</i>	11
Figure 3	Première identification de <i>Caulerpa racemosa</i> en Libye en 1990 (flèche) et localisations déterminées depuis (points) en Méditerranée et aux îles Canarie	12
Figure 4	Localisation géographique de <i>Caulerpa racemosa</i> sur le littoral algérien	14
Figure 5	Le diabète dans le monde en 2021	21
Figure 6	Nombre de personnes atteintes de diabète dans le monde et par région de la fédération internationale du diabète (FID) en 2021-2045 (20-79 ans)	22
Figure 7	Nombre de personnes vivant avec le diabète en Algérie entre 2000 et 2045	23
Figure 8	Complications associées au prédiabète	27
Figure 9	Teneur en humidité de la <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem	44
Figure 10	Teneur en matière minérale de la <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem	45
Figure 11	Teneur en lipides totaux de la <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée dans la côte Mostaganémoise	46
Figure 12	Teneur en protéines de la <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée dans la côte Mostaganémoise	47
Figure 13	Teneur en sucres totaux de la <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem	48
Figure 14	Chromatogramme GC-MS de <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem	52
Figure 15	Rendement d'extraction des extraits bruts des différentes saisons de <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem	56
Figure 16	Teneurs en polyphénols de la <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem	58

Figure 17	Teneur en flavonoïdes de la <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem	60
Figure 18	Activité de piégeage du radical DPPH (IC50) de la <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem	61
Figure 19	Gain de poids des rats des différents groupes après 30 jours de période expérimentale	68
Figure 20	Profil glycémique durant le test IPGTT réalisé aux jours J0 (a), J15 (b) et J30 (c) de la période expérimentale	70
Figure 21	Aire sous la courbe (AUC) durant le test IPGTT réalisé aux jours J0, J15 et J30 de la période expérimentale	71
Figure 22	Estimation de la peroxydation lipidique dans le foie	76
Figure 23	Coupes histologiques du pancréas des rats CTRL, GD0, GD500 et GD1000	77
Figure 24	Coupes histologiques du foie des rats CTRL, GD0, GD500 et GD1000	79
Figure 25	Coupes histologiques du rein des rats CTRL, GD0, GD500 et GD1000	80

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Algues autorisées pour l'alimentation humaine	5
Tableau 2	Classification du genre <i>Caulerpa</i> selon Guiry et Guiry (2020) .	10
Tableau 3	Caractéristiques des colonisations de <i>Caulerpa racemosa</i> en Algérie	13
Tableau 4	Critères de diagnostic du pré diabète comparé avec le diabète et sujet normal	26
Tableau 5	Teneur en minéraux de la <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem	50
Tableau 6	Teneurs en métaux lourds de la <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem	51
Tableau 7	Composition en acides gras de l'algue verte <i>Caulerpa racemosa</i> récoltée à Mostaganem.	55
Tableau 8	Résultat du screening phytochimique sur les extraits de <i>Caulerpa racemosa</i> des différentes saisons	57
Tableau 9	Comparaison de la consommation en Kcal entre le 1er et 30eme jour chez les différents groupes	67
Tableau 10	Paramètres sanguins après sacrifice	73

Liste des abréviations

ADA : American Diabetes Association

AGMI : Acides gras monoinsaturés

AGPI : Acides gras polyinsaturés

AGS : Acides gras saturés

ALT : Alanine aminotransférase

AST : Aspartate aminotransférase

AUC : Aire sous la courbe

AVC : Accident vasculaire cérébral

BSA : Sérum-albumine bovin

CEVA : Centre d'étude et de valorisation des algues

CPG : Chromatographie à phase gazeuse

CR : *Caulerpa racemosa*

CTRL : Contrôle

DHA : Acide docosahexaénoïque

DPPH : 1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl

DT2 : Diabète de type 2

EAG : Equivalent d'acide gallique

EPA : Acide eicosapentaénoïque

EQ : Equivalent quercétine

FID : Fédération internationale du diabète

GD : Groupe diabétique

GD0 : Groupe diabétique recevant le régime hypercalorique seulement

GD1000 : Groupe diabétique recevant une supplémentation orale en *Caulerpa racemosa* à raison de 1000 mg/kg

GD500 : Groupe diabétique recevant une supplémentation orale en *Caulerpa racemosa* à raison de 500 mg/kg

GGT : Gamma-glutamyl transférase

HbA1c : Hémoglobine glyquée

HGPO : Hyperglycémie provoquée par voie orale

I % : Pourcentage d'inhibition

IC50 : Concentration inhibitrice semi-maximale

ICP : Spectrométrie à plasma à couplage inductif

IPGTT : Test de tolérance au glucose par voie intrapéritonéale

IR : Insulino-résistance

J0 : Avant traitement

J1 : 1^{er} jour

J15 : 15^{ème} jour

J30 : 30^{ème} jour

LDL : Lipoprotéines de basse densité (mauvais cholestérol)

MDA : Malondialdéhyde

MG : Matière grasse

MM : Matière minérale

MRC : Maladie rénale chronique

MS : Matière sèche

OMS : Organisation mondiale de la santé

PAL : Phosphatase alcaline

PE : Prise d'essai

ppm : Partie par million

RT : Temps de rétention

SAA : Spectrométrie à absorption atomique

STZ : Streptozotocine

Tbars : Substances réactives de l'acide Thiobarbiturique

UV : Ultraviolet

Résumé

La *Caulerpa racemosa* (CR) est une macroalgue invasive originaire du sud-ouest de l'Australie. Elle a été identifiée pour la 1^{ère} fois à Mostaganem en 2010 et sa prolifération incontrôlée menace l'environnement. L'objectif vise à valoriser cette algue sur le plan nutritionnel et étudier l'effet de sa supplémentation à différentes concentrations sur des rats Wistar rendus diabétiques et ce à travers l'évaluation de paramètres biochimiques et histologiques.

L'algue verte *Caulerpa racemosa* a été récoltée dans la crique de Salamandre (Latitude N 35 54'37.94", Longitude E 0 3'17.37") sur la côte de Mostaganem (Algérie), à une profondeur de 2 mètres par un plongeur professionnel. Après la récolte, les algues ont été lavées et séchées à l'ombre. Les échantillons séchés ont été réduits en poudre, tamisés et stockés. Le taux de protéines, des sucres totaux, des lipides, de polyphénols et de flavonoïdes a été déterminés. Les minéraux et métaux lourds dosés et les acides gras identifiés par GC-MS. Un diabète a été induit chez des rats Wistar par streptozotocine après deux mois d'alimentation hypercalorique. Les groupes GD500 et GD1000 ont reçu CR (500 et 1000 mg/kg, respectivement) pendant 4 semaines. Un test de tolérance intrapéritonéale au glucose (IPGTT), des analyses plasmatiques, ainsi qu'une évaluation de la peroxydation lipidique dans le foie et des études histologiques des pancréas, foie et reins ont été réalisées.

Il s'avère que la CR est relativement riche en polyphénols ($82,5 \pm 1,86$ mg EA/g MS) et en protéines et faible en lipides totaux ($1,66 \pm 0,1\%$). La CR contient un taux non négligeable en minéraux tels que le magnésium (109,4 mg/l) et le calcium (139,3 mg/l) tandis que sa teneur en métaux lourds notamment en plomb et en cadmium (0,025 mg/l et 0,0002 mg/l, respectivement) était relativement faible. Elle contient également des acides gras essentiels tels que l'acide Oléique (C18 :1 n-9), l'acide linoléique (C18 :2 n-6) et Acide eicosapentaénoïque (C20:5 n-3). L'introduction de la CR à l'alimentation des rats à la dose de 500 mg/kg a montré une réduction de la peroxydation lipidique et de la glycémie. En effet, le test IPGTT a révélé une diminution de la glycémie à jeun du groupe GD 500 du J0 au J 30 et qui étaient comparables aux témoins, le taux a passé de $174,16 \pm 36,28$ mg/dl à $148,17 \pm 14,33$ mg/dl et de $126,83 \pm 3,54$ mg/dl à $124,83 \pm 3,48$ mg/dl, respectivement. Les coupes histologiques du groupe GD500 ont révélé un rétablissement du tissu pancréatique ainsi qu'une préservation des hépatocytes et du tissu rénal. Néanmoins, chez le groupe GD1000, une présence de vacuolisation et une rétraction des îlots

sont observées dans le pancréas, les hépatocytes étaient désorganisés avec une infiltration cellulaire très importante et une présence de cellules Kupffer ainsi qu'une dégénérescence du tissu rénal.

L'utilisation de l'algue verte *Caulerpa racemosa* en supplémentation orale à la dose de 500 mg/kg a permis une prévention du développement de l'hyperglycémie chez des rats expérimentalement diabétiques.

Mots clés : *Caulerpa racemosa*, diabète type 2, supplémentation orale, IPGTT, histopathologie

Abstract

Caulerpa racemosa is an invasive macro-alga native to south-west Australia. It was first identified in Mostaganem in 2010, and its uncontrolled proliferation is threatening the environment. The aim is to develop the nutritional value of this algae and study the effect of supplementing it with different concentrations on Wistar rats that have become diabetic, by assessing biochemical and histological parameters.

The green alga *Caulerpa racemosa* was collected from Salamandre station (Latitude N 35° 54' 37.94", Longitude E 03° 17.37") in the coast of Mostaganem (Algeria), at a depth of 2 meters by a professional scuba diver. After harvesting, the algae were washed and then shade-dried. Dried samples were powdered, sieved and then stored. The levels of protein, total sugars, lipids, polyphenols and flavonoids were determined. Minerals, heavy metals and fatty acids were also measured. Diabetes was induced in Wistar rats by streptozotocin after two months of hypercaloric feeding. The GD500 and GD1000 groups received CR (500 and 1000 mg/kg, respectively) for 4 weeks. An intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT), plasma analyses, assessment of lipid peroxidation in the liver and histological studies of the pancreas, liver and kidneys were performed.

Caulerpa racemosa was found to be relatively rich in polyphenols (82.5 ± 1.86 mg EA/g DM) and proteins and low in total lipids ($1.66 \pm 0.1\%$). *Caulerpa racemosa* contains significant levels of minerals such as magnesium (109.4 mg/l) and calcium (139.3 mg/l), while its heavy metal content, particularly lead and cadmium (0.025 mg/l and 0.0002 mg/l, respectively), was relatively low. It also contains essential fatty acids such as oleic acid (C18:1 n-9), linoleic acid (C18:2 n-6) and eicosapentaenoic acid (C20:5 n-3).

The introduction of *Caulerpa racemosa* into the diet of rats at a dose of 500 mg/kg showed a reduction in lipid peroxidation and glycaemia. In fact, the IPGTT test revealed a decrease in fasting blood glucose levels in the GD 500 group from D0 to D 30 that were comparable to the controls, with levels falling from 174.16 ± 36.28 mg/dl to 148.17 ± 14.33

mg/dl and from 126.83 ± 3.54 mg/dl to 124.83 ± 3.48 mg/dl, respectively. Histological sections from the GD500 group showed recovery of pancreatic tissue and preservation of hepatocytes and kidney tissue. However, in the GD1000 group, vacuolisation and islet retraction were observed in the pancreas, and the hepatocytes were disorganised with extensive cellular infiltration and the presence of Kupffer cells, as well as degeneration of the kidney tissue.

Oral supplementation with the green alga *Caulerpa racemosa* at a dose of 500 mg/kg prevented the development of hyperglycaemia in experimentally diabetic rats.

Key words: *Caulerpa racemosa*, diabetes mellitus type 2, oral supplementation, IPGTT, histopathology.

ملخص

كوليربا راسيموزا هي طحالب كبيرة غازية موطنها الأصلي جنوب غرب أستراليا. تم اكتشافها لأول مرة في مستغانم في عام 2010، ويهدد انتشارها غير المنضبط البيئة. الهدف من هذه الدراسة هو تمييز هذه الطحالب من ناحية القيمة الغذائية ودراسة تأثير مكملاتها بتركيزات مختلفة على فئران ويستار التي أصيبت بالسكري، وذلك من خلال تقييم المعايير البيوكيميائية والنسجية.

تم تحديد نسبة البروتين والسكريات والدهون والبوليفينول والفلافونويدات كما تم قياس المعادن والمعادن الثقيلة والأحماض الدهنية. تم إحداث داء السكري في فئران ويستار عن طريق الستربتوزوتوسين بعد شهرين من التغذية عالية السعرات الحرارية. تلقت مجموعتا GD500 و GD1000 جرعة من الكوليربا راسيموزا (500 و 1000 ملغ/كغ على التوالي) لمدة 4 أسابيع. تم إجراء اختبار تحمل الجلوكوز داخل الصفاق (IPGTT)، وتحليل البلازما، وتقييم بيروكسيد الدهون في الكبد والدراسات النسيجية للبنكرياس والكبد والكلى.

تبين أن كوليربا راسيموزا غني نسبياً بالبوليفينول (1.86 ± 82.5 ملغ/EA غرام مادة جافة) والبروتينات ومنخفض في إجمالي الدهون ($1.66 \pm 0.1\%$). يحتوي طحلب كوليربا راسيموزا على مستويات كبيرة من المعادن مثل المغنيسيوم (109.4 ملغ/لتر) والكالسيوم (139.3 ملغ/لتر)، في حين أن محتواه من المعادن الثقيلة، وخاصة الرصاص والكاميوم (0.025 ملغ/لتر و 0.0002 ملغ/لتر على التوالي) كان منخفضاً. كما أنه يحتوي على أحماض دهنية أساسية مثل حمض الأوليك (C18:1 n-9) وحمض اللينوليك (C18:2 n-6) وحمض الإيكوسابنتاينويك (C20:5 n-3).

أظهر إدخال كوليربا راسيموزا في النظام الغذائي للفئران بجرعة 500 ملغ/كغ انخفاضاً في بيروكسيد الدهون والغلوكوز في الدم. كما كشف اختبار IPGTT عن انخفاض في مستويات الجلوكوز في الدم أثناء الصيام في مجموعة GD 500 من اليوم 0 إلى اليوم 30، والتي كانت مماثلة للمجموعة الشاهدة، حيث انخفضت المستويات من 174.16 ± 36.28 ملغ / دل إلى 148.17 ± 14.33 ملغ / دل ومن 126.83 ± 3.54 ملغ / دل إلى 124.83 ± 3.48 ملغ / دل على التوالي. أظهرت المقاطع النسيجية من مجموعة GD500 تعافي أنسجة البنكرياس والحفاظ على خلايا الكبد وأنسجة الكلى. لكن، لوحظ في مجموعة GD1000، وجود فراغ في البنكرياس وانكماش الجزر في البنكرياس، وكانت خلايا الكبد غير منظمة مع ارتشاح خلوي واسع النطاق ووجود خلايا كوففر، بالإضافة إلى انحلال أنسجة الكلى.

مكملات الطحالب الخضراء كوليربا راسيموزا عن طريق الفم بجرعة 500 ملغ/كغ منعت تطور فرط سكر الدم لدى الفئران المصابة بالسكري تجريبياً.

الكلمات المفتاحية: كوليربا راسيموزا، داء السكري، مكملات عن طريق الفم، علم الأنسجة، IPGTT

Productions scientifiques

Publication internationale

El Habitri, N et Belkacemi, L. Antidiabetic Effect of Oral Supplementation with *Caulerpa Racemosa* Powder. *European Journal of Biological Research* **2022**, *12*, 141-152.

Communications internationales

- Valorisation de l'algue verte invasive *Caulerpa racemosa var cylindracea* récoltée sur la côte mostaganémoise – côte algérienne. 1^{er} Colloque International Bio-ressources et Economie Bleue et Verte, du 26 au 29 Avril 2018. Hammamet – Tunisie.
- Evaluation de la composition nutritionnelle de l'algue verte invasive *Caulerpa racemosa var cylindracea* récoltée sur la côte mostaganémoise – côte algérienne. Congrès international sur la valorisation des ressources naturelles, de la recherche scientifique à la faisabilité socio-économique – VARENA 2019, du 26 au 28 Juin 2019. Rabat- Maroc.

Communications nationales

- Variation saisonnière de la teneur en métaux lourds et minéraux de l'algue verte invasive *Caulerpa racemosa var cylindracea* récoltée sur la côte mostaganémoise – côte algérienne. Journées nationales de la faculté SNV de l'université de Mostaganem, du 5 au 6 Novembre 2019. Algérie.
- Propriétés physicochimiques et profil en acides gras de l'algue verte invasive *Caulerpa racemosa var cylindracea* récoltée sur la côte de mostaganem. The 10th national days of natural and life sciences “JNSNV 2021”. Mostaganem- Algérie.

Participation au projet de recherche PRFU

Valorisation nutritionnelle de l'algue verte invasive *Caulerpa racemosa var cylindracea* récoltée sur la cote de Mostaganem (2018-2022) (D00L01UN270120180001)

Introduction

Introduction

Le diabète est une maladie complexe et potentiellement mortelle responsable chaque année dans le monde de 6,7 millions de décès soit l'équivalent d'un décès toutes les cinq secondes (**FID, 2021**). Selon l'organisation mondiale de la santé (**2016**), le diabète est considéré comme une épidémie dont la prévalence a augmenté de façon très importante au cours de ces dernières années. Actuellement, plus de 540 millions de personnes dans le monde sont atteintes de diabète. Si l'augmentation de la prévalence se poursuit, le nombre total de diabétiques atteindra 783 millions d'ici 2045, soit une augmentation de 46 % (**FID, 2021**).

Selon Algérie Presse Service (APS), le nombre de diabétiques en Algérie a atteint environ 4 millions, y compris les enfants et les personnes âgées. Les chiffres officiels sous-estiment probablement la prévalence réelle de la maladie, car de nombreux cas ne sont pas diagnostiqués. Le diabète en Algérie touche environ 15% de la population âgée de 18 ans et plus, soit près de 2,8 millions de patients. Si des mesures préventives ne sont pas prises, ce nombre pourrait atteindre 5 millions de diabétiques d'ici 2030 (**APS, 2022**).

Le diabète insulino-résistant ou diabète de type 2 est une maladie métabolique dont la caractéristique principale est une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (**Diabetes Care, 1997**). En général, un état de pré-diabète précède cette maladie. Il s'agit de la présence d'une tolérance altérée au glucose autrement dit une intolérance au glucose qui évolue, suite à l'épuisement des cellules bêta, en diabète de type 2. En effet, il est estimé que jusqu'à 70% des personnes atteintes de prédiabète finiront par devenir diabétiques et qu'elles courent également un risque plus élevé de développer une maladie cardiovasculaire ainsi que d'autres complications du diabète (**Cai et al., 2020**).

L'hyperglycémie chronique caractéristique du diabète type 2 mal contrôlé induit de nombreuses formes de complications micro et macrovasculaires (**Marcovecchio et al., 2011**), qui conduisent souvent à un décès prématuré (**Olokoba et al., 2021**). Même si le diabète de type 2 a longtemps été identifié comme une maladie chronique incurable, le meilleur résultat attendu est d'améliorer les symptômes du diabète ou de retarder sa progression inévitable (**Hallberg et al., 2019**). Ainsi, la prévention et le contrôle du diabète passent par l'amélioration de la glycémie, du profil lipidique et des dommages oxydatifs afin d'éviter les perturbations organiques liées aux complications du diabète.

Introduction

La médecine traditionnelle continue à être utilisée dans le monde afin de traiter mais sans guérir le diabète. La valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays. Ainsi, depuis son assemblée générale, l'OMS recommande l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments à base des plantes en vue de standardiser leur usage et les intégrer dans les systèmes de soins conventionnels (OMS, 2000).

En plus des plantes médicinales terrestres, les algues sont également prescrites pour de nombreuses maladies dans différents systèmes médicaux traditionnels asiatiques (Sharifuddin et al., 2015). En effet, les algues sont connues comme une source potentielle de composés bioactifs ayant des activités antidiabétiques, antioxydantes, et anticardiovasculaires. D'ailleurs, des études épidémiologiques comparant les régimes alimentaires d'Asie du Sud-Est et de style occidental ont signalé une association entre l'apport alimentaire d'algues marines et une prévalence réduite des maladies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires, l'hyperlipidémie et le cancer (Lange et al., 2015). Par ailleurs, de nombreuses ressources marines ont fait l'objet de plusieurs recherches. L'isolement des composés des algues a montré qu'ils ont une variété d'activités biologiques. L'étude des produits marins par les chimistes, les pharmacologues et les biologistes a permis de mettre en évidence ces activités biologiques : antibiotiques, antitumorales, anti-inflammatoires, analgésiques, antiallergiques et anti-virales (Chiu et al., 2012 ; Go et al., 2011). Il a été démontré que les polysaccharides des algues jouent un rôle important dans le piégeage des radicaux libres pour la prévention de dommages oxydatifs chez les organismes vivants (Díaz et al., 2017)

Parmi les algues marines, l'algue verte *Caulerpa racemosa* est connue pour sa haute valeur nutritionnelle, notamment en acides gras polyinsaturés (AGPI), en acides aminés essentiels, minéraux, fibres alimentaires, vitamines et composés bioactifs naturels. La présence de composés bioactifs naturels dans la *Caulerpa racemosa* contribue à son pouvoir antioxydant, anticoagulant, antimutagène, antibactérien et anticancéreux et même antidiabétique (Aroyehun et al., 2020). Les études sur l'effet antidiabétique de *Caulerpa racemosa* ont été réalisées en testant l'effet hypoglycémiant des extraits de cette algue in vitro (Teixeira et al., 2007; Agatonovic-Kustrin et Morton, 2017) ou in vivo (Aroyehun et al., 2020), mais à notre connaissance aucune étude n'a été réalisée sur l'effet de la supplémentation orale en poudre de *Caulerpa racemosa* sur le diabète de type 2 ou sa prévention.

Introduction

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail de recherche qui vise à explorer une voie de valorisation de la *Caulerpa racemosa*, considérée comme algue invasive par de nombreux auteurs (**Boudouresque et Verlaque, 2002 ; Verlaque et al., 2003 ; Bouiadjra et al., 2010**) sur le plan nutritionnel et de cerner la meilleure saison où sa composition est optimale. Notre objectif vise également à étudier l'effet de la supplémentation de cette algue à différentes concentrations, sur une possible prévention de l'évolution du diabète type 2 chez des rats Wistar rendus diabétiques et ce à travers l'évaluation de paramètres biochimiques et histologiques.

La thèse comprend une synthèse bibliographique composée de deux chapitres essentiels mettant en exergue des notions relatives au diabète ainsi que l'algue étudiée *Caulerpa racemosa*. Ensuite, une deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale expose le protocole expérimental et les différentes méthodes de dosages, les résultats obtenus ainsi que leur discussion. Cette partie pratique comprend deux volets distincts : le premier a trait à la variation saisonnière de la composition chimique de *Caulerpa racemosa*. Le second, quant à lui, est relatif au potentiel nutraceutique sur des rats rendus diabétiques.

Partie bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur les algues

1. Définition

Les algues sont des organismes autotrophes de structure simple, conventionnellement définies comme des végétaux peuplant le milieu aquatique, les lieux humides et de nombreux milieux terrestres. Leur appareil végétatif relativement simple est appelé « thalle » qui est dépourvu de racine, tige et feuille (**Rivard-Sirois, 2005**).

Les algues présentent une grande diversité morphologique basée sur plusieurs niveaux d'organisation (unicellulaire et pluricellulaire), elles ont des formes et des dimensions très variables, qui peuvent mesurer plusieurs mètres de longueur (**Person, 2011**) mais certaines sont microscopiques. Les algues sont généralement divisées en deux types principaux, à savoir les microalgues et les macroalgues (**Johnsen, 2019**). Elles sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines, et certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes.

2. Composition des algues marines

Les algues marines sont l'une des sources d'antioxydants car elles contiennent des composés bioactifs tels que les caroténoïdes, les composés phénoliques et leurs dérivés, des sulfates de polysaccharides et des vitamines (**Sami et al., 2021**).

Les algues sont également des sources précieuses de protéines, de fibres, de vitamines, d'acides gras polyinsaturés, de macro et oligo-éléments, ainsi que d'importants composés bioactifs (**Ortiz et al., 2006 ; Ibraheem et al., 2017**). Ainsi, elles ont été reconnues comme étant bénéfiques pour la santé humaine et animale (**Fleurence, 1999**).

Généralement, les algues marines se caractérisent par une teneur relativement faible en acides gras saturés (AGS) et des quantités importantes d'acides gras polyinsaturés (AGPI), qui sont considérés comme bénéfiques pour la santé humaine tant qu'ils ne sont pas oxydés ou transformés en lipides saturés (**Hamed et al., 2015**). Les algues brunes contiennent des teneurs relativement plus faibles en lipides ayant moins de 5% de poids sec. Dans les algues rouges, les lipides et les acides gras sont présents en faibles quantités, généralement 1 à 5 % du poids sec (**Torres et al., 2019**). **Kumari et al. (2013)** a étudié la teneur totale en lipides et la distribution des acides gras de différentes algues et a suggéré que les variations observées entre différentes espèces du même genre étaient plus probablement dues aux variations interspécifiques/intra-génériques plutôt qu'aux conditions géographiques et environnementales.

3. Utilisation des algues marines

3.1. En alimentation humaine

Les algues marines ont été utilisées en alimentation humaine depuis très longtemps en Asie, principalement au Japon, en Chine, aux Philippines, en Malaisie et au Sri Lanka, mais sont désormais de plus en plus consommées dans d'autres pays (Amérique du Nord, Amérique du Sud et en Europe) (McHugh, 2003). La population mondiale va augmenter de plus d'un tiers (2,3 milliards de personnes) d'ici 2050, nécessitant une augmentation de la production alimentaire estimée à 70

% (Godfray et al., 2010) où les algues peuvent servir de ressource alimentaire et de compléments nutritionnels pour les humains (Aziz et al., 2021). Selon le centre d'étude et de valorisation des algues (CEVA, 2014), 24 algues dont 3 microalgues sont utilisables pour la consommation humaine. Parmi les macroalgues, on dénombre 8 algues brunes, 11 algues rouges et 2 algues vertes (Tableau 1).

Tableau 1 : Algues autorisées pour l'alimentation humaine (CEVA 2014).

Type	Nom
Algues brunes	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Ascophyllum nodosum</i> - <i>Fucus vesiculosus</i> - <i>Fucus serratus</i> - <i>Himanthalia elongata</i> - <i>Undaria pinnatifida</i> - <i>Laminaria digitata</i> - <i>Laminaria saccharina</i> - <i>Laminaria japonica</i> - <i>Alaria esculenta</i>
Algues vertes	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Ulva sp.</i> - <i>Enteromorpha sp.</i>
Microalgues	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Spirulina sp.</i> - <i>Odontella aurita</i> - <i>Chlorella sp.</i>

Suite du tableau 1

Algues rouges	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Palmaria palmata</i> - <i>Porphyra umbilicalis</i> - <i>Porphyra tenera</i> - <i>Porphyra yezoensis</i> - <i>Porphyra dioica</i> - <i>Porphyra purpurea</i> - <i>Porphyra laciniata</i> - <i>Porphyra leucostica</i> - <i>Chondrus crispus</i> - <i>Gracilaria verrucosa</i> - <i>Lithothamnium calcareum</i>
---------------	--

3.2. En industrie pharmaceutique

Les macro-algues marines sont les véritables sources de certains composés bioactifs fortement régulés. Les algues fournissent à l'industrie pharmaceutique une nouvelle source de composés bioactifs dans la production de médicaments (**Hamed et al., 2018**).

Certaines algues sont utilisées à des fins de cicatrisation ou d'action hémostatique, et notamment *laminaria hyperborea*, ou pour leurs effets laxatifs tel que *Fucus vesiculosus*, pour la perte de poids grâce à leur effet coupe-faim. Cependant, l'utilisation des algues doit être surveillée parce qu'elles apportent beaucoup de nutriments et d'effets bénéfiques sur la santé et l'alimentation, mais apportent également un certain taux d'iode et pourrait entraîner des désagréments si elles sont utilisées en trop grande quantité ou trop souvent.

Les algues sont également utilisées en tant qu'excipient dans les formules médicamenteuses. Elles font donc partie de la formule d'un médicament sans effet thérapeutique mais plutôt dans le but d'améliorer le goût, l'aspect, la conservation, la stabilité d'un médicament (**Daude, 2021**).

3.3. En cosmétique

De nos jours, les algues continuent à être développées dans diverses industries, en particulier dans l'industrie cosmétique en raison de leur diversité chimique et de leurs propriétés

uniques notamment pour leur propriétés antioxydantes. A cet effet, elles ont suscité l'intérêt de leur utilisation dans le domaine de cosmétique et ce grâce à leurs teneurs en composés phénoliques et leurs dérivés ainsi que leur teneur en flavonoïdes, caroténoïdes, stéroïdes, terpénoïdes, coumarine, ainsi qu'en vitamines (**MacArtain et al., 2008**).

L'étude de **Sami et al. (2021)** qui porte sur l'effet des antioxydants sur la protection de la peau contre les rayons UV en utilisant des ingrédients naturels dérivés d'algues marines, a montré que les trois algues étudiées, à savoir *E. cottoni*, *S. polycystum* et *C. racemosa*, fournissent une bioactivité contre les rayons UV et ont contribué en tant que matières premières pour le développement de cosmétiques sûrs.

3.4. En thalassothérapie

Les algues marines sont utilisées en thalassothérapie, ceci consiste en un bain d'algues préparé avec de l'eau douce tiède, d'eau de mer et d'algues fraîches, principalement *Fucus serratus* (Phaeophyceae). Les fucales, telles que *F. serratus* et *F. vesiculosus* contiennent une grande variété de composants bénéfiques, notamment des acides gras, des antioxydants, de l'iode, des vitamines et des minéraux, des antioxydants (**Pereira, 2018**).

3.5. En agriculture

Plusieurs pays d'Asie et d'Europe utilisent les algues pour l'agriculture y compris l'alimentation animale et le compost.

Les algues marines sont très riches en différents composés métaboliques secondaires, qui les rendent résistantes à différentes conditions de stress climatique et environnemental, ce qui permet d'améliorer la fertilité des sols agricoles et favoriser la croissance des plantes (**Nabti et al., 2016**).

L'utilisation des algues marines comme engrais dans l'agriculture est pratiquée depuis l'antiquité, elles sont appliquées en entier ou finement haché ou d'extrait liquide. Ce dernier fait l'objet d'une plus grande attention en tant que pulvérisation foliaire pour générer un rendement plus rapide des cultures de légumes, de fruits et de céréales (**Zafar et al., 2022**). Contrairement aux engrais chimiques, les extraits d'algues sont censés être biodégradables, non toxiques, non polluants et non dangereux (**Altindal, 2019**). Dans le même ordre d'idée, Les micro et macro algues sont des engrais biologiques qui respectent l'environnement et ne causent pas de

pollution. Les microalgues sont des biofertilisants plus efficaces pour le sol que les macroalgues (Ammar et al., 2022).

3.6. En élevage

L'utilisation de macroalgues ou d'extraits de macroalgues dans l'alimentation animale a fait l'objet d'une attention particulière en raison de la demande croissante de sources renouvelables et durables de protéines animales, réduisant ainsi la pression sur les ressources terrestres (Eroldoğan et al., 2023). De nombreuses études ont porté sur l'incorporation de macroalgues fraîches ou séchées et de leurs extraits dans l'alimentation des animaux, en particulier des organismes aquatiques. On a constaté que les métabolites des macroalgues amélioraient la croissance, renforçaient l'immunité, réduisaient la charge microbienne et amélioraient la qualité de la viande (González-Meza et al., 2023).

Aujourd'hui, les macro-algues sont utilisées comme aliment pour les chevaux et les volailles dans plusieurs pays du monde et sont incluses dans les aliments pour animaux à des concentrations allant jusqu'à 10 % (Burg et al., 2013). Il en est de même pour l'utilisation des macroalgues dans l'alimentation des ruminants en raison de leur potentiel prébiotique et l'amélioration des performances de l'animal (Garcia-Vaquero et Hayes, 2015).

Les microalgues sont aussi utilisées dans le cadre du développement d'aliments pour animaux. Les chercheurs ont constaté que leur utilisation permettait de répondre aux besoins en minéraux des animaux nourris avec un régime riche en microalgues (Garcia-Vaquero et Hayes, 2015)

Récemment, de nombreuses recherches ont été menées sur l'utilisation des algues marines en tant qu'ingrédient pour les aliments pour animaux d'aquaculture. Les macro-algues peuvent avoir un impact direct sur l'efficacité de l'assimilation des nutriments dans leurs intestins car les polysaccharides que les algues contiennent peuvent affecter la digestion (Sinha et al., 2011). Saleh (2020) confirme dans son étude que l'ajout d'algues marines dans l'alimentation des poissons peut améliorer les performances de croissance et l'efficacité alimentaire sans avoir des effets négatifs sur l'activité des enzymes hépatiques et les indices sanguins. De même, l'incorporation à faible dose d'*Ulva rigida* dans l'alimentation des poissons améliore la croissance, l'efficacité alimentaire, la qualité de la carcasse, la résistance aux maladies et réduit la réponse au stress.

4. Présentation de l'espèce *Caulerpa racemosa*

La *Caulerpa racemosa* communément appelée algue raisin est une chlorophycée (algues vertes) de la famille des Caulerpales. Depuis sa découverte au début des années quatre-vingt-dix, en Libye, la souche envahissante de *Caulerpa racemosa* s'est largement propagée en Méditerranée. Des travaux récents ont démontré que cette variété est *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Sonder) Verlaque, Huisman et Boudouresque, originaire du sud-ouest australien. Elle a la capacité de se reproduire de façon sexuée ou asexuée par bouturage. Les activités telles que la pêche et l'ancrage des navires constituent les premiers facteurs de sa propagation. Cette espèce colonise plusieurs types de fonds : sable, roche, vase, matte morte de posidonies à des profondeurs allant de 0 à 50 m (Capiomont et al., 2005).

4.1. Morphologie

La *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* possède un thalle coenocytique, constitué d'un axe rampant appelé stolon qui mesure entre 0,7 mm et 2 mm de diamètre ; ce dernier est fixé dans le substrat par de minces et courts rhizoïdes d'une longueur qui varie entre 1 mm et 20 mm avec un diamètre entre 0,3 mm et 1 mm. Des axes appelés frondes qui atteignent 15 cm, sont portés verticalement sur le stolon. De petites protubérances arrondies, non groupées, avec une longueur de 1,7 mm à 7 mm et un diamètre entre 1 mm et 3 mm appelées ramules sont disposées d'une façon radiale ou distique sur les frondes, ces mêmes frondes sont légèrement gonflées au-dessus de l'attachement avec le stolon (Verlaque et al., 2003).

C.racemosa est caractérisée par des feuilles dressées jusqu'à 11 cm (exceptionnellement 19 cm) de hauteur, portant des ramules vésiculaires non encombrés dont la morphologie est pertinente sur le plan taxonomique (figure 1). Les frondes sont légèrement gonflées au-dessus de l'attachement au stolon qui est fixé au substrat par de courts et minces rhizoïdes (Verlaque et al., 2003). De nombreuses pousses latérales sphériques ou ovoïdes se ramifient depuis les frondes et qui donnent son nom de « caulerpe raisin » à cette algue (Sea, 2011).

Les données morphométriques de *C.racemosa* en Méditerranée peuvent varier selon la région, la profondeur et la saison (Klein et Verlaque, 2008).

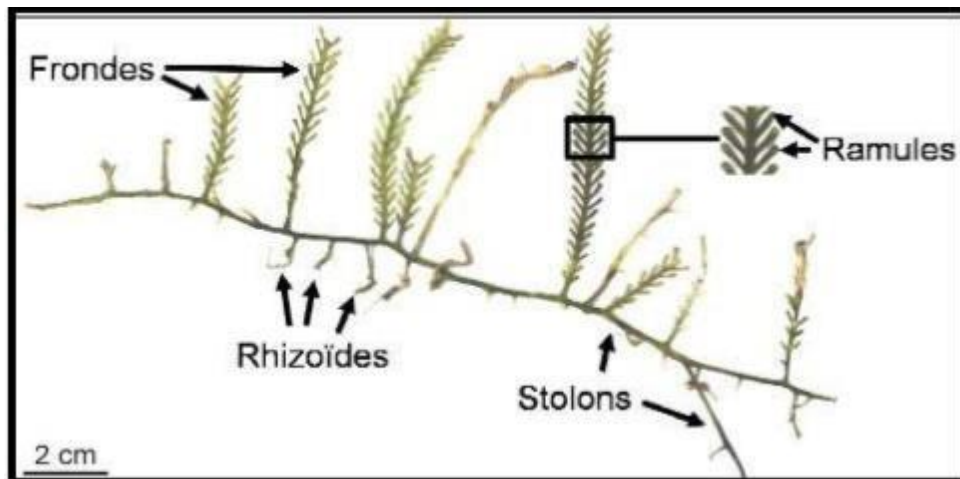


Figure 1 : Morphologie de *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Klein et Verlaque, 2008).

4.2. Classification des algues vertes *Caulerpa racemosa*

Le tableau ci-dessous représente la classification du genre *Caulerpa* selon **Guiry et Guiry (2020)**.

Tableau 2 : Classification du genre *Caulerpa* selon **Guiry et Guiry (2020)**.

Empire	Eukaryota
Classe	Ulvophyceae
Ordre	Bryopsidales
Famille	Caulerpaceae
Genre	<i>Caulerpa</i>
Espèce	<i>racemosa</i>

4.3 Reproduction

La *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* présente dans son cycle de vie 2 modes de reproduction à savoir la reproduction sexuée et la reproduction végétative.

La reproduction végétative ou asexuée qu'adopte *Caulerpa racemosa* se fait par fragmentation et bouturage ou par dissémination de ramules transformés en propagules qui peuvent se détacher facilement de l'axe et régénérer un thalle complet (**Pomin, 2014**).

Cette algue est également capable de se reproduire sexuellement (figure 2). Cette reproduction est holocarpique vu qu'elle provoque la disparition de l'individu mère, conduisant à la lyse entière du thalle en gamètes libérés simultanément mais provoquant par la suite la mort de l'individu. Les individus sont monoïques, mais développe cette fois les deux types de gamètes, mâles et femelles. Ceci permet la formation de zygote par fusion des gamètes qui se fixent et produisent après cinq semaines un tube qui s'allongera pour se développer en un nouvel individu (**Piazzini et al., 2005**).

