



DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRES

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**BENSMINE KHADIDJA**

**BOUGUEROUA KARIMA**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN (SCIENCES ALIMENTAIRES)**

**Spécialité : NUTRITION ET PATHOLOGIES**

**THÈME**

**Effet hypoglycémiant du polysaccharide d'algue  
verte *Ulva lactuca* chez les rats Wistar rendus  
diabétiques par alloxane**

Soutenue publiquement le ...../...../2019

DEVANT LE JURY

Président	<b>S. KEDDARI</b>	<b>MCA.U .Mostaganem</b>
Encadreur	<b>M.Y. BOUFADI</b>	<b>MCA.U .Mostaganem</b>
Examineurs	<b>A. CHAALEL</b>	<b>MCA.U .Mostaganem</b>

*Thème réalisé au Laboratoire de Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé-LMBAFS-*

## **Remerciements**

*Nous tenons d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, de nos avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce modeste travail.*

*Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Dr. BOUFADI Yasmina**, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nos remerciements à notre Professeur, **RIAZI Ali** responsable du master en Nutrition et Pathologies, et directeur du laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS). Merci d'avoir accepté de nous accueillir dans le laboratoire.*

*Nous adressons nos remerciements au **Dr Keddari Soumia**, Maître de Conférences classe « A » au Département de sciences Alimentaires, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nos profonds remerciements vont au **Dr Chaalel Abdelmalek**, Maître de conférences classe « A » au Département de sciences Alimentaires, qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également au **Dr. KEBIR** directeur du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem d'avoir accepté également à nous accueillir dans son laboratoire.*

*Nous aimerons remercier également **Pr. Marie-Pierre Gaigeot** et **Dr. REGIS Daniel** du Laboratoire d'Analyse et Modélisation pour la Biologie et l'Environnement (LAMBE), d'Université d'Evry-Val-d'Essonne, France pour leur aide.*

*Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin, principalement à tous l'effectif des services de laboratoires LMBAFS et LVRM.*

*Enfin, merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.*

# Table des matières

*Remerciements*

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

Introduction.....	1
Chapitre I : Le diabète .....	3
I.1. Epidémiologie.....	3
I.2. Prévalence mondiale du diabète.....	3
I.3. Prévalence en Algérie .....	4
I.4. Définition du diabète .....	4
I.4.1. Différents types du diabète .....	5
I.4.1.1. Le diabète de type 1 .....	5
I.4.1.2. Le diabète de type 2 .....	6
I.5. Le diabète expérimental.....	8
I.5.1. Diabète induit par l'alloxane .....	8
I.5.2. Structure.....	8
I.5.3. Mode d'action .....	9
I.6. les Complications du diabète .....	12
I.6.1. Les complications chroniques.....	12
I.6.1.1. Maladie des petits vaisseaux (microangiopathie) .....	12
I.6.1.2. Maladies des grands vaisseaux (macroangiopathie).....	12
I.6.2. Les complications aiguës .....	13
I.6.2.1. Acidocétose .....	13

I.6.2.2. Coma hyperosmolaire .....	13
I.6.2.3. Hyperglycémie diabétique .....	13
I.6.2.4. Céto-acidose .....	13
<b>Chapitre II : Les macroalgues .....</b>	<b>14</b>
II.1. Généralité sur les algues .....	14
II.2. Intérêt nutritionnel des macroalgues et leur effet sur la santé humaine .....	14
II.3. Les polysaccharides des macroalgues .....	17
II.3.1. Les polysaccharides matriciels des algues vertes .....	18
II.4. Les algues vertes.....	19
II.4.1. <i>Ulva lactuca</i> .....	19
II.4.1.1. Identification et caractéristiques .....	19
II.4.1.2. Habitat .....	19
II.4.1.3. Classification .....	20
II.4.1.4. Description.....	20
II.4.2. Les ulvanes, des polysaccharides aux applications médicales multiples .....	21
II.4.2.1. Action antivirale et antibactérienne .....	21
II.4.2.2. Effet antioxydant.....	22
II.4.2.3. Action anticoagulante .....	22
II.4.2.4. Action hypolipémiante.....	22
II.4.2.5. Action anticancéreuse et antiproliférative .....	23
<b>Chapitre III : Matériel et méthodes .....</b>	<b>24</b>
III.1. Matériel végétal .....	24
III.1.1. Extraction des polysaccharides d' <i>Ulva lactuca</i> .....	24
III.2. Matériel Animal.....	25
III.2.1. Choix d'animal .....	25
III.3. Induction du diabète .....	26

<b>III.4. Traitement des rats .....</b>	<b>27</b>
<b>III.5. Evolution du poids.....</b>	<b>28</b>
<b>III.6. Evolution de la glycémie .....</b>	<b>28</b>
<b>III.7. Sacrifice et prélèvement du sang et des organes.....</b>	<b>28</b>
<b>III.8. Dosage des paramètres biochimiques .....</b>	<b>29</b>
<b>III.9. L'étude histologique .....</b>	<b>29</b>
<b>III.9.1. Fixation et incubation .....</b>	<b>30</b>
<b>III.9.2. Enrobage et confection des coupes.....</b>	<b>31</b>
<b>III.9.3. Coloration et montage des coupes.....</b>	<b>32</b>
<b>III.9.4. Observations microscopiques.....</b>	<b>33</b>
<b>III.10. Analyse statistique.....</b>	<b>33</b>
<b>Chapitre IV : Résultats et discussion .....</b>	<b>34</b>
<b>IV.1.Comportement et symptômes cliniques .....</b>	<b>34</b>
<b>IV.2.Effet d'alloxane sur le poids corporel et l'action protectrice du polysaccharide d'<i>Ulva lactuca</i> .....</b>	<b>34</b>
<b>IV.3. Effet du polysaccharide d'<i>Ulva lactuca</i> sur les paramètres biochimiques du sang .....</b>	<b>37</b>
<b>IV.3.1. Effet du polysaccharide d'<i>Ulva lactuca</i> sur la glycémie .....</b>	<b>37</b>
<b>IV.3.2. Effet du polysaccharide d'<i>Ulva lactuca</i> sur le profil lipidique.....</b>	<b>39</b>
<b>IV.3.3. Effet du polysaccharide d'<i>Ulva lactuca</i> sur le taux des transaminases (ASAT et ALAT) .....</b>	<b>42</b>
<b>IV.4. Résultats de l'étude histologique .....</b>	<b>44</b>
<b>IV.4.1. Effet du polysaccharide d'<i>Ulva lactuca</i> sur l'histologie pancréatique .....</b>	<b>44</b>
<b>IV.4.2. Effet du polysaccharide d'<i>Ulva lactuca</i> sur l'histologie hépatique.....</b>	<b>47</b>
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>50</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>51</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>55</b>

## Liste des abréviations

**ALAT** : Alanine aminotransférase

**ASAT** : Aspartateaminotransférase

**ATP** : Adenosine triphosphate

**ERO** : espèces oxygénées réactives

**GLUT 2**: Glucose Transporter 2

**GLUT 4**: Glucose Transporter 4.

**HDL**: High Density Lipoproteins.

**HLA**: Human Leukocyte Antigen.

**MODY**: Maturity onset diabetes of the young

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**ONAB** : Office national des aliments du bétail