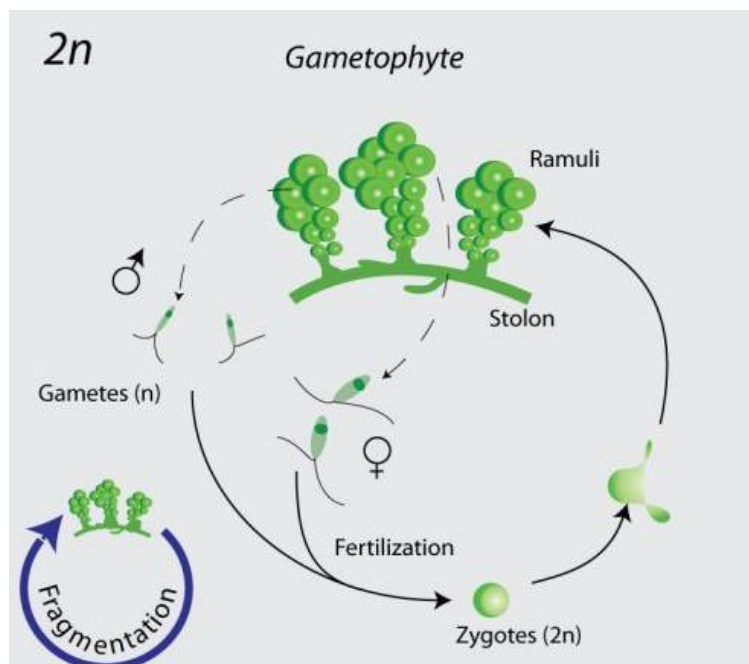


Figure 2 : Cycle de vie de la *Caulerpa* (**Bast, 2014**).

4.4. Répartition de *Caulerpa racemosa*

4.4.1. En méditerranée

En mer Méditerranée, la *Caulerpa racemosa* a été signalée pour la première fois en Tunisie dans le port de Sousse par Hamel en 1926, puis repérée dans la mer Méditerranée orientale mais elle n'a pas été notée comme un envahisseur potentiel. Elle est considérée comme un possible migrateur de la mer Rouge. Au début des années 1990, la situation change brutalement avec la découverte en Libye d'une forme ramifiée de *C. racemosa* inconnue en Méditerranée. Ce taxon connaît actuellement une expansion spectaculaire et continue dans la

majeure partie de la mer Méditerranée, à ce stade, il a été désigné comme envahisseur (**Kišević, 2011**).

Ulaş et ses collaborateurs (2011) ont rapporté que *C. racemosa* qui est retrouvée en particulier dans les pays de l'est de la Méditerranée, peut s'étendre jusqu'à une profondeur de 50 mètres. Il a également été signalé que cette espèce peut s'installer dans des zones rocheuses, sablonneuses et boueuses et qu'elle peut pousser sur les feuilles et les racines des herbiers marins même mortes. Cette espèce peut vivre dans des eaux même polluées (à l'intérieur des ports, des baies) ainsi que dans des endroits où les températures et les profondeurs sont différentes et elle peut être déplacée vers différentes zones en raison des activités humaines (ancrage, ballasts et pêche).

La présence de cette algue envahissante a été enregistrée dans 15 pays méditerranéens (figure 3) à savoir : Albanie, Algérie, Croatie, Chypre, France, Grèce, Italie, Libye, Malte, Maroc (ville espagnole de Ceuta), Monaco, Monténégro, Espagne, Tunisie et Turquie) et dans toutes les grandes îles méditerranéennes (Îles Baléares, Corse, Crète, Chypre, Sardaigne, Sicile) (**Bouiadjra et al., 2010**).

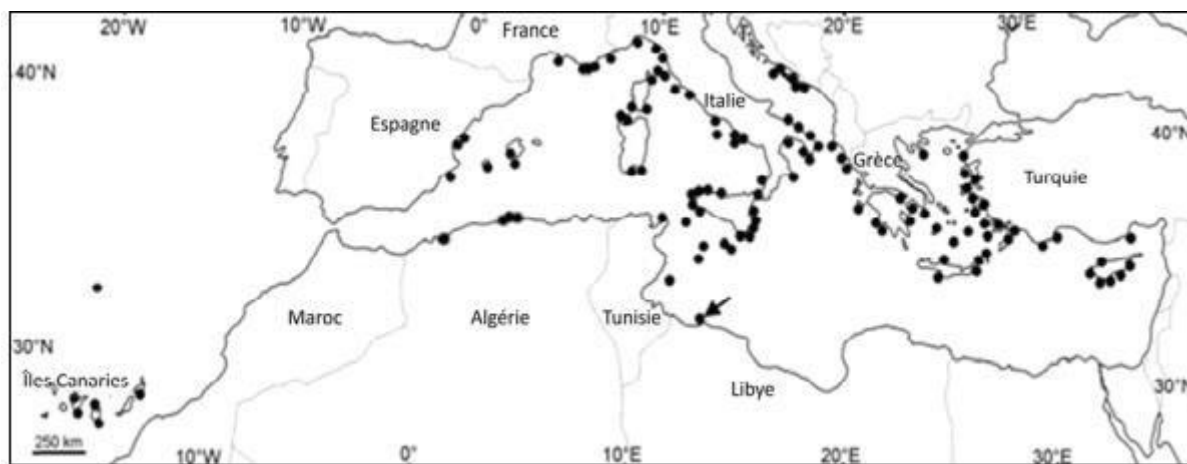


Figure 3 : Première identification de *Caulerpa racemosa* en Libye en 1990 (flèche) et localisations déterminées depuis (points) en Méditerranée et aux îles Canarie (**Klein et Verlaque, 2008**).

4.4.2. En Algérie

La *Caulerpa racemosa* a été identifiée pour la première fois en Algérie à Bou-Ismaïl en 2006 (**Bentaallah et Kerfouf, 2013**). D'autres travaux ont permis de mentionner sa présence à Bordj El Kiffan à l'est d'Alger et dans différentes zones du littoral d'Alger) (**figure 4**).

Sur la côte ouest algérienne, **Bouiadjra et al. (2010-a, 2010-b)** observèrent la présence de plusieurs peuplements dans le golfe d'Arzew, à Stidia et à proximité du port de Salamandre à l'Ouest de Mostaganem. L'apparition de *caulerpa racemosa* à Stidia et Salamandre peut être attribuée à l'importance du trafic maritime dans ces zones méditerranéenne, car elles sont très proches du grand port pétrochimique d'Arzew et du port industriel et de pêche de Mostaganem (**Bouiadjra et al., 2010**)

Tableau 3 : Caractéristiques des colonisations de *Caulerpa racemosa* en Algérie (**Bentaallah et Kerfouf, 2013**).

Localisation		Profondeur (m)	Substrat	Première observation *	Référence
Tamentfoust	Région centre	22	Sablo-vaseux	2005	S. LAMOUTI <i>et al.</i> , 2011
Sidi-Fredj		1-12	Vase, sable, herbier		
Rais Hamidou		1-17	Roche, galets, herbier	2006	
Miramar		29	Roche, herbier, sable		
Bainem		6	Roche, herbier		
El Djamila		8	Roche, herbier		
Bou Ismaïl		< 1	Roche		
Bou Ismaïl		0,5	-		
Tamentfoust		0,5			
Sidi-Fredj		3	-	N. OULD-AHMED et A. MEINESZ, 2007	
Bordj El Kiffan		< 1			
Salamandre	Région ouest	0,5-0,8	Sable, roche	2008	B. BACHIR BOUIADJRA <i>et al.</i> , 2010-a et 2010-b
Stidia		0,3-0,5	Sable, roche		
Bounettah	Région centre	13	Sable	2009	S. LAMOUTI <i>et al.</i> , 2011

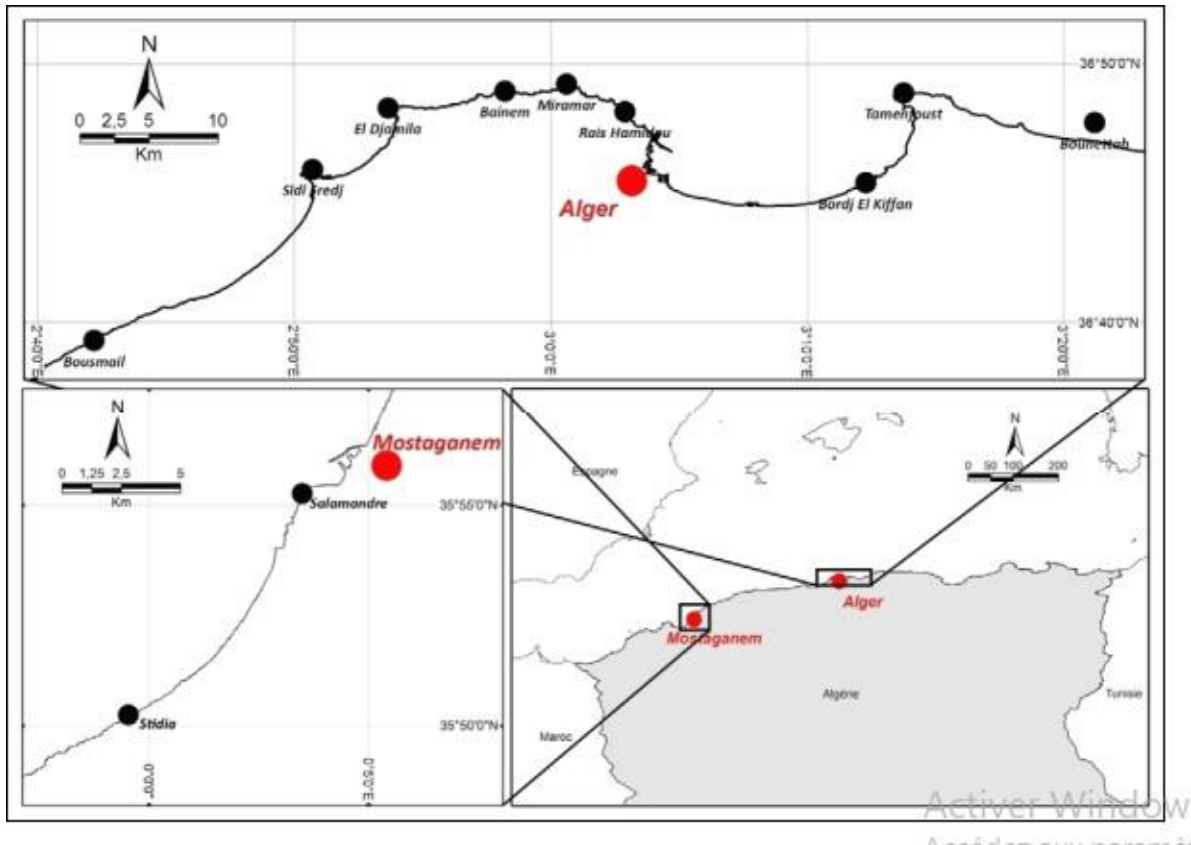


Figure 4 : Localisation géographique de *Caulerpa racemosa* sur le littoral algérien (**Bentaallah et Kerfouf, 2013**).

5. Valeurs nutritionnelles et composés bioactifs de *C. racemosa*

Caulerpa racemosa est bien connue pour son excellent apport nutritionnel bénéfique, en raison de la forte concentration des acides gras polyinsaturés (AGPI), des acides aminés, minéraux, fibres alimentaires et vitamines.

5.1. Protéines

La teneur en protéines de la *Caulerpa* n'est pas élevée et varie de 0,6 à 20,8 % de matière sèche (**De Gaillande et al., 2017**). Cette teneur varie selon plusieurs facteurs tels que les endroits, les saisons et les lieux de récolte (**Wirenfeldt et al., 2024**). La qualité des protéines dépend de la présence et de la quantité des acides aminés essentiels. Les espèces de *Caulerpa* présentent le même profil en acides aminés comme les autres algues, avec la dominance d'acides

aspartique et glutamique. En revanche, l'histidine, la lysine et la méthionine sont les acides aminés les plus limitants (**Zubia et al., 2020**).

Dans le même ordre d'idées, *Caulerpa racemosa* contient de grandes quantités d'acides aminés non essentiels, à savoir l'acide aspartique et l'acide glutamique. Ces deux acides aminés représentent généralement entre 26% et 32% de la teneur totale en acides aminés et sont responsables de leur goût "umami" (**Magdugo et al., 2020**).

5.2. Lipides

Les algues ne sont pas considérées comme une bonne source de lipides. La teneur en lipides des algues varie d'une espèce à l'autre, mais la quantité se situe généralement entre 0,1 % et 5 % de matière sèche (**Kasmiati et al., 2022**). Cependant, la qualité lipidique des algues marines a suscité un intérêt considérable en raison de leur teneur élevée en acides gras polyinsaturé à longue chaîne (AGPI) et en caroténoïdes (**Holdt et Kraan, 2011**).

La teneur faible en lipides de la *Caulerpa* est très bonne pour la santé humaine, c'est pourquoi cette algue peut être consommée en grandes quantités et son utilisation peut être considérée comme l'un des principaux ingrédients des aliments à faible teneur en matières grasses (**Kasmiati et al., 2022**). Sa composition en acides gras a montré des composants dominants tels que l'acide palmitique (C16:0), l'acide palmitoléique (C16:1 n-7) et l'acide linoléique (18 :3 n-3), parmi les acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés, respectivement. La consommation d'AGPI oméga-3 à longue chaîne est connue pour ses effets bénéfiques sur la santé humaine et associée à un faible rapport n-6/n-3, elle est fondamentale pour une alimentation présentant des avantages cardio-protecteurs. La *Caulerpa racemosa* contient la teneur totale en AGPI n-3 la plus élevée et le rapport n6/n-3 le plus faible parmi plusieurs d'autres algues marines (**Abirami et al., 2016**).

5.3. Glucides et fibres

Les glucides représentent la part relativement la plus importante de la composition biochimique des algues marines (**Fleurence et al., 2012**). Les teneurs en hydrates de carbone varient de 3,6 à 83,2 % de matière sèche dans les espèces comestibles de *Caulerpa* (**Kasmiati et al., 2022**). Les polysaccharides d'algues marines sont considérés comme une source alternative de fibres alimentaires pour la consommation humaine. Ils sont utiles dans de

nombreux produits nutraceutiques, car les fibres peuvent augmenter le sentiment de satiété et faciliter le transit digestif (**Zubia et al., 2020**).

Les macroalgues comestibles contiennent des quantités élevées de fibres alimentaires. Les "fibres solubles" représentent 52 à 56 % des fibres totales dans les macroalgues vertes et rouges couramment utilisées (**Wells et al., 2016**). Les fibres sont le plus grand composant de *Caulerpa* et peuvent donc être présentes en quantité suffisante lorsqu'elles sont incluses dans le régime alimentaire pour prévenir le syndrome métabolique associé à l'obésité, au diabète de type 2 et aux maladies cardiovasculaires (**De Gaillande et al., 2017**). Les fibres alimentaires insolubles de *Caulerpa racemosa* contiennent de la cellulose et de l'hémicellulose qui jouent un rôle important dans la prévention de la constipation, des colites et des hémorroïdes (**Windarto et al., 2023**).

Enfin, 11 monosaccharides ont été identifiés de *Caulerpa racemosa* dont le glucose (52,4 %), galactose (15,6 %), mannose (12,6 %), xylose (8,2 %) ; des quantités moindres de fructose (4,0 %), d'acide glucuronique (1,4 %), de fucose (1,3 %) et de rhamnose (1,0 %), des traces d'arabinose, de glucosamine et de glucoheptose (**Magdugo et al., 2020**).

5.4. Minéraux

La teneur en minéraux est l'une des principales caractéristiques nutritionnelles des algues marines, qu'elles prennent directement de leur environnement. Les algues absorbent une quantité incomparable d'éléments minéraux de la mer et sont reconnues comme d'excellentes sources de vitamines et de minéraux, notamment de potassium et d'iode (**Leandro et al., 2019**).

Selon **Magdugo et al., (2020)**, la *Caulerpa racemosa* a une teneur élevée en macro-éléments ; le sodium a la teneur la plus élevée, suivi par le potassium, le calcium et le magnésium. La teneur en micro-éléments est également élevée comprenant le fer, le zinc, le cuivre et le manganèse.

5.5. Caroténoïdes et chlorophylles

Les caroténoïdes sont classés en deux catégories : les xanthophylles, dont la structure moléculaire contient de l'oxygène, et les carotènes, dont la structure est composée d'hydrocarbures (**Balasubramaniam et al., 2020**).

Kurniawan et al. (2023) ont rapporté dans leur étude 7 types de xanthophylles dans la *Caulerpa racemosa* dont la fucoxanthine, la lutéine, l'astaxanthine, la canthaxanthine, la zéaxanthine, le β -carotène et la β -cryptoxanthine. Le β -carotène et la canthaxanthine sont les caroténoïdes les plus abondants.

Les chlorophylles a et b sont de loin les pigments les plus abondants chez *Caulerpa*, avec une teneur plus de 20 fois supérieure à celle des β -carotènes (**Paul et al., 2014**). Elles sont considérées comme un antioxydant aux propriétés anticancéreuses démontrées (**Zubia et al., 2020**).

5.6. Vitamines

Les espèces de *Caulerpa* contiennent des quantités substantielles de B12 et pourraient donc prévenir les carences en B12 chez les personnes végétariennes et végétaliennes. Elles présentent également une grande quantité de vitamines C et E qui peuvent couvrir jusqu'à 46,3 et 62,7% des apports journaliers recommandés (AJR), respectivement pour 100 g de *Caulerpa* consommée et représentent ainsi, de puissants antioxydants qui pourraient augmenter la résistance aux maladies et au stress oxydatif (**Zubia et al., 2020**).

6. Utilisation de la *Caulerpa racemosa*

6.1. En Agriculture

Depuis des siècles, les algues sont utilisées comme engrais dans de nombreuses régions du monde. **Kalaivanan et al. (2012)** ont démontré que l'utilisation d'un liquide contenant 25 % d'extrait de *Caulerpa scalpelliformis* améliorerait le pourcentage de germination, la longueur des pousses, la longueur des racines, la teneur en chlorophylle, en caroténoïdes, en acides aminés, en sucre réducteur et en sucres totaux, ainsi que les activités α -amylase et β -amylase du haricot *Vigna mungo* (L.) Hepper.

6.2. En alimentation humaine

La Caulerpe est consommée par les populations côtières des pays d'Asie du Sud-Est comme l'Indonésie, les Philippines et la Malaisie, elle est servie en légume ou en salade, en raison de son goût de sumac (**de Gaillande et al., 2017**). Cette *Caulerpa* rappelle en forme et

goût le caviar, d'où le nom de « caviar vert ». De plus, en raison de sa forme ressemblant à un raisin, certaines personnes l'appellent « raisin de mer ».

6.3. En alimentation animale

L'ajout d'algues à l'alimentation de la crevette blanche en tant que complément alimentaire est l'une des alternatives étudiées (Nasmia et al., 2022). Selon Puspitasari et al. (2019), *C. racemosa* est l'une des espèces d'algues qui a le potentiel d'être développée en tant qu'ingrédient pour l'alimentation des crevettes.

6.4. En industrie

La *Caulerpa racemosa var cylindracea* pourrait être une alternative pour la production de bioplastiques parce qu'elle est une excellente ressource renouvelable grâce à son potentiel de bio invasion et de son taux de croissance élevé. Le développement technologique des bioplastiques à base d'algues marines n'est pas encore concret et fait objet de plusieurs recherches (Noreen, 2016).

6.5. Dans le domaine de la santé

D'après Yap et al. (2019), la *Caulerpa racemosa* peut être une nouvelle source de composés antioxydants et antibactériens et présente un fort potentiel pour le développement de médicaments utiles sur le plan pharmaceutique. Les composés métabolites secondaires de l'extrait méthanolique de *C. racemosa* ont une utilisation potentielle comme composés antimicrobiens contre les champignons, et certaines bactéries comme *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes* (Etcherla et Rao, 2014).

La *Caulerpa racemosa* a un pouvoir antioxydants (Chew et al., 2008), antiherpès (Ghosh et al., 2004), antitumoral (Ayyad et Badria, 1994), anticoagulants et antiviraux (Rahul et al., 2014).

Les propriétés anticancéreuses de la *Caulerpa racemosa* sont attribuées à l'existence de composés bioactifs naturels (Tanna et al., 2018 ; Yap et al., 2019) tels que les protéines, les polysaccharides, les polyphénols, les flavonoïdes et les antioxydants (Yang et al., 2015) ainsi qu'une riche teneur en acides aminés essentiels micronutriments, fibres alimentaires et acides gras polyinsaturés (AGPI) (Aroyehun et al., 2020).

De plus, *C. racemosa* a un niveau élevé d'antioxydants et il est conseillé d'être utilisé comme aliment fonctionnel ou nutraceutique (Yap et al., 2019, Tanna et al., 2020). L'extrait de *C. racemosa* peut réduire le taux de glucose, l'aspartate aminotransférase (AST), l'alanine aminotransférase (ALT). Il peut également avoir une activité hépatoprotectrice (Aroyehun et al., 2020) et une activité néphroprotectrice (Cao et al., 2021) chez les rats diabétiques.

La *Caulerpa racemosa* est connue comme une source de composés actifs tels que la caulerpine et la caulerpicine. La caulerpine est un composé actif avec des activités anesthésiques, tandis que la caulerpicine est utilisée dans certains médicaments antifongique et abaisse la tension artérielle en raison de son effet toxique (Sihono et al., 2018). Elle est utilisée pour faire baisser la tension artérielle et traiter les rhumatismes. Cette algue contient également des composés qui fonctionnent comme anesthésiant faible ce qui lui donne une valeur clinique (Sumanya et al., 2015).

Cependant, il est utile de rappeler l'importance de surveiller la toxicité des espèces de *Caulerpa* avant consommation (de Gaillande et al., 2017). Cette algue a montré une augmentation significative de son métabolite toxique lorsqu'elle est prise par des prédateurs. Elle est ensuite transférée dans la chaîne alimentaire marine, entraînant une toxicité à ces animaux marins (Kumar et Sharma, 2020).

Récemment, *C. racemosa* fait l'objet de plusieurs études pour son rôle dans la réduction de la glycémie et l'amélioration du profil lipidique, anti-inflammatoire et antioxydant. Cette algue doit être explorée en tant qu'aliment fonctionnel.

Chapitre 2

Le diabète

1. Définition du diabète

Selon l'American Diabetes Association (ADA), le diabète est défini comme un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion d'insuline, d'action de l'insuline ou des deux.

L'insuline est une hormone produite par le pancréas, elle est indispensable à la pénétration du glucose sanguin dans les cellules. En cas de dysfonctionnement, le taux de sucre augmente dans le sang et provoque une hyperglycémie qui est responsable de complications à long terme touchant de nombreux organes notamment les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (**diabetes care, 2012**).

2. Prévalence du diabète

Le diabète est un véritable problème de santé publique. En effet en 2021, La fédération internationale du diabète avançait le nombre de 540 millions de personnes dans le monde atteintes de diabètes. Elle indiquait également qu'un pourcentage de 10,5 % de la population adulte (20-79 ans) était atteint de diabète et que près de la moitié d'entre eux ignorait qu'ils vivaient avec cette maladie.

Pour ce qui est de l'Afrique, les prévisions font état d'une progression de diabète la plus importante dans le monde, passant de 24 millions en 2021 (figure 5) à 55,25 millions en 2045. Par ailleurs, 1 adulte sur 2 ne sait pas qu'il est diabétique et l'Afrique affiche le pourcentage de diabète méconnu le plus élevé avec un pourcentage de 53,6%. Ce retard de diagnostic en Afrique peut conduire à l'apparition de complications dégénératives dès la découverte du diabète (**FID, 2021**).



Figure 5 : Le diabète dans le monde en 2021 (Fédération internationale du diabète, 2021)

Pour revenir au contexte international, les projections de la FID en 2021 prévoyaient qu'en 2045, un adulte sur huit, soit environ 783 millions de personnes, vivront avec le diabète, ce qui représente une augmentation de 46 % (Figure 6).

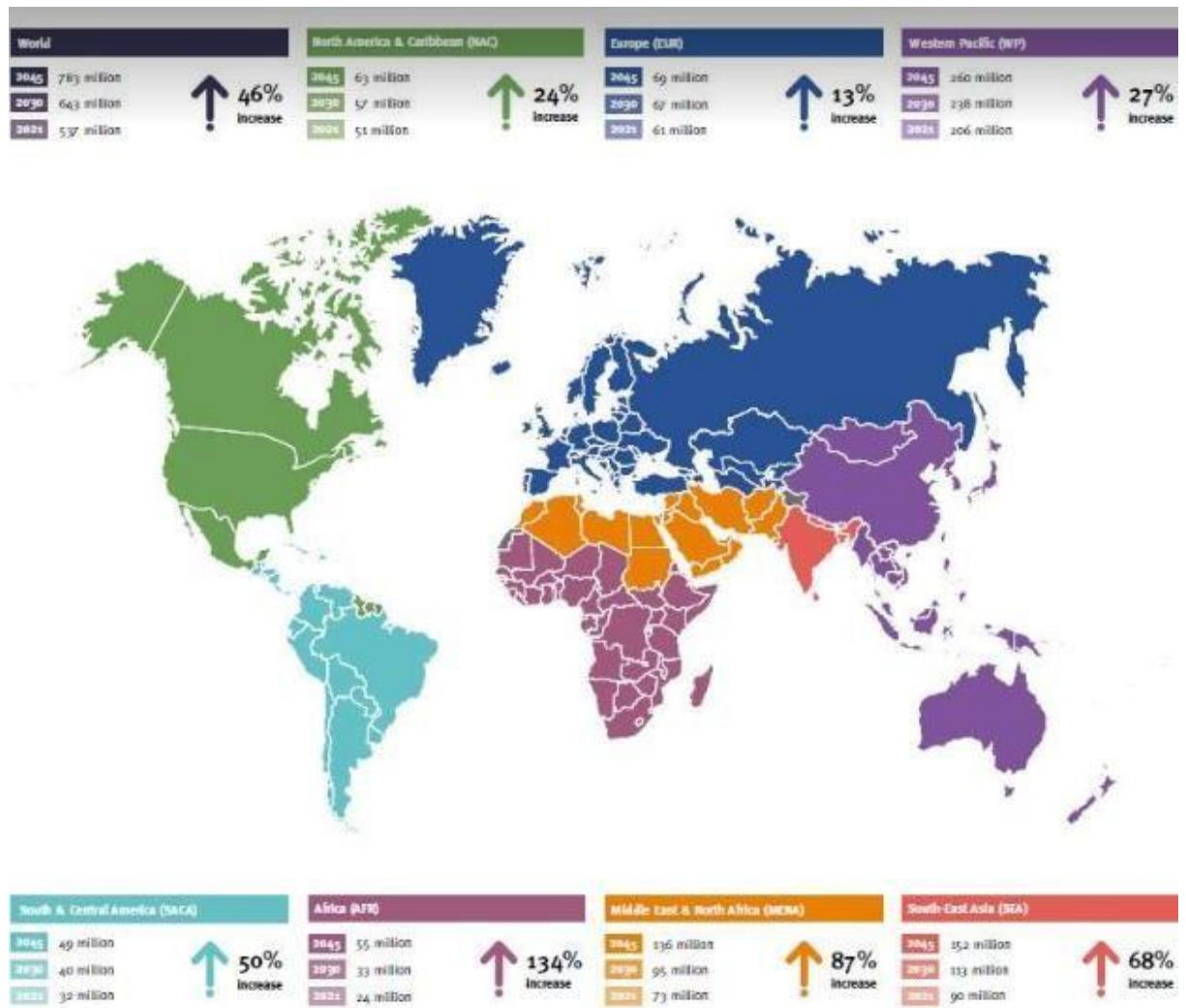


Figure 6 : Nombre de personnes atteintes de diabète dans le monde et par région de la fédération internationale du diabète (FID) en 2021-2045 (20-79 ans).

En ce qui concerne l’Algérie, il y a une constance dans l’augmentation des cas de diabète (figure 7). Selon la 10^{ème} édition de l’atlas de la fédération internationale du diabète (**FID, 2021**), le nombre de personnes diabétiques âgées entre 20 à 79 ans était de 2 millions. D’après la même source, ce nombre atteindra 3.5 millions diabétiques en 2045.

Les dernières statistiques avancées en Algérie datent de l’année 2022 et ce, à l’occasion de la journée mondiale du diabète (14 novembre). Lors de cet événement, la sous-directrice de la prévention au ministère de la Santé et de la réforme hospitalière, Dr Djamila Nadira a avancé le chiffre de 4 millions de personnes atteintes de diabète, tous âges confondus (**El Watan, 2023**).

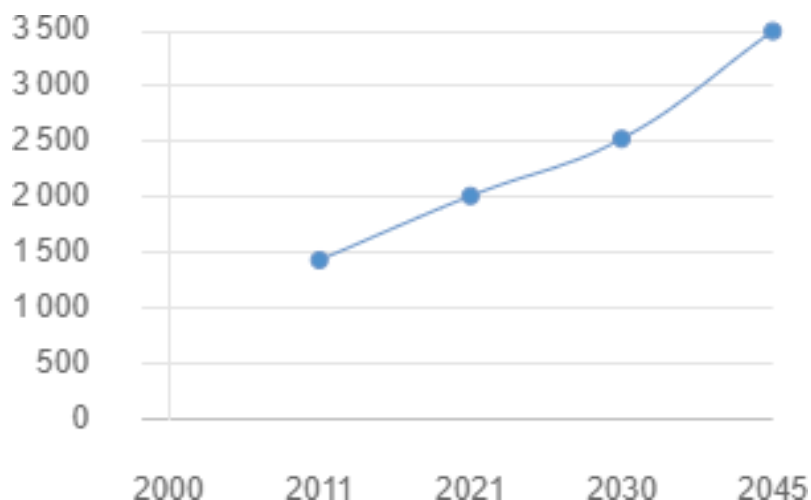


Figure 7 : Nombre de personnes vivant avec le diabète en Algérie entre 2000 et 2045 (fois 1000) (FID, 2021)

3. Classification du diabète

D'après American Diabetes Association (ADA), il existe 4 types de diabète dont certains sont plus fréquents que d'autres avec des origines différentes (ADA, 2014).

3.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 également connu sous le nom de diabète insulino-dépendant ou juvénile, touche entre 5% à 10% du nombre global de personnes diabétiques (Centers for Disease Control and Prevention, 2022). Cette maladie se déclenche le plus souvent au cours de l'enfance ou de l'adolescence et peut même apparaître avant l'âge de trente ans (Alberti, 2010). Ce type de diabète est provoqué par une réaction auto-immune au cours de laquelle les propres défenses de l'organisme attaquent les cellules bêta du pancréas qui produisent l'insuline. Dans ce cas, l'organisme devient incapable de fabriquer l'insuline dont il a besoin (Hirst, 2013).

En général, le diabète de type 1 apparaît de manière soudaine et se traduit par des symptômes tels que la soif excessive et la bouche sèche, les mictions fréquentes, le manque d'énergie, la fatigue extrême, la faim constante, la perte de poids soudaine, la cicatrisation lente des plaies, les infections récurrentes, la vision trouble ... etc.

Même si les personnes atteintes de diabète de type 1 ont besoin d'insuline chaque jour pour maintenir leur glycémie sous contrôle, ils peuvent mener une vie saine et normale grâce à une surveillance étroite, une alimentation saine et une pratique régulière d'une activité physique (**You et Henneberg, 2016**).

3.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2, auparavant appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité ou insulino résistant, résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme. Il résulte d'une surcharge pondérale et de la sédentarité. Ses symptômes peuvent être les mêmes que ceux du diabète de type 1 mais sont souvent moins marqués. De ce fait, la maladie peut être diagnostiquée plusieurs années après son apparition, une fois les complications déjà présentes. Ce type de diabète n'était observé que chez l'adulte mais on le trouve désormais aussi chez le jeune adulte et l'adolescent (**Caspers et Godin, 2012**).

3.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel, aussi appelé le diabète de grossesse, se définit par une intolérance au glucose diagnostiquée pendant la grossesse (**Haute Autorité De Sante, 2015**). Ce trouble de la tolérance se normalise chez la majorité des femmes après l'accouchement (**Djagadou et al., 2019**), cependant il existe un risque accru de développer le diabète de type 2 ultérieurement (**Bellamy et al., 2009**).

3.4. Autres types de diabète rares

3.4.1 Diabètes monogéniques

Ce diabète, connu également sous le terme de MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young), est une forme de diabète non cétosique, non insulino-dépendant, survenant avant l'âge de 25 ans et de transmission autosomique dominante, qui touche plusieurs générations successives, suggérant l'anomalie moléculaire d'un gène intervenant dans la régulation moléculaire de la glycémie. Les diabètes monogéniques peuvent se révéler en période néonatale ou dans la petite enfance mais peuvent également être diagnostiqués à l'adolescence ou l'âge adulte (**Leroy et Gueorguieva, 2020**).

3.4.2 Diabètes induits par certaines maladies

Certaines maladies peuvent mener à l'apparition du diabète telles que les maladies pancréatiques (ex : fibrose kystique, cancer, pancréatite), les maladies endocriniennes (ex : hyperthyroïdie), les syndromes génétiques (syndrome de Down) et les infections virales (rubéole congénitale, cytomégalovirus ... etc.).

3.4.3 Diabètes induits par des médicaments

Certains médicaments peuvent augmenter les risques de diabète, de façon temporaire ou permanente, tels que les glucocorticoïdes, les médicaments prescrits pour éviter le rejet suite à une transplantation d'organe, les médicaments pour traiter certains cancers, certains médicaments pour traiter l'hypertension, l'hypothyroïdie ou l'hypercholestérolémie... (ADA, 2012).

3.4.4 Formes hybrides de diabète

Ce sont une nouvelle catégorie ajoutée en juin 2019 par l'organisation mondiale de la santé (OMS, 2019) comprenant les formes cliniques de diabète qui combinent les caractéristiques de type 1 et de type 2 :

a. Diabète auto-immun à développement lent

Ce diabète appelé également LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults) ou diabète 1,5, est une maladie qui ressemble au diabète de type 2 mais qui est en fait un diabète de type 1 entraînant une insulino-dépendance. Ce type de diabète est souvent mal diagnostiqué au départ et apparaît après l'âge de 30 ans (Patti et al., 2023).

b. Diabète de type 2 cétosique

Appelé également diabète africain vu qu'il est principalement observé dans les populations africaines sub-sahariennes et afro-américaines. C'est un diabète intermédiaire présentant les mêmes symptômes que le diabète de type 1 au début mais qui évolue après vers un diabète de type 2 (Massi et al., 2022).

4. Le prédiabète

4.1. Définition du prédiabète

Le prédiabète est une maladie métabolique étroitement associée au diabète de type 2 qui est caractérisé par des taux de glycémies supérieurs à la normale mais toutefois pas suffisamment élevée pour émettre un diagnostic de diabète de type 2 (**Boudaoud, 2020**).

4.2. Diagnostic du prédiabète

Les critères de diagnostic du prédiabète, également reportés dans le tableau 4, sont (**ADA, 2020**) :

- Une hyperglycémie modérée à jeun : glycémie entre 1,10 g/l et 1,25 g/l après un jeûne de 8 heures et vérifiée à deux reprises.
- Et/ou une intolérance au glucose : glycémie (sur plasma veineux) comprise entre 1,4 g/l et 1,99 g/l 2 heures après une charge orale de 75 g de glucose.
- Une hémoglobine glycosylée (HbA1c) comprise entre 5.7 % et 6,4 %.

Tableau 4 : Critères de diagnostic du pré diabète comparé avec le diabète et sujet normal (**Boudaoud, 2020**).

	Glycémie à jeun GAJ*		2 heures après charge orale de 75 gr de glucose (HGPO)		Hémoglobine glyquée HbA1c (%)
Prédiabète	1-1,25 g/l (5,6-6,9 mmol/l)	ou	1,4-1,99 g/l (7,8-11 mmol/l)	et/ou	> 5,7-6,4
Diabète	≥ 1,26 ≥g/l (7 mmol/l)	ou	> 2 g/l (11,1 mmol/l)	ou	≥ 6,5
Sujet normal	< 1 g/l (5,6 mmol/l)	et	< 1,4 (7,8 mmol/l)	et	< 5,7

*Prélèvement sanguin après un jeûne d'au moins 08 heures.

4.3. Complications du pré diabète

Le principal symptôme des patients prédiabétiques est la fatigue, apportant la perplexité aux patients et affectant leurs qualités de vie. **Sun et al. (2019)** pensent que soulager et améliorer les symptômes de fatigue du pré diabète devrait éveiller les attentions des chercheurs cliniciens.

Les personnes atteintes de pré diabète ont un risque élevé de développer un diabète de type 2, certains auteurs ont suggéré un risque multiplié par 5 (Tabák et al., 2012). En plus du risque accru de développement de diabète de type 2, le pré diabète a des effets néfastes sur la santé (figure 8) incluant des maladies cardiovasculaires (MCV), neuropathie, rétinopathie et néphropathie, de micro angiopathies, de maladies cérébro vasculaires, d'artériopathie (Khensal et Benmohammed, 2020) et de mortalité de toutes causes (Cai et al., 2020).

Huang et al. (2014) a révélé que le pré diabète est associé à une hausse du risque de cancer tel que les cancers de l'estomac, colorectal, du foie et de l'endomètre tandis que l'étude de Echouffo-Tcheugui et al., publiée en 2016 a démontré une relation entre le pré diabète et le risque de maladie rénale chronique.