**PC** : Poids corporel

**TG** : Triglycéride

**UI** : Unité international

**ULPS** : *Ulva lactuca* polysaccharide

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : La prévalence du diabète dans le monde entre l'année 1980 et 2014 (OMS, 2016)....	4
<b>Figure2</b> : Mécanisme de dysfonctionnement de l'homéostasie du glucose dans le diabète de type 1 adapté de (Kharroubi et Darwish, 2015).....	6
<b>Figure 3</b> : Mécanisme de dysfonctionnement de l'homéostasie du glucose dans le diabète de type 2 adapté de (Kharroubi et Darwish, 2015).....	7
<b>Figure 4</b> : Structure chimique de l'alloxane (Lenzen, 2008).....	9
<b>Figure 5</b> : Réactions redox cyclables entre l'acide dialurique et l'alloxane (Lenzen, 2008) .....	10
<b>Figure 6</b> : Structure chimique des principaux disaccharides composés d'une répétition d'acide ulvano-biuronique A3s et B3s (Robic et al., 2009). .....	18
<b>Figure 7</b> : Ulva lactuca (Algue verte) (Garon-Lardiere, 2004) .....	21
<b>Figure 8</b> : localisation géographique de la plage de Stidia (station de récolte). .....	24
<b>Figure 9</b> : Processus d'extraction du polysaccharide de l'algue Ulva lactuca.....	25
<b>Figure 10</b> : Des rats Wistar dans leurs cages.....	26
<b>Figure 11</b> : Techniques du traitement et induction du diabète chez les rats. ....	27
<b>Figure 12</b> : prise de la glycémie du rat. ....	28
<b>Figure 13</b> : Prélèvement du matériel biologique. ....	29
<b>Figure 14</b> : Cobas intégral 400 plus et de réactifs du type Roche. ....	29
<b>Figure 15</b> : Photographie originale montrant l'étape de fixation et d'incubation. ....	31
<b>Figure16</b> : Photographie originale représentant l'étape d'enrobage et de confection. ....	32
<b>Figure 17</b> : Photographie originale récapitulant l'étape de coloration et celle du montage. ....	33
<b>Figure 18</b> : Evolution du gain du poids corporel des rats.....	35
<b>Figure 19</b> : Evolution du taux de la glycémie chez les rats diabétiques et non diabétiques recevant alloxane et ULPS. ....	38
<b>Figure 20</b> : Teneurs du triglycéride (g/L) chez les rats diabétiques et non diabétiques recevant alloxane et ULPS. ....	40
<b>Figure 21</b> : Teneurs de la cholestérolémie (g/L) et HDL (g/L) chez les rats diabétiques et non diabétiques recevant alloxane et ULPS. ....	41

<b>Figure 22:</b> Teneurs sériques en transaminases (UI/L) chez les rats diabétiques et non diabétiques recevant alloxane et ULPS. ....	43
<b>Figure 23 :</b> Aspect histologique du Pancréas des rats (Gx40).....	45
<b>Figure 24 :</b> Aspect histologique des foies des rats (Gx 10 /Gx40).....	48

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Caractéristiques chimique de l'alloxane (Lenzen, 2008).....	11
<b>Tableau 2</b> : Fibres alimentaires contenues dans certaines algues alimentaires marines (Lahaye, 1991).....	15
<b>Tableau 3</b> : Teneurs en iode de macro-algues autorisées pour l'alimentation humaine (CEVA, 2004).....	16
<b>Tableau 4</b> : Teneurs protéiques d'algues utilisées dans l'industrie alimentaire en % de poids sec total (Fleurence, 2015).....	17
<b>Tableau 5</b> : Classification d'Ulva Lactuca (Linnaeus, 1753).....	20
<b>Tableau 6</b> : Observations et analyses urinaires de rats rendus diabétiques non traités (groupe2) et à un traitement d'ULPS (groupe 4). ....	34

## Résumé

### Résumé

Les algues sont une source potentiellement riche de protéines, lipides, et antioxydants ainsi que les polysaccharides. Le présent travail s'oriente vers l'évaluation de l'effet hypoglycémiant et protecteur du polysaccharide d'algue verte *Ulva lactuca* de la côte ouest algérienne, sur des rats Wistar rendus diabétiques par alloxane. Cette étude a été réalisée sur un total de 36 rats mâles Wistar, divisés en six groupes et traités par une dose de 180 mg/kg de polysaccharide d'*Ulva lactuca* (ULPS) par gavage gastrique. Après quatre semaines d'expérience, les prélèvements sanguins ont été effectués par décapitation et les organes foie et pancréas ont été récupérés. Les principaux résultats de notre étude ont montré que l'ULPS baisse significativement le taux de glycémie d'environ 297%. En outre, l'ULPS a entraîné une diminution notable des taux sanguins de cholestérol et de triglycérides et une augmentation des taux de HDL-cholestérol chez les rats diabétiques traités. En plus, l'ULPS a protégé de manière significative les fonctions hépatiques, en diminuant les activités de l'aspartate transaminase (ASAT), de l'alanine transaminase (ALAT). Enfin, le Polysaccharide d'*Ulva lactuca* semble avoir des propriétés hypoglycémiantes et hypolipémiantes, qui permettent de prévenir l'apparition du diabète. L'ensemble de ces résultats obtenus in vivo ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives à partir d'algues marines. Des études complémentaires à long terme doivent être envisagées pour confirmer la bio-activité des algues marines ainsi que leur pouvoir thérapeutique.

**Mots clés** : *Ulva lactuca* ; Polysaccharides ; Hypoglycémie ; Diabète ; Alloxane ; Rats Wistar.

## Introduction

Le diabète est une affection chronique multifactorielle, qui est en pleine expansion dans le monde. Il constitue un véritable problème de santé publique et touche environ 366 millions de personnes, soit environ 4% de la population mondiale (Al-Achi, 2005).

Devant l'augmentation considérable du nombre de diabétiques et les effets secondaires des médicaments antidiabétiques, au cours des dernières décennies, une attention particulière a ciblé l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement et le contrôle de cette maladie conformément aux recommandations de l'OMS.

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, anti-virale (Chiu *et al.*, 2012; Go *et al.*, 2011). Les polysaccharides d'algues ont démontré qu'ils jouent un rôle important en tant que radical libre pour la prévention de dommages oxydatifs chez les organismes vivants (Anastyuk *et al.*, 2009; El Gamal *et al.*, 2012).

Les effets des polysaccharides bioactifs sur les maladies ont été largement étudiés dans plusieurs pays, parmi ces études épidémiologiques et cliniques : l'étude expérimentale menée par Barcelo *et al.* (2000) sur l'utilisation d'alginate et d'ulvanes chez des rats comme stimulant de la sécrétion de mucine, a permis de démontrer leur potentiel comme médicament protecteur de la muqueuse gastrique .

L'objectif de ce travail vise à **déterminer l'effet hypoglycémiant d'algue verte *Ulva lactuca* en tant que molécule nutritionnelle sur le diabète expérimental induit par l'alloxane.**

Pour répondre à cet objectif, notre recherche a été appliquée sur des rats Wistar recevant du polysaccharide, afin de déterminer l'influence des algues sur les paramètres biochimiques et sur l'aspect histologique. Un modèle de rat diabétique a été conçu pour tester l'efficacité de ces préparations *in vivo*.

Dans les deux premiers chapitres de ce mémoire dédiés à l'étude bibliographique du diabète dans laquelle, une place privilégiée a été réservée au diabète expérimental et sur des

# INTRODUCTION

généralités sur les algues et leurs bienfaits. Dans le troisième chapitre c'est la partie « matériel et méthodes », ce chapitre est destiné à donner et à expliquer les différentes méthodes utilisées. Le quatrième chapitre, est scindé aux différents résultats obtenus au cours de cette expérimentation ainsi que des discussions.

Enfin, une conclusion globale et les perspectives envisagées pour la suite du projet seront décrites.

## **Chapitre I : Le diabète**

### **I.1. Épidémiologie**

Du fait du vieillissement de la population et de l'augmentation de la fréquence de l'obésité, le diabète est assimilé à une épidémie (OMS, 2010). En effet, même s'il ne s'agit pas d'une pathologie transmissible, l'accroissement du nombre de cas de diabète l'apparente à une épidémie (littéralement « qui circule dans le peuple »). L'OMS, dès 2008, incluait le diabète dans le plan d'action pour la stratégie mondiale de lutte contre les maladies non transmissibles.

L'OMS estime actuellement à environ 422 millions diabétiques dans le monde. Ce chiffre a pratiquement doublé depuis 1980 (OMS, 2016). L'essentiel de l'augmentation du nombre de diabétiques se produira dans les années à venir dans les pays en développement du fait de l'accroissement démographique, du vieillissement de la population, de l'augmentation de l'obésité et de la sédentarité. Dans les pays développés, la plupart des diabétiques seront âgés de 65 ans et plus.

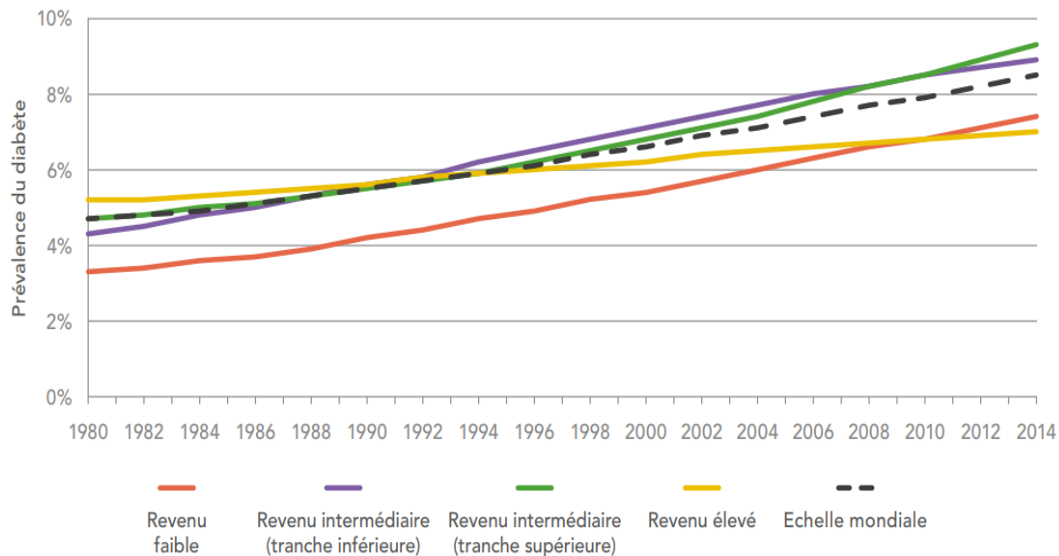
### **I.2. Prévalence mondiale du diabète**

Une étude épidémiologique avait montré que le nombre de personnes diabétiques dans le monde augmenterait jusqu'à 552 millions en l'an 2030. Cela est dû aux divers changements démographiques, dont le vieillissement des populations dans les pays développés, ainsi que l'effet de l'urbanisation qui mène à avoir une vie plus sédentaire (Whiting et al., 2011). Le dernier rapport de l'organisation mondiale de la santé (OMS) parut en 2016 sur le diabète, estimait que le nombre de diabétiques dans le monde était en constante évolution et augmentation ayant atteint 422 millions en l'an 2014 (OMS, 2016). La prévalence du diabète entre 1980 et 2014 est illustrée dans la figure tirée de ce même rapport (fig. 1).

Ces 3 dernières décennies, la prévalence du diabète a sensiblement augmenté dans les pays à tous les niveaux de revenu, reflétant la hausse mondiale du nombre des personnes en surpoids ou obèses. La prévalence mondiale du diabète a augmenté, passant de 4,7 % en 1980 à 8,5 % en 2014, la période pendant laquelle la prévalence dans chaque pays a augmenté ou est, au mieux, restée inchangée (WHO, 2014). Au cours de cette dernière décennie, la prévalence du diabète a progressé plus rapidement dans les pays à revenu faible ou intermédiaire que dans les

# CHAPITRE I: LE DIABÈTE

pays à revenu élevé. La région OMS de la méditerranée orientale a enregistré la hausse la plus forte et elle est désormais la région de l'OMS où la prévalence est la plus élevée (13,7%).



**Figure 1** : La prévalence du diabète dans le monde entre l'année 1980 et 2014 (OMS, 2016)

## I.3. Prévalence en Algérie

En Algérie, le diabète reste cependant une réalité préoccupante puisqu'il s'agit de la deuxième maladie chronique après l'hypertension. Le nombre des diabétiques en Algérie est passé d'un million de personnes en 1993, à plus de 2 500 000 en 2007, soit 10% de la population en 2010 (INSP, 2009).

Il s'avère qu'en Algérie, la fréquence du diabète varie de 1,3% dans les régions du Sud, où les gens sont maigres en raison des conditions de vie difficiles à 8%, 14% et 16% dans les villes du Nord où l'activité physique est réduite, l'obésité et le syndrome métabolisme augmentent chez les adultes et les enfants en raison de troubles de l'alimentation. Le surpoids et l'obésité sont positivement corrélés avec l'énergie totale, la consommation de gras et d'acides gras saturés (Chentli *et al.*, 2013). Cependant, les données relatives à la fréquence du diabète type 1 restent insuffisantes en Algérie.

## I.4. Définition du diabète

Le diabète sucré est une affection métabolique caractérisée par l'augmentation du taux de sucre sanguin (hyperglycémie), qui perturbe le métabolisme des glucides, des lipides et des

# CHAPITRE I: LE DIABÈTE

protéines. L'affection est due à une défaillance de la sécrétion d'insuline, de l'action de l'insuline ou des deux (Barakat *et al.*, 2010).

Selon L'OMS, le diabète est une affection métabolique caractérisée par la présence d'une hyperglycémie chronique résultant d'une déficience de sécrétion d'insuline provoquée par un dysfonctionnement des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans, d'anomalies de l'action de l'insuline sur les tissus cibles, ou de l'association des deux (WHO, 1991).

D'après les recommandations de l'OMS, le diabète sucré est caractérisé par une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/L (à deux reprises). Cette définition est fondée sur le seuil glycémique à risque de microangiopathie, en particulier à risque de rétinopathie ou une glycémie aléatoire supérieure ou égale à 2g/L et signes cliniques d'hyperglycémie (Young *et al.*, 2007).