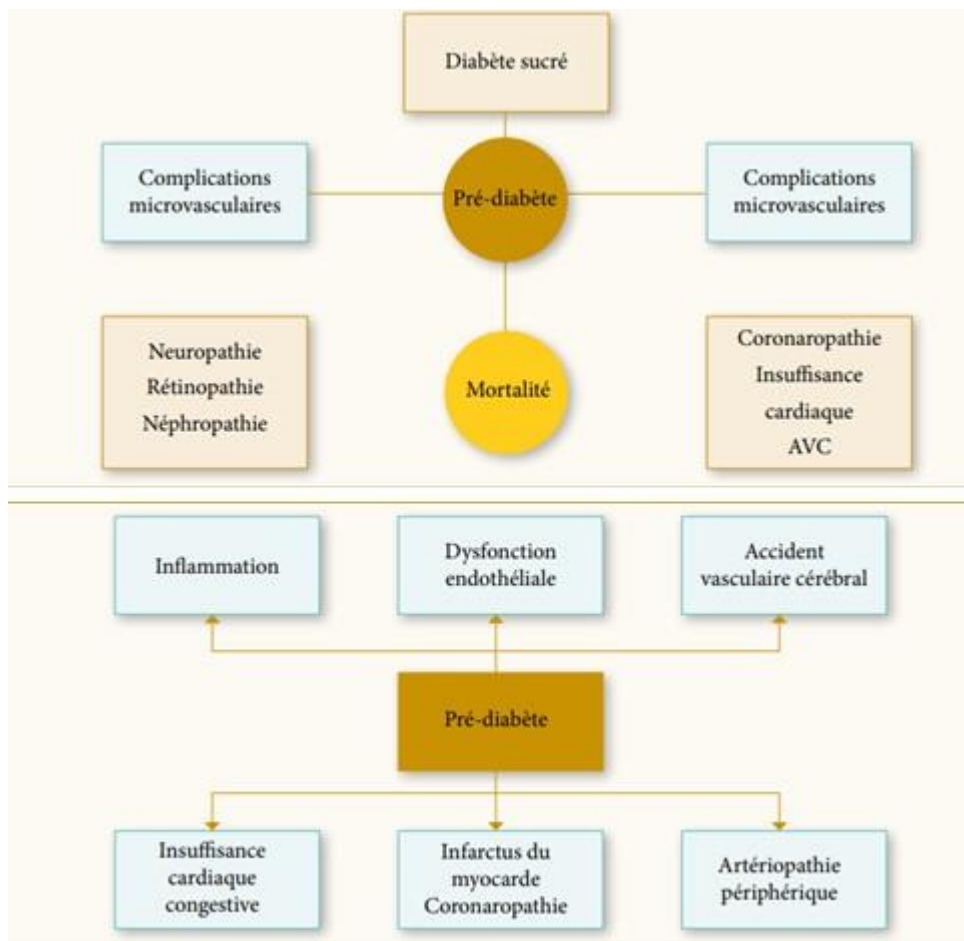


Figure 8 : Complications associées au prédiabète (Khensal et Benmohammed, 2020).

4.4. Traitement du pré diabète

L'objectif principal de traitement du pré diabète est de prévenir ou de retarder le développement du diabète de type 2 et parmi les facteurs de risque de ce développement, la sédentarité et l'obésité (**Tabák et al., 2012**). De ce fait, les cliniciens doivent d'abord identifier précocement les personnes pré diabétiques puis assurer une prise en charge adéquate avec essentiellement, une amélioration du style de vie qui reste la pierre angulaire de l'approche du sujet pré diabétique.

Plusieurs recherches basées sur l'amélioration du mode de vie des sujets prédiabétiques ont prouvé leur efficacité dans la réduction du risque d'évolution vers un diabète de type 2 de 29 à 58 % dans les populations à haut risque avec, comme le démontre **Grau** dans sa thèse (**2023**), un maintien généralement satisfaisant sur une période pouvant aller jusqu'à 20 ans. En effet, il convient de noter qu'une association de facteurs tels que : une alimentation saine et équilibrée à savoir riche en légumes et fruits tout en évitant les sucres rapides (régime méditerranéen), une activité physique régulière, un bon contrôle du stress au quotidien, une amélioration de la qualité du sommeil ainsi que l'arrêt du tabac sont des stratégies qui agissent contre l'excès de poids et s'avèrent très efficaces contre l'apparition, voire le développement du diabète de type 2 (**Boudaoud, 2020**).

5. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 est un problème de santé mondial qui constitue 90 à 95% des diagnostics de diabète.

5.1. Symptômes du diabète de type 2

Le diabète de type 2 est souvent asymptomatique et peut évoluer en plusieurs années de manière silencieuse et provoquer déjà des complications.

Les personnes diabétiques peuvent présenter plusieurs symptômes tels que la fatigue accompagnée d'une polyurie, l'augmentation de la soif (une polydipsie) et la faim (une polyphagie), la perte pondérale, la vision trouble ainsi que la sensibilité accrue aux infections. Cependant, l'apparition de ces symptômes ne se fait que tardivement.

5.2. Diagnostic du diabète de type 2

Pour diagnostiquer un diabète, il faut mesurer la glycémie par différentes méthodes. Le patient sera considéré comme diabétique dans les situations suivantes et après avoir refait l'analyse une 2^{ème} fois dans un autre jour :

- Glycémie à jeun (absence d'apport calorique depuis au moins 8 heures) supérieure ou égale à 1,26 g/l.
- Glycémie à un moment quelconque de la journée en présence des signes cliniques d'hyperglycémie déjà cités (polyurie, polydipsie, perte de poids inexplicable souvent associée à une polyphagie) supérieure ou égale à 2g/l.
- Glycémie à la 2^{ème} heure d'une HGPO (hyperglycémie provoquée par voie orale en utilisant une charge orale en glucose anhydre égale à 75 g dissout dans de l'eau) supérieure ou égale à 2g/l (**ADA, 2008**).

Le dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) est aussi une méthode de dépistage et d'évaluation du contrôle glycémique moyen chez le diabétique au cours de deux à trois derniers mois de suivi. Sa valeur est généralement exprimée en pourcentage et son seuil a été établi pour le diabète à $\geq 6,5\%$ (**Gariani et al., 2011**).

5.3. Causes et facteurs de risques du diabète de type 2

a. Âge :

Quel que soit la population étudiée, la prévalence du diabète de type 2 augmente avec l'âge (**Lange, 2014**). Le vieillissement constitue en effet un important facteur de risque de diabète de type 2 du fait à la fois d'une augmentation de la résistance à l'insuline et d'une réduction de la sécrétion d'insuline (**Simon, 2002**).

b. Hérité

La présence d'un diabétique de type 2 dans une famille augmente le risque de survenue du diabète chez les autres membres descendants de cette famille. En effet, dans la très grande majorité des cas, on retrouve la présence d'un diabète de type 2 chez un ou plusieurs parents du premier et/ou du second degré. Le taux de concordance du diabète de type 2 entre également

des jumeaux monozygotes atteint 80 %, alors qu'il est nettement plus bas (ne dépassant pas 50 %) chez des jumeaux dizygotes (**Scheen et Paquot, 2012**).

c. Alimentation

L'alimentation moderne a privilégié la nourriture sucrée et grasse. Outre les effets bien connus sur la survenue d'une obésité (**Paquot et al., 2012**), divers travaux ont montré que ce type d'alimentation pouvait être la cause d'une action diabétogène, en entravant la fonction de la cellule Beta et/ou en aggravant l'insulinorésistance.

d. Sédentarité

Le développement technologique et les progrès industriels ont conduit à réduire l'activité physique régulière et par conséquent la prise du poids. Il en est de même avec le risque de développer un diabète de type 2 (**Grontved et Hu, 2011**). A cet égard, la pratique régulière d'une activité physique permet de réduire le risque de développer un diabète de type 2. Cette approche contribue à améliorer non seulement le contrôle de la glycémie, mais aussi celui d'autres facteurs de risque cardio-vasculaire (**Scheen et Paquot, 2012**).

e. Obésité

Selon l'organisation mondiale de la santé, l'obésité est définie comme « Une accumulation anormale ou excessive de graisse dans les tissus adipeux pouvant engendrer des problèmes de santé ». Elle se définit par le calcul de l'Indice de Masse Corporelle (IMC), selon la formule bien connue « poids/taille² », exprimé en kg/m². L'obésité est définie pour des valeurs égales ou supérieures à 30 kg/m² : obésité modérée (30-34,9), sévère (35-39,9) et extrême ou massive (≥ 40 kg/m²)

En effet, l'obésité est la source de plusieurs maladies telles que : diabète de type 2, hypertension artérielle, dyslipidémie et troubles de la coagulation et de l'agrégation plaquettaire, syndrome d'apnées et d'hypopnées obstructives du sommeil... etc. (**Basdevant et al., 1998 ; Després et al., 2001**).

D'après **Rorive et al. (2005)**, le terme de « diabésité » est aujourd'hui utilisé pour définir l'augmentation de la prévalence du diabète en regard de celle de l'obésité puisque le diabète de type 2 s'installe progressivement dans l'histoire de l'individu obèse.

f. Tabagisme

De nombreuses études ont évalué l'association entre tabagisme et incidence des anomalies du glucose, suggérant que le tabagisme pouvait être associé à une intolérance au glucose, à une altération de la glycémie à jeun et au diabète de type 2 (**Willi et al., 2007**). **Gruyer et Vergès (2020)** affirment qu'il a été prouvé depuis un certain temps à travers des études épidémiologiques, le lien entre le tabagisme et le diabète de type 2 et avancent que selon ces études, chez les fumeurs, le risque de diabète est passé de 21 % à 61 %.

Enfin, il a été mis en évidence une association entre le tabagisme et la présence d'un trouble du métabolisme glucidique. Les études ont pu montrer que le tabagisme augmente l'insulino résistance (IR), que ce soit chez le non-diabétique ou le diabétique (**Thuillier et Mansourati, 2023**).

g. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel a été défini par l'OMS comme un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse, quels que soient les traitements nécessaires et l'évolution dans le post-partum. Les femmes avec un antécédent de diabète gestationnel font partie d'un groupe de population à risque élevé de développer le diabète de type 2. Elles ont 7 fois plus de risque de développer un diabète de type 2 dans les années à venir comparativement aux femmes avec une glycémie normale lors de la grossesse ainsi qu'un risque de récurrence de diabète gestationnel lors de grossesses ultérieures chez un à deux tiers des femmes (**Tran et al., 2011**).

Ce risque est d'autant plus élevé en cas de facteurs favorisants associés, comme la surcharge pondérale, le caractère élevé des glycémies de l'HGPO et la nécessité d'une insulinothérapie (**Bougherara et al., 2017**). D'après **Pintiaux et Foidart (2005)**, dans les 15 ans suivant la grossesse affectée par le diabète gestationnel, il est observé une évolution vers un diabète de type 2 chez 26% des femmes minces et chez 47% des femmes obèses. Le risque ultérieur de diabète de type 2 est multiplié par trois par la survenue d'une nouvelle grossesse.

5.4. Complications du diabète de type 2

D'une façon générale, le diabétique de type 2 peut présenter des désordres métaboliques graves, constituant souvent des urgences thérapeutiques. Certaines de ces complications sont en rapport direct avec la maladie comme l'acidocétose (complication métabolique aiguë du diabète caractérisée par une hyperglycémie, une hypercétonémie et une acidose métabolique) et le coma hyperosmolaire. Il existe d'autres complications du diabète qui ne peuvent être inclus dans les deux catégories susmentionnées comme les maladies dentaires, la résistance réduite aux infections et complications à la naissance chez les femmes atteintes de diabète gestationnel (**Papatheodorou et al., 2018**).

L'hypoglycémie est la première urgence et la plus fréquente des complications métaboliques du diabète, elle peut, dans de rares cas, engager le pronostic vital du patient en provoquant un coma hypoglycémique. Le seuil glycémique retenu pour conclure à une hypoglycémie est une glycémie veineuse $< 0,7$ g/l (**Orban et Ichai, 2008**).

D'après **ADA (2019)**, l'hyperglycémie à long terme endommage les vaisseaux rétiens, provoquant une rétinopathie. Cela peut conduire d'abord à de légers problèmes de vision, et finalement à la cécité. La rétinopathie diabétique est la cause la plus fréquente de nouveaux cas de cécité chez l'adulte. La rétinopathie diabétique est la première cause de malvoyance et de cécité chez les diabétiques de moins de 60 ans (**Makita et al., 2017**). Quant à **Raverot (2005)**, il avance que certains patients diabétiques de type 2 présentent déjà cette pathologie au moment de leur diagnostic.

La néphropathie est une autre complication. Elle est une des principales causes de mortalité chez les patients diabétiques (**Papadopoulou-Marketou et al., 2018**). Le glomérule responsable de la fonction rénale est lésé par l'hyperglycémie. Lorsqu'un pourcentage élevé de glomérules est touché, l'individu développe une maladie rénale chronique (MRC) et une insuffisance rénale (**Meza-Letelier et al., 2017**). La néphropathie diabétique peut être accélérée par d'autres affections telles que l'hypertension (**ADA, 2014**).

La neuropathie diabétique quant à elle, nuit au fonctionnement du système nerveux et peut augmenter la probabilité d'infection et empêche la cicatrisation des plaies qui peuvent générer des ulcères intraitables. Elle peut être également la cause d'amputation dont le risque

est 10 fois plus élevé chez les diabétiques. La neuropathie est généralement diagnostiquée longtemps après le diagnostic du diabète (**Raverot, 2005**).

Le pied diabétique est également une complication grave du diabète (**ADA, 2018**) et se définit comme une infection, une ulcération ou une destruction des tissus profonds du pied associée à une neuropathie et/ou un artériopathie périphérique des membres inférieurs chez le diabétique. Il en découle des amputations qui sont 10 à 20 fois plus fréquentes chez les patients diabétiques (**Ha Van et al., 2011**).

Enfin, le risque de développer une coronaropathie ou une insuffisance cardiaque est plus élevé chez les diabétiques. Ces derniers sont à risque élevé de maladies cardio-vasculaires. Environ les deux tiers des personnes atteintes de diabète de type 2 meurent de maladies cardiaques ou d'un accident vasculaire cérébral (AVC) (**Chatterjee et al., 2017**).

5.5. Prévention

De nombreuses études ont montré que le diabète de type 2 pouvait être retardé, voire prévenu chez les personnes à hauts risques relatifs à cette la maladie (**Knowler et al., 2002**).

Les premières mesures de prévention consistent à tenter de modifier l'environnement potentiellement toxique dans lequel vit l'individu à risque. Cela passe par les habituelles mesures hygiéno-diététiques visant à promouvoir une alimentation saine et équilibrée et la pratique d'une activité physique régulière (**Scheen et Paquot, 2012**). Le diabète est aussi pris en charge par la médecine traditionnelle. L'étude de **Vodouhe (2020)** a montré que les extraits d'algues brunes ont des effets bénéfiques dans la prévention du diabète de type 2 et de ses complications. Ceci s'explique par le fait que les algues sont riches en fibres, minéraux et protéines, mais également par la présence de métabolites présentant ainsi des propriétés anti oxydantes et anti radicalaires tels que les caroténoïdes, les polyphénols, les vitamines ou les acides gras polyinsaturés, qui pourraient être mis à profit dans la prévention ou le traitement de maladies dégénératives comme certaines formes de cancer, maladies cardiovasculaires, ophtalmiques, diabète ou obésité liées au stress oxydatif (**Lahaye et Kaeffer, 1997**). Les plantes ont elles aussi un effet préventif voire curatif contre le diabète. D'après **Hamza et al. (2010)**, les extraits de plantes traditionnellement utilisées pour traiter le diabète en Algérie démontrent un effet préventif sur la principale caractéristique du diabète de type 2, la résistance à l'insuline. Ils réduisent également les triglycérides, un effet souhaitable chez ces sujets à haut risque.

Le régime méditerranéen contribue également à la prévention et au traitement du diabète de type 2 ainsi que du diabète gestationnel. Ce régime assure un apport élevé en fibres et en acides gras mono insaturés et faible en graisses saturées, une densité nutritionnelle élevée, et un haut pouvoir antioxydant (**Schlienger et Monnier, 2020**).

L'activité physique représente aussi un outil efficace de prévention du diabète de type 2 mais elle doit se concevoir dans le cadre d'une approche globale des modifications du mode de vie, comprenant une alimentation équilibrée, une réduction pondérale, une limitation des conduites à risque (temps passé devant la télévision, notamment) et un accompagnement actif (**Duclos et al., 2010**).

Par ailleurs, les femmes ayant un antécédent de diabète gestationnel sont encouragées à faire un allaitement maternel qui, à plus long terme, semblerait avoir un effet préventif sur la survenue d'un diabète de type 2. Il est aussi recommandé de maintenir un suivi régulier à long terme de cette population à risque afin de prévenir le diabète de type 2. La prise en charge du diabète gestationnel est donc un moyen efficace de prévenir l'apparition du DT2 en agissant sur les facteurs de risque modifiables (surpoids, sédentarité, alimentation) (**Bougherara et al., 2017**).

Partie expérimentale

1^{ère} partie

Caractérisation physico-chimique de Caulerpa racemosa

Matériels et méthodes

1. Objectifs

La première partie de l'étude avait pour but d'étudier l'effet des variations saisonnières sur la composition physico-chimique de l'algue verte *Caulerpa racemosa var cylindracea*. Elle consiste, entre autres, à évaluer la toxicité qui pourrait être liée à la concentration de métaux lourds dans cette algue, et, d'autre part, à mettre en évidence les polyphénols et flavonoïdes ainsi que son activité antioxydante à travers le test DPPH de quatre extraits de *Caulerpa racemosa*, récoltés durant les différentes saisons.

2. Choix du site de récolte

Après quelques tentatives infructueuses (conditions climatiques défavorables, inexistence ou collecte de quantité insuffisante de *Caulerpa racemosa* ...) tant à l'ouest de Mostaganem (plage de sidi Mansour), qu'à l'est (plage de petit port) et ce, avec la précieuse collaboration d'un plongeur professionnel, notre choix s'est porté sur la plage de la crique qui se situe à 5 km du centre de Mostaganem. Le choix de ce site a été motivé en fonction de sa situation géographique proche du nouveau port de pêche de la salamandre. De plus, la présence de cette algue invasive au niveau de cette crique est due essentiellement au passage à proximité, des navires et l'utilisation fréquente des filets de pêche des sardiniers, ce qui constitue un vecteur d'introduction et un mode de dissémination de la *Caulerpa racemosa* (**Bentaallah et Kerfouf, 2013**).

3. Récolte de l'algue

L'algue verte *Caulerpa racemosa* a été récoltée au niveau de la crique de la Salamandre (Latitude N 35°54'37.94", Longitude E0°3'17.37") à une profondeur de 2 mètres par un plongeur professionnel. La récolte a été effectuée durant les 4 saisons (printemps, été, automne et hiver) entre 2017 et 2018. Après la récolte, les algues ont été lavées pour éliminer les épiphytes et le sable puis séchées à l'abri de la lumière. Les échantillons ont été broyés à l'aide d'un broyeur à lame, tamisés, puis conservés dans des bocaux en verre hermétiquement fermés à - 20 °C.

4. Techniques analytiques

4.1. Détermination de l'humidité

La détermination de l'humidité a été déduite après avoir déterminé la matière sèche réalisée selon la méthode **AOAC (2005)** par dessiccation de *Caulerpa racemosa* séchée et tamisée à l'étuve à 105°C pendant 24 h. La matière sèche, exprimée en pourcentage est calculée comme suit :

$$\text{MS \%} = (\text{poids creuset plein après séchage} - \text{poids creuset vide}) \times 100 / \text{PE}$$

PE : Prise d'essai.

La teneur en eau est déduite à partir de la matière sèche comme suit : $\% \text{ eau} = 100 - \text{MS} (\%)$

4.2. Détermination de la matière minérale

La teneur en cendres est la masse restante après incinération de l'algue à 550°C pendant 2 heures. La détermination de la matière minérale a été réalisée par la méthode **AFNOR (1985)**. Le chauffage au four à moufles à 550 ° C permet la destruction et l'élimination totale des matières organiques. Le creuset contenant la matière sèche (MS) déjà déterminée est placé au four à 550 °C. Après 2 h, le creuset est retiré du four et refroidi au dessiccateur jusqu'à température ambiante puis pesé afin de déterminer la teneur en matière minérale (MM) :

$$\text{MM} = (\text{poids de creuset contenant les cendres} - \text{le poids de creuset vide}) * 100/\text{MS}$$

4.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides ont été extraits suivant la méthode de **Folch et al. (1957)**. Cette technique repose sur le principe d'une extraction à froid des lipides par un mélange de solvants chloroforme/méthanol (2/1, V/V). L'addition d'une solution aqueuse de NaCl à 0,58% permet la séparation des phases. La phase supérieure constituée de méthanol et d'eau contient les composés hydrophiles (glucides et protéines), tandis que les lipides sont dissous dans la phase organique inférieure. La pesée du ballon contenant l'extrait lipidique après évaporation du solvant permet de calculer la teneur lipidique.

Dix grammes de *Caulerpa racemosa* séchée ont subi un broyage pendant 2 minutes à l'homogénéisateur (type Thurax) en présence de 60 ml de réactif de Folch (méthanol+chloroforme). Le mélange obtenu a été filtré sur verre fritté. Ce filtrat a été versé dans une ampoule à décanter. La séparation des phases s'est effectuée à l'aide de la solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,73% à raison de 1 volume de NaCl pour 4 volumes de filtrat. Une saturation de deux mélanges a été obtenue : méthanol/eau et chloroforme/lipide. Ces deux mélanges ont été agités et laissés décanter environ 2 heures. Après décantation, la phase inférieure (chloroforme/lipides) filtrée sur sulfate de sodium a été recueillie dans un ballon préalablement pesé. La phase supérieure (méthanol/eau) a été rincée à l'aide de 50 ml d'un mélange à 20 % de NaCl concentré à 0,58% et 80% de réactif de Folch de façon à obtenir le reste des lipides dans cette phase. La phase inférieure a été filtrée comme précédemment. Le chloroforme a été évaporé sous vide dans un rotavapor. La quantité de lipides mise à sec a été pesée et le pourcentage des lipides totaux a été déterminé à partir de la formule suivante :

$$\text{MG (\%)} = (\text{P2-P1/PE}) \times 100$$

P2 : Poids du ballon contenant les lipides.

P1 : Poids du ballon vide.

PE : Prise d'essai.

Dans le but d'un passage en chromatographie à phase gazeuse (CPG), les lipides ont été recueillis et placés dans des eppendorfs puis stockés à -18°C.

4.4. Dosage des protéines

Les protéines ont été dosées selon la méthode de **Lowry (1951)**. Cette méthode de dosage fait combiner une réaction au biuret et une réaction au réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier réagit avec les tyrosines et les tryptophanes, pour donner une coloration bleue qui s'ajoute à celle du biuret. La coloration résulte de la réaction du cuivre avec les radicaux de la tyrosine, le tryptophane et la cystéine et la réduction du complexe acide phosphotungstique/acide phosphomolybdique de couleur jaune contenu dans le réactif Folin-Ciocalteu produisant ainsi une couleur bleu foncé.

À partir de la solution mère de sérum-albumine bovin (BSA) de 0,5g/l, une solution fille a été préparée de concentration convenable pour réaliser une gamme allant de 0 à 250 µg de protéine. Chaque tube a été complété à 1 ml avec l'eau physiologique, puis 5 ml de réactifs A et B (annexe) ont été ajoutés. Le tout a été agité puis laissé pendant 10 min. Enfin, 0,5ml de réactif de Folin-Ciocalteu à ½ a été ajouté puis agité et laissé reposer 30 min à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 750 nm avec un spectrophotomètre.

4.5. Dosage des sucres totaux

Les sucres solubles totaux ont été dosés en se référant à la méthode de **Dubois et al. (1956)**. L'extraction des sucres a été réalisée sur 100 mg d'algue séchée trempés dans 10 ml d'éthanol à 70%. Le tube a été placé au bain marie pendant 2 h. Après refroidissement, le mélange a été filtré à travers un verre fritté (porosité 1). Le filtrat obtenu a été conservé et le résidu a été récupéré puis additionné à 10 ml d'éthanol à 70 % ensuite placé au bain marie à 80°C pendant 1 heure. L'opération a été répétée jusqu'à décoloration. Enfin, tous les filtrats obtenus ont été mis dans une fiole jaugée et le volume a été complété à 100 ml avec de l'eau distillée. Le tout a été conservé à 4°C.

Pour le dosage des sucres, deux cents microlitres de la solution à analyser ont été versés dans des tubes. Un millilitre de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique concentré 96% ont été ajoutés avec précaution puis laissés reposer pendant 10 min à température ambiante. Par la suite, le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un vortex. La solution a été placée au bain marie réglée à 30°C pendant 20 mn. La densité optique a été lue à une longueur d'onde de 585 nm.

4.6. Dosage des métaux lourds

Le dosage des métaux lourds a été effectué par spectrométrie à absorption atomique (SAA) ou spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP) selon la méthode de **Onivogui et al. (2013)**. Le choix de l'utilisation de ces deux appareils est justifié par le fait qu'ils ne sont pas tous les deux dotés des mêmes étalons.

Un gramme de *Caulerpa racemosa* a été broyé dans un broyeur automatique, puis ajouté à 15 ml d'acide hydrofluorique à 48% et 5 ml de HNO₃ (70%). Le mélange a été mis dans une plaque chauffante à 75°C. Ensuite, 5 ml de HCl à 37 % et de l'eau distillée ont été ajoutés. Le mélange a été remis sur la plaque chauffante jusqu'à ébullition puis filtré dans une fiole de 100 ml à l'aide d'un papier filtre. Ensuite, de l'eau distillée a été ajoutée jusqu'à atteindre le trait de

jauge (100 ml). Le filtrat a été ensuite passé soit dans l'appareil SAA ou ICP selon disponibilité des étalons.

4.7. Dosage des acides gras

4.7.1. Préparation des échantillons

Les esters méthyliques ont été préparés selon le protocole standard AFNOR T60-233 décrit par **Sama et al. (2021)**. Un gramme d'échantillon a été mis dans un flacon, puis 10 ml d'heptane et 0,5 ml de la solution de potassium méthanolique (11,2g de KOH dans 100ml de méthanol) ont été ajoutés. La solution a été agitée pendant 20 secondes. Enfin, la couche supérieure contenant les esters méthyliques a été recueillie.

4.7.2. Analyse GC-MS des esters méthyliques d'acides gras

Le dosage des acides gras a été déterminée par une chromatographie en phase gazeuse de type Hewlett Packard Agilent 6890 plus couplée à une spectrométrie de masse Hewlett Packard Agilent 5973 utilisant une colonne capillaire HP-5MS avec les caractéristiques suivantes : longueur 30 m ; diamètre interne 0,25 mm ; épaisseur du film 0,25 μm . Le gaz porteur était l'hélium (pureté N6), à un débit à travers la colonne de 0,5 ml/min. Le mode d'injection était SPLITLESS, la température de l'injecteur était maintenue à 250°C et celle du détecteur à ionisation de flamme (FID) à 230°C. La température du four a été programmée comme suit : 70°C pendant 5 min, 10°C par min jusqu'à 130°C, isotherme pendant 2min, 3°C par min jusqu'à 220°C, isotherme pendant 4 min, 10°C par min jusqu'à 280°C, isotherme pendant 7 min. Le volume injecté est de 1 μl . L'analyse a duré 60 minutes.

Chaque ester méthylique d'acides gras présent dans la *Caulerpa racemosa* a été identifié par comparaison de son temps de rétention et de son spectre de masse avec ceux de la NIST library.

4.8. Etude phytochimique de l'extrait méthanolique

4.8.1. Extraction par macération

L'extraction par macération a été réalisée selon la méthode de **Fadili et al. (2017)**. La macération a consisté à immerger 20 g de *Caulerpa racemosa* séchée et broyée dans 200 ml de méthanol pendant 24 heures à température ambiante. Ensuite, le macérat a été filtré sur papier filtre et l'extrait a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rotavapeur à une température de 55°C. Les extraits bruts obtenus ont été pesés pour déterminer le rendement d'extraction et conservés à 4°C jusqu'à leur usage.

4.8.2. Détermination du rendement de l'extrait méthanolique

Le rendement d'extraction a été calculé par la formule suivante :

Rendement d'extraction (%) = (Masse de l'extrait sec obtenu (g) /Masse de la matière végétale (g)) ×100

4.8.3. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est le moyen indispensable pour mettre en évidence les différents groupes de familles chimiques présents dans la *Caulerpa racemosa*. En effet il consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs, basés soit sur des réactions de coloration, ou sur la formation des complexes insolubles en utilisant des réactions de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principe actifs. Le principe consiste à l'épuisement de la matière végétale par des solvants à polarité croissante.

Le criblage phytochimique des extraits a été effectué en utilisant les procédures standards décrites par **Shaikh et Patil (2020)**.

a. Test pour les flavonoïdes

Cinq gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été ajoutées à une petite quantité d'extrait méthanolique de *Caulerpa*. L'apparition immédiate d'une couleur rouge indique la présence de flavonoïdes.

b. Test des tanins

Deux millilitres de chlorure ferrique (5%) ont été ajoutés à cinq millilitres d'extrait, la formation d'une couleur bleu foncé ou noir verdâtre montre la présence de tanins.

c. Test pour les coumarines

Un millilitre d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 10% a été ajouté à un millilitre d'extrait. La présence de coumarines est indiquée par la formation d'une couleur jaune.

d. Test pour les saponines

Cinq millilitres d'eau ont été ajoutés à un millilitre d'extrait. Le tube a été secoué vigoureusement. La formation d'une mousse abondante indique la présence de saponines.

e. Test pour les quinones

Un millilitre d'acide sulfurique concentré est ajouté à un millilitre de l'extrait. La formation d'une couleur rouge montre la présence de quinones.

4.8.4. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits de l'algue a été déterminée à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par **Singleton et al. (1999)**. Deux cents microlitre de chaque extrait ont été mélangés à mille microlitre de réactif de Folin-Ciocalteu (1:10), puis Na₂CO₃ (800 µl, 7,5 %) a été ajouté. Après incubation à température ambiante pendant 2 h dans l'obscurité, l'absorbance à 765 nm a été enregistrée.

Différentes concentrations d'acide gallique (5-100 µg/ml) ont été utilisées pour établir la courbe standard. Le contenu phénolique total a été exprimé en mg d'équivalent d'acide gallique (EAG)/g d'extrait sec.

4.8.5. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée à l'aide de chlorure d'aluminium comme décrit par **Cox et al. (2010)**. En présence de chlorure d'aluminium, les flavonoïdes sont capables de former un complexe acide stable de couleur jaunâtre qui présente un maximum d'absorption aux environ de 510 nm.

Une aliquote de 250 µl de chaque extrait (1 mg/ml) et de quercétine (10-100 µg/ml), utilisée pour la courbe d'étalonnage, a été mélangée avec 1,25 ml d'eau doublement distillée et 75 µL de solution de NaNO₂ à 5 %. Après 6 minutes, 150 µl de solution d'AlCl₃ à 10 % ont été ajoutés. Après 5 minutes d'incubation, 0,5 ml de solution de NaOH 1M a été ajouté au mélange, puis le volume total a été complété à 2,5 ml avec de l'eau doublement distillée. Les solutions ont été bien mélangées et l'absorbance par rapport au blanc a été déterminée. Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent quercétine (EQ)/g d'extrait sec.

4.9. Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par **Sanchez-Moreno et al. (1998)**. Une aliquote de 50 µl d'une solution de solvant contenant différentes concentrations d'extraits/ standard a été ajoutée à 1950 µl d'une solution de DPPH de 0,06 mM. Le mélange a été laissé dans l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance du test a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm. Le pourcentage d'inhibition a été calculé comme suit :

$$I \% = (A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}) / A \text{ blanc} \times 100$$

A blanc : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai)

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

La concentration inhibitrice semi-maximale (IC₅₀) a été calculée par analyse de régression linéaire et exprimée comme moyenne de trois déterminations. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif.

4.10. Analyses statistiques

Tous les essais ont été réalisés en triplicata (n=3) et les résultats ont été exprimés en moyenne \pm écart-type (ET). Les essais ont été comparés à l'aide d'une analyse de variance à sens unique (ANOVA), suivie du test post-hoc de Tukey. $P < 0,05$ indique une signification statistique. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS Statistic 20.0.

Résultats et discussion

1. Humidité

Les teneurs en humidité de *Caulerpa racemosa* séchée sont relativement faibles pour les 4 saisons. La moyenne des taux d'humidité était égale à 13,9%. Cette teneur est comparable à la *Caulerpa racemosa* récoltée à Tanjung Kupang, Johor en Malaisie (13,85% \pm 0,93) (Aroyehun et al., 2020) ou celle récoltée à l'île Saint Martin au Bangladesh (15,37 % \pm 0,72) (Bhuiyan et al., 2016). Les algues marines ont un taux élevé de perte d'humidité lorsqu'elles sont conservées à l'air et ont donc tendance à perdre rapidement de l'eau (Gupta et al., 2011).

Il est à souligner que la teneur en humidité (figure 9) la plus élevée était celle de la Caulerpe récoltée en été (20,18%) tandis que la teneur la plus faible a été enregistré en automne (11,26%).

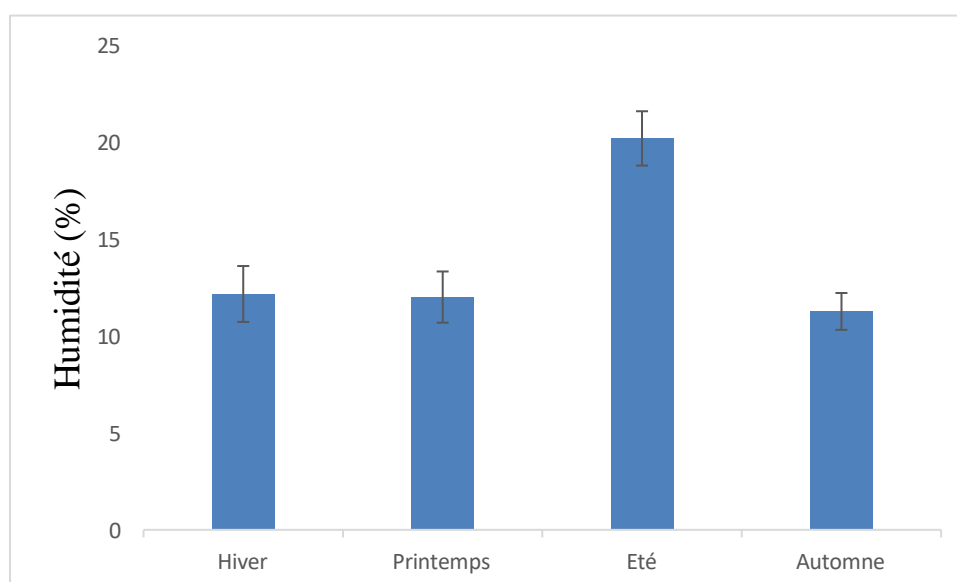


Figure 9 : Teneur en humidité de la *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem.

2. Matière minérale

Les analyses statistiques ont montré des différences significatives ($p < 0,05$) entre les teneurs en matière minérale pour les quatre saisons (figure 10). Les teneurs en matière minérale les plus élevées ont été enregistrées en été (57,53%) et en automne (55,86%) tandis que les plus faibles étaient en printemps (38,59%) et hiver (37,67%). Ces teneurs sont plus élevées que celles enregistrées par Sánchez-Machado et al. (2004) dans la *Caulerpa lentillifera* (24,21%) et *Ulva reticulata* (17,58%). Par ailleurs, les mêmes auteurs ont

enregistré des quantités comparables de cendres chez *Himanthalia elongata* (26,78%), *Laminaria ochroleuca* (29,47%) et *Porphyra sp.* (19,07%).

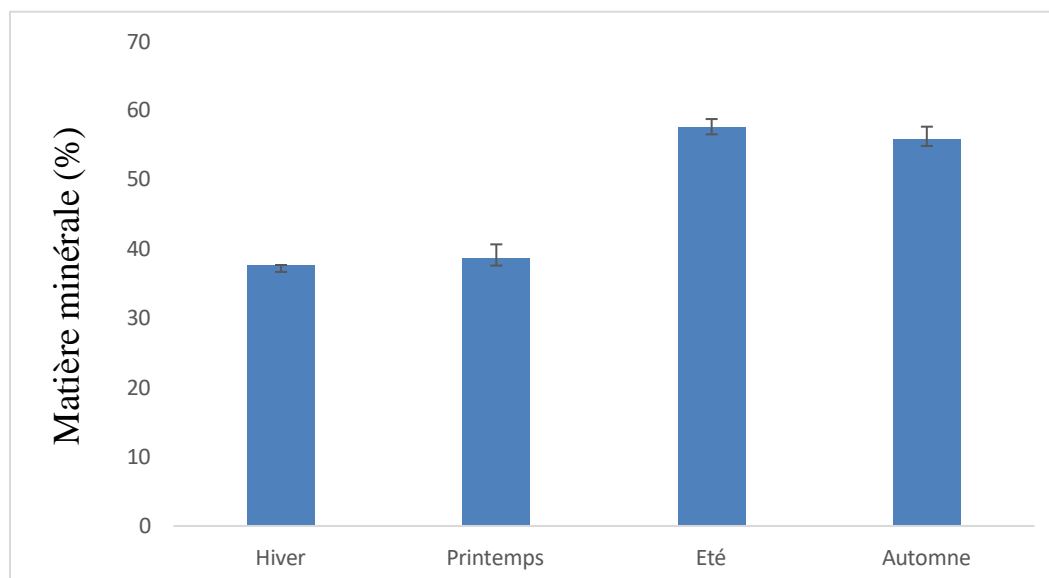


Figure 2 : Teneur en matière minérale de la *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem.

La teneur élevée en cendres peut être due à la présence de sel à l'intérieur des thalles et à la présence de quantités variables de minéraux en raison de la forte salinité de l'eau de mer (**Kasmiaati et al., 2022**). En effet, les algues marines ont une teneur élevée en minéraux et cela peut être expliqué par le fait qu'elles peuvent les absorber de leur environnement. Elles ont donc une teneur en minéraux 10 fois supérieure à celle des plantes terrestres et atteignent 20 à 50 % de leurs poids secs (**Munoz et Diaz, 2020**). Ces teneurs élevées peuvent également indiquer la présence d'une quantité importante de divers minéraux (**Aroyehun et al., 2020**). D'ailleurs, la *Caulerpa racemosa* qui a fait l'objet de cette recherche contient plusieurs minéraux tels que le calcium, le potassium, le fer, le sodium, le magnésium, le zinc ... (voir ultérieurement).

3. Lipides totaux

Les teneurs en lipides totaux de *Caulerpa racemosa* pour les quatre saisons sont représentées dans la figure 11.

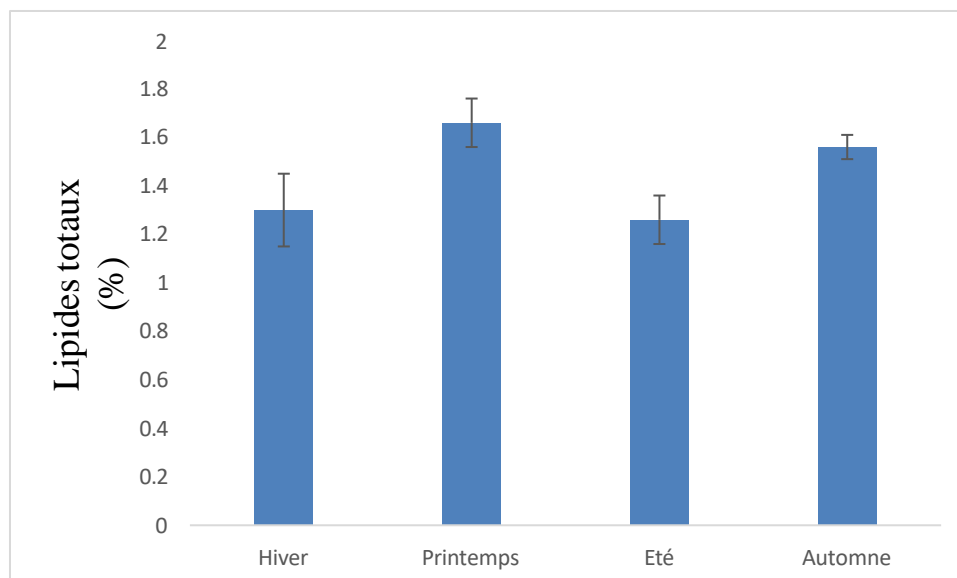


Figure 11 : Teneur en lipides totaux de la *Caulerpa racemosa* récoltée dans la côte Mostaganémoise.

Généralement, les algues ne sont pas considérées comme une bonne source de lipides (**Bhuiyan et al., 2016**). En effet, leurs teneurs en lipides se situe généralement entre 0,1 % et 5 % du poids sec (**Puspita et al., 2020**) et varie d'une espèce à l'autre (**van Ginneken et al., 2011**). Dans cette étude, la teneur lipidique de la *Caulerpa racemosa*, atteignant en moyenne pour les 4 saisons $1,45 \pm 0,09\%$, est dans cette intervalle et reste assez faible comparé à celle récolée au Bengladesh ($7,65 \pm 1,19\%$) (**Bhuiyan et al., 2016**). Cependant, nos résultats sont concordants avec l'étude de **Kasmiati et al (2022)** qui révèle que la *Caulerpa racemosa* récoltée en Indonésie a une teneur lipidique de 1,22%.

Il existe des différences dans la teneur en lipides des algues marines qui peuvent être influencées par la situation géographique et les saisons qui ont un impact essentiel sur la teneur en lipides (**Kasmiati et al., 2022**). Toutefois, il semble que les changements saisonniers n'ont pas affecté la teneur des lipides totaux de la Caulerpe de la côte de Mostaganem vu que les teneurs des lipides totaux obtenus pour les 4 saisons sont très semblables ($p > 0,05$).

4. Protéines

Dans la présente étude, les teneurs en protéines de *Caulerpa racemosa* des 4 saisons sont comparables ($p > 0,05$) (figure 12). Ces valeurs se situent dans l'intervalle de concentration de la majorité des *Caulerpa* comestibles qui varie entre 0,6% et 20,8% (De Gaillande et al., 2017).

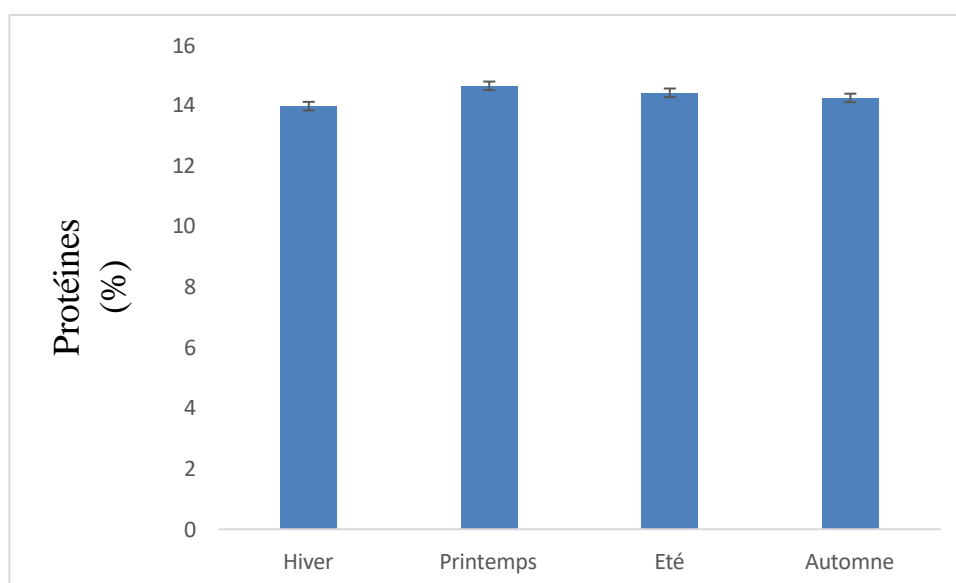


Figure 12 : Teneur en protéines de la *Caulerpa racemosa* récoltée dans la côte Mostaganémoise.

Selon Bhuiyan et al. (2016), Aroyehun et al. (2020) et Kasmianti et al. (2022), les teneurs en protéines enregistrées chez la *Caulerpa racemosa* récoltée au Bangladesh, en Malaisie et en Indonésie sont respectivement de 19,72%, 20,27 % et 19,61%. Ces valeurs sont plus élevées que les concentrations trouvées dans nos échantillons. Alors que la teneur en protéines de *Caulerpa racemosa* récoltée au niveau de Mostaganem est comparable à celle de l'algue rouge *Palmaria* sp (13,87%) ou la *Caulerpa lentifera* (14,4%) (Sinurat et Fadrijah, 2019). La teneur en protéines des algues marines diffère selon les espèces. Bien que la teneur en protéines soit généralement faible dans les algues brunes (3-15 % du poids sec) et modérée dans les algues vertes (9-26 % du poids sec), elle peut atteindre 47 % du poids sec dans les algues rouges (Biris-Dorhoi et al., 2020).

5. Sucres totaux

En général, les sucres totaux sont des composants abondants par rapport aux protéines, aux phénols et aux flavonoïdes (Hao et al., 2019). Ils sont un composant biochimique important des algues marines car ils constituent la principale source d'énergie du métabolisme (Kasmiati et al., 2022).

Selon De Gaillande et al. (2017), la teneur en hydrates de carbone de la *Caulerpa* varie de 3,6 à 83,2 % du poids sec. Les teneurs en sucres totaux de la *Caulerpa racemosa* récoltée dans la côte de Mostaganem varie entre 29,23% en hiver et 34,9% en printemps (figure 13). Ces résultats obtenus sont proches de ceux de la *Caulerpa racemosa* récoltée en Indonésie (38,18%) (Kasmiati et al., 2022) ou même la *Caulerpa racemosa* de Johor (Malaisie) (Aroyehun et al., 2020). Par ailleurs, les *Caulerpa lentillifera* récoltées en Indonésie, en Thaïlande et en Taïwan contiennent 29,82%, 27,19 % et 64% de sucres totaux, respectivement (Kasmiati et al., 2022 ; Setthamongkol et al., 2015 et Nguyen et al., 2011)

Selon Popper et al. (2011), les algues vertes ont une forte teneur en glucides sous forme de monosaccharides, dont le rhamnose, le glucose, l'acide uronique, etc. La distinction dans les résultats de la teneur en glucides des algues marines est influencée par la saison, la température et, en outre, l'espèce (Enquist-newman et al., 2014). Les hydrates de carbone sont des composés biochimiques des algues dont l'homme a besoin (El-Sheekh et al., 2021).

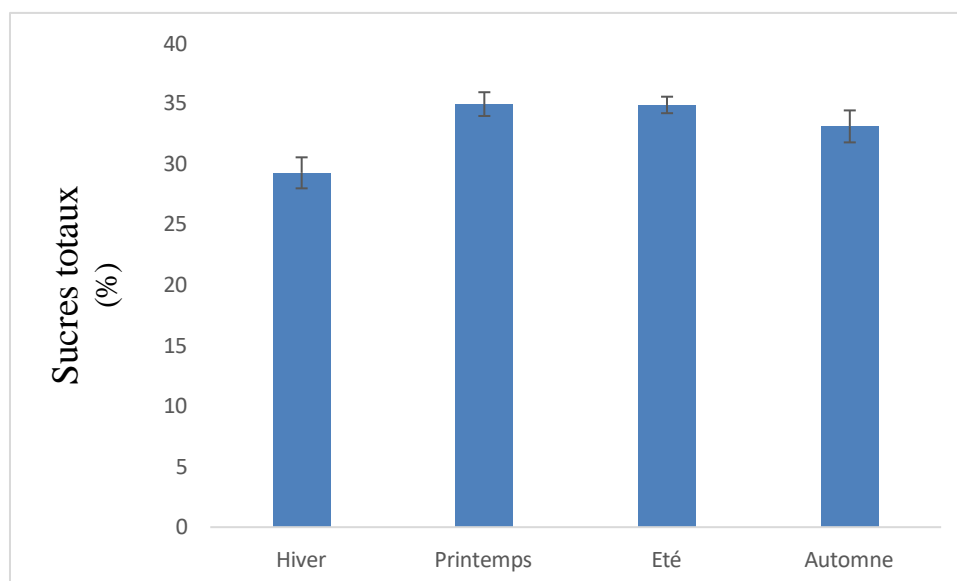


Figure 13 : Teneur en sucres totaux de la *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem.

6. Métaux lourds et minéraux

La teneur en minéraux de la *Caulerpa racemosa* est présentée dans le tableau 5. Les résultats obtenus ont montré que cette algue verte contient des quantités importantes de macro- et micro-minéraux. Ces quantités diffèrent selon la saison. Les minéraux les plus élevées sont le calcium, le magnésium, le sodium, le potassium et le fer.

L'apport en fer est important pour l'organisme, principalement pendant la croissance, la grossesse et les pertes menstruelles importantes. Une carence entraînerait une anémie. Certains auteurs (**Peng et al., 2013 ; Aroyehun et al., 2020**) ont trouvé un taux en fer de 23,74 ppm dans la *Caulerpa racemosa* récoltée en Malaisie. Cette teneur est comparable à celle retrouvée en hiver et en été.

La teneur en sodium de la *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem est en moyenne de 39 ppm. Cette valeur est très élevée par rapport à celle récoltée en Malaisie (0,08 ppm).

La valeur en manganèse la plus élevée était obtenue en hiver. Cette valeur est bien inférieure à celle de la *Caulerpa racemosa* de Johor en Malaisie (7,33 ppm) (**Aroyehun et al., 2020**), de Tamil Nadu en Inde (3,31 ppm) (**Lalitha et Dhandapani, 2018**) et de Sulawesi en Indonésie 519,06 ppm (**Kasmiati et al., 2022**).

Le zinc joue un rôle important dans divers processus cellulaires, notamment la croissance normale, le développement du cerveau, la formation des os et la cicatrisation des plaies. (**Gemedé et al., 2015**). Dans cette étude, le contenu en zinc dans la *Caulerpra* était inférieur à la *Caulerpa racemosa* récoltée au Mexique (**Robledo et Freile-Pelegrim, 1997**) mais semblable à celui récolté en Malaisie (**Aroyehun et al., 2020**).

Par ailleurs, la *Caulerpa racemosa* dans cette étude contient jusqu'à 9,04 ppm de cuivre. Cette valeur est supérieure à celle de la côte de Sulawesi en Indonésie (5,49 ppm) (**Kasmiati et al., 2022**) mais inférieure à la *Caulerpa racemosa* de la côte de Gujarat en Inde (14,7 ppm) (**Rahul et al., 2014**).

Enfin, la *Caulerpa racemosa* peut être utilisée comme complément alimentaire pour fournir l'apport quotidien en minéraux aux humains (**Aroyehun et al., 2020**).

Tableau 5 : Teneur en minéraux de la *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem (exprimées en ppm).

Minéraux	Hiver	Printemps	Été	Automne
Calcium	121	22,38	139,30	94,59
Potassium	21	19	18,47	20,68
Fer	21,43	17,35	27,68	12,84
Sodium	40,44	40,21	37,88	37,47
Magnésium	45,57	20,41	22,59	22,39
Manganèse	0,30	0,13	0,23	0,11
Zinc	0,23	0,00	0,02	0,01
Cuivre	0,42	6,77	7,33	9,04
Chrome	00,00	0,21	0,25	0,13

En outre, La *Caulerpa racemosa* contient des métaux lourds à l'instar des autres algues marines (tableau 6). Leurs concentrations dans les algues dépendent fortement des paramètres environnementaux, autrement dit des sites d'échantillonnage (salinité, température, pH, lumière, concentrations de nutriments, oxygène, etc.) et des différences structurelles entre les algues (**Besada et al., 2009**).

Talwar et al (2014) ont mené des recherches sur les différences existantes dans les concentrations de métaux lourds et ce selon la saison. La saison de pluies ou de vent à l'effet le plus important sur l'augmentation des métaux lourds (**Zhang et al., 2017 ; Raza'i et al., 2022**). Cette augmentation peut être expliquée par l'effet de la dynamique des courants et des vagues, qui sont la force motrice de la dynamique marine ce qui permet le transport et la propagation des polluants dans les eaux (**Kerpen et al., 2020**). Dans notre recherche, le cadmium, le strontium et le baryum sont les seuls métaux lourds qui étaient les plus élevés en hiver.

Le taux de nickel est élevé par rapport à la *Caulerpa racemosa* de l'Australie qui est inférieur à 0,10 ppm (**Paul et al., 2014**).

Le strontium est présent naturellement dans de nombreux compartiments de l'environnement y compris les roches, le sol, l'eau et l'air. Les composés du strontium peuvent

se déplacer assez facilement dans l'environnement car ils sont solubles dans l'eau. Quand les concentrations de strontium dans l'eau dépassent la norme, cela est généralement causé par les activités l'homme (le déversement de déchets directement dans l'eau). Des concentrations excessives de strontium peuvent également être causées par la sédimentation de particules de poussière de l'air qui ont réagi avec des particules de strontium provenant de l'industrie (Apaydin et al., 2010).

Dans la plupart des pays, il n'existe pas de réglementation sur les teneurs maximales en métaux lourds dans les algues marines. De manière inattendue, pour l'Asie, la plus grande zone de production d'algues marines, il n'existe pas de limites relatives aux métaux lourds. La législation française a fixé la teneur maximale en cadmium à 0,5 mg/kg et 5 mg/kg en plomb dans les algues (Chen et al., 2018). La *Caulerpa racemosa* qui a fait l'objet de notre étude à des taux de cadmium et de plomb inférieur aux limites maximales.

Tableau 6 : Teneurs en métaux lourds de la *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem (exprimées en ppm).

	Hiver	Printemps	Été	Automne
Plomb	0,02	0,04	0,03	0,03
Cadmium	0,00	0,00	0,00	0,00
Aluminium	22,41	25,30	23,84	14,40
Strontium	3,24	1,01	2,06	1,28
Nickel	0,12	1,77	2,41	1,49
Baryum	2,99	0,43	0,57	0,59
Chrome	00,00	0,21	0,25	0,13

7. Acides gras

L'identification des acides gras a été effectuée au niveau du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) de Bousmail, wilaya de Tipaza, et ce, grâce à la plateforme IBTIKAR. Le budget alloué aux doctorants nous avait permis de ne faire que le dosage d'un seul échantillon en deux répétitions. Par conséquent, nous avons opté pour la *Caulerpa racemosa* récoltée au printemps surtout par rapport aux taux faibles en certains métaux lourds et taux relativement plus élevés en lipides. Toutefois, il est à souligner que le manipulateur du CRAPC, pour des problèmes techniques, n'a pu réaliser la chromatographie CPG que sur un seul échantillon (1 répétition) et uniquement pour identification dont le chromatogramme apparaît dans la figure 14.

Abundance

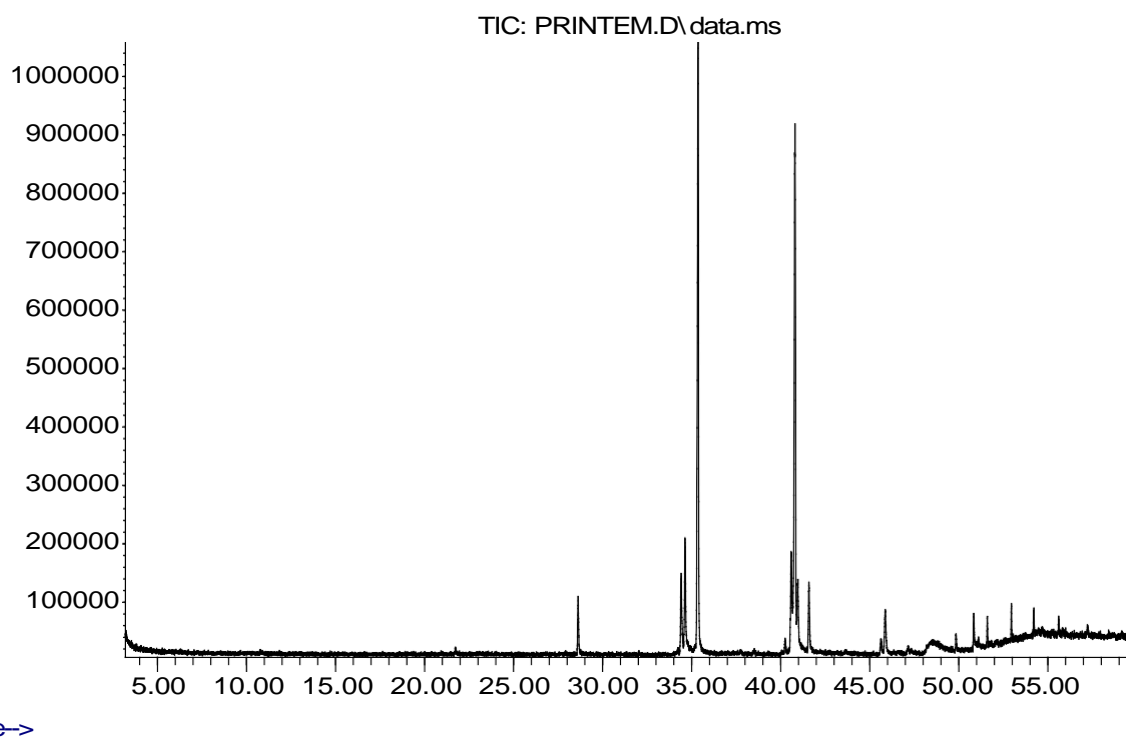


Figure 14 : Chromatogramme GC-MS de *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem.

Les algues marines contiennent une teneur en lipides très faible allant de 1 à 5 % de la matière sèche et variant fortement d'une espèce à l'autre. Cependant leur teneur en acides gras polyinsaturés peut être aussi élevée que celle des plantes terrestres voire même plus élevée (**van Ginneken et al., 2011**).

La source d'origine des acides gras polyinsaturés à longue chaîne n'est pas le poisson lui-même, mais les algues marines et le phytoplancton qui constituent leur principale source alimentaire (**van Ginneken et al., 2011**). A l'instar de toutes les algues marines (**Nagappan et Vairappan, 2013**), la *Caulerpa racemosa* étudiée contient des acides gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI) (tableau 7).

D'après l'analyse par GC-MS, la *Caulerpa racemosa* qui a fait l'objet de notre recherche contient 8 acides gras dont 3 sont saturés à savoir l'acide tridécanoïque (C13:0), l'acide palmitique (C16:0) et l'acide heptadécanoïque (C17:0), deux sont monoinsaturés : l'acide palmitoléique (C16:1 n-7) et l'acide oléique (C18:1 n-9) et 3 sont polyinsaturés à savoir l'acide hexadécatriénoïque (C16:3 n-3), l'acide linoléique (C18:2 n-6) et l'acide eicosapentaénoïque (C20:5 n-3) (tableau 7). Les AGPI oméga-3 alimentaires contribuent à réduire le risque de maladie cardiaque, à diminuer le cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL) et à prévenir l'arthrose et le diabète (**Burtin, 2003 ; Matanjun et al., 2009**). En effet, les Acides gras polyinsaturés sont bien connus dans la nutrition humaine pour leur rôle essentiel dans le maintien de la santé. Les algues contiennent des acides gras essentiels, à savoir l'acide alpha-linolénique (ALA ; C18:3 n-3) et l'acide linoléique (LA ; C18:2 n-6) qui ne sont pas synthétisés par l'organisme humain et doivent être obtenus par l'alimentation (**Marques et al., 2021**).

Aroyehun et al., (2020) ont identifié 12 acides gras dans la *Caulerpa racemosa* récoltée en Malaisie et dont les plus abondants sont l'acide palmitique, l'acide oléique et l'acide linoléique. Ces résultats concordent avec l'étude de **Paul et al. (2014)** sur la *Caulerpa racemosa* de l'Australie. Par ailleurs, les acides gras monoinsaturés dominants dans la *Caulerpa racemosa* récoltée en Indonésie sont l'acide oléique et les acides gras polyinsaturés dominants sont l'acide linoléique (**Sanjaya et al., 2016**). Les variations de la composition en acides gras des algues marines peuvent être attribuées à des changements dans les conditions environnementales, notamment l'habitat, la salinité, l'irradiation lumineuse, la saison, l'espèce et le statut génétique (**Nomura et al., 2013 ; Fariman et al., 2016**)

L'acide tridécanoïque (C13 :0) a également été trouvé dans des algues vertes telles que *Caulerpa prolifera* récoltée en Espagne (**Terrados et Lopez-Jimenez, 1996**) ou *Caulerpa racemosa* récoltée en Indonésie (**Pangestuti et al., 2021**). Il a été relevé aussi dans des algues brunes comme *Cystoseira indica* et *Sargassum swartzii* récoltées en Pakistan (**Valeem et Shameel, 2007**) ou des algues rouges comme *Tricleocarpa fragilis* récoltée en Inde (**Banu et Mishra, 2018**).

Shafik et Manawy (2008) ont trouvé l'acide heptadécanoïque (C17:0) dans la *Caulerpa racemosa* récoltée en Alexandrie (Égypte). Cet acide gras a également été décelé dans des algues brunes *Colpomenia sinuosa*, *Iyengaria stellata*, *Cystoseira indica*, *Sargassum swartzii* récoltées en Pakistan (**Valeem et Shameel, 2007**).

Bien que les autres recherches ne fassent pas état de l'existence de l'acide C16 :3 (n-3) dans les algues, il s'avère qu'il a été trouvé dans la *Caulerpa* qui a fait l'objet de cette recherche ainsi que celle récoltée en Croatie (**Blažina et al., 2009**).

L'acide eicosapentaénoïque (EPA) identifié dans la *Caulerpa racemosa* récoltée en Inde (**Abirami et al., 2016**) a été également trouvé dans la *Caulerpa racemosa* de Mostaganem. Ces acides gras n-3, avec l'acide docosahexaénoïque - DHA (C20:6n3) réduiraient le risque de maladies cardiaques, de thrombose et d'athérosclérose (**Polat et Ozogul, 2013**). Étant donné que les acides gras polyinsaturés (en particulier l'EPA et le DHA) ne sont effectivement synthétisés que par des organismes aquatiques, l'homme peut obtenir ces composants essentiels en consommant des produits de la mer et de l'eau douce (**Abirami et al., 2016**).

Tableau 7 : Composition en acides gras de l'algue verte *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem.

	Acides gras	RT (min)	Total (%)
Acides gras saturés	Acide tridécanoïque (C13 :0)	28,62	2,31%
	Acide palmitique (C16:0)	35,35	31,03%
	Acide heptadécanoïque C17:0	41,59	3,96%
Acides gras monoinsaturés	Acide palmitoléique C16 :1 (n-7)	34,62	7,20%
	Acide Oléique C18 :1 (n-9)	40,80	30,18%
Acides gras polyinsaturés	Acide hexadécatriénoïque C16 :3 (n-3)	34,41	4,35%
	Acide linoléique C18 :2 (n-6)	40,59	6,05%
	Acide eicosapentaénoïque C20:5 (n-3)	45,87	2,99%

RT : Retention time

8. Etude phytochimique de l'extrait méthanolique

a. Rendement d'extraction

La préparation des extraits bruts de *Caulerpa racemosa* des différentes saisons a été effectuée par macération dans du méthanol. Le rendement de ces extraits a été déterminé par rapport au matériel végétal sec.

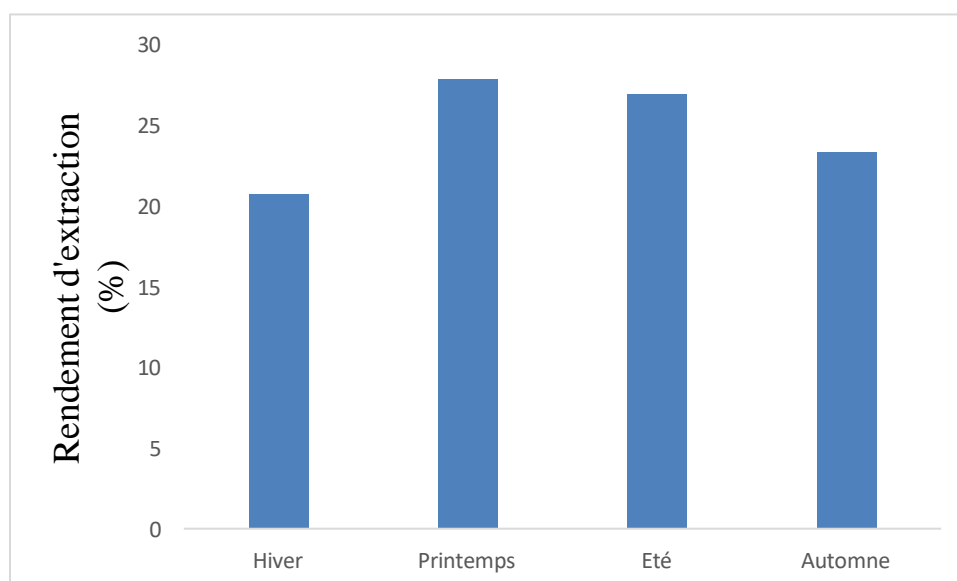


Figure 15 : Rendement d'extraction des extraits bruts des différentes saisons de *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem.

En comparant le rendement des différents extraits bruts pour les Caulerpes des 4 saisons (figure 15), il en ressort que le meilleur rendement a été obtenu pour celle collectée au printemps (27,8%) tandis que le rendement le plus faible est celui de la saison hivernale (20,7%). Il est important de souligner que la salinité de la mer et les conditions climatiques peuvent affecter le rendement d'extraction des algues (**Magdugo et al., 2020**).

Kusumawati et al (2008) ont rapporté que le rendement élevé indique que la matière première a plus de chances d'être utilisée que les matières premières qui ont une faible valeur de rendement.

b. Screening phytochimique

Les substances phytochimiques sont un groupe de métabolites secondaires présents dans les matières organiques. Le test phytochimique est basé sur la différence de couleur qui se produit lorsque l'échantillon réagit avec un réactif particulier adapté à la détermination ses composés bioactifs (**Tapotubun et al., 2019**). Les résultats des tests phytochimiques obtenus pour les extraits méthanoliques sont représentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Résultat du screening phytochimique sur les extraits de *Caulerpa racemosa* des différentes saisons.

	Hiver	Printemps	Eté	Automne
Polyphénols	+++	+++	+++	+++
Flavonoïdes	+++	+++	+++	+++
Tanins	---	---	---	---
Coumarines	---	---	---	---
Saponines	+++	+++	+++	+++
Quinones	---	---	---	---

Les algues contiennent des substances phytochimiques uniques qui sont associées à de nombreuses activités biologiques et présentent ainsi divers avantages pour la santé. Le screening phytochimique des extraits de *Caulerpa racemosa* a montré la présence de constituants phytochimiques à savoir les polyphénols, les flavonoïdes et les saponines. En revanche, les tanins, les coumarines, et les quinones étaient absents.

Le screening phytochimique de la *Caulerpa* récoltée en Indonésie a montré des résultats positifs pour les composés flavonoïdes (Nurjanah et al., 2019). Dans la même étude, les algues vertes *Caulerpa sp.*, fraîches ou bouillies dans de l'eau pendant 5 minutes, présentent des résultats positifs pour les e saponines mais une absence totale des tanins dans les mêmes échantillons.

Les flavonoïdes sont des antioxydants hydrosolubles qui peuvent piéger les radicaux libres. Ceux présents dans l'alimentation humaine peuvent prévenir les symptômes de la ménopause et réduire les cancers (Palaniyappan et al., 2023).

Les saponines sont bien connues pour leurs propriétés anti-inflammatoires et hypoglycémiantes. Elles ont également démontré des effets hémolytiques sur les globules rouges et des propriétés de liaison du cholestérol ; en particulier, les saponines alimentaires qui peuvent réduire le taux de cholestérol plasmatique (Asl et Hosseinzadeh, 2008).

Les phénols possèdent de fortes activités antioxydantes. Ces substances phytochimiques, également connues sous le nom de métabolites secondaires, sont réputées pour leurs diverses propriétés biologiques et thérapeutiques (**Dhevika et Deivasigamani, 2018**).

c. Polyphénols

Ces dernières années, les polyphénols bioactifs ont pris de l'importance en raison de leur efficacité de protection contre le stress oxydatif, qui est responsable de nombreuses maladies telles que le vieillissement, le cancer et l'insuffisance cardiaque congestive (**Ye, 2009**). Les composés polyphénoliques obtenus principalement dans les plantes et les algues sont des antioxydants d'origine naturelle (**Sanger et al., 2023**). Ils sont considérés comme l'une des classes d'antioxydants naturels les plus importantes.

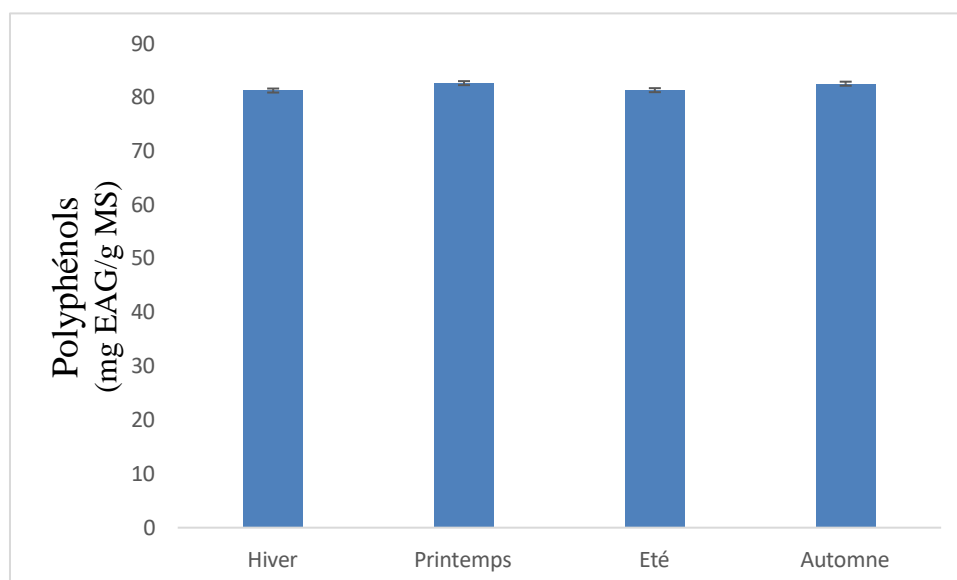


Figure 16 : Teneurs en polyphénols de la *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem.

La consommation d'antioxydants est devenue indispensable vu leurs effets bénéfiques pour la santé. La propriété antioxydante des produits naturels est généralement attribuée à la présence de polyphénols, y compris les phénols et les flavonoïdes (**Yap et al., 2019**).

Les résultats obtenus révèlent que le contenu phénolique dans les extraits de *Caulerpa racemosa* des 4 saisons est dans les alentours de 81 mg EAG/g MS (figure 16). Ces teneurs sont

comparables à celle de la *Caulerpa lentillifera* récoltée en Trang (Thaïlande) qui contient une teneur en polyphénol entre $45,21 \pm 0,69$ et $93,76 \pm 2,39$ mg EAG/g MS. La teneur la plus élevée en composés phénoliques a été observée en printemps (en mois d'avril) (**Koodkaew et al., 2024**). Cependant, **Srinorasing et al (2021)** ont rapporté moins de composés phénoliques ($2,07 \pm 0,34$ mg EAG/g MS) dans la même espèce. Le contenu phénolique le plus élevé a été estimé dans l'extrait de méthanol de *Caulerpa racemosa* récolté à Tamil Nadu en Inde ($11,99 \pm 0,48$ mg EAG/g MS) (**Palaniyappan et al., 2023**).

Dans les algues marines, la production de composés phénoliques peut varier en fonction de divers facteurs environnementaux tels que la salinité, la pression des herbivores, les nutriments, le rayonnement UV, etc (**Palaniyappan et al., 2023**). D'autres facteurs peuvent également modifier la composition phénolique, tels que l'origine géographique, la génétique, le moment de la récolte, l'organe végétal et les méthodes d'extraction (**Bettaieb Rebey et al., 2012**).

Des recherches montrent que la méthode de décoction donne des niveaux de composés phénoliques plus élevés que la macération et la méthode d'infusion (**Marinho et al., 2019**).

d. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, sont des antioxydants puissants et des compléments alimentaires essentiels pour l'homme. Ces métabolites ont démontré une variété de fonctions biologiques telles que l'immuno-modulation, l'anti-inflammation, l'antioxydation (**Tanna et al., 2018**). Ils peuvent également contribuer à améliorer la santé cardiovasculaire, à réduire le risque de diabète et à améliorer les fonctions cognitives (**Chovatia et al., 2022**).

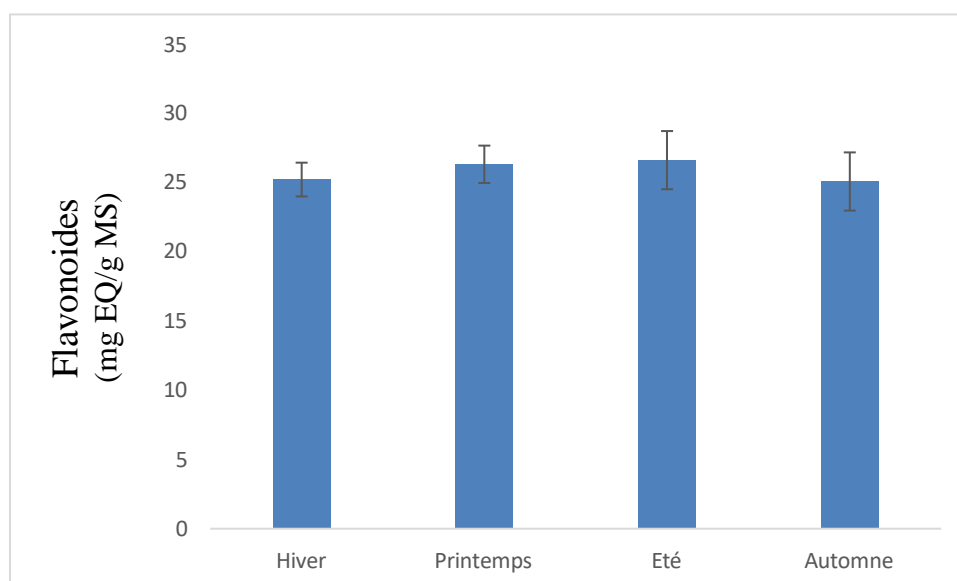


Figure 17 : Teneur en flavonoïdes de la *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem.

Dans la présente étude, l'analyse statistique n'a révélé aucune différence saisonnière significative. La teneur en flavonoïde variait entre 25,2 et 26,6 mg EQ/g MS (figure 17). Nos résultats concordent avec ceux de **Palaniyappan et al. (2023)** qui montrent que l'extrait méthanolique de *Caulerpa racemosa* récoltée en Inde présente une teneur en flavonoïdes plus élevée ($33,17 \pm 0,76$ mg EA/g MS) que les autres solvants et une teneur en flavonoïdes plus faible a été révélée par le solvant non polaire éther de pétrole ($23,64 \pm 0,66$ mg EA/g MS). **Sobuj et al. (2021)** ont également obtenu des teneurs en flavonoïdes élevées dans l'extrait méthanolique de l'algue *Padina tetrastromatica* ($41,77 \pm 1,59$ mg EA/g MS) et de *Gracilaria tenuistipitata* ($36,17 \pm 2,38$ mg EA/g MS). Par ailleurs, la *Caulerpa lentillifera* du Port Dickson (Malaisie) présentait une valeur de flavonoïdes de 15,06 mg EQ /g MS, tandis que la *Caulerpa racemosa var cylindracea* du même site présentait une valeur de 3,05mg EQ /g MS (**Ismail et al., 2020**).

e. Activité de piégeage du radical DPPH (IC50)

L'activité de piégeage du radical DPPH obtenue pour les quatre extraits méthanoliques de *Caulerpa racemosa* était faible comparées à d'autres études. En effet, une forte valeur de la CI50 indique une faible activité de piégeage du radical DPPH.