## I.4.1. Différents types du diabète

L'étiologie du diabète définit différents types, dont deux types sont majoritaires ; c'est le type 1 et le type 2. Il existe d'autres formes comme le diabète gestationnel qui est défini comme une intolérance au glucose conduisant à une hyperglycémie diagnostiquée pour la première fois au cours de la grossesse et qui peut disparaître ou pas après l'accouchement.

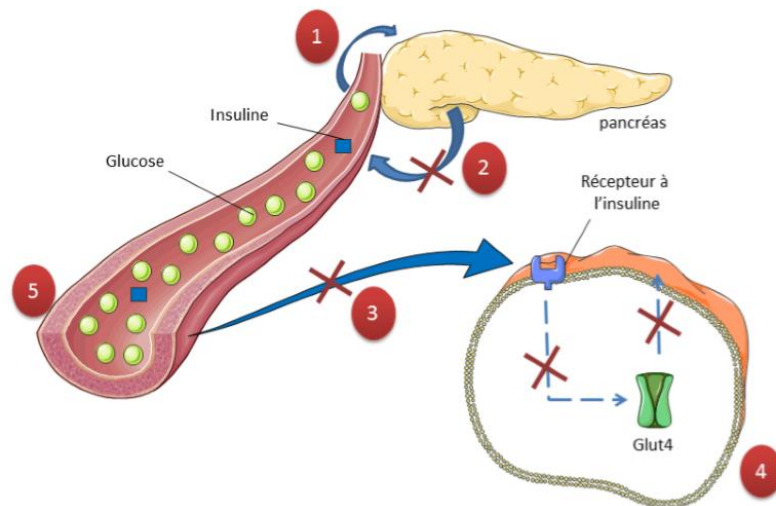
Autres types particuliers comprennent une grande variété de troubles relativement peu courants, surtout des formes de diabète définies génétiquement (diabète MODY : Maturity-Onset Diabètes of the Young) ou associées à d'autres maladies (pancréatite, mucoviscidose) ou à des médicaments (corticoïdes) (ADA, 2015).

### I.4.1.1. Le diabète de type 1

Le diabète de type 1, anciennement connu sous le nom de diabète insulino-dépendant (DID), est caractérisé par une absence ou une trop faible production d'insuline par les cellules du pancréas (fig. 2). C'est une maladie qui apparaît le plus souvent durant l'enfance ou l'adolescence. Environ 65 000 enfants âgés de moins de quinze ans développent chaque année, dans le monde, un diabète de type 1 (Usher Smith *et al.*, 2012). C'est une maladie auto-immune au cours de laquelle les défenses de l'organisme, en particulier des anticorps produit par des lymphocytes, détruisent les cellules bêta du pancréas, d'où l'incapacité de l'individu atteint à sécréter de l'insuline (Grimaldi, 2009). Le diabète de type 1 représente environ 10% des cas de

# CHAPITRE I: LE DIABÈTE

diabète dans le monde. Le traitement du diabète de type 1 repose sur des injections d'insuline pour compenser le défaut de production de cette hormone par les cellules bêta pancréatique.



**Figure2 :** Mécanisme de dysfonctionnement de l'homéostasie du glucose dans le diabète de type 1 adapté de (Kharroubi et Darwish, 2015).

- 1) La présence de glucose va stimuler les cellules du pancréas pour libérer de l'insuline.
- 2) Les cellules  $\beta$  du pancréas ne produisent pas ou très peu d'insuline.
- 3) et 4) Défaut de transduction du signal induit par l'insuline et défaut de la translocation du transporteur de glucose (GLUT4) ce qui conduit à un défaut de la captation du glucose par les cellules musculaire lisses, les adipocytes ou le foie.
- 5) Hyperglycémie résultant d'une accumulation de glucose dans le sang.

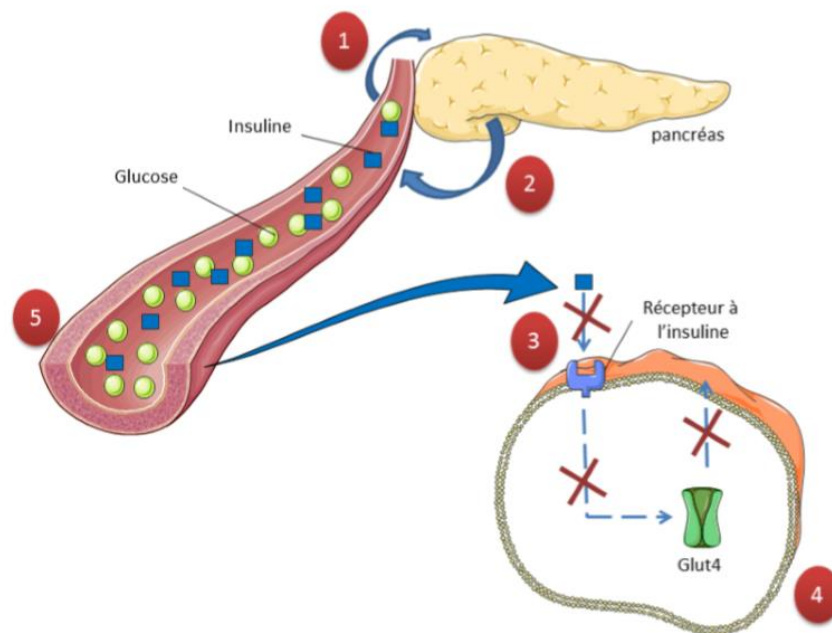
## I.4.1.2. Le diabète de type 2

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID) est caractérisé par un défaut d'action de l'insuline (insulino-résistance) qui peut évoluer vers une insulino-pénie, c'est-à-dire une trop faible production d'insuline par le pancréas, dû à un épuisement des cellules sécrétrice

## CHAPITRE I: LE DIABÈTE

d'insuline. Il en résulte une hyperglycémie chronique (fig. 3). C'est la forme la plus fréquente du diabète (90% des cas de diabète traités) (Kharroubi et Darwish, 2015).

Les causes du diabète du type 2 sont multiples. Il existe en effet plusieurs facteurs de risque responsables de l'apparition du diabète de type 2 : l'obésité, l'inactivité physique, une alimentation mal équilibrée mais aussi des antécédents familiaux. Environ 70% des personnes atteintes de diabète de type 2 sont obèses et l'obésité elle-même peut causer ou aggraver l'insulino-résistance (Alberti et Zimmet, 1998). De nombreuses personnes atteintes de diabète de type 2 en sont longtemps inconscientes car plusieurs années peuvent s'écouler avant que les symptômes n'apparaissent ou soient reconnus.



**Figure 3 :** Mécanisme de dysfonctionnement de l'homéostasie du glucose dans le diabète de type 2 adapté de (Kharroubi et Darwish, 2015).

- 1) La présence de glucose va stimuler les cellules du pancréas pour libérer de l'insuline.
- 2) Production d'insuline par les cellules  $\beta$ -pancréatiques.
- 3) et 4) L'insuline ne fonctionne pas correctement et on a une défaillance de la transduction du signal induit par l'insuline et un défaut de la translocation du transporteur de glucose

# CHAPITRE I: LE DIABÈTE

(GLUT4) ce qui conduit à une mauvaise captation du glucose par les cellules musculaire lisses, les adipocytes ou le foie.

5) Hyperglycémie résultant d'une accumulation de glucose dans le sang.

## I.5. Le diabète expérimental

Le diabète expérimental consiste à produire, chez l'animal, un état comparable au diabète sucré, en vue de mieux comprendre le diabète sucré de l'homme ou de trouver de nouvelles thérapies (Wright *et al.*, 1980).

Le diabète expérimental a été induit chez les animaux de laboratoire par plusieurs méthodes : chimique, chirurgicale ou génétique (immunologique). La plupart des expériences sur le diabète sont effectuées chez les rongeurs, bien que certaines études soient encore effectuées sur les plus grands mammifères (les lapins, les singes, les chats...) (Etuk, 2010).

Deux agents sont couramment utilisés pour induire une pancréatectomie chimique, tous deux des analogues du glucose : l'alloxane, dérivé pyrimidique (synthétisé en 1938) et la streptozotocine, agent antimicrobien et alkylant.

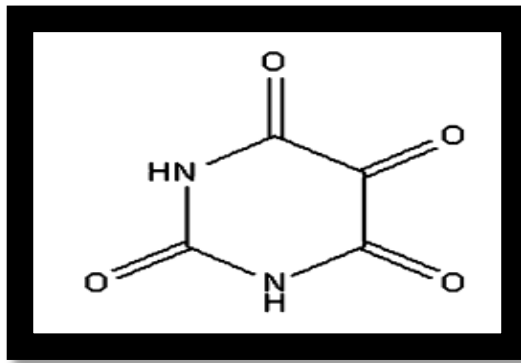
### I.5.1. Diabète induit par l'alloxane

L'alloxane est un dérivé pyrimidique (acide urique) qui a été synthétisé en 1838 Wohler. C'est le produit chimique le plus couramment utilisé pour l'induction du diabète mellitus. C'est un agent bien connu largement utilisé pour induire un diabète de type 1 chez les animaux tels que : les lapins, les rats, les souris et les chiens (Etuk, 2010).

### I.5.2. Structure

Structure d'alloxane (2,4,5,6 tetraoxypérimidine) (fig.4), (tableau 1), est utilisé dans l'induction du diabète de type 1 chez les modèles animaux (souris, rats, etc.) (Sandler et Swenne, 1983).

## CHAPITRE I: LE DIABÈTE



**Figure 4 :** Structure chimique de l'alloxane (Lenzen, 2008)

### I.5.3. Mode d'action

L'alloxane, par une analogie structurale au glucose, pénètre à travers les transporteurs de glucose GLUT2 des cellules  $\beta$  pancréatiques. Au cytosol, l'alloxane est réduit en acide dialurique. Cette réduction est assurée par plusieurs agents tels que le glutathion réduit, la cystéine, l'acide ascorbique et les groupements SH des protéines (Lenzen *et al.*, 1988).

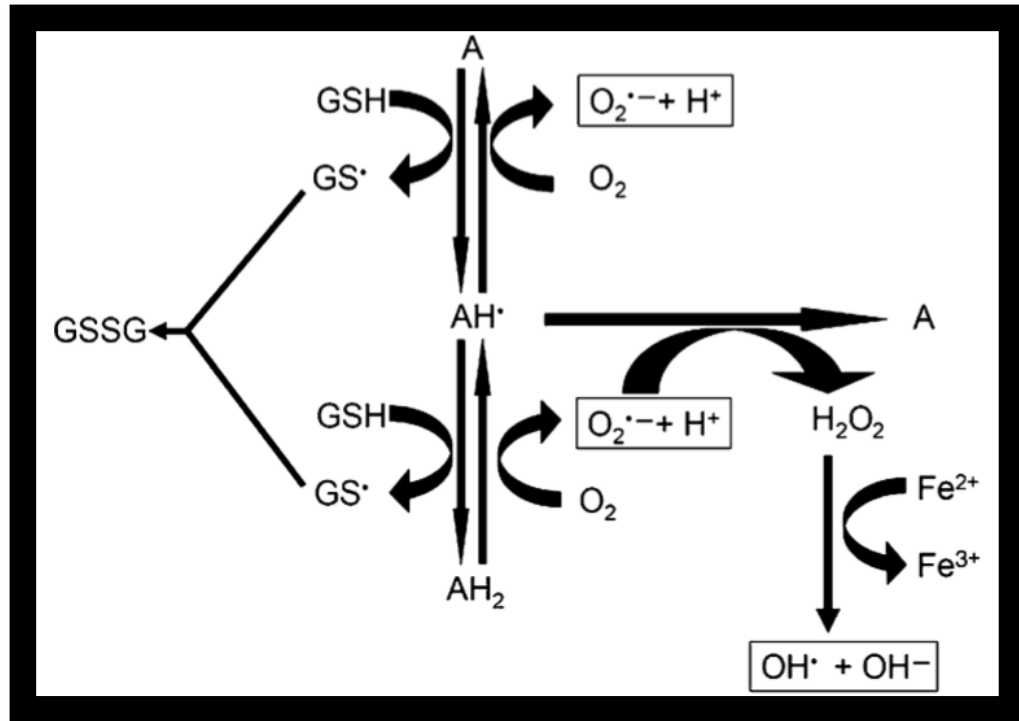
L'alloxane a un groupe 5 carbonyle central qui réagit très avidement avec des groupes thiol. La glucokinase est l'enzyme thiol le plus sensible de la cellule  $\beta$ . À des concentrations élevées, l'alloxane peut inhiber nombreuses enzymes fonctionnellement importantes, ainsi que d'autres protéines et fonctions cellulaires (Lenzen, 2008). L'alloxane se relie avec deux groupements thiol du site actif de la glucokinase formant un pont disulfure et inactivant l'enzyme (Lenzen *et al.*, 1988).

L'inhibition de la glucokinase, réduit l'oxydation du glucose et la génération de l'ATP, ce qui supprime le signal d'ATP, qui déclenche la sécrétion d'insuline. L'inhibition de la glucokinase est atteinte en 1 min d'exposition à l'alloxane. Cet effet peut être expliqué par une réduction initiale de la consommation d'ATP, résultante d'un blocus de la phosphorylation du glucose par la glucokinase, ce qui produit une augmentation transitoire de l'ATP dans la cellule  $\beta$  et déclenche une libération transitoire de l'insuline (Lenzen, 2008).

L'acide dialurique formé est ré-oxdé en alloxane (fig.5), ce qui génère des espèces réactives oxygénées et active à la réaction de Fenton (Ankur et Shahjad, 2012). L'alloxane

## CHAPITRE I: LE DIABÈTE

inhibe la sécrétion de l'insuline glucose-dépendante et augmente la perméabilité des membranes des cellules  $\beta$  (Ankur et Shahjad, 2012).