Les valeurs IC₅₀ variaient entre $26,43 \pm 1,45$ mg/ml en hiver et $37,03 \pm 0,6$ mg/ml en printemps (figure 18). **Belkacemi et al. (2020)** rapportent que l'extrait méthanolique de la *Caulerpa racemosa* présente un IC₅₀ de $42,06 \pm 1,04$ mg/ml. Ces valeurs sont élevées par rapport à celle de la *Caulerpa racemosa* récoltée en Thaïlande (15,05 mg/ml) (**Yangthong et al., 2009**) ou celles de la *Caulerpa. lentillifera* (9,74 mg/ml) et la *Caulerpa racemosa* de Port Dickson en Malaisie (2,51 mg/ml) (**Yap et al., 2019**), . **Chew et al. (2008)** ont démontré que la valeur IC₅₀ pour l'extrait méthanolique de *Caulerpa racemosa* était de 14,3 mg/ml tandis que **Sarini et al. (2014)** ont révélé une valeur IC₅₀ de 4,91 mg/ml pour la *Caulerpa racemosa* récoltée en Malaisie.

La *Caulerpa racemosa* récoltée en Inde présente la valeur IC₅₀ la plus faible dans l'extrait de méthanol (0,08 mg/ml) et la valeur IC₅₀ la plus élevée était celle de l'extrait d'hexane (0,17 mg/ml) (**Palaniyappan et al., 2023**).

Selon **Zhou et Yu (2004)**, la génétique, le climat, les phases de croissance, la méthode de culture et l'outil d'analyse utilisé influent fortement sur la teneur en antioxydants des plantes.

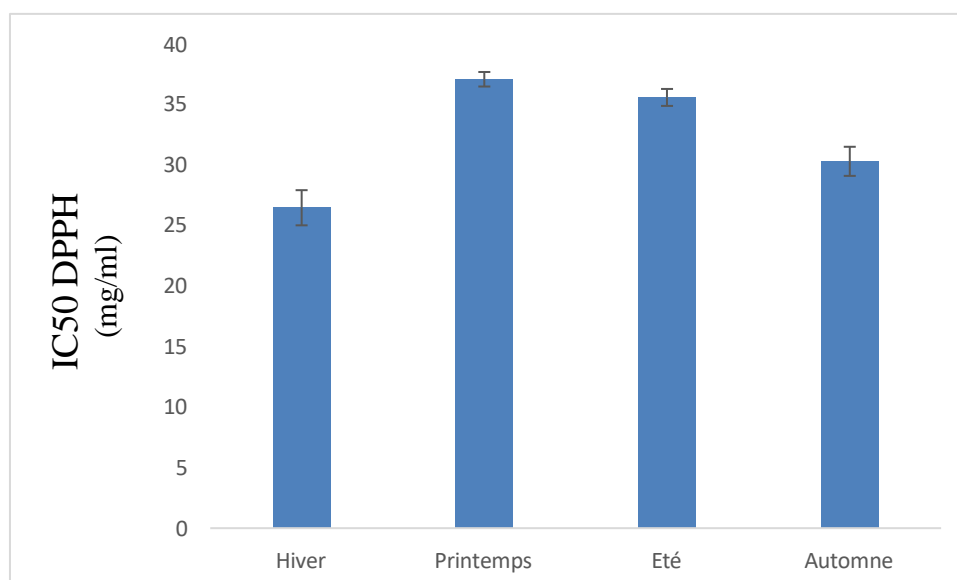


Figure 18 : Activité de piégeage du radical DPPH (IC₅₀) de la *Caulerpa racemosa* récoltée à Mostaganem.

2^{ème} partie

Potentiel nutraceutique de *Caulerpa racemosa* sur des rats Wistar rendus diabétiques

Matériels et méthodes

1. Objectifs

L'objectif majeur de cette partie est d'étudier l'effet hypoglycémiant de l'algue verte *Caulerpa racemosa* sur des rats rendus diabétique par streptozotocine, tout en examinant également son potentiel dans la prévention des complications associées au diabète.

2. Induction du diabète de type 2

Le rat Wistar constitue un modèle animal efficace pour développer un syndrome métabolique induit par un régime riche en graisses saturées (**Wong et al., 2016**). A cet effet, vingt-quatre rats femelles de souche Wistar provenant de l'institut Pasteur d'Alger ont fait l'objet de cette partie expérimentale. A leur arrivée, ces rats, pesant entre 93 et 120 g ont été installés dans des cages en polypropylène, tapissées d'une litière composée de copeaux de bois, dans une pièce maintenue à $24 \pm 2^\circ\text{C}$ et soumis à des cycles jour/nuit de 12h/12h. Les rats ont eu libre accès à l'aliment standard (EL Alef, Tlemcen, Algérie) et à l'eau ad libitum pendant une semaine. Le régime standard se composait comme suit : glucides 55%, protéines brutes 18%, matière grasse brute 2,5%, cellulose brute 3,9%, cendres brutes 4,9%, humidité 14%, vitamines 1,7%.

Après une semaine d'adaptation, les rats ont été divisés en 2 groupes, un groupe contrôle (n=6) continuant à recevoir l'aliment standard (2 Kcal/g) et un groupe expérimental (n=18) recevant une alimentation hypercalorique (5,75 Kcal/g) contenant 40% de crépine (graisse de mouton) pendant une durée de huit semaines.

Après cette période, tous les rats ont été mis à jeun et ont reçu une injection intrapéritonéale de streptozotocine (STZ 35 mg/kg, dissous dans un tampon au citrate, pH 4,5) afin d'induire un modèle de diabète de type 2 selon la méthode de **Parveen et al. (2011)** avec de légères modifications. Les rats du groupe témoin ont été injectés avec une solution de tampon citrate.

Après 7 jours, la glycémie à jeun a été vérifiée à l'aide d'un glucomètre (Vital Check, Corée). Tous les rats du groupe expérimental considérés diabétiques avaient une glycémie à jeun supérieure à 140 mg/dl et présentaient une intolérance au glucose selon le test de tolérance au glucose par voie intrapéritonéale (IPGTT).

3. Supplémentation orale à la *Caulerpa racemosa*

Le groupe expérimental (GD : groupe diabétique) a été divisé en 3 groupes :

- **GD1000** : Rats diabétique continuant à recevoir le régime hypercalorique + supplémentation orale en *Caulerpa racemosa* à raison de 1000 mg/kg.
- **GD500** : Rats diabétique continuant à recevoir le régime hypercalorique + supplémentation orale en *Caulerpa racemosa* à raison de 500 mg/kg.
- **GD0** : Rats diabétique continuant à recevoir le régime hypercalorique seulement.

Le groupe contrôle (**CTRL**) continuait à recevoir l'aliment standard tout au long de l'expérimentation.

Les animaux ont été traités selon les instructions du conseil des communautés européennes sur la protection des animaux utilisés dans les enquêtes scientifiques (**Council of European Communities, 1986**).

4. Test de tolérance au glucose par voie intrapéritonéale (IPGTT)

Le test de tolérance au glucose par voie intrapéritonéale (IPGTT) a été réalisé chez tous les rats après un jeun nocturne. Une solution de glucose (20%, w/v) fraîchement préparée dans de l'eau distillée stérile a été injectée par voie intrapéritonéale aux rats expérimentaux et témoins (2g glucose/kg de poids corporel). Les concentrations de glucose étaient mesurées à l'aide d'un glucomètre (Vital-Chek, Corée) dans le sang prélevé de la veine caudale à 0 min (glycémie à jeun), puis à la 30^{ème} min, 60^{ème} min et 120^{ème} min après injection.

Le test IPGTT a été effectué à 3 reprises : avant le traitement (J0), au 15^{ème} jour (J15) et enfin au 30^{ème} jour (J30) de l'expérimentation.

5. Consommation alimentaire et poids corporel

Le poids corporel des rats expérimentaux ainsi que leur consommation alimentaire ont été suivis hebdomadairement jusqu'à la fin de l'expérimentation.

6. Sacrifice des animaux

Après 30 jours d'expérimentation (supplémentation en *Caulerpa racemosa*), les rats ont été sacrifiés après une nuit de jeun, sous anesthésie provoquée par injection intrapéritonéale de kétamine. Les échantillons de sang obtenus à partir du cœur ont été placés dans des tubes EDTA. Le sang a été centrifugé et le plasma a été utilisé pour la détermination des paramètres biochimiques. Le pancréas, le foie, et le rein ont été prélevés et une partie de chaque organe a été fixée pour une étude histologique ou conservés à -18°C pour l'analyse des Tbars (foie).

7. Mesures biochimiques

Les paramètres plasmatiques ayant été déterminés sont : la glycémie (Méthode GODPOD), le cholestérol total (méthode CHOD-PAP), les triglycérides (GPO-PAP), le HDL-c (méthode de précipitation phosphotungstique), en utilisant Biomaghreb kits (Tunisie). Quant à la créatinine (réaction cinétique de Jaffe), et l'urée (méthodes à l'uréase et à la glutamate déshydrogénase) elles ont été déterminées avec l'analyseur automatisé COBAS C111 (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, États-Unis). Les activités de l'alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), gamma glutamyl transférase (GGT) et phosphatase alcaline (PAL) ont été mesurées à l'aide de systèmes COBAS (Roche Diagnostic, Allemagne).

L'insuline a également été mesurée et les résultats de tous les rats étaient négatifs. Cela pourrait être expliqué par le fait que le kit utilisé correspond à l'humain et n'est pas compatible avec l'espèce animale y compris les rats de laboratoire.

8. Estimation de la peroxydation lipidique par la méthode de Tbars

L'estimation de la peroxydation lipidique a été effectuée sur le foie des rats des 4 groupes par la méthode de **Génot (1996)**. Un échantillon de 2 g a été placé dans un tube contenant 16 ml d'acide trichloroacétique à 5% et 100 µl de Vitamine C. le mélange a été homogénéisé puis filtré. De ce filtrat, 2 ml ont été additionnés à 2 ml d'acide thiobarbiturique. Les tubes ont été plongés dans un bain-marie à 70°C pendant 30 min ensuite placés dans un bain d'eau froide.

La lecture spectrophotométrique s'est faite à 532 nm. Les résultats sont obtenus par la formule suivante :

Taux de MDA (nmol/g = [(0,72/1,56) × (A532 × Volume solvant × Volume de filtrat) / prise d'essai en gramme/ 72,0636

9. Etude histologique

Les organes (foie, pancréas et rein) ont été fixés au formol (10 %). La déshydratation a été réalisée par passage dans une série de bain d'alcool (éthanol) à 70%, 95% et 100%. L'enrobage a été réalisé dans de la paraffine. Des coupes fines de 5 µm ont été effectuées au microtome. Après déparaffinage et réhydratation, les coupes ont été colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine et montées sur un plastifiant distyrène xylène. L'observation a été faite au microscope optique (Olympus CX22LED, Tokyo) au grossissement x40.

10. Analyses statistiques

Tous les résultats ont été exprimés en moyenne ± écart-type (ET). Les données ont été comparées en utilisant une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie d'un test post-hoc de Tukey. La signification statistique des différences entre les valeurs moyennes dépendantes (IPGTT et AUC) a été évaluée en utilisant le test de Student. Les valeurs $p < 0,05$ ont été considérées comme indiquant une signification statistique. Toutes les données groupées ont été évaluées statistiquement à l'aide du logiciel de statistique SPSS version 20.0 (Chicago, IL, USA).

Résultats et discussions

La présente étude a porté sur l'effet de la supplémentation orale en *Caulerpa racemosa* sur des paramètres biochimiques et organiques dans le diabète de type 2 induit par un régime riche en graisses et une faible dose de streptozotocine chez des rats Wistar.

La supplémentation en graisse de mouton (crépine) dans les groupes expérimentaux à un taux de 40 % (p/p) combinée à l'injection de streptozotocine a induit une hyperglycémie supérieure à 140 mg/dl. Ce critère de glycémie à jeun a été signalé dans certaines études (**Parveen et al., 2010 ; Parveen et al., 2011 et Sahin et al., 2013**) qui ont induit un diabète de type 2 chez des rats Wistar par la combinaison d'un régime riche en graisses consistant en 40% de l'apport calorique et d'une faible dose de streptozotocine. A cet effet, il a été rapporté que le phénotype et la pathogenèse du diabète humain de type 2 pouvaient être imités chez les rats au moyen d'une alimentation riche en graisses pour induire une résistance périphérique à l'insuline, suivie d'une injection de STZ à faible dose qui cible les cellules β du pancréas (**Asrafuzzaman et al., 2017 ; Vatandoust et al., 2018**). Le modèle de diabète induit chez ces rats était un bon outil pour évaluer l'effet de la supplémentation en *Caulerpa racemosa* sur le retardement des complications du diabète.

1. Consommation de l'aliment et suivi du poids

Une comparaison de la consommation des 4 groupes entre le 1^{er} jour et le 30^{ème} jour est représentée dans le tableau 9. La consommation de l'aliment a diminué significativement chez les rats du groupe GD500 entre le J1 et J30 ($p < 0,05$). Cependant la consommation des rats des groupes CTRL, GD1000 et GD0 restent pratiquement stables ($p > 0,05$).

Tableau 9 : Comparaison de la consommation en Kcal entre le 1er et 30eme jour chez les différents groupes (mean \pm SD, n=6).

Groupes	Jour 1	Jour 30
CTRL	107,50 \pm 3,51 ^a	106,42 \pm 4,11 ^a
GD1000	200,40 \pm 32,87 ^b	190,80 \pm 54,64 ^b
GD500	202,80 \pm 40,23 ^b	142,80 \pm 13,21 ^a
GD0	211,20 \pm 6,78 ^b	218,40 \pm 8,31 ^b

Les lettres en indice (a, b, c) indiquent une différence significative ($p < 0,05$) entre les différents groupes.

Chez les rats expérimentaux soumis au régime hypercalorique, un gain du poids remarquable est observé au cours des 4 semaines de l'expérimentation chez les 2 groupes GD1000 et GD0 comparé au groupe GD500 qui recevait *Caulerpa racemosa* à 500 mg/kg. En effet, chez les rats GD1000 et GD0, le gain de poids était d'environ 20 g (20,83 \pm 4,91 g et 19,16 \pm 6,64 g chez le groupe GD1000 et GD0, respectivement) tandis que le gain de poids chez GD500 était de 12,5 \pm 4,18 g ($p < 0,05$). Le gain de poids chez les rats GD, tous groupes confondus reste supérieur à celui enregistré chez les rats témoins (6,5 \pm 2,58 g) ($p < 0,001$).

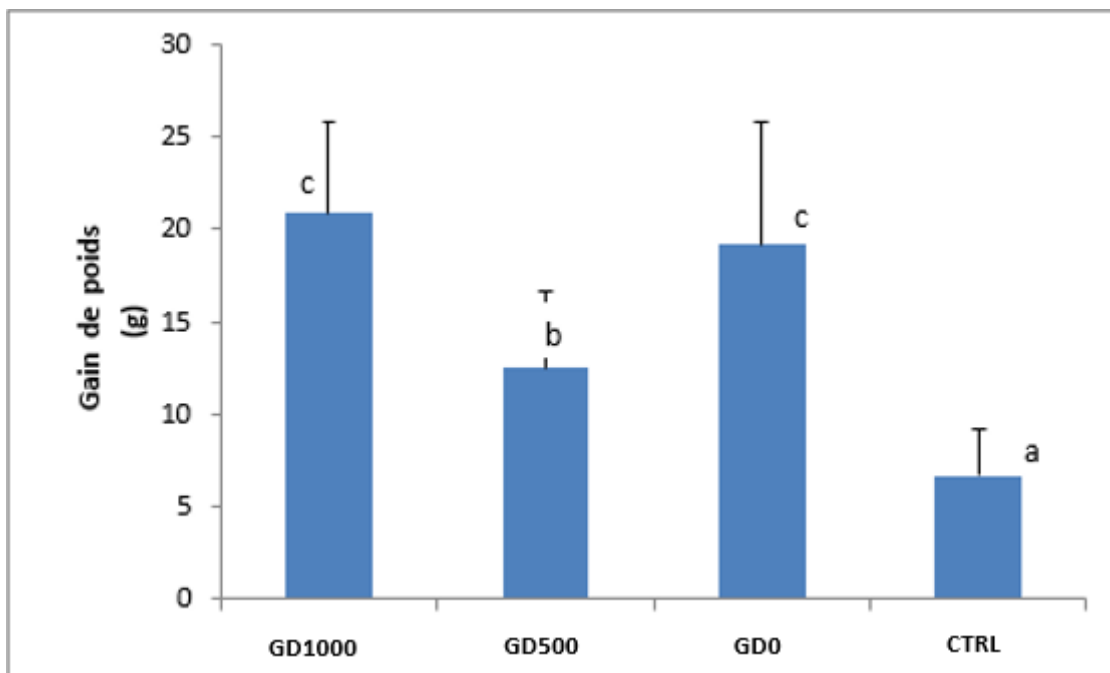


Figure 19 : Gain de poids des rats des différents groupes après 30 jours de période expérimentale (**moyenne \pm SD, n=6**).

La prise de poids des rats supplémentés par voie orale avec de la poudre entière de *C. racemosa* indique que cette algue a été bien tolérée par les rats et n'a pas interféré avec leur croissance (Figure 19). Néanmoins, il convient de noter que la supplémentation à 500 mg/kg a permis de ralentir la prise de poids ($12,5 \pm 4,18$ g) (Figure 19). En parallèle, la prise alimentaire (tableau 9) du groupe GD500 a diminué de façon remarquable du jour 1 au jour 30 de l'expérimentation ($p < 0,05$).

Il est bien connu que les algues sont une bonne source de fibres alimentaires qui prolongent la vitesse de vidange gastrique et augmentent ainsi la satiété et réduisent la prise alimentaire (**Lange et al., 2015**). De plus, certains métabolites contenus dans les algues pourraient être à l'origine de la diminution de la consommation alimentaire et donc d'un moindre gain de poids. Ceci est le cas de l'administration orale de γ -sitostérol qui a induit une amélioration du poids corporel et une réduction de la prise alimentaire chez les rats diabétiques dans l'étude de **Balamurugan et al. (2011)**. Or, il s'avère que ce phytostérol a été identifié et pour la première fois dans *C. racemosa* invasive de la côte ouest algérienne (**Belkacemi et al., 2020**). Cependant la diminution du gain de poids n'est pas retrouvée chez le groupe GD recevant 1000 mg/Kg et dont le poids à la fin de l'expérimentation était comparable à celui des

rats GD0 ($p > 0,05$). Ceci pourrait être expliqué par l'effet toxique (voir ultérieurement) de cette dose chez ces rats.

2. Le test intrapéritonéale de tolérance au glucose (IPGTT)

Les résultats du test IPGTT réalisé à J0, J15 et J30 sont illustrés sur la figure 20. Les glycémies des groupes GD à jeun (0 min) sont pratiquement similaires avant le début du traitement à la *C.racemosa* ($p > 0,05$). Elles sont également comparables à la 30^{ème} min ($p=0,51$), 60^{ème} min ($p=0,46$) et à la 120^{ème} min ($p=0,2$). Après 15 jour de traitement, la glycémie du groupe GD500 se différencie de celle des deux autres groupes GD, particulièrement à la 60^{ème} min et 120^{ème} min du test IPGTT ($p < 0,001$). En effet, la glycémie à la 60^{ème} min passe de $542,33 \pm 62,98$ à J0 à $454,17 \pm 93,52$ mg/dl à J15, et de $534 \pm 38,88$ à $294 \pm 57,11$ mg/dl à la 120 min du J0 et J15, respectivement. La glycémie à jeun continue à diminuer au 30^{ème} jour de supplémentation chez le groupe GD500 pour atteindre $148,17 \pm 14,33$ mg/dl. Il en est de même pour la glycémie enregistrée à la 120^{ème} minute ($326 \pm 63,05$ mg/dl) qui est largement inférieure ($p < 0,005$) à celle enregistré avant le traitement ($534 \pm 38,88$ mg/dl). Contrairement au groupe GD500, les glycémies du groupe GD1000 aux différents temps restent statistiquement comparables ($p > 0,05$) entre le J0 et J30.

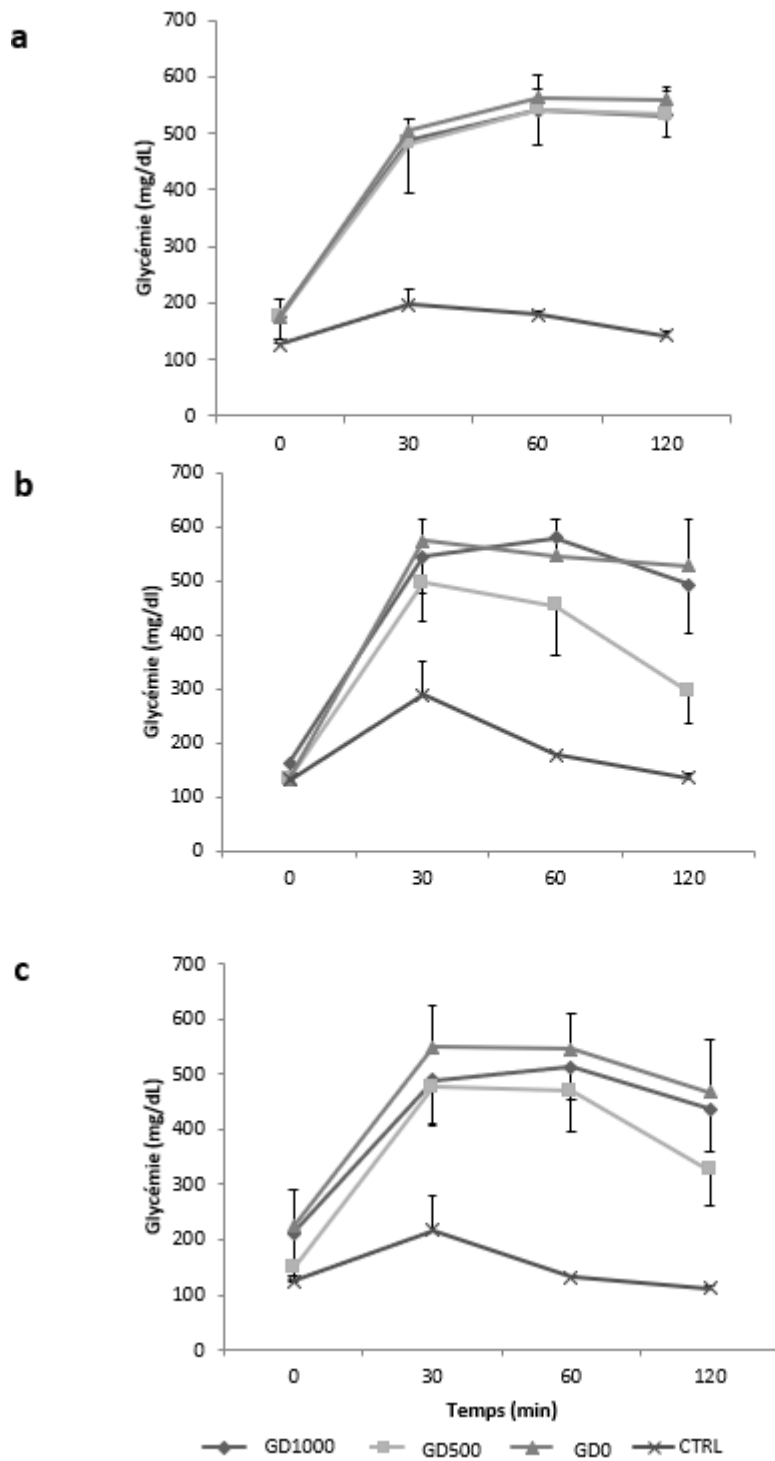


Figure 20 : Profil glycémique durant le test IPGTT réalisé aux jours J0 (a), J15 (b) et J30 (c) de la période expérimentale (moyenne \pm SD, n=6).

La diminution de l'apport alimentaire et la prise de poids contribueraient à réduire la glycémie à jeun chez les rats GD500 à un niveau comparable à celui des rats témoins (tableau 10). Parallèlement, une meilleure tolérance au glucose a été observée chez ces rats après 30 jours de supplémentation en *C. racemosa*. En effet, l'AUC totale (Figure 21) dans le groupe GD500 a eu tendance à diminuer significativement ($p < 0,05$) de j0 ($574,86 \pm 58,7$ g/l/min) à j30 ($474,98 \pm 57,52$ g/l/min), alors que cette diminution était négligeable ($p > 0,05$) dans le groupe GD1000 ($574,87 \pm 42,98$ g/l/min et $542,77 \pm 76,81$ g/l/min, respectivement à j0 et à j30). Il semble donc que la dose de 500 mg/kg de *C. racemosa* ait eu un impact positif sur l'homéostasie du glucose et ait inversé l'hyperglycémie dans le groupe GD500.

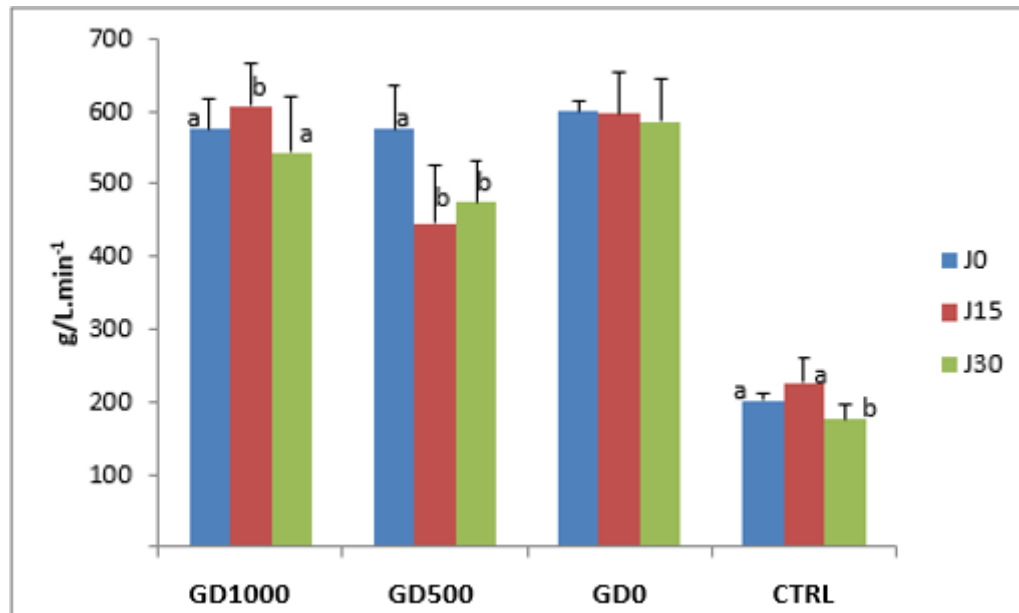


Figure 21 : Aire sous la courbe (AUC) durant le test IPGTT réalisé aux jours J0, J15 et J30 de la période expérimentale (moyenne \pm SD, n=6).

3. Paramètres sanguins

Le tableau 10 regroupe les résultats des paramètres sanguins des 4 groupes après sacrifice. La glycémie moyenne chez les rats du groupe contrôle et groupe GD500 était comparable ($p > 0,05$) et reste largement inférieure ($p < 0,001$) à celle enregistrée chez le groupe GD0 et GD1000. Le taux moyen de cholestérol est normal chez les 4 groupes et varie entre 0,46 mg/dl et 0,61 mg/dl. La valeur moyenne de la triglycéridémie chez les rats de tous les groupes est comprise entre 0,41 mg/dl et 0,64 mg/dl.

Le paramètre biochimique aspartate aminotransférase (AST) chez le groupe GD500 est moins élevé par rapport aux deux autres groupes expérimentaux GD1000 et GD0. Le taux de l'enzyme alanine aminotransférase (ALT) est très élevé chez le groupe GD0 n'ayant pas reçu la *Caulerpa racemosa* en supplémentation. Par ailleurs, il existe une différence significative de l'urée et la créatinine plasmatique entre GD1000 et les autres groupes ($p < 0,05$).

Tableau 10 : Paramètres sanguins après sacrifice (moyenne ± SD, n=6).

	GD1000	GD500	GD0	CTRL
Glycémie à jeun (g/l)	2,44 ± 0,59 ^b	1,05 ± 0,25 ^a	3,34 ± 0,65 ^c	1,21 ± 0,2 ^a
Cholestérol total (g/l)	0,46 ± 0,05 ^a	0,54 ± 0,08 ^{ab}	0,61 ± 0,06 ^b	0,52 ± 0,03 ^a
Triglycéride (g/l)	0,41 ± 0,04 ^a	0,51 ± 0,13 ^a	0,64 ± 0,2 ^a	0,47 ± 0,02 ^a
AST (U/L)	126,50 ± 27,25 ^b	102,25 ± 13,07 ^{ab}	127,00 ± 15,51 ^b	76,75 ± 5,06 ^a
ALT (U/L)	43,00 ± 8,16 ^b	35,75 ± 6,18 ^{ab}	41,25 ± 3,77 ^b	28,75 ± 2,87 ^a
GGT (U/L)	2,20 ± 1,10 ^b	1,20 ± 0,45 ^{ab}	1,15 ± 0,82 ^{ab}	0,30 ± 0,34 ^a
PAL (U/L)	134,00 ± 14,69 ^c	75,75 ± 9,53 ^b	283,50 ± 22,17 ^d	34,50 ± 4,04 ^a
Urée (g/l)	0,25 ± 0,03 ^a	0,28 ± 0,0 ^a	0,41 ± 0,14 ^b	0,29 ± 0,02 ^a
Créatinine (mg/dl)	4,95 ± 0,28 ^b	4,88 ± 0,28 ^b	5,59 ± 0,27 ^c	4,11 ± 0,29 ^a

Les lettres en indice (a, b, c) indiquent une différence significative ($p < 0,05$) entre différents groupes de rats.

AST : Aspartate aminotransférase, ALT : Alanine aminotransférase, GGT : Gamma-glutamyl transférase, PAL : Phosphatase alcaline.

A l'instar de l'amélioration de l'homéostasie du glucose, la supplémentation en *Caulerpa racemosa* semble surmonter les perturbations du métabolisme lipidique induites par un régime riche en graisses. Cette supplémentation en algues a entraîné une diminution dose-dépendante du cholestérol total et des triglycérides plasmatiques. En effet, parmi les groupes expérimentaux, GD1000 a affiché les taux de cholestérol total et de triglycérides les plus bas, suivi de GD500 et des rats GD0 (tableau 10). Les fibres alimentaires des algues marines sont connues pour diminuer la circulation intestinale des acides biliaires et ainsi de la synthèse des

acides biliaires à partir du cholestérol, ce qui entraîne une diminution du taux de cholestérol sérique (Murakami et al., 2021).

En outre, les phytostérols contenus dans les algues contribuent à réduire l'absorption intestinale du cholestérol. Les algues atténuent la stéatose hépatique et normalisent les activités des enzymes hépatiques (Kumar et al., 2015 ; Murakami et al., 2021). En l'occurrence, la supplémentation en *Caulerpa racemosa* a amélioré la stéatose hépatique, en particulier dans le groupe GD500 (voir ultérieurement).

Par ailleurs, une détérioration de paramètres hépatiques est retrouvée chez le groupe GD1000 qui présente une augmentation des taux plasmatiques d'aspartate aminotransférase (AST) ($r=0,669$, $p=0,005$), d'alanine aminotransférase (ALT) ($r=0,456$, $p=0,076$) et de la phosphatase alcaline (PAL) ($r=0,854$, $p=0,001$). L'augmentation de ces paramètres est un marqueur du dysfonctionnement ou d'un dommage du foie et qui résulte en une fuite de ces enzymes cytosoliques des cellules hépatiques dans le sang (Rubido, 2009) pour diverses raisons, notamment la nécrose des cellules hépatiques, l'hépatite, la cirrhose et l'hépatotoxicité de certains médicaments (Dufour et al., 2000).

L'alanine aminotransférase (ALT) est une enzyme spécifique au foie, ce qui en fait un important indicateur très sensible de l'hépatotoxicité (Pratt et Kaplan, 2000 ; Al-Habori et al., 2002). L'aspartate aminotransférase est également un indicateur de la destruction des hépatocytes même si en plus du foie on la retrouve dans le cœur, les muscles squelettiques, les poumons et les reins (Dufour et al., 2000). Ainsi les concentrations élevées de ces enzymes chez les rats du groupe GD1000 reflèterait une éventuelle toxicité de *C.racemosa* à la dose 1000 mg/Kg. Certaines algues à des doses excessives pourraient avoir un effet toxique sur certains organes. Ce fait a été rapporté dans l'étude de Motshakeri et al. (2014) où l'administration orale d'un extrait de *Sargassum polycystum* à une dose excessive devient toxique et a un effet délétère sur le foie.

La créatinine et l'urée plasmatique sont des marqueurs de la fonction rénale et dont l'augmentation des taux plasmatiques reflète un dysfonctionnement rénal (Sirwal et al., 2004). Ces deux paramètres sont utilisés dans des tests de surveillance de la fonction rénale. Cependant, la créatinine est un indicateur beaucoup plus fiable de la fonction rénale que l'urée, car cette dernière est beaucoup plus susceptible d'être affectée par des conditions alimentaires et physiologiques qui ne sont pas liées à la fonction rénale (Othman et al., 2019).

L'administration orale de la *Caulerpa racemosa* a entraîné une variation significative sur les taux d'urée et de créatinine plasmatique entre le groupe GD1000 et GD500 (tableau 10). Ce dernier a des taux d'urée et de créatinine plasmatiques plus bas par rapport aux rats du groupe GD0.

4. Estimation de la peroxydation lipidique dans le foie

La peroxydation lipidique est un paramètre hépatique exprimée par le taux de MDA/g de tissu. La figure 22 montre la concentration de MDA dans le foie des rats des 3 groupes expérimentaux et du groupe témoin. Les rats du groupe GD0 qui ont reçu uniquement l'aliment hypercalorique sans supplémentation en *Caulerpa racemosa* ont une peroxydation lipidique pratiquement 3 fois plus élevée ($35,49 \pm 2,30$ nmol MDA /g) par rapport aux groupes GD500 ($12,94 \pm 2,20$ nmol MDA /g) et GD1000 ($10,48 \pm 1,15$ nmol MDA /g) ($p < 0,001$).

Malgré le fait qu'un régime alimentaire à long terme riche en graisses saturées agisse comme un inducteur de la peroxydation des lipides dans le foie (Ulla et al., 2017), cette oxydation a été évitée chez les rats supplémentés par voie orale avec *Caulerpa racemosa*.

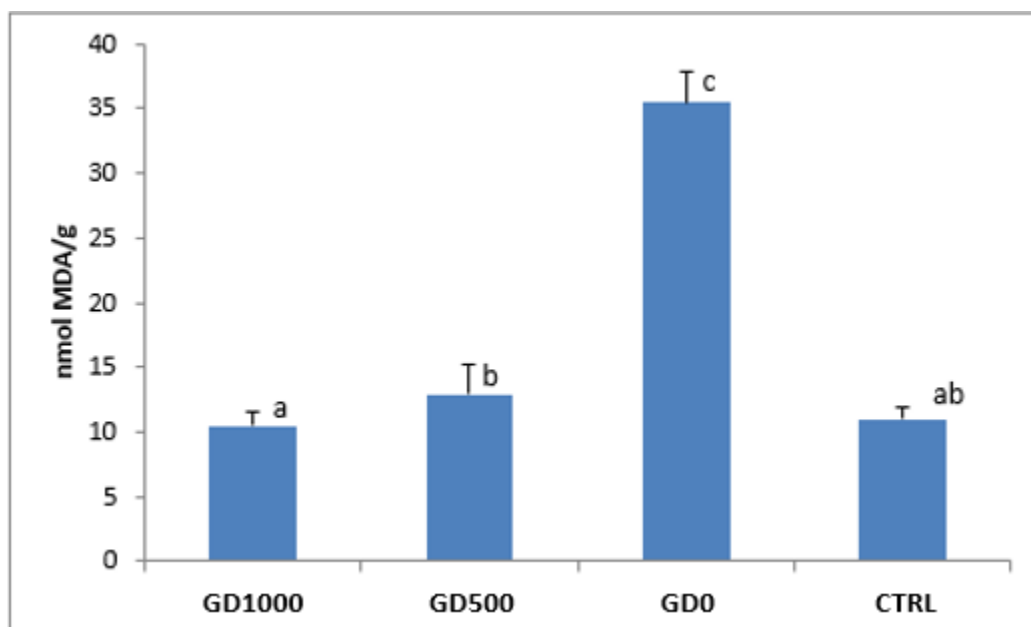


Figure 22 : Estimation de la peroxydation lipidique dans le foie (moyenne \pm SD, n=6).

Les lettres en indice (a, b, c) indiquent une différence significative ($p < 0,05$) entre différents groupes de rats.

Cette algue est connue pour sa forte teneur en composés phénoliques qui ont un pouvoir antioxydant qui contribuerait à réduire la peroxydation des lipides. D'autre part, cet effet protecteur contre la peroxydation lipidique pourrait également être attribué à la présence de squalène dans *Caulerpa racemosa* (Fernando et al., 2018 ; Belkacemi et al., 2020). Le squalène est reconnu comme un agent anti-radicalaire très efficace, en particulier contre la peroxydation des lipides (Fernando et al., 2018). Ainsi, en réduisant la peroxydation lipidique dans le foie, la structure et la fonction de la membrane cellulaire des hépatocytes (voir ultérieurement) ont été protégées contre les radicaux libres qui peuvent être générés à la suite de la peroxydation lipidique.

5. Coupes histologiques

5.1. Coupes histologiques du pancréas

Le tissu pancréatique chez le groupe GD0 (figure 23) présente des infiltrations graisseuses, des vacuolisations et une dégénérescence remarquable des acini. Chez le groupe GD1000, en plus de présence de vacuolisation, une rétraction des îlots est observée avec présence de dégénérescence de ces derniers comme en témoigne l'existence de noyaux pycnotiques. Ces altérations de la morphologie du tissu pancréatique chez le groupe GD500 semblent relativement rétabli avec moins de noyaux pycnotiques et de vacuolisation aussi bien au niveau de l'îlot que dans les acinis.

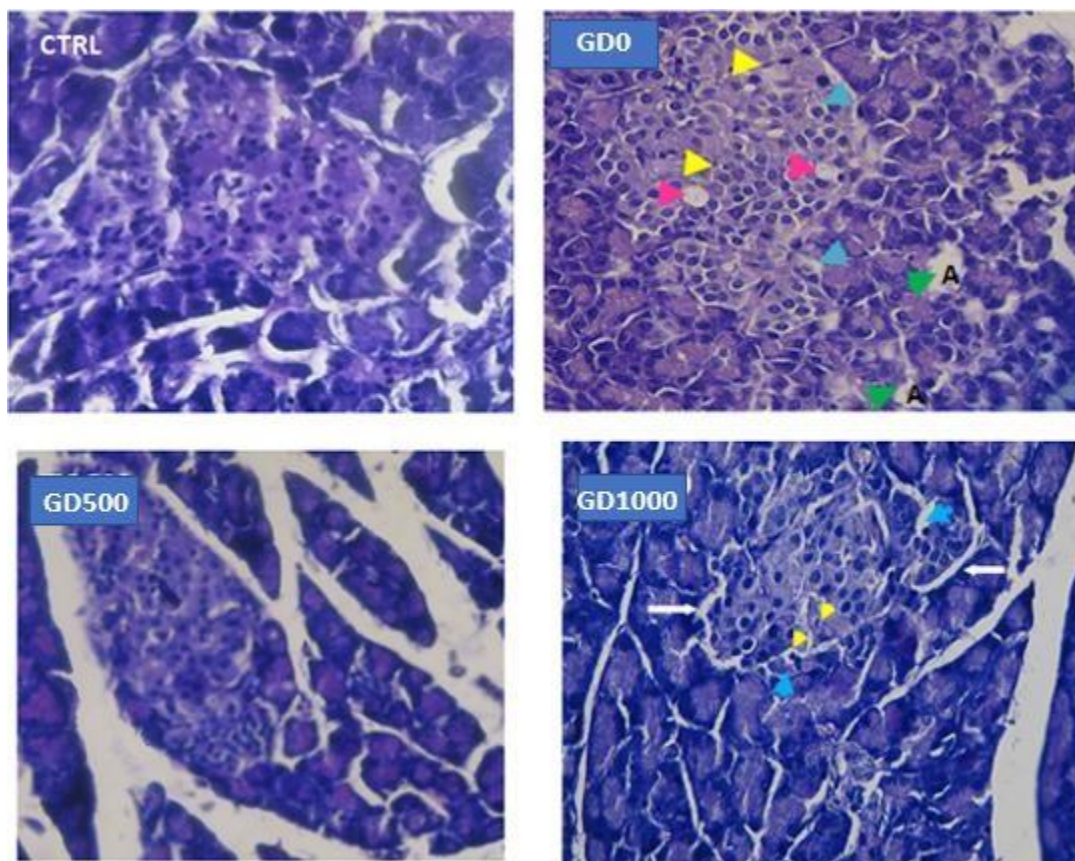


Figure 23 : Coupes histologiques du pancréas des rats CTRL, GD0, GD500 et GD1000

Flèche blanche épaisse : Rétraction de l'îlot (shrinkage) / Flèche bleue : Vacuolisation / Flèche jaune : Noyau pycnotique / Flèche rose : Infiltration graisseuse / Flèche verte : Dégénérescence +dégradation des acini (A) (nécrose cellulaire).

Les paramètres glucidiques améliorés chez les rats GD500 sont la conséquence entre autres de la préservation de l'architecture des îlots pancréatiques chez ce groupe. Il apparaît clairement que la supplémentation orale en *Caulerpa racemosa* à la dose 500 mg/Kg a considérablement protégé les îlots de la dégénérescence comme en témoigne la diminution de noyaux pycnotiques. Cet effet n'est pas retrouvé chez les rats supplémentés avec 1000 mg/Kg et qui d'ailleurs présentent une altération du métabolisme glucidique liée probablement aux changements de structure, de la taille et/ou de la fonction des îlots pancréatiques. En effet, les îlots des rats GD1000 présentent une détérioration remarquable de l'architecture des îlots pancréatiques. La perte pancréatique induite par la streptozotocine se traduit par la rupture et la disparition des îlots pancréatiques et la destruction sélective des cellules productrices d'insuline (Al-Araby et al., 2020).

D'après **Aroyehun et al. (2020)**, l'extrait d'acétate d'éthyle de *Caulerpa racemosa* donné en supplémentation orale aux rats rendu diabétiques par injection intrapéritonéale de streptozotocine (STZ) à des doses de 100 mg/kg et 200 mg/kg, a montré une diminution significative du glucose dans le sang ($p < 0,05$). Par ailleurs, des extraits de l'algue brune *Sargassum polycystum* administrés à des rats rendus diabétiques, ont permis de réduire l'étendue des changements pathologiques dans les cellules des îlots de Langerhans, et peut-être plus important encore, de réduire le nombre de cellules endommagées par l'induction du diabète de type 2 (**Motshakeri et al., 2014**).

5.2. Coupes histologiques du foie

L'Architecture des hépatocytes du groupe GD500 est préservée (figure 24). Les hépatocytes binucléés sont abondants ce qui peut expliquer une possibilité de régénération avec une absence de vacuolisation. Ce groupe est comparable au groupe témoin (CTRL). Par contre, le tissu hépatique des rats du groupe GD1000 qui avaient une supplémentation en *Caulerpa racemosa* de 1000 mg /Kg de poids ont des cellules hépatiques désorganisées avec des sinusoïdes très étroits. L'infiltration cellulaire est très importante avec présence de cellules Kupffer. L'architecture des hépatocytes de ce groupe est très comparable à celle du groupe GD0. En effet, la présence de cellules Kupffer, activées en réponse au régime riche en graisses (**Motshakeri et al., 2014**), sont relativement abondantes au niveau du tissu hépatiques du groupe GD1000. La supplémentation en *C.racemosa*, à la dose de 500 mg/kg, contrairement à la dose 1000 mg/Kg, n'a causé aucun dommage sur les cellules du foie et semble avoir un effet hépatoprotecteur qui se reflète sur le plan histologique par une architecture préservée du tissu hépatique de GD500, une absence de vacuolisation des hépatocytes et une abondance des hépatocytes binucléés ce qui peut expliquer la possibilité de régénération.

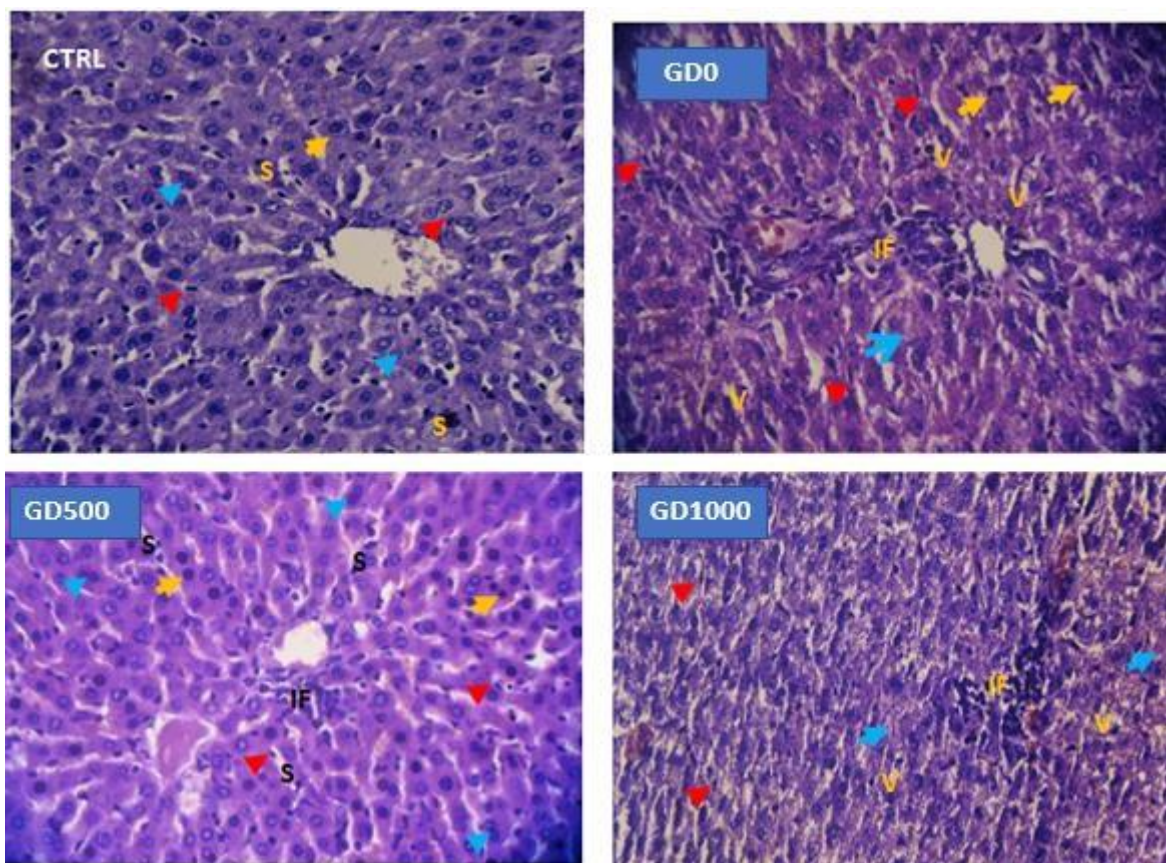


Figure 24 : Coupes histologiques du foie des rats CTRL, GD0, GD500 et GD1000.

Flèche bleue : Hépatocytes binucléés / Flèche rouge : Cellules de Kupffer / Flèche jaune : Noyau pycnotique /
Flèche verte : Nécrose cellulaire/ IF : Infiltration cellulaire / S: Sinusoïde normal / V: Vacuolisation

5.3. Coupes histologiques du rein

L'effet de la *Caulerpa racemosa* sur le tissu rénal des rats des 4 groupes est représenté sur la figure 25. Les coupes rénales des rats du groupe GD500 ont une architecture normale des tubules distaux et proximaux, du glomérule et de l'espace Bowman. Ce groupe est très comparable au groupe CTRL. En revanche, les reins des rats GD1000 et GD0 ont un nombre d'hématie assez important avec la présence d'infiltration cellulaire et de vacuolisation du cytoplasme. Les glomérules atrophiés sont de morphologie irrégulière et présentaient un espace de Bowman comprimé et la plupart des tubules contournés avaient une petite lumière. Les tubules proximaux et distaux sont difficilement distinguables vu la rupture de leur architecture cellulaire. Il semble même que l'atteinte du tissu rénal soit encore plus remarquable chez les rats GD1000 par rapport aux groupes GD0.

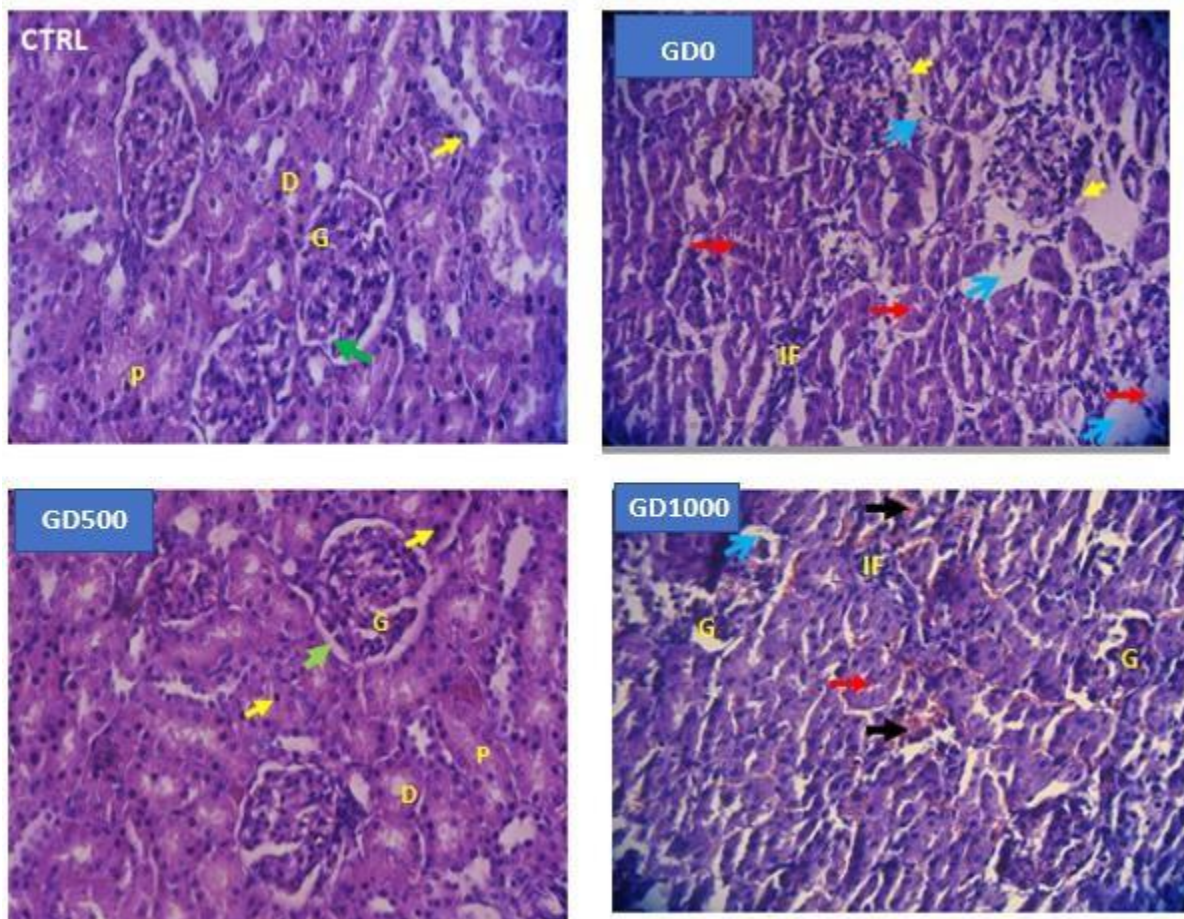


Figure 25 : Coupes histologiques du rein des rats CTRL, GD0, GD500 et GD1000

Flèche bleue : Vacuolisation / Flèche rouge: Tubules proximaux et distaux / Flèche noire : Présence d'hématies / Flèche jaune: Noyau pycnotique / Flèche verte: Espace Bowman/ (D) : Tubules distaux / (P): Proximaux / (G): Glomérule / IF: Infiltration cellulaire.

Les coupes histologiques rénales du groupe GD1000, chez qui l'urée et la créatinine étaient significativement élevés, révèlent une dégénérescence du tissu rénal. Ces deux paramètres sont des marqueurs de la fonction rénale et dont l'augmentation des taux plasmatiques reflète un dysfonctionnement rénal (Sirwal et al., 2004).

Il semble que la *Caulerpa racemosa* à cette dose exerce également un effet toxique sur les reins. Motshakeri et al. (2014) rapportent que l'administration orale d'extrait de *Sargassum polycystum* à une dose excessive devient toxique et exerce un effet délétère sur les reins et également sur le foie. Enfin, l'atteinte du tissu rénal pourrait également expliquer l'hyperglycémie enregistrée chez les rats GD1000.

L'hyperglycémie et l'hyperlipidémie contribuent à endommager les tissus rénaux et provoquent des dégénérescences dans les tubules convolutés du cortex rénal (**Ragavan et Krishnakumari, 2006**).

Enfin, l'effet néphroprotecteur exercé par la supplémentation en *Caulerpa racemosa* à 500 mg/kg pourrait être attribué à sa capacité à inhiber le stress oxydatif induit par l'hyperglycémie. A cet égard, **Cao et al. (2021)** ont rapporté que les polysaccharides de *C. racemosa* possèdent des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires qui peuvent être appliquées pour prévenir la progression de la néphropathie diabétique. Cependant, la dose de 1000 mg/kg de *C. racemosa* a eu un effet moins bénéfique sur les reins et pourrait même avoir un effet toxique sur eux comme celui exercé sur le foie.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La présente étude nous a permis dans un premier temps, d'évaluer la composition nutritionnelle d'une algue verte invasive *Caulerpa racemosa var cylindracea* récoltée sur la côte Mostaganémoise ; et en second lieu, de la mettre en valeur en l'introduisant en supplémentation au régime de rats rendus expérimentalement diabétiques.

A travers les résultats obtenus dans la 1^{ère} partie expérimentale de ce travail, la *Caulerpa racemosa var cylindracea* semble très intéressante du point de vue nutritionnelle. Elle contient entre autres de composés bioactifs et des acides gras insaturés qui peuvent être utiles dans le traitement ou la prévention de nombreuses maladies telles que le diabète. Les résultats révèlent également une richesse de cette algue marine en minéraux et un faible taux en métaux lourds dont la contamination varie selon les saisons.

Dans la 2^{ème} partie de ce travail, il ressort de l'ensemble des résultats obtenus que la supplémentation en *Caulerpa racemosa* à 500 mg/kg chez les rats est bien tolérée et n'a entraîné aucun préjudice sur le foie, reins et pancréas. Les coupes histologiques du groupe GD500 ont révélé un rétablissement du tissu pancréatique ainsi qu'une préservation des hépatocytes et du tissu rénal. L'amélioration de l'architecture pancréatique s'est reflétée par celle de la glycémie à jeun mais également l'intolérance au glucose. A cet effet, le test IPGTT a révélé une diminution de la glycémie à jeun du groupe GD500 du J0 au J30 et qui étaient comparables aux témoins. Les paramètres biochimiques tels que l'aspartate aminotransférase (AST), l'alanine aminotransférase (ALT), et la phosphatase alcaline (PAL) ont été diminués sous l'effet de la supplémentation en 500 mg/Kg témoignant de l'amélioration de la fonction et profil histologique du foie. Par ailleurs l'introduction de la *Caulerpa racemosa* à l'alimentation des rats à la dose de 500 mg/kg a montré également une nette réduction de la peroxydation lipidique dans le foie.

Ainsi, l'administration de *Caulerpa racemosa* peut offrir une nouvelle approche naturelle pour la gestion de l'intolérance au glucose et la prévention des complications du diabète de type 2 et des troubles métaboliques qui lui sont associés.

Les résultats nous encouragent à :

- Approfondir la recherche pour évaluer d'autres composants bioactifs de la *Caulerpa racemosa* dans le but d'éventuelles applications dans le domaine pharmacologique et pharmaceutique.

Conclusion et perspectives

- Faire des investigations pour cerner la toxicité de la *Caulerpa racemosa* à la dose 1000 mg/Kg.
- Prévoir le passage de l'expérimentation chez les animaux vers une population humaine atteinte de diabète de type 2 ou prédiabétique.
- Exploiter cette algue marine comme ressource alimentaire et l'introduire dans le régime méditerranéen en Algérie.

Références bibliographiques

Abdelkrim M (2023). Santé : Quatre millions d'Algériens malades du diabète. Journal El Watan, <https://elwatan-dz.com/sante-quatre-millions-dalgeriens-malades-du-diabete>.

Abirami S, Murugesan S, Narender Sivaswamy S (2016). Profiling of Omega 3 fatty acids from marine green algae *Ulva reticulata* and *Caulerpa racemosa*. *International Journal of Phytopharmacy*, 6 (2) : 46-50.

AFNOR (1985). (Association Française de Normalisation). Aliments des animaux, méthodes d'analyses françaises et communautaires. 2ème édition, 200 p.

Agatonovic-Kustrin S, Morton D.W (2017). High-performance thin-layer chromatography HPTLC-direct bioautography as a method of choice for alpha-amylase and antioxidant activity evaluation in marine algae. *J Chromatogr*, 1530: 197-203.

Al-Araby S.Q, A. Rahman Md, Md.,Chowdhury A.H, Das R.R., Chowdhury T.A., Hasan C. Md. M, Afroze M, Hashem M.A, Hajjar D, Alelwani W, Makki A.A, Haque Md. A (2020). *Padina tenuis* (marine alga) attenuates oxidative stress and streptozotocin-induced type 2 diabetic indices in Wistar albino rats. *South African Journal of Botany*, Volume 128: 87-100.

Alberti, K.G.M.M (2010). The Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. Textbook of Diabetes, 4e éd: 24-30. Blackwell Publishing Ltd.

Al-Habori M, Al-Aghbari A, Al-Mamary M, Baker M (2002). Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. *J Ethnopharmacol*, 83(3):209-217.

Altindal D (2019). Effects of seaweed extract (se) applications on seed germination characteristics of wheat in salinity conditions. *Int J of Agriculture, Forestry and Life Sciences* 3 (1) : 115–120.

American Diabetes Association (2008) . Standards of medical care in diabetes--2008.

American Diabetes Association (2012); diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 35 (1) :64- 71.

American Diabetes Association (2014). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 37 (1): 81–90.

American Diabetes Association (2014). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 37 (1) :14-80.

American Diabetes Association (2019), “2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019”, *Diabetes Care*, 42(Suppl 1), p. s 13-s 28.

American Diabetes Association (2020). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 43(1): 14-31.

American Diabetes Association (2024). Professional Practice Committee; 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: *Standards of Care in Diabetes—2024*. *Diabetes Care* 1 January 2024; 47 (Supplement_1): S20–S42

Ammar E.E, Aioub A.A.A, Elesawy A.E, AKarkour A.M, Mouhamed M.S, Amer A.A, EL-Shershaby N.A (2022). Algae as Bio-fertilizers: Between current situation and future prospective. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29: 3083–3096.

AOAC (2005). Official method of analysis. Association of Official Analytical Chemists, 18th Edition, Washington, DC, USA.

Apaydın G, Aylıkçı V, Cengiz E, Saydam M, Küp N, Tıraşoğlu E (2010). Analysis of Metal Contents of Seaweed (*Ulva lactuca*) from Istanbul, Turkey by EDXRF. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10 : 215-220.

APS (Algérie Presse Service) (2022). Publié le: lundi, 14 novembre 2022. <https://www.aps.dz/sante-science-technologie/147565-saihi-appelle-a-l-elargissement-des-campagnes-de-sensibilisation-pour-limiter-la-propagation-du-diabete>.

Aroyehun A.Q.B, Razak S.A, Palaniveloo K, Nagappan T, Rahmah N.S.N, Jin G.W, Chellappan D.K, Chellian J, Kunnath P (2020). Bioprospecting cultivated tropical green Algae, *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh: A perspective on nutritional properties, antioxidative capacity and anti-diabetic potential. *Foods*, 9: 1313.

Asl M.N, Hosseinzadeh H (2008). Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. *Phytother Res*, 22(6):709-24.

Asrafuzzaman M, Cao Y, Afroz R, Kamato D, Gray S, Little P.J (2017). Animal models for assessing the impact of natural products on the aetiology and metabolic pathophysiology of type 2 diabetes. *Biomed Pharmacother*, 89: 1242-1251.

Aziz A, Roy S, Hassan A, Haque M, Shahjadee U, Mondal K, Mohanta L, Mashuk O, Saha B (2021). Potential of *Ulva linza* L. and *Caulerpa racemosa* var. *uvifera* seaweeds from Cox's Bazar, Bangladesh as sea vegetable. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 56(3) : 223–230.

Balamurugan R, Duraipandiyar V, Ignacimuthu S (2011). Antidiabetic activity of γ -sitosterol isolated from *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol* ; 667(1-3):410-418.

Balasubramaniam V, June Chelyn L, Vimala S, Mohd Fairulnizal M.N, Brownlee I.A, Amin I (2020). Carotenoid composition and antioxidant potential of *Eucheuma denticulatum*, *Sargassum polycystum* and *Caulerpa lentillifera*. *Heliyon*, 6 (8) : 04654.

Banu V.S, Mishra J.K (2018). Fatty acid, micronutrient, proximate composition and phytochemical analysis of red seaweed *Tricleocarpa fragilis* (L.) Huisman & R.A. towns from Andaman Sea, India. *J Pharmacogn Phytochem*, 7(4): 2143-2148.

Basdevant A, Laville M, Ziegler O (1998). Recommendations pour le diagnostic, la prévention et le traitement des obésités. *Diab Metab*, 24 (2): 1-48.

Bast F (2014). An Illustrated Review on Cultivation and Life History of Agronomically Important Seaplants. In *Seaweed: Mineral Composition, Nutritional and Antioxidant Benefits and Agricultural Uses*, Eds Vitor Hugo Pomin, 39-70. Nova Publishers, New York ISBN: 978-1-63117-571-8.

Belkacemi L, Belalia M, Djendara A.C, Bouhadda Y (2020). Antioxidant and antibacterial activities and identification of bioactive compounds of various extracts of *Caulerpa racemosa* from Algerian coast. *Asian Pac J Trop Biomed*, 10(2): 87-94.

- Bellamy L, Casas J.P, Hingorani A.D, Williams D (2009).** Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 373 :1773- 1779.
- Bentaallah M.A, Kerfouf A (2013).** Prolifération de l'algue *Caulerpa racemosa* dans les écosystèmes littoraux de l'algérie: état des lieux et des connaissances prolifération de l'algue caulerpa racemosa dans les écosystèmes littoraux de l'algérie : état des lieux et des connaissances. *Physio-Géo*, 7 :157-164.
- Besada V, Andrade J.M, Schultze F, González J.J (2009).** Heavy metals in edible seaweeds commercialised for human consumption, *Journal of Marine Systems*, Volume 75, Issues 1–2, Pages 305-313.
- Bettaieb Rebey I, Bourgou S, Ben Slimen Debez I, Jabri Karoui I, Hamrouni Sellami I, Msaada K, Limam F, Marzouk B (2012) .** Effects of Extraction Solvents and Provenances on Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seeds. *Food Bioprocess Technol*, 5 : 2827–2836.
- Bhuiyan K.A, Qureshi S, Mustafa Kamal A.H, AftabUddin S, Siddique AM (2016)** Proximate Chemical Composition of Sea Grapes *Caulerpa racemosa* (J. Agardh, 1873) Collected from a Sub-Tropical Coast. *Virol-mycol*, volume 5: 158.
- Biris-Dorhoi E.S, Michiu D, Pop C.R, Rotar A.M, Tofana M, Pop O.L, Socaci S.A, Farcas A.C (2020).** Macroalgae-A Sustainable Source of Chemical Compounds with Biological Activities. *Nutrients*, 12(10): 3085.
- Blažina M, Iveša L, Najdek M (2009).** *Caulerpa racemosa*: adaptive varieties studied by fatty acid composition (Northern Adriatic Sea, Vrsar, Croatia). *European Journal of Phycology*, 44:2, 183-189.
- Boudaoud K (2020).** Le pré-diabète un enjeu majeur pour la prévention du diabète. *El Hakim. Revue Médicale Algérienne*, Num 33, Vol V : 5-10.
- Boudouresque C.F, Verlaque M (2002).** Biological pollution in the Mediterranean Sea: invasive versus introduced macrophytes. *Marine Pollution Bulletin*, 44 (1) : 32-38.

Bougherara L, Hanssens S, Subtil D, Vambergue A, Deruelle P (2017). Diabète gestationnel. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Obstétrique. Elsevier Masson, 12(4) : 1-10.

Bouiadjra B.B, Taleb M.Z, Marouf A, Benkada M.Y, Riadi H (2010). First record of the invasive alga *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta) in the Gulf of Arzew (western Algeria). *Aquatic Invasions*, 5 (1) : 97-101.

Burg S, Stuiver M, Veenstra F, Bikker P, Contreras A.L, Palstra A , Broeze J , Jansen H, Jak R , Gerritsen A , Harmsen P , Kals J , Blanco A , Brandenburg W , Krimpen M, Duijn A.P. , Mulder W , Leo van Raamsdonk L (2013). A Triple P review of the feasibility of sustainable offshore seaweed production in the North Sea. Wageningen, Wageningen UR (University & Research centre), LEI Report 13-077.

Burtin P (2003). Nutritional value of seaweed. *Electr. J. Environ. Agr. Food Chem*, 2: 498–503.

Cai X, Zhang Y, Li M, Wu J.H, Mai L, Li J, Yang Y, Hu Y, Huang Y (2020). Association between prediabetes and risk of all-cause mortality and cardiovascular disease: updated meta-analysis. *Bmj*, 370: m 2297.

Cao M, Li Y, Famurewa A.C, Olatunji O.J (2021). Antidiabetic and nephroprotective effects of polysaccharide extract from the seaweed *Caulerpa racemosa* in high fructose-streptozotocin induced diabetic nephropathy. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 14: 2121-2131.

Capiomont A, Breugnot E, Den Haan M, Meinesz A (2005). *Caulerpa racemosa* in the northwestern Mediterranean sea. *Botanica Marina*, 48 : 80-83.

Caspers E et Godin I (2012). Prévenir le diabète de type 2 : un autre regard pour agir sur les déterminants de la santé et tenir compte de la diversité des publics. Cahier Santé SIPES, 35: S4–10.

Centers for Disease Control and Prevention (2022). National Diabetes Fact Sheet. Document consulté du site internet <https://www.cdc.gov/diabetes/basics/what-is-type-1-diabetes.html>.

Chatterjee S, Khunti K, Davies M.J (2017). Type 2 diabetes. *Lancet*, 389 :2239-2251.

Chen Q, Pan XD, Huang BF, Han JL (2018). Distribution of metals and metalloids in dried seaweeds and health risk to population in southeastern China. *Scientific reports*, 23;8(1):3578.

Chew Y.L, Lima Y.Y, Omar M, Khoo K.S (2008). Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT*, 41:1067–1072.

Chiu Y.H, Chan Y.L, Li T.L, Wu C.J (2012). Inhibition of Japanese Encephalitis Virus Infection by the Sulfated Polysaccharide Extracts from *Ulva lactuca*. *Mar Biotechnol*, 14 :468–478.

Chovatia M.R, Vyas A.H, Dand N.R (2022). Phytochemical Constituents And Bioscreening Activities Of The Crude Extract From Selected Seaweeds. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 13 (10) : 5956-5964.

Council of European Communities (1986). Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. *Off J Eur Communities*, 358: 1-28.

Cox S, Abu-Ghannam N, Gupta S (2010). An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *IFRJ*, 17: 205-220.

Daude L (2021). L'utilisation des algues en pharmacie et parapharmacie. Thèse d'exercice pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université clermont auvergne, France.

De Gaillande C, Payri C, Remoissenet G, Zubia M (2017). Caulerpa Consumption, Nutritional Value and Farming in the Indo-Pacific Region. *J Appl Phycol*, 29 : 2249–2266.

Després J.P, Lemieux I (2001), Prud'homme D.— Treatment of obesity : need to focus on high risk abdominally obese patients. *BMJ*, 322 : 716-720.

Dhevika S, Deivasigamani B (2018). Phytochemical profiling and GC-MS analysis of caulerpa racemosa. *RJLBPCS* 4(5) Page No.155.

Diabetes Care (1997). Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 20(7) :1183-1197.

Diabetes Care (2012). Vol. 35, S1-S2. doi:<https://doi.org/10.2337/dc12-s001>

Díaz A, Espino M, Arzoz N, Velurtas S, Andrea-Ponce N, Stortz C, Lino-Fenucci J (2017). Free radical scavenging activity of extracts from seaweeds *Macrocystis pyrifera* and *Undaria pinnatifida*: applications as functional food in the diet of prawn *Artemesia longinaris*. *Lat. Am. J. Aquat. Res*, 45(1): 104-112.

Diem P (2022). Existe-il de nouvelles classifications des formes de diabète ? [d-journal](https://www.d-journal-romand.ch/savoir-keine/existe-il-de-nouvelles-classifications-des-formes-de-diabete/), consulté sur <https://www.d-journal-romand.ch/savoir-keine/existe-il-de-nouvelles-classifications-des-formes-de-diabete/>.

Djagadou K.A, Tchamdja T, Némi K.D, Balaka A, Djibril M.A. (2019). Aspects diagnostiques, thérapeutiques et pronostiques du diabète gestationnel au Centre Hospitalier Universitaire Sylvanus Olympio. *Pan Afr Med J*, 10;34 (18).

Dubois M, Gilles K.A, Hamilton J.K, Rebers P.T, Smith F (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3) : 350-356.

Duclos M, Sanz C, Gautier J.F (2010). Activité physique et prévention du diabète de type 2. *Médecine des maladies Métaboliques*, 4 (2): 147-151.

Dufour D.R, Lott J.A, Nolte F.S, Gretch D.R, Koff R.S, Seeff L.B (2000). Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. *Clin Chem*, 46 (12):2050-2068.

Ebrahimi S, Babaei S, Naseri M, Golmakani M.T (2021) Polyphenols content, antioxidant and antibacterial activities of seaweeds from the persian gulf. *Environmental Engineering and Management Journal*, Vol. 20, No. 7, 1203-1211.

Echouffo-Tcheugui J.B, Narayan K.M, Weisman D, Golden S.H, Jaar B.G (2016). Association between prediabetes and risk of chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Diabet Med*, 33(12) :1615-1624.

El Mghari G, Baki S, EL ansari N (2014). Histoire de l'insuline : entre le biologique et l'artificiel. 2014. *Hegel*, 4 (2) : 208-211.

Sinurat E, Fadjriah S (2019). The Chemical Properties of Seaweed *Caulerpa lentifera* from Takalar, South Sulawesi. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng*, 546 (4): 042043.

El-Sheekh M.M, El-Shenody R.A.E.K, Bases E.A, El-Shafay S.M (2021). Comparative assessment of antioxidant activity and biochemical composition of four seaweeds, Rocky Bay of Abu Qir in Alexandria, Egypt. *Food Science Technology (Campinas)*,41: 29-40.

Enquist-newman M, Faust A.M.E, Bravo D.D, Santos C.N.S, Raisner R.M, Hanel A, Sarvabhowman P, Le C, Regitsky D.D, Cooper S.R (2014). Efficient ethanol production from brown macroalgae sugars by a synthetic yeast platform. *Nature*, 505: 239–243.

Eroldoğan O.T, Glencross B, Novoveska L, Gaudêncio S.P, Rinkevich B, Varese G.C, de Fátima Carvalho M, Tasdemir D, Safarik I, Nielsen S.L, Rebours C, Lada L.B, Robbens J, Strode E, Haznedaroğlu B.Z, Kotta J, Evliyaoglu E, Oliveira J, Girão M, Marlen I. Čabarkapa V, Rakita S, Klun K, Rotter A (2023). From the Sea to Aquafeed: A Perspective Overview. *Rev. Aquac*, 15 :1028–1057.

Etcherla M, Rao G.M.N (2014). In vitro study of antimicrobial activity in marine algae *Caulerpa taxifolia* and *Caulerpa racemosa* (C. agardh). *Inter. J. Applied. Biol. and Pharmacol. Tech*, 5 (2) :57-62.

Fadili K, Zerkani H, Amalich S, Zair T (2017). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des feuilles et des fruits du *Capparis spinosa* l. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 5 (2): 108-118.

Fariman G.A, Shastan S.J, Zahedi M.M (2016). Seasonal variation of total lipid, fatty acids, fucoxanthin content, and antioxidant properties of two tropical brown algae (*Nizamuddinina zanardinii* and *Cystoseira indica*) from Iran. *J. Appl. Phycol*, 28: 1323–1331.

Farvin K.H.S, Jacobsen C (2013), Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry*, 138: 1670-1681.

Fernando I.P.S, Sanjeewa K.K.A, Samarakoon K.W, Lee W.W, Kim H.S, Jeon Y.J (2018). Squalene isolated from marine macroalgae *Caulerpa racemosa* and its potent antioxidant and anti-inflammatory activities. *J Food Biochem*, 42 (6): 12628.

FID (Fédération Internationale du diabète) (2021). *IDF Atlas 10th edition*.

Fleurence J (1999). Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 10, Issue 1, Pages 25-28.

Fleurence J, Morançais M, Dumay J, Decottignies P, Turpin V, Munier M, Garcia-Bueno N, Jaouen P (2012). What are the prospects for using seaweed in human nutrition and for marine animals raised through aquaculture? *Trends in Food Science & Technology*, 27 (1): 57-61.

Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. H (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*, 226(1) : 497-509.

García-Vaquero M, Hayes M (2016). Red and Green Macroalgae for fish, animal feed and human functional food development. *Food Reviews International*, 32 (1) : 15-45.

Gariani K, Tran C, Philippe J (2011). Hémoglobine glyquée : nouvel outil de dépistage ? *Rev Med Suisse*, 7:1238, 1242.

Gemedé H.F, Haki G.L, Beyene F, Woldegiorgis A.Z, Rakshit S.K (2015). Proximate, mineral, and antinutrient compositions of indigenous Okra (*Abelmoschus esculentus*) pod accessions: implications for mineral bioavailability. *Food Science and Nutrition*, 4: 223–233.

Genot C (1996). Some factors influencing TBA test. Annual report of the Vth PCRD EU project: Dietary treatment and oxidative stability of muscle and meat products: nutritive value, sensory quality and safety. (Diet-ox) AIR III-CT-92- 1577.

Ghosh P, Adhikari U, Ghosal P.K, Pujol C.A, Carlucci M.J, Damonte E.B, Ray B (2004). In vitro anti-herpetic activity of sulfated polysaccharide fractions from *Caulerpa racemosa*. *Phytochemistry*, 65(23) :3151-3157.

Godfray H.C, Beddington J.R, Crute I.R, Haddad L, Lawrence D, Muir J.F, Pretty J, Robinson S, Thomas S.M, Toulmin C (2010). Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science*, 327(5967):812-818.

González-Meza G.M, Elizondo-Luevano J.H, Cuellar-Bermudez S.P, Sosa-Hernández J.E, Iqbal H.M.N, Melchor-Martínez E.M, Parra-Saldívar R (2023). New Perspective for Macroalgae-Based Animal Feeding in the Context of Challenging Sustainable Food Production. *Plants*, 12(20):3609.

Gruyer B, Vergès B (2020). Association tabac et diabète de type 2 : preuves et mécanismes physiopathologiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, Volume 14 (2) : 148-151.

Guiry M.D, Guiry G.M (2020). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org/about/> (Accessed 29 janvier 2021).