**Figure 5:** Réactions redox cyclables entre l'acide dialurique et l'alloxane (Lenzen, 2008)

A, alloxane; AH<sup>\*</sup>, radical alloxane; AH<sub>2</sub>, acide dialurique; GS<sup>\*</sup>, radical glutathion; GSSG, glutathion oxydé; OH<sup>\*</sup>, radical hydroxyle; O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, radical superoxyde

En outre, la perturbation de l'homéostasie de calcium intracellulaire, également été signalé à constituer une étape importante dans l'action diabétogène de l'alloxane. Il a été noté que l'alloxane cytosolique libre augmente la concentration du Ca<sup>2+</sup> dans les cellules  $\beta$  pancréatique. L'afflux de calcium est entraîné la capacité de l'alloxane de dépolariser les cellules  $\beta$  du pancréas, qui s'ouvre en outre tension les canaux calciques voltage-dépendants et améliore l'entrée du calcium dans des cellules pancréatiques. La concentration accrue d'ion Ca<sup>2+</sup> contribue davantage à supra physiologique la libération d'insuline, qui avec ERO a été noté finalement causer des dommages des cellules  $\beta$  des îlots pancréatiques (Ankur et Shahjad, 2012).

## CHAPITRE I: LE DIABÈTE

L'alloxane exerce son action diabétogène quand il est administré par voie parentérale : intraveineuse, intra péritonéale ou sous-cutanée. La dose requise de l'alloxane pour induire un diabète dépend de l'espèce animale. Les îlots de Langerhans de l'espèce humaine sont nettement plus résistants à l'alloxane que ceux du rat et de la souris. La dose intra-péritonéale inférieure à 50 mg/kg en poids brut peut être insuffisante pour induire un diabète chez le rat (Szkudelski, 2001).

**Tableau 1 :** Caractéristiques chimique de l'alloxane (Lenzen, 2008)

<b>Alloxane</b>	
<b>Nom chimique</b>	2,4,5,6-Tetraoxypyrimidine; 2,4,5,6-pyrimidinetetrone
<b>Structure chimique</b>	Pyrimidine oxygénée; dérivé de l'acide barbiturique (5 acide ketobarbituric)
<b>Les propriétés chimiques</b>	Très hydrophile, bêta cellule toxique ; analogue du glucose (partition coefficient -1,8); acide faible Hydrophile Chimiquement instable (demi-vie de 1,5 min à pH 7,4 et 37 ° C, décomposition de l'acide alloxanique) ; Stable à pH acide.
<b>Réactivités chimiques</b>	Réactif de type thiol qui est réduite à acide dialurique, en présence de GSH et d'autres thiols A protoxine; intracellulaire métabolisme des xénobiotiques cette génère des ROS toxique par cycle redox avec de l'acide dialurique sur une période de temps longue (> 1h) Le composé 305', un non-toxique alloxan-GSH produit d'addition d'inconnu Structure avec une caractéristique absorbance à une longueur d'onde de 305 nm; une petite quantité est formée au cours de chaque cycle d'oxydoréduction.
<b>Mode de toxicité</b>	Génération de ERO

# CHAPITRE I: LE DIABÈTE

## I.6.les Complications du diabète

L'évolution du diabète sucré insuffisamment ou mal traité peut être émaillée de plusieurs complications. On distingue des complications dégénératives, infectieuses et métaboliques aiguës.

### I.6.1. Les complications chroniques

#### I.6.1.1.Maladie des petits vaisseaux (microangiopathie)

La microangiopathie touche les petits vaisseaux (artérioles, veinules et capillaires de diamètre inférieur à 30  $\mu\text{m}$ ).Elle associe une modification structurale de la lame basale endothéliale à une augmentation de la perméabilité pariétale à l'origine de la fuite des protéines plasmatiques (Duronet, 2005), Elle concerne indifféremment tous les tissus et organes, mais ses manifestations cliniques ne deviennent sensibles qu'au niveau des fibres nerveuses (neuropathie), des microvaisseaux rénaux (néphropathie) et rétiniens (rétinopathie) (Geoffroy, 2005).

#### I.6.1.2.Maladies des grands vaisseaux (macroangiopathie)

L'athérosclérose est devenue la première cause de décès des diabétiques, il s'agit de complications macrovasculaires ; une atteinte des artères de calibre supérieur à 200 $\mu\text{m}$ . Le diabète est associé à une athérosclérose apparaissant généralement de manière précoce.

La macroangiopathie s'aggrave quand le diabète est associé à une hypertension artérielle et une dyslipidémie. Elle concerne le cœur (infarctus du myocarde), le cerveau (AVC ischémique qui est 2 à 5 fois plus fréquents que dans la population non diabétique) et les membres inférieurs avec l'artérite (Chevenne, 2004).

La pathogenèse des macro-complications met en jeu trois facteurs principaux : des anomalies lipidiques (en particulier des modifications quantitatives et qualitatives des lipoprotéines), des anomalies de l'hémostase (hyperactivité plaquettaire et état de procoagulant) et des modifications pariétales (épaississement et perte de compliance de la paroi vasculaire) (Geoffroy, 2005).

# CHAPITRE I: LE DIABÈTE

## **I.6.2. Les complications aigües**

### **I.6.2.1. Acidocétose**

Elle se développe chez un patient diabétique qui oublie son injection d'insuline ou pour lequel le nombre d'unités à injecter est inadapté (en raison d'une augmentation des besoins).

Le déficit en insuline provoquée : une augmentation de la lipolyse, avec une libération accrue des acides gras libre dans le sang circulant, hypertriglycéridémie et d'autres perturbations rénales et gastriques (William et al., 2005).

### **I.6.2.2. Coma hyperosmolaire**

C'est une complication due à une hyperglycémie sévère, en association avec une déshydratation profonde et une osmolarité plasmatique très élevée. Elle se manifeste chez les diabétiques âgés touchés par le diabète type 2 (William et al., 2005).

### **I.6.2.3. Hyperglycémie diabétique**

C'est une complication qui se manifeste chez les diabétique (type 1 et 2) utilisant l'insuline ou traités par des antidiabétique sulfosylurée (William et al., 2005).

### **I.6.2.4. Céto-acidose**

La céto-acidose, est une carence absolue ou relative en insuline chez le diabétique de type1 surtout (William et al., 2005).

### **Chapitre II : Les macroalgues**

#### **II.1. Généralité sur les algues**

Les algues sont des organismes aquatiques primitifs qui vivent naturellement dans les plans d'eau, elles sont capables de produire leurs propres matières organiques par photosynthèse. Dépourvus de racines, de tiges et de feuilles, mais possédant de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments accessoires pour réaliser la photosynthèse productrice d'oxygène. La plupart des algues se développent en milieu aquatique d'eau douce, saline ou saumâtre, sur des rochers humides, ou sur un sol mouillé mais certaines sont terrestres et sont capables de se développer sur le sol ou sur le tronc des arbres (Sahnoun et Chenine, 2017).

Les algues sont classées dans le groupe des thallophytes puisque leur corps est un thalle, mais du fait de la diversité des formes, certaines espèces phytoplanctoniques sont classées dans le règne des protistes qui regroupe les eucaryotes unicellulaires. La taille des algues peut varier de la cellule microscopique unique, à quelques cellules en colonie et jusqu'à 7,5 m (laminaires, sargasses) pour certaines formes multicellulaires (Sahnoun et Chenine, 2017).

#### **II.2. Intérêt nutritionnel des macroalgues et leur effet sur la santé humaine**

Dans l'histoire humaine, la consommation des macro-algues est ancestrale et remonte à environ 5000ans, alors qu'elles étaient utilisées pour leurs vertus médicinales dans les écoles de médecine chinoise, japonaise et indienne (Mouritsen, 2015).

En France, la consommation directe des macro-algues pour leurs vertus nutritionnelles s'est vulgarisée dans les années 1970, sous l'impulsion de nombreux consommateurs végétariens (Mouritsen, 2015).

En outre, plusieurs études épidémiologiques menées en Asie mettent en avant le rôle des algues sur la santé et, plus particulièrement, ses probables bénéfices sur l'incidence des cancers du sein, de la prostate ou du colon ainsi que sur la pression artérielle (Marfaing et Lerat, 2007).

Les algues marines sont riches en fibres alimentaires, dont la teneur oscille entre 32,7 et 74,6% du poids sec total selon les espèces et la saison, majoritairement disponibles sous forme soluble (entre 51,6 et 85%) (Tableau 2). À titre de comparaison, le chou de Bruxelles comporte

## CHAPITRE II: LES MACROALGUES

13,6% de fibres solubles et il est considéré comme l'un des légumes les plus riches en fibres (Lahaye, 1991).

Elles peuvent, alors, faciliter le transit ; notamment grâce aux xylanes et laminaranes - contenus dans les algues rouges et les algues brunes respectivement -qui ont une très bonne dégradabilité dans l'intestin humain (Marfaing et Lerat, 2007). En outre, des professionnels de la distribution en bio expliquaient, lors d'entretiens individuels, l'intérêt de leurs clients pour le wakamé et le kombu royal (*Saccharina latissima*), qu'ils achètent pour accélérer la cuisson des légumineuses et surtout en améliorer la digestibilité.

**Tableau 2** : Fibres alimentaires contenues dans certaines algues alimentaires marines (Lahaye, 1991).

Algues	Fibres (% de poids sec total)		
	Soluble	Insoluble	Total
Algues brunes			
<i>Undaria pinnatifida</i>	30,0	5,3	35,5
<i>Hijiki fusiformis</i>	32,9	16,3	49,2
Algues vertes			
<i>Ulva lactuca</i>	21,3	16,8	38,1
<i>Enteromorpha spp</i>	17,2	12,2	33,4
Algues rouges			
<i>Porphyra tenera</i>	17,9	16,8	34,7

Ces algues sont aussi riches en vitamines et minéraux, qu'elles puisent dans la mer : calcium, sodium, magnésium, potassium, phosphore, iode, fer, zinc, etc. Leur fraction peut représenter jusqu'à 36% de la masse sèche. L'iode, dont les teneurs peuvent atteindre plus de 5000mg/kg de masse sèche totale pour les laminaires (Tableau 3), est capable de s'incorporer dans deux hormones thyroïdiennes qui ont une action de régulation des gènes de l'obésité (Marfaing et Lerat, 2007).

D'autre part, seuls quelques grammes d'algues déshydratées suffisent à couvrir les apports journaliers en iode (150 µg/jr), recommandés par l'Organisation Mondiale de la Santé à partir

## CHAPITRE II: LES MACROALGUES

de l'âge de 12ans (CEVA, 2004). Un professionnel interrogé expliquait : « après la catastrophe nucléaire de Tchernobyl, la consommation des algues a été considérablement accrue, leur forte teneur en iode permettait de traiter les personnes irradiées ».

**Tableau 3** : Teneurs en iode de macro-algues autorisées pour l'alimentation humaine (CEVA, 2004).

Espèce algale	Teneur en iode (en mg/kg de poids sec)
Algues brunes	
<i>Undaria pinnatifida</i>	118-347
<i>Himanthalia elongata</i>	90-168
Algues vertes	
<i>Ulva.sp</i>	10-131
Algues rouges	
<i>Porphyra tenera</i>	67-188
<i>Palmaria palmata</i>	40-541

En outre, les algues marines ont une teneur moyenne lipidique relativement faible, inférieure à 3% du poids sec total, et des teneurs protéiques comparables à celles retrouvées dans le soja, selon les espèces. D'après Fleurence (2015), les algues vertes et rouges ont des teneurs protéiques plus élevées que les algues brunes : comprises entre 9 et 33% du poids sec total pour la laitue de mer (*Ulva sp.*) et jusqu'à 35% du poids sec total pour la dulse (*Palmaria palmata*), selon les saisons et la zone de récolte. Parmi les algues brunes, le wakamé (*Undaria pinnatifida*) est une exception et sa teneur protéique peut atteindre les 24% du poids sec total (Tableau 4).

## CHAPITRE II: LES MACROALGUES

**Tableau 4** : Teneurs protéiques d'algues utilisées dans l'industrie alimentaire en % de poids sec total (Fleurence, 2015).

Espèce algale	Teneur protéique (% de poids sec total)
Algues brunes	
<i>Undaria pinnatifida</i>	11-24
<i>Laminaria digitata</i>	8-15
Algues vertes	
<i>Ulva pertusa</i>	17-26
<i>Ulva lactuca</i>	9-33
Algues rouges	
<i>Porphyra tenera</i>	33-47
<i>Palmaria palmata</i>	8-35

Outre les répercussions évidentes d'un faible taux lipidique sur le poids du consommateur et l'apport de protéines, les algues sont composées de phycobiliprotéines (présentes dans les algues rouges) et de lipides algaux dont les propriétés pourraient être mises à profit dans la prévention de maladies telles que les cancers et/ou maladies cardio-vasculaires (Marfaing et Lerat, 2007).

### II.3. Les polysaccharides des macroalgues

La grande majorité des polysaccharides de macroalgues sont des hétéropolysaccharides. En effet, ils sont constitués d'unités (ramifiées ou non) qui se répètent et qui présentent au moins deux résidus différents. Ils peuvent également contenir différents substituants liés par des liaisons éthers, esters, amides, sulfates ou acétaliques. Ces groupements sont en grande partie responsables des propriétés physico-chimiques de ces polysaccharides (Percival et al., 1967).

Les polysaccharides des macroalgues peuvent-être séparés en deux grandes catégories : les polysaccharides de réserve et les polysaccharides pariétaux, eux-mêmes subdivisés en polysaccharides de la phase matricielle et de la phase fibrillaire.

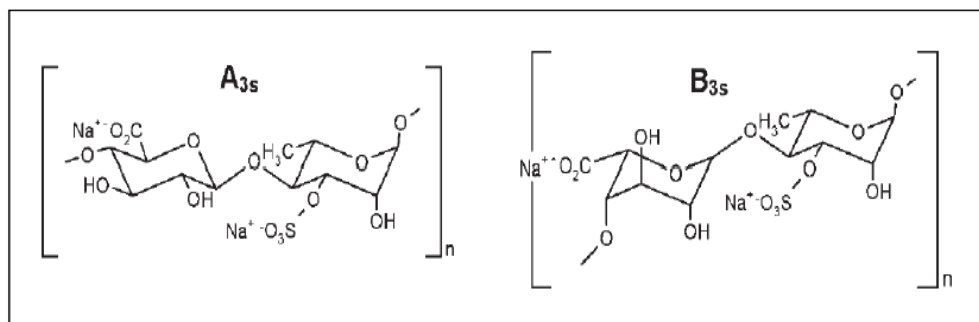
## CHAPITRE II: LES MACROALGUES

### II.3.1. Les polysaccharides matriciels des algues vertes

Les informations concernant les polysaccharides pariétaux des macroalgues sont bien moins nombreuses que celles des macroalgues rouges et brunes. Plusieurs raisons peuvent expliquer cette constatation ; une utilisation industrielle bien plus réduite, mais également une grande variabilité de structures.