Gupta S, Cox S, Abu-Ghannam N (2011). Effect of different drying temperatures on the moisture and phytochemical constituents of edible Irish brown seaweed. *LWT - Food Science and Technology*, 44 (5) :1266-1272.

Ha Van G, Hartemann-Heurtier A, Gautier F, Haddad J, Bensimon Y, Ponseau W, Baillot J, Fourniols E, Koskas F, Grimaldi A (2011). Pied diabétique. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Endocrinologie-Nutrition*, 8(4) :1-14.

Hallberg S.J, Gershuni V.M, Hazbun T.L, Athinarayanan S.J (2019). Reversing Type 2 Diabetes: A Narrative Review of the Evidence. *Nutrients*, 11: 766.

Hamed I, Özogul F, Özogul Y, Regenstein J. M (2015). Marine Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review: *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 14:446–465.

Hamed S.M, Abd El-Rhman A.A, Abdel-Raouf N, Ibraheem I.B.M (2018). Role of marine macroalgae in plant protection & improvement for sustainable agriculture technology. *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.* 7 : 104–110.

Hamza N, Berke B, Cheze C, Agli A, Robinson P, Gin H, Moore N (2010). Prevention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the C57BL/6J Mouse by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the east of Algeria. *Journal of Ethnopharmacology* 128 : 513-518.

Hao H, Fu M, Yan R, He B, Li M, Liu Q, Cai Y, Zhang X, Huang R (2019). Chemical composition and immunostimulatory properties of green alga *Caulerpa racemosa* var *peltata*. *Food and Agricultural Immunology*, 30 (1) : 937-954.

Haute Autorité De Santé (2005). Rapport de synthèse sur le dépistage et le diagnostic du diabète gestationnel, page 19.

Hirst M (2013). Atlas du diabète. Fédération internationale du Diabète 6^{ème} édition :13-47.

Holdt S.L, Kraan S (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23(3) :543-597.

Huang Y, Cai X, Qiu M, Chen P, Tang H, Hu Y, Huang Y (2014). Prediabetes and the risk of cancer: a meta-analysis. *Diabetologia*, 57(11):2261-2269.

Ibraheem O, Komolafe T.O, Bawa E, Oluwole J.O (2017). Preliminary evaluation of Nigeria coastal line seaweeds for the alginate content and biochemical constituents. *Journal of Environment and Biotechnology Research*, 6 (2): 220-227.

Ismail M.F, Ramaiya S.D, Zakaria M.H, Mohd Ikhsan N.F, Awang M A (2020). Mineral content and phytochemical properties of selected caulerpa species from malaysia. *Malaysian Journal of Science*, 39(3): 115–131.

Grau J.I (2023). Améliorer la santé métabolique et atteindre la rémission du diabète et du prédiabète grâce à des changements des habitudes de vie : une approche innovante de la réadaptation cardiaque. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Grade de Maîtrise (M. Sc.) en Sciences Biomédicales, option Sciences Cardiovasculaires. Université de Montréal. Faculté de Médecine.

Grøntved A, Hu F.B (2011). Television viewing and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality: a meta-analysis. *JAMA*, 305(23):2448-2455.

Kalaivanan C, Chandrasekaran M, Venkatesalu V (2012). Effect of seaweed liquid extract of *Caulerpa scalpelliformis* on growth and biochemical constituents of black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper). *Phykos*, 42 :46–530.

Kasmiati K, Syahrul S, Badraeni Rahmi M H (2022). Proximate and mineral compositions of the green seaweeds *Caulerpa lentilifera* and *Caulerpa racemosa* from South Sulawesi Coast, Indonesia. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 1119 012049.

Katsanevakis S, Salomidi M, Panou A (2010). Modelling distribution patterns and habitat preference of the invasive green alga *Caulerpa racemosa* in the Saronikos Gulf (Eastern Mediterranean). *Aquat Biol*, 10 : 57–67.

Kerpen NB, Schlurmann T, Schendel A, Gundlach J, Marquard D, Hüpgen M (2020). Wave-Induced Distribution of Microplastic in the Surf Zone. *Front. Mar. Sci*, volume 7: 590565.

Khensal S, Benmohammed K (2020). Pré-diabète et risque cardiovasculaire : Faut-il s'inquiéter? *El Hakim. Revue Médicale Algérienne*, Num 33 (V) : 11-17.

Kišević M, Smailbegović A, Gray K.T, Andričević R, Craft J.D, Petrov V, Brajčić D, Dragičević I (2011). Spectral reflectance profile of *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* and *Caulerpa taxifolia* in the Adriatic Sea. *ACTAADRIAT*, 52(1): 21 – 28.

Klein J, Verlaque M (2008). The *Caulerpa racemosa* invasion : a critical review. *Mar Pollut Bull*, 56(2): 205-225.

Knowler W.C, Barrett-Connor E, Fowler S.E, Hamman R.F, Lachin J.M, Walker E.A, Nathan D.M (2002). Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*, 346(6):393-403.

Koodkaew I, Pitakwongsaporn S, Jarussophon N, Wichachucherd B (2024). Chemical Profile, Antioxidant Activity and α -Glucosidase Inhibition of Sea Grape *Caulerpa lentillifera* Collected from Different Sites in Thailand. *Trends in Sciences*, 21(4) : 7520.

Kumar S.A, Magnusson M, Ward L.C, Paul N.A, Brown L (2015). Seaweed Supplements Normalise Metabolic, Cardiovascular and Liver Responses in High-Carbohydrate, High-Fat Fed Rats. *Mar Drugs*, 13 (2): 788-805.

Kumar M.S, Sharma S.A (2020). Toxicological effects of marine seaweeds: A cautious insight for human consumption. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(3): 500-521.

Kumari P, Bijo A.J, Mantri V.A, Reddy C.R.K, Jha B (2013). Fatty acid profiling of tropical marine macroalgae: An analysis from chemotaxonomic and nutritional perspectives. *Phytochemistry*, 86 : 44–56.

Kurniawan R, Nurkolis F, Taslim NA, Subali D, Surya R, Gunawan WB, Alisaputra D, Mayulu N, Salindeho N, Kim B (2023). Carotenoids Composition of Green Algae *Caulerpa racemosa* and Their Antidiabetic, Anti-Obesity, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Properties. *Molecules*. 6 ; 28(7) :3267.

Kusumawati R, Tazwir, Wawasto A (2008). Pengaruh rendemen dalam asam klorida terhadap kualitas gelatin tulang kakap merah (*Lutjanus sp.*). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 3 (1): 63-68.

Lahaye M, Kaeffer B (1997). Seaweed Dietary Fibres: Structure, Physico-Chemical and Biological Properties Relevant to Intestinal Physiology. *Sciences des Aliments*, 17: 563-584.

Lalitha N, Dhandapani R (2018). Proximate composition and amino acid profile of five green algae seaweeds from Mandapam Coastal regions, Tamil Nadu. *India The Pharma Innovation Journal*, 7: 400-403

Lange K.W, Hauser J, Nakamura Y, Kanaya S (2015). Dietary seaweeds and obesity. *Food Sci Hum Well*, 4: 87-96.

Leandro A, Pereira L, Gonçalves AMM (2019). Diverse Applications of Marine Macroalgae. *Mar Drugs*, 18(1) :17.

Leroy C, Gueorguieva I (2020). Le diabète de type MODY : quand l'évoquer chez l'enfant ? MODY: When to think about it in children? *Médecine des Maladies Métaboliques*, 14 (5) : 408-416.

Lowry O.H (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J biol Chem*, 193 : 265-275.

MacArtain P, Gill C.I, Brooks M, Campbell R, Rowland I.R (2007). Nutritional value of edible seaweeds. *Nutr Rev*. 65(12 Pt 1):535-543.

Magdugo R.P, Terme N, Lang M, Pliego-Cortés H, Marty C, Hurtado A.Q, Bedoux G, Bourgougnon N (2020). An Analysis of the Nutritional and Health Values of *Caulerpa racemosa* (Forsskål) and *Ulva fasciata* (Delile)-Two Chlorophyta Collected from the Philippines. *Molecules*, 25(12) :2901.

Marcovecchio M.L, Lucantoni M, Chiarelli F (2011). Role of Chronic and Acute Hyperglycemia in the Development of Diabetes Complications. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 13 (3) : 389-394.

Marinho G.S, Sørensen A.D.M, Safafar H, Pedersen A.H, Holdt S.L (2019). Antioxidant Content and Activity of the Seaweed *Saccharina Latissima*: A Seasonal Perspective. *J. Appl. Phycol*, 31: 1343–1354.

Marques F, Lopes D, da Costa E, Conde T, Rego, A, Ribeiro A.I., Abreu M.H, Domingues, M.R (2021). Seaweed Blends as a Valuable Source of Polyunsaturated and Healthy Fats for Nutritional and Food Applications. *Mar. Drugs*, 19, 684.

Massi A.W, Philippon M, Sejl S, Delenne B, Abodo J (2022). Diabete African en France. *ESI Preprints*, 9: 32- 43.

Matanjun P, Mohamed S, Mustapha N.M, Muhammad K (2009). Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *J. Appl. Phycol*, 21 (1): 1–6.

Makita C, Nganga NGabou C.G.F, Adiba Féné S, Diatewa B, Kaya Ganziam G (2017). Aspects angiofluorographiques de la rétinopathie diabétique. *Annales de l'Université Marien NGOUABI*, 17 (1) : 51-55.

McHugh D.J (2003). A Guide to the Seaweed Industry. FAO Fisheries Technical Paper 441, Rome

Meza-Letelier C.E, San Martín Ojeda C.A, Ruiz Provoste J.J, Frugone Zaror C.J (2017). Fisiopatología de la nefropatía diabética: una revisión de la literatura. *Medwave*, 17(1): 6839.

Motshakeri M, Ebrahimi M, Goh Y.M, Othman H.H, Hair-Bejo M, Mohamed S (2014). Effects of brown seaweed (*Sargassum polycystum*) extracts on kidney, liver, and pancreas of type 2 diabetic rat model. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 379407.

Munoz I.L, Diaz N.F (2020). Minerals in edible seaweed: health benefits and food safety issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, volume 62: 1592-1607.

Murakami S, Hirazawa C, Ohya T, Yoshikawa R, Mizutani T, Ma N, Moriyama M, Ito T, Matsuzaki C (2021). The Edible Brown Seaweed *Sargassum horneri* (Turner) C. Agardh Ameliorates High-Fat Diet-Induced Obesity, Diabetes, and Hepatic Steatosis in Mice. *Nutrients*, 13(2): 551.

Nabti E, Jha B, Hartmann A (2017). Hartmann A. Impact of seaweeds on agricultural crop production as biofertilizer. *Int. J. Environ. Sci. Techno*, 14 (5) :1119-1134.

Nagappan T, Vairappa C.S (2013). Nutritional and bioactive properties of three edible species of green algae, genus *Caulerpa* (Caulerpaceae). *J Appl Phycol*, 26 : 1019–1027.

Nasmia, Syahir Natsir S, Rusaini, Tahya A.M, Nilawati J, Ismail S.N (2022). Utilization of *Caulerpa* sp. as a feed ingredient for growth and survival of whiteleg shrimp and *Chanos chanos* in polyculture. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 48 (2) :175-180.

Nguyen V.T, Ueng J.P, Tsai G.J (2011). Proximate composition, total phenolic content, and antioxidant activity of seagrape (*Caulerpa lentillifera*). *Journal of Food Science*, 76: 950–958.

Nomura M, Kamogawa H, Susanto E, Kawagoe C, Yasui H, Saga N, Hosokawa M, Miyashita K (2013). Seasonal variations of total lipids, fatty acid composition, and fucoxanthin contents of *Sargassum horneri* (Turner) and *Cystoseira hakodatensis* (Yendo) from the northern seashore of Japan. *J. Appl. Phycol*, 25: 1159–1169.

Noreen A, Zia K.M, Zuber M, Ali M, Mujahid M (2016). A critical review of algal biomass: a versatile platform of bio-based polyesters from renewable resources. *Int J Biol Macromol*, 86 :937-949.

Nurjanah, Agoes Mardiono Jacob, Diah Asih Asmara, Taufik Hidayat (2019). Phenolic compound of fresh and boiled sea grapes (*caulerpa* sp.) from tual, maluk. *Food ScienTech Journal*, Vol. 1 (1): 2685-4279.

Nurkolis F, Taslim NA, Subali D, Kurniawan R, Hardinsyah H, Gunawan WB, Kusuma RJ, Yusuf VM, Pramono A, Kang S, Mayulu N, Syaiki AY, Tallei TE, Tsopmo A, Kim B (2023). Dietary Supplementation of *Caulerpa racemosa* Ameliorates Cardiometabolic Syndrome via Regulation of PRMT-1/DDAH/ADMA Pathway and Gut Microbiome in Mice. *Nutrients*, 11;15(4):909.

Olokoba A.B, Obateru O.A, Olokoba L.B (2021). Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman Med J*, 27 : 269-273.

OMS (Organisation Mondiale de la Santé) (2016). Rapport mondiale sur le diabète.

Onivogui G, Balde S, Bangoura K, Barry M.K (2013). Évaluation des risques de pollution en métaux lourds (Hg, Cd, Pb, Co, Ni, Zn) des eaux et des sédiments de l'estuaire du fleuve Konkouré (Rep. de Guinée). *Afrique Science*, 09(3) : 36 – 44.

Orban C, Ichai C (2008). Complications métaboliques aiguës du diabète Acute metabolic complications of diabetes mellitus. *Réanimation*, 17 :761-767.

Ortiz J, Romero N, Robert P, Araya J, Lopez-Hernandez J, Bozzo C, Navarrete E, Osorio A, Rios A (2006). Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chem*, 99 (1) : 98–104.

Othman A.I, Abdel-Ghaffar A, Mahmoud A.M (2019). Ketorolac- and warfarin-induced renal toxicity: ultrastructural and biochemical study. *JoBAZ*, 80: 36.

Palaniyappan S, Sridhar A, Kari ZA, Téllez-Isaías G, Ramasamy T (2023). Evaluation of Phytochemical Screening, Pigment Content, In Vitro Antioxidant, Antibacterial Potential and GC-MS Metabolite Profiling of Green Seaweed *Caulerpa racemosa*. *Mar Drugs*, 21(5):278.

Pangestuti R, Haq M, Rahmadi P, Chun, B.S (2021). Nutritional Value and Biofunctionalities of Two Edible Green Seaweeds (*Ulva lactuca* and *Caulerpa racemosa*) from Indonesia by Subcritical Water Hydrolysis. *Mar. Drugs*, 19, 578.

Papadopoulou-Marketou N, Paschou SA, Marketos N, Adamidi S, Adamidis S, Kanaka-Gantenbein C (2018). Diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Minerva Med*, 109(3):218-228.

Papathodorou K, Banach M, Bekiari E, Rizzo M, Edmonds M (2018). Complications of Diabetes 2017. *J Diabetes Res*, 3086167.

Paquot N, De Flines J, Rorive M (2012). L'obésité : un modèle d'interactions complexes entre génétique et environnement. *Rev Med Liège*, 67 : 332-336.

Parveen K, Khan M.R, Mujeeb M, Siddiqui W.A (2010). Protective effects of Pycnogenol on hyperglycemia-induced oxidative damage in the liver of type 2 diabetic rats. *Chem Biol Interact*, 186: 196-227.

Parveen K, Khan M.R, Siddiqui W.A (2011). Antidiabetic effects afforded by Terminalia arjuna in high fat-fed and streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Int J Diabetes Metab*, 19: 23-33.

Patti L, Caretto A, Pedone E, Laurenzi A (2023). Il LADA, un diabete di tipo 1.5? *JAMD* 26 :107-118.

Paul N.A, Neveux N, Magnusson M, De Nys R (2014). Comparative production and nutritional value of “sea grapes”—the tropical green seaweeds *Caulerpa lentillifera* and *Caulerpa racemosa*. *J Appl Phycol*, 26 :1833–1844.

Peng Y, Xie E, Zheng K, Fredimoses M, Yang X, Zhou X, Wang Y, Yang B, Lin X, Liu J (2013). Nutritional and chemical composition and antiviral activity of cultivated seaweed *Sargassum naozhouense* Tseng et Lu. *Mar. Drugs*, 11: 20–32.

Pereira L (2018). Seaweeds as Source of Bioactive Substances and Skin Care Therapy—Cosmeceuticals, Algotherapy, and Thalassotherapy. *Cosmetics*, 5(4) : 68.

Person J (2011). Algues, filières du futur. Livre Turquoise.ed. Adebitech Romainville : 182.

Piazzì I, Meinesz A, Verlaque M, Akcali B, Antolic B, Argyru M, Balata D, Ballesteros E, Calvo S, Cinelli F, Cirik S, Cos U.A, D'archino R, Djellouli A, Javel F, Lanfranco E, Mifsud C, Pala D, Panayotidis P, Peirano A, Pergent G, Petrocelli A, Ruitton S, Zuljevic A, Ceccherelli G (2005). Invasion of *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Caulerpaales, Chlorophyta) in the Mediterranean Sea: an assessment of the spread. *Cryptogamie, Algologie*, 26 (2) :189-202.

Pintiaux A, Foidart J.M (2005). Le diabète gestationnel. *Rev Med Liège*, 60 (5-6) : 338-343.

Polat S, Ozogul Y (2013). Seasonal proximate and fatty acid variations of some seaweeds from the northeastern Mediterranean coast. *Oceanologia*, Volume 55 (2): 375-391.

Pomin V.H (2014). Algues : composition minérale, avantages nutritionnels et antioxydants et utilisations agricoles, Chapitre: Un examen illustré de la culture et du cycle biologique des plantes marines d'importance agronomique. Éditeur : Nova Publishers, New York.

Popper Z.A, Michel G, Domozych D.S, Willats W.G.T, Tuohy M.G, Kloareg B, Stengel D.B (2011). Evolution and Diversity of Plant Cell Walls: From Algae to Flowering Plants. *Annu. Rev. Biol Plant*, 62: 567–590.

Pratt D.S, Kaplan M.M (2000). Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med*, 342(17):1266-1271.

Puspita M, Setyawidati N.A.R, Stiger-Pouvreau V, Vandanjon L, Widowati I, Radjasa O.K, Bedoux G, Bourgouan N (2020). Indonesian Sargassum species bioprospecting: potential applications of bioactive compounds and challenges for sustainable development. *Advances in Botanical Research*, volume 95: 113-161.

Puspitasari W, Jusadi D, Setiawati M, Ekasari J, Nur A, Sumantri I (2019). Utilization of green algae *Caulerpa racemosa* as feed ingredient for tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 18 (2) :162-171.

Ragavan B, Krishnakumari S (2006). Antidiabetic effect of *T. arjuna* bark extract in alloxan induced diabetic rats. *Indian J Clin Biochem*, 21: 123-128.

Rahul M, Suresh N, Anil T, Arun M, Nivedita G and Biware M.V (2014). GC-MS Analysis of Phytocomponents of Seaweed, *Caulerpa racemosa*. *International Journal of Pharma Research and Review*, 3: 39-45.

Raverot G (2005) Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. La collection Hippocrate : Endocrinologie Métabolisme Réanimation-urgences.

Raza'i T.S, Thamrin, Nofrizal, Amrifo V, Pardi H, Pangestiansyah Putra I, Febrianto T, Fadhli Ilhamdy A (2022). Accumulation of essential (copper, iron, zinc) and non-essential (lead, cadmium) heavy metals in *Caulerpa racemosa*, sea water, and marine sediments of Bintan Island, Indonesia. *F1000Research*, 10:699.

Rivard-Sirois C (2005). Les algues. Sherbrooke, Canada : 732p.

Robledo D, Freile-Pelegrin Y (1997). Chemical and mineral composition of six potentially edible seaweed species of Yucatan. *Botanica Marina*, 40: 301-306.

Rorive M, Letiexhe M.R, Scheen A.J, Ziegler O (2005). Obésité et diabète de type 2. *Rev Med Liege*, 60 (5-6): 374-382.

Rubido J.C.A (2009). Liver function tests. In: Al Mahtab M, Eds. Liver: a complete book on hepato-pancreato-biliary diseases. India, *Elsevier*, 47-56.

S´anchez-Machado D.I., López-Cervantes J., López-Hern´andez J., Paseiro-Losada P (2004). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chem*, 85 (3): 439–444.

Sahin K, Tuzcu M, Orhan C, Sahin N, Kucuk O, Ozercan I.H, Juturu V, Komorowski J.R (2013). Anti-diabetic activity of chromium picolinate and biotin in rats with type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin. *Br J Nutr*, 110: 197-205.

Saleh H.H.E (2020). Review on Using of Macro Algae (seaweeds) in Fish Nutrition. *Journal of Zoological Research*, Volume 02, Issue 02.

Sama H, Sombié P.A.E.D, Guenne S, Soura H.B, Hilou A (2021). Antifungal potential and fatty acid profile of two *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) oils. *Journal of Agriculture and Food Research*, 6: 100244.

Sami F.J, Soekamto N.H, Firdaus, Latip J (2021). Bioactivity profile of three types of seaweed as an antioxidant, UV-protection as sunscreen and their correlation activity. *Food Research*, 5(1) :441-447.

Sánchez-Machado D.I, López-Cervantes J, López-Hernández J, Paseiro-Losada P (2004). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*, 85 (3) : 439-444.

Sanchez-Moreno C, Larrauri J.A, Saura-Calixto F (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric*, 76: 270-276.

Sanger G, Wonggo D, Taher N, Dotulong V, Setiawan A.A, Permatasari H.K, Maulana S, Nurkolis F, Tsopmo A, Kim B (2023). Green seaweed *Caulerpa racemosa* - Chemical constituents, cytotoxicity in breast cancer cells and molecular docking simulation. *Journal of Agriculture and Food Research*, 12 :100621.

Sarini A.W, Nor'Aishah H, Zaini N.M (2014). Determination of antioxidant activity for seven types of macroalgae. *International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering (IPCBE)*, 65 :51-56.

Scheen A.J, Paquot N (2012). Le diabète de type 2 : voyage au coeur d'une maladie complexe. *Rev Med Liège*, 67 (5-6) : 326-331.

Schlienger J.L (2013). Complications du diabète de type 2. *La Presse Médicale*, 42 (5) :839-848.

Schlienger J.L, Monnier L (2020). Régimes méditerranéens et prévention du diabète : à l'heure des preuves. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 14 (7) : 626-631.

Schröder H.C, Badria F.A, Ayyad S.N, Batel R, Wiens M, Hassanein H.M.A, Kurelec B, Müller W.E.G (1998). Inhibitory effects of extracts from the marine alga *Caulerpa taxifolia* and of toxin from *Caulerpa racemosa* on multixenobiotic resistance in the marine sponge *Geodia cydonium*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 5 (2) :119-126.

Setthamongkol P, Tunkijjanukij S, Satapornvanit K, Salaenoi J (2015). Growth and nutrients analysis in marine macroalgae. *Kasetsart. J Natural Science*, 49: 211-218.

Shafik M, Manawy I.M (2008). Physiological and Structural Characteristics of Three Varieties of *Caulerpa racemosa* (Försskal) J. Agardh. From the Mediterranean Sea. *Am-Euras. J. Sci. Res*, 3 (1): 97-110.

Shaikh J.R, Patil M.K (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2): 603-608.

Sharifuddin Y, Chin Y.X, Lim P.E, Phang S.M (2015). Potential bioactive compounds from seaweed for diabetes management. *Mar Drugs*, 13 : 5447-5491.

Sihono, Tarman K, Madduppa H, Januar H.I (2018). Metabolite Profiles and Antioxidant Activity of Caulerpa racemosa with Different Handlings. *Squalen Bull. of Mar. and Fish. Postharvest and Biotech*,13 (3) : 93-100.

SIMON D (2002). Données épidémiologiques sur le diabète de type 2. *BEH*, n°20-21. P86.

Singleton V.L, Orthofer R, Lamuela-Raventos R.M (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299 :152-178.

Sinha A.K, Kumar V, Makkar H.P.S, De Boeck G, Becker K (2011). Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition – A review. *Food Chemistry*, 127 : 1409–1426.

Sirwal I.A, Banday K.A, Reshi A.R, Bhat M.A,Wani M.M (2004). Estimation of Glomerular Filtration Rate (GFR). *JK Science*, 6: 121-123.

Sobuj M.K.A, Islam M.A, Islam M.S, Islam M.M, Mahmud Y, Rafiquzzaman S.M (2021). Effect of Solvents on Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Padina Tetrastromatica and Gracilaria Tenuistipitata Seaweeds Collected from Bangladesh. *Sci. Rep*, 11, 19082.

Srinorasing T, Chirasuwan N, Bunnag B, Chaiklahan R (2021). Lipid extracts from Caulerpa lentillifera waste: An alternative product in a circular economy. *Sustainability*, 13: 4491.

Stipanuk M.H, Caudill M.A (2013). Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition. Eds.; Elsevier–Health Sciences: St. Louis, MO, USA, page 968.

Sumanya H, Lavanya R, Umamaheswara Reddy C (2015). Evaluation of in vitro anti-oxidant and anti-arthritic activity of methanolic extract of marine green algae *Caulerpa racemosa*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7 (7) : 340-343

Sun X, Guo PL, Ren M, He F.S, Li Y, Wang N.M, Zhai B.J, Li D.M, Hao J.Z (2019). Intervention strategy of Traditional Chinese Medicine for prediabetes (the syndrome of spleen-deficiency phlegm-dampness) based on the reversal of blood glucose and the improvement of fatigue. *Research Square*; Preprint (Version 1).

Tabák AG, Herder C, Rathmann W, Brunner E.J, Kivimäki M (2012). Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *Lancet Lond Engl*, 379(9833): 2279-2290.

Talwar R, Agrawal S, Bajpai A, Malik S (2014). Assessment of Concentration and Variations due to Seasonal Effect on the Presence of Heavy Metals in the Water of Upper Lake, Bhopal. *Curr. World Environ*, 9: 421–425.

Tanna B, Choudhary B, Mishra A (2018). Metabolite Profiling, Antioxidant, Scavenging and Anti-Proliferative Activities of Selected Tropical Green Seaweeds Reveal the Nutraceutical Potential of *Caulerpa* Spp. *Algal Res*, 36, 96–105.

Tapotubun A.M, Rieuwpassa F, Supratman U, SETHA B (2019). Effect of Different Drying Methods on Phytochemical Content of *Caulerpa lentillifera* from Kei Islands. *International Journal of ChemTech Research*, 12(6):109-115.

Teixeira V.L, Rocha F.D, Houghton P.J, Kaplan M.A, Pereira R.C (2007). Alpha-amylase inhibitors from Brazilian seaweeds and their hypoglycemic potential. *Fitoterapia*, 78: 35-36.

Terrados J, Lopez-Jimenez JA (1996). Fatty acid composition and chilling resistance in the green alga *Caulerpa prolifera* (Forrskal) Lamouroux (Chlorophyta, Caulerpales). *Biochem Mol Biol Int*, 39(5): 863-869.

Thuillier P, Mansourati J (2023). Quels sont les liens entre tabagisme et insulino-résistance, insulinosensibilité ? *Médecine des Maladies Métaboliques*, 17 (2) : 108-116.

Tipton M.C (2008). Susruta of India, an unrecognized contributor to the history of exercise physiology. *J Appl Physiol*, 108 :1553–1556.

- Torres M.D, Flórez-Fernández N, Domínguez H (2019).** Integral Utilization of Red Seaweed for Bioactive Production. *Mar. Drugs* 17 (6): 314.
- Tran C, Boulvain M, Philippe J (2011).** Prise en charge du diabète gestationnel : nouvelles connaissances et perspectives futures. *Rev Med Suisse*, 7 : 1250-1254.
- Ulaş A, Düzbastılar F.O, Aydın C, Lök A, Metin C (2011).** Determining Density of *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh and its Effects on Catch Compositions of Fishing Gears. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11: 385-391.
- Ulla A, Alam M.A, Sikder B, Sumi F.A, Rahman M.M, Habib Z.F, Mohammed M.K, Subhan N, Hossain H, Reza H.M (2017).** Supplementation of *Syzygium cumini* seed powder prevented obesity, glucose intolerance, hyperlipidemia and oxidative stress in high carbohydrate high fat diet induced obese rats. *BMC Complem Altern Med*, 17 (1) : 289.
- Valeem E.E, Shameel M (2007).** Fatty acid composition of some brown sea weeds (phaeophyta) from the coast of karachi. *Pakistan Journal of Marine Sciences*, 16(1) : 39-48.
- van Ginneken V.J, Helsper J.P, de Visser W, van Keulen H, Brandenburg W.A (2011).** Polyunsaturated fatty acids in various macroalgal species from North Atlantic and tropical seas. *Lipids Health Dis*, 10:104.
- Vatandoust N, Rami F, Salehi AR, Khosravi S, Dashti G, Eslami G, Momenzadeh S, Salehi R (2018).** Novel high-fat diet formulation and streptozotocin treatment for induction of prediabetes and type 2 diabetes in rats. *Adv Biomed Res*, 7: 107.
- Verlaque M, Durand C, Huisman J.M., Boudouresque C.F, Le Parco Y (2003).** On the identity and origin of the Mediterranean invasive *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta). *European Journal of Phycology*, 38(4), 325–339.
- Vodouhe M (2020).** Impact d'un extrait d'algues brunes “*Ascophyllum nodosum*” et “*Fucus vesiculosus*” sur l’homéostasie du glucose chez des sujets en surpoids/obèses prédiabétiques. Mémoire de Maîtrise en nutrition. Université de Laval. Quebec, Canada.

Wells M.L, Potin P, Craigie J.S, Raven J.A, Merchant S.S, Helliwell K.E, Smith A.G, Camire M.E, Brawley S.H (2017). Algae as nutritional and functional food sources : revisiting our understanding. *J Appl Phycol*, 29(2) :949-982.

Willi C, Bodenmann P, Ghali W.A, Faris P.D, Cornuz J (2007). Active Smoking and the Risk of Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*, 298(22) : 2654–2664.

Windarto S, Kamaludin D.M, Bella W, Sarjito, Pinandoyo, Susilowati T, Haditomo A.H.C, Harwanto D. (2023). Effect of coconut (*Cocos nucifera*) water, and aqueous extract of Mung bean (*Vigna radiata*) sprouts and Moringa (*Moringa oleifera*) leaf on the growth and nutrition of *Caulerpa racemosa*. *International Journal of Aquatic Biology*, 11(6) : 513–522.

Wirenfeldt C.B, Hermund D.B, Feyissa A.H , Hyldig G, Holdt S.L (2024). Nutritional value, bioactive composition, physico-chemical and sensory properties of *Ulva* sp. and *Fucus vesiculosus* depending on post-harvest processing: a drying comparison study. *Journal of Applied Phycology*, 36 (5) :2795-2805.

Wong S.K, Chin K.Y, Suhaimi F.H, Fairus A, Ima-Nirwana S (2016). Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutr Metab*, 13:65

Yang P, Liu D.Q, Liang T.J, Li J, Zhang H.Y, Liu A.H, Guo Y.W, Mao S.C (2015). Bioactive constituents from the green alga *Caulerpa racemosa*. *Bioorg Med Chem*, 23(1):38-45.

Yangthong M, Hutadilok-Towatana N, Phromkunthong W (2009). Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64: 218-223.

Yap W.F, Tay V, Tan S.H, Yow Y.Y, Chew J (2019). Decoding Antioxidant and Antibacterial Potentials of Malaysian Green Seaweeds: *Caulerpa racemosa* and *Caulerpa lentillifera*. *Antibiotics (Basel)*, 8(3) : 152.

Ye H, Zhou C, Sun Y, Zhang X, Liu J, Hu Q, Zeng X (2009). Antioxidant Activities in Vitro of Ethanol Extract from Brown Seaweed *Sargassum Pallidum*. *Eur. Food Res. Technol*, 230: 101–109.

You W.P, Henneberg M (2016). Type 1 diabetes prevalence increasing globally and regionally: the role of natural selection and life expectancy at birth. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 4(1) : e000161.

Sanjaya Y.A, Simon B, Widjanarko S.B, Setijawati D, Masruri (2016). Phytochemicals Properties and Fatty Acid Profile of Green seaweed *Caulerpa racemosa* from Madura, Indonesia. *International Journal of ChemTech Research*, 9(5): 425-431.

Zafar A, Ali I, Rahayu F (2022). Marine seaweeds (biofertilizer) significance in sustainable agricultural activities: A review. *IOP Conf. Series: Earth Environ. Sci*, 974 (1) : 012080.

Zhang T, Bai Y, Hong X, Sun L, Liu Y (2017). Particulate matter and heavy metal deposition on the leaves of *Euonymus japonicus* during the East Asian monsoon in Beijing, China. *PLoS One*, 12: 1–16.

Zhou K, Yu L (2004). Effect of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT - Food Science and Technology*, 37: 717- 721.

Zubia M, Draisma S.G.A, Morrissey K.L, Varela-Álvarez E, De Clerck O (2020). Concise review of the genus *Caulerpa* J.V. Lamouroux. *J Appl Phycol*, 32 : 23–39.

ANNEXE

Mode opératoire du dosage des protéines par la méthode de Lowry (1951)

- Broyer 1 g de *Caulerpa racemosa* + 25 ml d'eau physiologique avec un mortier sous un accumulateur de glace pour préserver les protéines puis filtrer. C'est la **solution X**.
- Mettre 1 ml de solution X dans un becher de 100 ml et compléter avec l'eau distillée en ajustant jusqu'à 100 ml. C'est la **solution Y**.
- Prendre les tubes à essai et mettre 1 ml de la solution Y dans chaque tube et préserver à 4°C pour ne pas dénaturer les protéines.
- Préparer le sérum albumine bovin (BSA) : 0.025 g de BSA dans 100 ml d'eau distillée.
- Préparer le réactif de Lowry (a+b)

Solution A : peser 1 g de NaOH + 5g de Na₂ CO₃, compléter avec l'eau distillée jusqu'à 250 ml.

Solution B : peser 0.125 g de SuSO₄ + 0.25 g de tetra Na⁺, K⁺ puis compléter jusqu'à 25 ml avec l'eau distillée.

Le réactif de Lowry est composé de la **solution c** : 50 ml de **solution A** + 5 ml de **solution B** à mélanger au moment de la manipulation.

- Prendre 6 tubes à essais pour la préparation BSA (courbe d'étalonnage) et 6 tubes pour préparer la solution à doser.

Pour les tubes de la BSA :

Tube 1 : 0.1 ml de la préparation + 0.9 ml d'eau physiologique.

Tube 2 : 0.2 ml de la préparation + 0.8 ml d'eau physiologique.

Tube 3 : 0.3 ml de la préparation + 0.7 ml d'eau physiologique.

Tube 4 : 0.4 ml de la préparation + 0.6 ml d'eau physiologique.

Tube 5 : 0.5 ml de la préparation + 0.5 ml d'eau physiologique.

Tube 6 : 0.6 ml de la préparation + 0.4 ml d'eau physiologique.

Et un tube témoin qui contient 1 ml d'eau distillée.

Pour les 6 tubes à essai de la solution à doser :

1 ml de la solution à doser **solution Y** + 5 ml de la **solution C** (réactif de Lowry).

Ajouter 5 ml de réactif de Lowry à tous les tubes BSA

- Agiter et laisser 10 min.
- Ajouter 0.5 ml du Folin Cyocateu dilué à moitié (5 ml de Folin+ 5 ml d'eau distillée) dans les tubes échantillons.
- Agiter avec le votrex et laisser 30 min à l'obscurité au réfrigérateur.
- Lecture au spectrophotomètre à 750 nm.

Expression des résultats :

A partir de la droite d'étalonnage et la densité optique (DO) mesuré des échantillons, on peut déterminer la concentration de l'échantillon correspondante en abscisse.

$$Y = A \times X$$

Y : Densité optique.

X : Concentration de l'échantillon en abscisse.

A : Constante.

La teneur en protéine exprimée en g/100 g d'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$C = X \times 25 \times 100 / \text{g poids de l'échantillon}$$

DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.6560521>

Antidiabetic effect of oral supplementation with *Caulerpa racemosa* powder

Nassima El Habitri ¹, Louiza Belkacemi ^{1,2*}

¹ Laboratoire de Technologie Alimentaire et de Nutrition, Site II EX-INES de Chimie, Chemin des Crêtes, BP 188, Abdelhamid IbnBadis University, Mostaganem, Algeria

² Ecole Supérieure d'Agronomie de Mostaganem, BP Mostaganem 2700 Ex Hall de Technologie-Kharrouba, Mostaganem, Algeria

* Corresponding author e-mail: louiza.belkacemi@univ-mosta.dz

Received: 03 February 2022; Revised submission: 18 April 2022; Accepted: 15 May 2022



<https://jbrodka.com/index.php/ejbr>
Copyright: © The Author(s) 2022. Licensee Joanna Bródka, Poland. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

ABSTRACT: Algae are known for their high nutritional value and the presence of bioactive compounds with anti-diabetic activity. In this study, the effects of oral supplementation with the whole powdered green alga *Caulerpa racemosa* was assessed on biochemical and organic parameters in rat model of type 2 diabetes. Type 2 diabetes model (DM) was induced by high fat diet (HFD) (5.75 kcal/g) combined to streptozotocin injection (35 mg/kg). The DM-C500 and DM-C1000 groups were maintained on HFD and supplemented orally during four weeks with powdered *C. racemosa* at 500 and 1000 mg/kg of body weight, respectively. The DM-C0 group was fed with HFD without *C. racemosa* supplementation. All the experimental rats were maintained on HFD during the 30 days of experiment. *C. racemosa* at 500 mg/kg improved fasting glycaemia and glucose tolerance. The IPGTT test revealed a decrease ($p < 0.05$) in the fasting glycaemia recorded at the 120th min from day 0 (534 ± 38.88 mg/dL) to day 30 (326 ± 63.05 mg/dL). *C. racemosa* supplementation prevented liver lipid peroxidation in DM-C500 and DM-C1000 group (12.94 ± 2.20 and 10.48 ± 1.15 nmol MDA/g, respectively) compared to DM-C0 group (35.49 ± 2.30 nmol MDA/g). *Caulerpa racemosa* at 500 mg/kg, and relatively at 1000 mg/kg, alleviated pancreatic, liver and renal tissue damages compared to DM-C0 groups which displayed injuries in their histological sections. *Caulerpa racemosa* oral supplementation could represent a possible natural approach to prevent organic and metabolic disorders related to type 2 diabetes.

Keywords: *Caulerpa racemosa*; Diabetes; Oral supplementation; IPGTT; Lipid peroxidation; Histopathology.

1. INTRODUCTION

Diabetes is a complex and life-threatening disease that causes 4.2 million deaths worldwide each year. Its prevalence has increased in recent decades in most developed and developing countries and the total number of diabetic will reach 700 million by 2045 if no effective prevention methods are adopted [1].

Type 2 diabetes mellitus, formerly known as non-insulin dependent diabetes mellitus, is the most common form of diabetes mellitus resulting from interaction between genetic, environmental and behavioral risk factors [2]. This metabolic disease is characterized by chronic hyperglycemia subsequent to a

defective insulin action, insulin secretion or both [3]. Chronic hyperglycemia induces numerous forms of both micro- and macrovascular complications [4], which often lead to premature death [2]. Even if type 2 diabetes has long been identified as an incurable chronic disease, the best outcome that has been expected is amelioration of diabetes symptoms or delaying its inevitable progression [5]. So, prevention and control of diabetes goes through the improvement of blood glucose, lipid profile and oxidative damages to avoid organic disturbances related to diabetes complications.

Traditional medicine, using terrestrial and marine resources, continues to be used around the world to treat diabetes and delay its complications. The development of natural resources as supplement or alternative to drugs is a concern that is becoming increasingly important in many countries. However, it is recommended to evaluate the safety and efficacy of herbal medicines with a view to standardizing their use and integrating them into conventional care systems [6].

Like terrestrial medicinal plants, seaweeds are also prescribed for many diseases in different traditional Asian medical systems [7]. Algae are known as a potential source of bioactive compounds with anti-diabetic [8], antioxidant and anti-cardiovascular activities [9-10]. Moreover, epidemiological studies comparing South-East Asian and Western-style diets have reported an association between the dietary intake of marine algae and a reduced prevalence of chronic diseases, including diabetes, hyperlipidemia and cardiovascular diseases [11].

Among marine seaweed, the green algae *Caulerpa racemosa* is known for its high nutritional value, including polyunsaturated fatty acids (PUFA), essential amino acids, minerals, dietary fibers, vitamins and natural bioactive compounds. The presence of natural bioactive compounds in *C. racemosa* contributes to its antioxidant, anticoagulant, antibacterial, anticancer and even antidiabetic power [12]. Studies performed on the anti-diabetic effect of *C. racemosa* were conducted by testing the in vitro [13-14] or in vivo [12] hypoglycemic effect of its extracts, but to our knowledge, no studies have been conducted on the effect of oral supplementation with whole *C. racemosa* on type 2 diabetes and its complication prevention. Our objective is therefore to preliminarily assess the effect of this supplementation on a possible prevention of type 2 diabetes complication through the evaluation of biochemical and histological parameters in induced-diabetes rats.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. *Caulerpa racemosa* harvesting

The green alga *Caulerpa racemosa* was collected from Salamandre station (Latitude N 35 54'37.94", Longitude E 0 3'17.37") in the coast of Mostaganem (Algeria), at a depth of 2 meters by a professional scuba diver. After harvesting, the algae were washed and then shade-dried. Dried samples were powdered, sieved and then stored.

2.2. Induction of type 2 diabetes model in rats

Twenty-four female Wistar rats weighing between 95 g and 120 g were purchased from the National Pasteur Institute (Algiers, Algeria). Rats were installed in polypropylene cages in a room maintained at $24 \pm 2^\circ\text{C}$ and subjected to 12 h/12 h light/dark cycle. Rats had free access to standard chow and water for one week. The composition of the standard chow (EL Alef, Tlemcen, Algeria) was: carbohydrates 31%, crude protein 16%, crude fat 3%, crude cellulose 3.9%, crude ash 4.9%, moisture 14%, and vitamins 1.7%. After one week of adaptation, the rats were divided randomly into two groups with similar mean body weights: the control group (n=6) was maintained on standard chow (2.15 Kcal/g) and the experimental group (n=18) was

subjected for eight weeks to high fat diet (HFD) and then streptozotocin injection in order to induce type 2 diabetes model according to Parveen et al. method [15] with slight modifications. For making HFD, sheep tallow was incorporated at a rate of 40% to standard chow. The total caloric value of the HFD was 5.75 kcal/g with 43% of calories from fat. After this period, all rats were fasted and injected intraperitoneally with streptozotocin (STZ 35 mg/kg, dissolved in citrate buffer, pH 4.5). The rats of the control group were injected with a citrate buffer solution. After 7 days, fasting blood glucose levels were checked using glucometer (Vital Check, Korea). All rats in the experimental group had fasting blood sugar levels greater than 140 mg/dL and displayed impaired glucose tolerance by the intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) (see section 3.3).

2.3. Oral supplementation with *Caulerpa racemosa*

The experimental group (DM: diabetes model) was divided into 3 groups:

- DM-C1000: DM rats maintained on HFD + oral supplementation with *Caulerpa racemosa* at 1000 mg/kg of body weight.
- DM-C500: DM rats maintained on HFD + oral supplementation with *Caulerpa racemosa* at 500 mg/kg of body weight.
- DM-C0: DM rats maintained on HFD without oral supplementation with *Caulerpa racemosa*.

The control group (CTRL) was maintained on the standard chow throughout the experiment.

This protocol was approved by the council of Food Technology and Nutrition Laboratory (The Faculty of Sciences of Nature and Life, University of Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem (Algeria)). The animals were treated according to the instructions of the Council of the European Communities on the protection of animals used in scientific investigations (86/609/CEE) [16].

2.4. Intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT)

The intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) was performed in all rats after an overnight fasting. A solution of D-glucose (20%, w/v) freshly prepared in distilled water was injected intraperitoneally in the experimental and control rats (2 g glucose/kg body weight). The glycaemia was measured with glucometer in the blood collected from the caudal vein before (0 min) and 30, 60 and 120 min after administration of D-glucose. The IPGTT test was performed 3 times: before the treatment (d0), 15th day (d15) and finally on the 30th day (d30) of the experiment. The total area under curve (AUC) was computed in each individual experiment.

2.5. Food intake and body weight

Food intake was monitored daily and body weight weekly.

2.6. Sacrifice and sample collection

After 30 days of supplementation (experiment period), the rats were sacrificed after an overnight fasting, under anesthesia provoked by the intraperitoneal injection of ketamine. The blood samples were obtained from the heart and placed in EDTA tubes. The blood was centrifuged and the plasma was used to determine biochemical parameters. The pancreas, liver, and kidney were collected and a portion of each organ was fixed for a histological study or kept at -20°C for further analyses.

2.7. Biochemical measurements

Fasting blood sugar (GODPOD method), total cholesterol (CHOD-PAP method) and triglycerides (GPO-PAP) were determined using Biomaghreb kits (Tunisia). Creatinine (Jaffe kinetic reaction), urea (urease

and glutamate dehydrogenase methods), alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), gamma-glutamyl transferase (GGT) and alkaline phosphatase (ALP) activities were measured using COBAS systems (Roche Diagnostic, Germany).

2.8. Estimation of lipid peroxidation in the liver by the Tbars method

Lipid peroxidation in liver was assessed according to Genot method [17]. Briefly, 2 g of the liver was placed in a tube containing 16 ml of 5% trichloroacetic acid and 100 μ l of vitamin C. The mixture was homogenized and then filtered. From this filtrate, 2 ml were added to 2 ml of thiobarbituric acid. The tubes were immersed in a water bath at 70°C for 30 min and then placed in a cold water bath. The assay absorbance was measured at a wavelength of 532 nm. The results were obtained by the following formula: MDA rate (nmol/g of liver tissue) = $[(0.72/1.56) \times (A_{532} \times \text{Solvent volume} \times \text{Filtrate volume}) / \text{sample weight (g)}] / 72.0636$.

2.9. Histological study

The organs (pancreas, liver and kidney) were fixed in a 10% (w/v) formaldehyde solution and embedded in paraffin. Sections (5 μ m) were deparaffined and rehydrated for hematoxylin-eosine staining (H&E). The organ slides were examined under an optical microscope (Olympus CX22LED, Tokyo) at x40 magnification.

2.10. Statistical analysis

All results were expressed as a mean \pm standard deviation (SD). The data were compared using a unidirectional variance analysis (ANOVA) followed by a post-hoc Duncan test. The statistical significance of the differences between the dependent mean values (IPGTT and AUC) was evaluated using the paired Student t test. $P < 0.05$ were considered significant. All data were statistically evaluated using the SPSS Statistical Software version 20.0 (Chicago, IL, USA).

3. RESULTS AND DISCUSSION

This study is a preliminary study that assessed the effects of oral supplementation with *Caulerpa racemosa* on biochemical and organic parameters in type 2 diabetes induced by high-fat diet and a single low-dose of streptozotocin. In the present study, the supplementation with sheep tallow in experimental groups at a rate of 40% (w/w) combined to streptozotocin injection induced hyperglycemia exceeding 140 mg/dL. This fasting blood glucose criterion was reported in some studies [15, 18-19] that induced type 2 diabetes in Wistar rats by the combination of high fat diet consisting in 40% calories from fat and low dose streptozotocin. It reported that phenotype and the pathogenesis of Human type 2 diabetes could be mimed in rats by means of a HFD to induce peripheral insulin resistance followed by low dose STZ injection which targets the pancreatic β -cells [20-21]. The diabetes model induced in these rats was a good tool to assess the effect of *C. racemosa* supplementation on delaying diabetes complications.

Weight gain in orally supplemented rats with whole powdered *C. racemosa* indicates that this alga was well tolerated by rats and did not interfere with their growth (Fig. 1). Nevertheless, it should be noted that supplementation at 500 mg/kg was effective in slow down weight gain (12.5 ± 4.18 g) (Fig. 1). Moreover, the food intake (Table 1) of DM-C500 group decreased markedly from day 1 to day 30 of the experiment ($p < 0.05$). It is well known that algae are a good source of dietary fibers that prolong the rate of gastric emptying and thus increase satiety and reduce food intake [11].

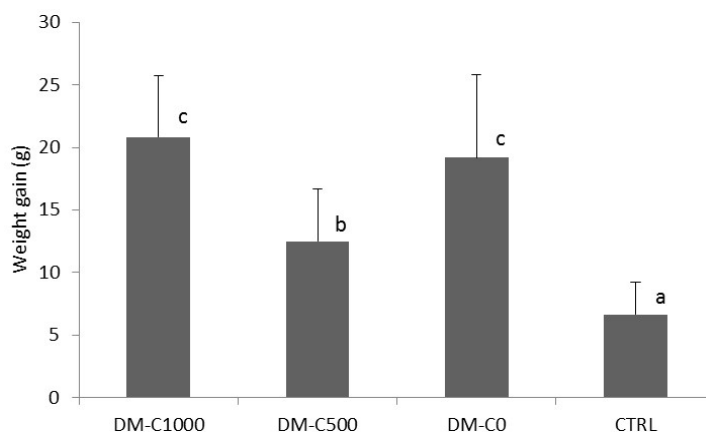


Figure 1. Body weight gain of rats from different groups over the 30 days of experimental period (mean \pm SD, n=6).

Besides, γ -sitosterol which has been identified and for the first time in the invasive *C. racemosa* from the west coast of Algeria (Mostaganem coast) [22], is reported to improve body weight and reduce dietary intake in diabetic rats [23]. Surprisingly, at 1000 mg/kg, *C. racemosa* failed to slow the body weight gain of rats (20.83 ± 4.91 g) and their food intake failed to differ significantly between the beginning and the end of the 30 days experiments ($p > 0.05$) (Table 1). The weight gain observed in this group could be explained by the relative toxicity of *C. racemosa* at the dose of 1000 mg/kg (see below) which could interfere with body weight control probably by affecting hormonal and/or nervous system.

Table 1. Calorie intake (Kcal/day) of control and experimental rats at the beginning (day 1) and the end (day 30) of experiment period (mean \pm SD, n=6).

Groups	Day 1	Day 30
DM-C1000	200.40 \pm 32.87 ^b	190.80 \pm 54.64 ^b
DM-C500	202.80 \pm 40.23 ^{b*}	142.80 \pm 13.21 ^{a**}
DM-C0	211.20 \pm 6.78 ^b	218.40 \pm 8.31 ^b
CTRL	107.50 \pm 3.51 ^a	106.42 \pm 4.11 ^a

Index letters (a, b, c) indicate a significant difference between different groups, * indicates a significant difference inside group ($p < 0.05$).

Decreased in dietary intake and body weight gain would contribute in reducing fasting blood sugar in DM-C500 rats to a level comparable to that of control rats (Table 2). In parallel, an improved glucose tolerance was observed in these rats after 30 days of *C. racemosa* supplementation. Indeed, the total AUC (Fig. 2) in the DM-C500 group tended to lower significantly ($p < 0.05$) from d0 (574.86 ± 58.7 g/L/min) to d30 (474.98 ± 57.52 g/L/min), whereas this decrease was negligible ($p > 0.05$) in the DM-C1000 group (574.87 ± 42.98 g/L/min and 542.77 ± 76.81 g/L/min, respectively at d0 and d30). So, it seems that *C. racemosa* at 500 mg/kg had a positive impact on glucose homeostasis and reversed hyperglycemia in DM-C500 group (Table 2).

This improvement is reflected by pancreatic islet structure (Fig. 3) which was preserved in DM-C500 group. Glucose intolerance was not well improved in DM-C1000 rats; nevertheless, their fasting blood glycaemia was lower than 300 mg/dL contrary to the DM-C0 (Table 2) whose pancreas slide (Fig. 5) revealed islet cell vacuolization, acinar cell degeneration and obvious accumulation of lipid droplets inside some islets.

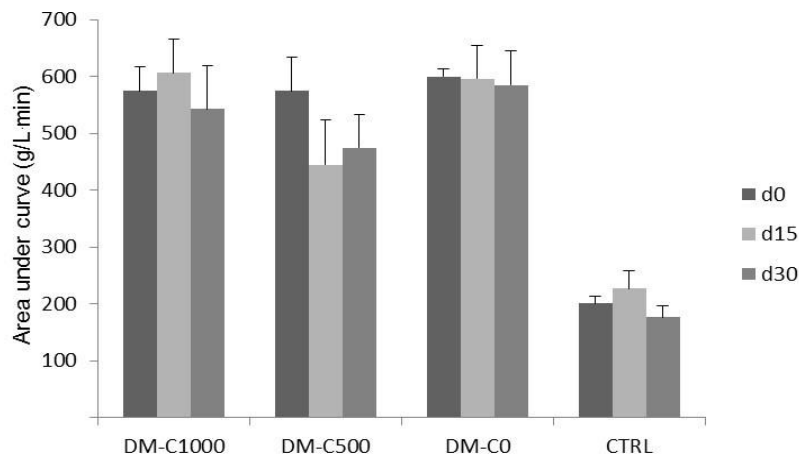


Figure 2. Area under the curve (AUC) during the IPGTT test performed on days d0, d15 and d30 of the experimental period (mean \pm SD, n=6).

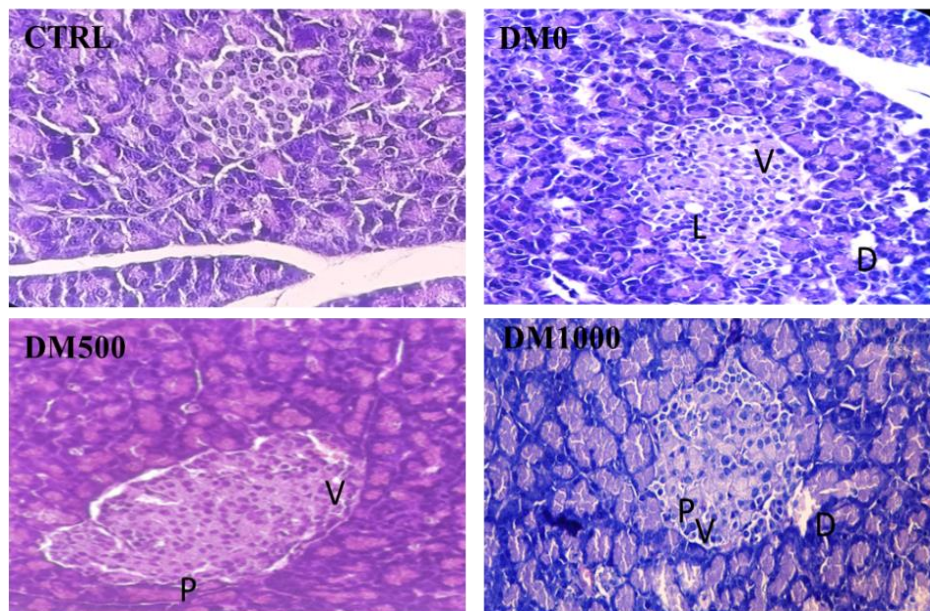


Figure 3. Photomicrograph of pancreas tissues from control and experimental groups rats (H&E staining, 400X).

D: degeneration; L: lipid droplet; P: pycnotic nucleus V: vacuolization.

Besides improving impaired glucose homeostasis, *C. racemosa* supplementation seemed to overcome lipid metabolism disturbances induced by high fat diet. This seaweed supplementation resulted in a dose-dependent decrease in plasma total cholesterol and triglycerides. In fact, among the experimental groups, DM-C1000 displayed the lowest total cholesterol and triglycerides levels followed by DM-C500 than DM-C0 rats (Table 2). Dietary fibers from seaweed are known to decrease intestinal circulation of bile acids and thereby up-regulate bile acid synthesis from cholesterol, which results in a decreased serum cholesterol level [24]. Besides, phytosterols contained in seaweed contribute to decrease intestinal cholesterol absorption. Seaweeds are reported to alleviate liver steatosis and normalize liver enzymes activities [24-25]. At this fact, *C. racemosa* supplementation improved hepatic steatosis especially in DM-C500 group (Fig. 4).

Table 2. Plasma biochemical parameters of control and experimental groups (mean \pm SD, n=6).

Rat groups	DM-C1000	DM-C500	DM-C0	CTRL
Fasting glucose (g/L)	2.44 \pm 0.59 ^b	1.05 \pm 0.25 ^a	3.34 \pm 0.65 ^c	1.21 \pm 0.2 ^a
Total cholesterol (g/L)	0.46 \pm 0.05 ^a	0.54 \pm 0.08 ^{ab}	0.61 \pm 0.06 ^b	0.52 \pm 0.03 ^a
Triglycerides (g/L)	0.41 \pm 0.04 ^a	0.51 \pm 0.13 ^a	0.64 \pm 0.2 ^a	0.47 \pm 0.02 ^a
AST (U/L)	126.50 \pm 27.25 ^b	102.25 \pm 13.07 ^{ab}	127.00 \pm 15.51 ^b	76.75 \pm 5.06 ^a
ALT (U/L)	43.00 \pm 8.16 ^b	35.75 \pm 6.18 ^{ab}	41.25 \pm 3.77 ^b	28.75 \pm 2.87 ^a
GGT (U/L)	2.20 \pm 1.10 ^b	1.20 \pm 0.45 ^{ab}	1.15 \pm 0.82 ^{ab}	0.30 \pm 0.34 ^a
ALP (U/L)	134.00 \pm 14.69 ^c	75.75 \pm 9.53 ^b	283.50 \pm 22.17 ^d	34.50 \pm 4.04 ^a
Urea (g/L)	0.25 \pm 0.03 ^a	0.28 \pm 0.0 ^a	0.41 \pm 0.14 ^b	0.29 \pm 0.02 ^a
Creatinine (mg/dL)	4.95 \pm 0.28 ^b	4.88 \pm 0.28 ^b	5.59 \pm 0.27 ^c	4.11 \pm 0.29 ^a

The index letters (a, b, c, d) indicate a significant difference ($p < 0.05$) between different groups of rats. ALT: alanine transaminase, AST: aspartate transaminase, GGT: gamma-glutamyl transferase, ALP: alkaline phosphatase.

In fact, lipid droplets faded, the liver tissue seems to recover its normal structure recalling that of the control animal and even binucleated cells were observed indicating possible cell regeneration. *C. racemosa* is a good source of Polyphenols [22] that act as antioxidants, reducing liver fat accumulation, mainly by inhibiting lipogenesis [26].

The decrease of food intake, the decrease the body-weight gain and the improved glucose homeostasis contributed to alleviate the liver steatosis and the disturbances of plasma liver enzymes activities in DM-C500 rats (Table 2). Besides, significant positive correlations were found between fasting glycaemia and AST ($r=0.669$, $p=0.005$), and ALP ($r=0.854$, $p=0.000$). However, no significant correlation was found between fasting glycaemia and ALT ($r=0.456$, $p=0.076$). Only some lipid droplets were depicted in DM- C1000 liver sections compared to those from DM-C0 whose liver parenchyma was disorganized and much disrupted hepatocyte structure associated with pycnotic nuclei was observed (Fig. 4). Furthermore, numerous lipid droplets, centrilobular mononuclear cells infiltration and numerous Kupffer cells were observed. According to Motshakeri et al. [27], Kupffer cells are activated in response to the high-fat diet. These histopathological evidences were in agreement with plasma levels of AST, ALT, and ALP which were higher in DM-C0 group (Table 2). The increase in these parameters reflects hepatocellular injury resulting in leakage of these cytosolic enzymes from damaged hepatocytes into blood [28] due to various reasons including liver cell necrosis, hepatitis, cirrhosis, and hepatotoxicity of some drugs [29]. At this fact, the high levels of these enzymes in the DM-C1000 group would reflect relative toxicity of *C. racemosa* at the 1000 mg/kg. Some algae at excessive dose could have a toxic effect on some organs. This fact was reported in Motshakeri et al. study [27] where oral administration of *Sargassum polycystum* extract at an excessive dose becomes toxic and has a deleterious effect on liver.

The hepatoprotective effect of *C. racemosa* at 500 mg/kg could be attributed to its positive impact on liver lipid peroxidation. Based on the obtained results, rats in the DM-C0 group who received only the high-calorie food without supplementation with *Caulerpa racemosa* had a lipid peroxidation almost 3 times higher (35.49 ± 2.30 nmol MDA/g) compared to DM-C500 (12.94 ± 2.20 nmol/g) and DM-C1000 (10.48 ± 1.15 nmol/g) and control group ($11,02 \pm 0.98$ nmol/g) ($p < 0.001$) (Fig. 5). Despite the fact that a long-term diet rich in saturated fats acts as an inducer of lipid peroxidation in the liver [30], this oxidation was prevented in orally supplemented rats with *C. racemosa*. This seaweed is known for its high content of phenolic compounds that have antioxidant power which would contribute in reducing lipid peroxidation. On the other hand, this

protective effect against lipid peroxidation could also be attributed to the presence of squalene in *C. racemosa* [22,31]. Squalene is recognized as a highly effective anti-radical agent, particularly against lipid peroxidation [31]. So, by reducing lipid peroxidation in liver, hepatocyte cell membrane structure and function were protected against free radicals that can be generated as a result of lipid peroxidation.

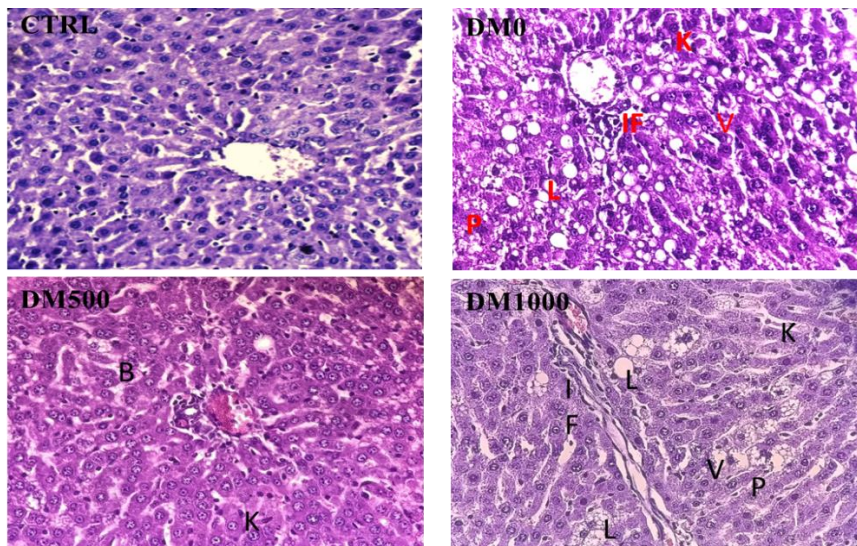


Figure 4. Photomicrograph of liver tissues from control and experimental groups rats (H&E staining, 400x). B: binucleated hepatocytes; K: Kupffer cells; IF: cell infiltration; L: lipid droplet; P: pycnotic nucleus; V: vacuolization.

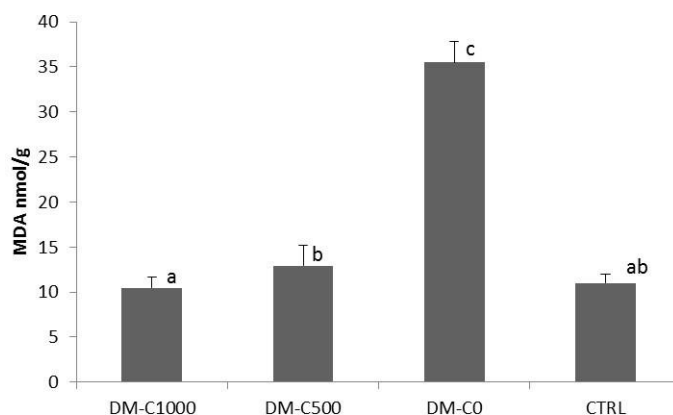


Figure 5. Lipid peroxidation in livers from control and experimental rats (mean ± SD, n=6). The index letters (a, b, c) indicate a significant difference ($p < 0.05$) between different groups of rats.

Examination of kidney histological slices was also performed in order to assess the effect of oral administration of whole *C. racemosa* on this organ. Renal histological sections revealed renal tissue injuries in DM-C0 group (Fig. 6). The animals of this group exposed to only high fat diet/low dose streptozotocin displayed disrupted structure of both proximal and distal tubules and even degenerated tubular cells. Hyperglycemia and hyperlipidemia contribute to renal tissues damages and brought about degenerations in convoluted tubules in the renal cortex [32]. These injuries seemed to be less extensive in DM rats orally supplemented with *C. racemosa* especially in those supplemented at 500 mg/kg. In fact, oral supplementation at 500 mg/kg did not affect renal cortex. The renal slides showed normal architecture with regular distal and

proximal tubules; glomeruli structure and Bowman space did not differ from those of control rats. At 1000 mg/kg supplementation, glomeruli had a compressed Bowman's space and most convoluted tubules had small lumen. Nevertheless, these rats displayed with DM-C500 group the lowest plasma urea and creatinine ($p < 0.05$) compared to DM-C0 rats. The serum levels of urea and creatinine are monitoring tests of renal function, however the creatinine is a much more reliable indicator of renal function than the urea because the urea is far more likely to be affected by dietary and physiologic conditions not related to renal function [33]. The renoprotective effect exerted by *C. racemosa* supplementation at 500 mg/kg could be attributed to their ability to inhibit oxidative stress induced by hyperglycemia. At this fact, Cao et al. [34] reported that polysaccharides of *C. racemosa* possess antioxidant and anti-inflammatory properties that can be applied to prevent progression of diabetic nephropathy. However, *C. racemosa* at 1000 mg/kg had a less improving effect on kidney and could even have a slight toxic effect on it like the one exerted on liver.

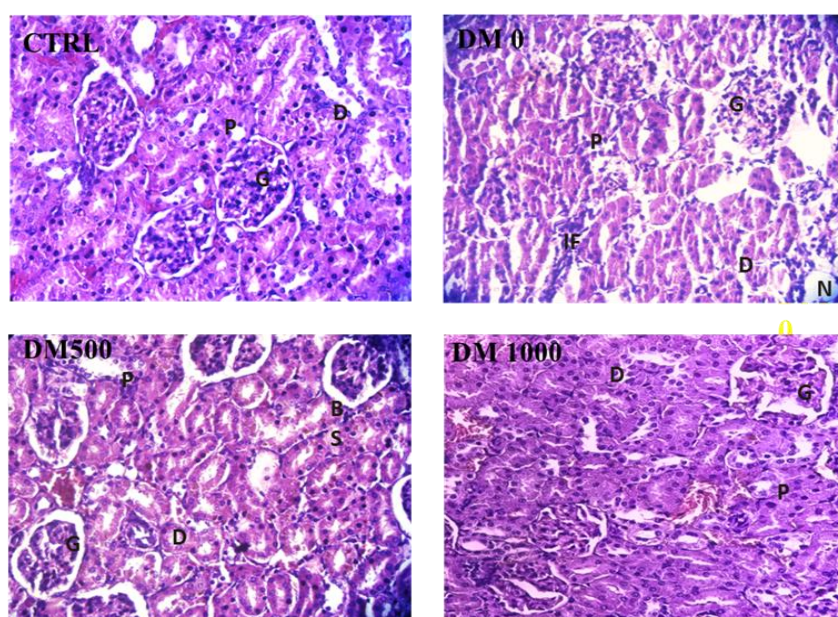


Figure 6. Photomicrograph of renal cortex tissues from control and experimental groups rats (H&E staining, 400x).

BS: Bowman's space; D: distal tubule; G: glomeruli; IF: cell infiltration; P: proximal tubule; V: vacuolization.

4. CONCLUSION

The present preliminary study indicates that oral supplementation with powdered *Caulerpa racemosa* at 500 mg/kg in rats was well tolerated and did not cause any damage on the organic and biochemical parameters. The data suggest that at this dose, *C. racemosa* exerted beneficial effect on the body mass and glucose homeostasis by improving glucose tolerance and thereby hyperglycemia. Thus, the oral administration of *C. racemosa* can offer a new natural approach to the management of diabetes and the delay of its associated metabolic and organic disorders. Further investigations on the anti-inflammatory activity of *C. racemosa* and its effect on the antioxidant defense system are needed. Finally, the possible toxicity effect of excessive dose of *C. racemosa* on body weight control and different tissues should be explored.

Authors' Contributions: LB planned, conceptualized, designed the experiment. Both LB and NEH contributed to the animal experiment and histology. NEH carried out the blood and Tbars analyses. Data analysis and histology

interpretation were performed by LB. NEH wrote the draft of article and LB restructured and completed it. Both authors approved to the final version of the manuscript.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding: This work was supported by the Direction de la Recherche Scientifique et de Développement Technologique (DGRST) under the PRFU program N° D00L01UN270120180001.

Acknowledgments: The authors are grateful to Sidali Belaid, professional diver and PhD student at Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem University for alga harvesting. We are also thankful to Dr Tarik Benmahdi, head of histology department at the regional veterinary laboratory and the veterinary Dr Amine Larbi for his valuable support.

REFERENCES

1. Lin X, Xu Y, Pan Y, Xu J, Ding Y, et al. Global, regional, and national burden and trend of diabetes in 195 countries and territories: an analysis from 1990 to 2025. *Sci Rep.* 2020; 10: 14790.
2. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman Med J.* 2021; 27: 269-273.
3. The expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diab. Care.* 1997; 20: 1183-1197.
4. Marcovecchio ML, Lucantoni M, Chiarelli F. Role of chronic and acute hyperglycemia in the development of diabetes complications. *Diabetes Technol Ther.* 2011; 13: 389-394.
5. Hallberg S J, Gershuni VM, Hazbun TL, Athinarayanan SJ. Reversing Type 2 Diabetes: A Narrative Review of the Evidence. *Nutrients.* 2019; 11: 766.
6. WHO. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine, WHO. 2000; 27-36.
7. Sharifuddin Y, Chin YX, Lim PE, Phang SM. Potential bioactive compounds from seaweed for diabetes management. *Mar Drugs.* 2015; 13: 5447-5491.
8. Unnikrishnan PS, Suthindhiran K, Jayasri MA. Antidiabetic potential of marine algae by inhibiting key metabolic enzymes. *Front Life Sci.* 2015; 2: 148-159.
9. Bocanegra A, Bastida S, Benedi J, Ródenas S, Muniz FJS. Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. *J Med Food.* 2009; 12: 236-258.
10. Cherry P, O'Hara C, Magee PJ, McSorley EM, Allsopp PJ. Risks and benefits of consuming edible seaweeds. *Nutr Rev.* 2019; 77: 307-329.
11. Lange KW, Hauser J, Nakamura Y, Kanaya S. Dietary seaweeds and obesity. *Food Sci Hum Well.* 2015; 4: 87-96.
12. Aroyehun AQB, Abdul Razak S, Palaniveloo K, Nagappan T, Rahmah NSN, et al. Bioprospecting cultivated tropical green algae, *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh: a perspective on nutritional properties, antioxidative capacity and anti-diabetic potential. *Foods.* 2020; 9: 1313.
13. Teixeira VL, Rocha FD, Houghton PJ, Kaplan MA, Pereira RC. Alpha-amylase inhibitors from Brazilian seaweeds and their hypoglycemic potential. *Fitoterapia.* 2007; 78: 35-36.
14. Agatonovic-Kustrin S, Morton DW. High-performance thin-layer chromatography HPTLC-direct bioautography as a method of choice for alpha-amylase and antioxidant activity evaluation in marine algae. *J Chromatogr.* 2017; 1530: 197-203.
15. Parveen K, Khan MR, Siddiqui WA. Antidiabetic effects afforded by *Terminalia arjuna* in high fat-fed and streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Int J Diabetes Metab.* 2011; 19: 23-33.

16. Council of European Communities. Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigations. Off J Eur Communities. 1986; 358: 1-28.
17. Genot C. Some factors influencing TBA test. Annual report of the Vth PCRD EU project: Dietary treatment and oxidative stability of muscle and meat products: nutritive value, sensory quality and safety. (Diet-ox) AIR III-CT-92-1577, 1997.
18. Parveen K, Khan MR, Mujeeb M, Siddiqui WA. Protective effects of Pycnogenol on hyperglycemia-induced oxidative damage in the liver of type 2 diabetic rats. Chem Biol Interact. 2010; 186: 196-227.
19. Sahin K, Tuzcu M, Orhan C, Sahin N, Kucuk O, et al. Anti-diabetic activity of chromium picolinate and biotin in rats with type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin. Br J Nutr. 2013; 110: 197-205.
20. Asrafuzzaman M, Cao Y, Afroz R, Kamato D, Gray S, et al. Animal models for assessing the impact of natural products on the aetiology and metabolic pathophysiology of type 2 diabetes. Biomed Pharmacother. 2017; 89: 1242-1251.
21. Vatandoust N, Rami F, Salehi AR, Khosravi S, Dashti G, et al. Novel high-fat diet formulation and streptozotocin treatment for induction of prediabetes and type 2 diabetes in rats. Adv Biomed Res. 2018; 7: 107.
22. Belkacemi L, Belalia M, Djendara AC, Bouhadda Y. Antioxidant and antibacterial activities and identification of bioactive compounds of various extracts of *Caulerpa racemosa* from Algerian coast. Asian Pac J Trop Biomed. 2020; 10: 87-94.
23. Balamurugan R, Duraipandiyan V, Ignacimuthu S. Antidiabetic activity of γ -sitosterol isolated from *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced diabetic rats. Eur J Pharmacol. 2011; 667: 410-418.
24. Murakami S, Hirazawa C, Ohya T, Yoshikawa R, Mizutani T, et al. The Edible Brown Seaweed *Sargassum horneri* (Turner) C. Agardh Ameliorates High-Fat Diet-Induced Obesity, Diabetes, and Hepatic Steatosis in Mice. Nutrients. 2021; 8: 551.
25. Kumar SA, Magnusson M, Ward LC, Paul NA, Brown L. Seaweed Supplements Normalise Metabolic, Cardiovascular and Liver Responses in High-Carbohydrate, High-Fat Fed Rats. Mar Drugs. 2015; 13: 788-805.
26. Del Ben M, Polimeni L, Baratta F, Pastori D, Angelic F. The role of nutraceuticals for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. Br J Clin Pharmacol. 2017; 83: 88-95.
27. Motshakeri M, Ebrahimi M, Goh YM, Othman HH, Hair-Bejo M, et al. Effects of brown seaweed (*Sargassum polycystum*) extracts on kidney, liver, and pancreas of type 2 diabetic rat model. Evid Based Complem Altern Med. 2014; 2014: 379407.
28. Rubido JCA. 2009. Liver function tests. In: Al Mahtab M, Eds. Liver: a complete book on hepato-pancreato-biliary diseases. India, Elsevier: 47-56.
29. Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, et al. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. Clin Chem. 2000; 46: 2050-2068.
30. Ulla A, Alam MA, Sikder B, Sumi FA, Rahman MM, et al. Supplementation of *Syzygium cumini* seed powder prevented obesity, glucose intolerance, hyperlipidemia and oxidative stress in high carbohydrate high fat diet induced obese rats. BMC Complem Altern Med. 2017; 17: 289.
31. Fernando IPS, Sanjeeva KKA, Samarakoon KW, Lee WW, Kim HS, et al. Squalene isolated from marine macroalgae *Caulerpa racemosa* and its potent antioxidant and anti-inflammatory activities. J Food Biochem. 2018; 42: 12628.
32. Ragavan B, Krishnakumari S. Antidiabetic effect of *T. arjuna* bark extract in alloxan induced diabetic rats. Indian J Clin Biochem. 2006; 21: 123-128.

33. Othman AI, Abdel-Ghaffar A, Mahmoud AM. Ketorolac- and warfarin-induced renal toxicity: ultrastructural and biochemical study. *JOBAS*. 2019; 80: 36.
34. Cao M, Li Y, Famurewa AC, Olatunji OJ. Antidiabetic and nephroprotective effects of polysaccharide extract from the seaweed *Caulerpa racemosa* in high fructose-streptozotocin induced diabetic nephropathy. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2021; 14: 2121-2131.