Les polysaccharides hydrosolubles majeurs des algues vertes de l'ordre des Ulvales (*Ulva* et *Enteromorpha* sp.) sont les ulvanes. Les composés majeurs de ces ulvanes sont le rhamnose (16-45%), les acides iduronique et glucuronique (6-20%), le xylose (2-13%) et le glucose (0,5-9%) (Percival *et al.*, 1967). L'unité disaccharidique répétée majoritaire des ulvanes est de type acide ulvanobiuronic 3-sulfate contenant soit de l'acide glucuronique, soit de l'acide iduronique (fig.6). De plus, des unités contenant du xylose, sulfaté ou non, à la place des acides uroniques branchés en O-2 sur le rhamnose-3-sulfate ont été rapportées chez certaines Ulvales (Lahaye et Ray, 1996).

Il existe aussi des macroalgues vertes, en particulier de l'espèce *Codium*, contenant des galactanes sulfatés. Ceux-ci sont généralement plus complexes et hétérogènes que ceux retrouvés dans les macroalgues rouges. Les espèces *Codium fragile* et *Codium cylindricum* par exemple contiennent respectivement des arabinogalactanes sulfatés et glucogalactanes sulfatés (Love et Percival, 1964). Certaines macroalgues vertes comme des *Caulerpa* ou *Ulva* contiennent de faibles quantités de galactanes sulfatés.



**Figure 6** : Structure chimique des principaux disaccharides composés d'une répétition d'acide ulvano-biuronic A<sub>3s</sub> et B<sub>3s</sub> (Robic *et al.*, 2009).

## CHAPITRE II: LES MACROALGUES

### **II.4. Les algues vertes**

Les algues vertes constituent une partie des plantes vertes. Leur caractéristique commune est de contenir de l'amidon formant des grains à l'intérieur du compartiment où s'effectue la photosynthèse. Les algues vertes comportent environ 16500 espèces dont approximativement 1500 marines. En eau douce, il en existe dix fois plus : 5000 chlorophytes et 10000 streptophytes (Fleurence, 2015).

Certaines algues vertes sont défavorablement célèbres comme indicateurs des dérèglements de l'environnement causés par l'homme : ce sont par exemple les ulves impliquées dans l'extension des marées vertes ou la *Caulerpa taxifolia*, espèce tropicale qui envahit les fonds méditerranéens. Mais la plupart des espèces ne témoignent que de l'adaptation spécifique à certaines conditions naturelles, couvrant des types de milieux très diversifiés. Dans les eaux douces notamment, ce sont majoritairement des algues vertes qui sont présentes. Quelques espèces se sont également adaptées à la vie terrestre aérienne (Fleurence, 2015).

#### **II.4.1. *Ulva lactuca***

##### **II.4.1.1. Identification et caractéristiques**

*Ulva lactuca*, la Laitue de mer, est une espèce d'algue verte marine, nitrophile, de l'ordre des Ulvales et de la famille des Ulvaceae. C'est une algue de quelques 10 cm de taille, présentant des frondes orbiculaires ou ovale-lancéolées, souvent irrégulièrement divisées et devenant prolifériques sur les vieilles frondes. Le bout du thalle présente un petit stipe qui se fixe au substrat par un petit disque. Elle vit exposée au soleil pendant les marées basses dans les anfractuosités de rochers (CNRDPA, 2019).

##### **II.4.1.2. Habitat**

La laitue de mer pousse généralement au niveau de l'étage supralittoral, mais elle peut se développer jusqu'à 10 mètres de profondeur. Elle peut se fixer sur n'importe quel substrat solide : rocher, digue, jetée, coquille voire sur la carapace d'un crabe. Elle vit dans l'océan Atlantique et les mers attenantes (mer Baltique, mer du Nord, Manche, mer Méditerranée et mer Noire et dans l'océan Pacifique (Garon-Lardiere, 2004).

## CHAPITRE II: LES MACROALGUES

### II.4.1.3. Classification

**Tableau 5:** Classification d'*Ulva Lactuca* (Linnaeus, 1753).

Domaine	<i>Eukaryota</i>
Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Chlorophyta</i>
Classe	<i>Ulvophyceae</i>
Ordre	<i>Ulvales</i>
Famille	<i>Ulvaceae</i>
Genre	<i>Ulva</i>
Espèce	<i>Lactuca</i>

### II.4.1.4. Description

C'est une algue foliacée d'un vert brillant ou jaune clair, fixée par un disque. Lame très mince (bicouche cellulaire), orbiculaire, translucide, de 5 à 50 cm de longueur, avec une marge lisse (fig. 7). Diamètre de l'ordre de 30 à 50 cm pouvant cependant atteindre 1 mètre dans certains étangs littoraux peu profonds. Espèce vivant en eaux peu profondes bien éclairées. (Garon-Lardiere, 2004).

## CHAPITRE II: LES MACROALGUES



**Figure 7** : *Ulva lactuca* (Algue verte) (Garon-Lardiere, 2004)

### **II.4.2. Les ulvanes, des polysaccharides aux applications médicales multiples**

#### **II.4.2.1. Action antivirale et antibactérienne**

L'action antivirale des algues vertes semble prometteuse à bien des égards. En effet, [Abd El-Baky et al. \(2009\)](#) ont effectué des recherches sur les propriétés biologiques potentielles des ulvanes. Ils ont montré que les souches de virus testées *in vitro* réagissant aux ulvanes sont les virus influenzas d'origine humaine et aviaire, ainsi que les herpes virus, et les virus de l'immunodéficience, comme le VIH ([Abd El-Baky et al., 2009](#)).

D'autres essais ont été réalisés *in vitro* par [Pujol et al. \(2012\)](#) sur différents virus, mais les résultats n'ont montré une efficacité relative que sur l'une des quatre souches. Les concentrations nécessaires en ulvanes pour une inhibition d'au moins 50% des autres souches étant trop élevées pour être intéressantes ([Pujol et al., 2012](#)). Le mécanisme d'action antivirale des ulvanes est finalement expliqué et présenté dans l'étude *in vitro* réalisée en 2015 par [Aguilar-Brisno et al.](#) sur l'inhibition du virus de la maladie de Newcastle. Le mécanisme d'action correspond à une inhibition de la fixation des virus à enveloppe sur la paroi cellulaire, grâce à la présence du groupement sulfate et d'acide uronique dans les ulvanes ([Aguilar-Brisno et al., 2015](#)). Pour ce qui est de l'activité antibactérienne, une étude française menée par [Berri et al. \(2016\)](#) a démontré *in vitro*, la capacité des ulvanes à stimuler la réponse immunitaire de cellules épithéliales intestinales porcines, par une production de cytokine médiatrice de

## CHAPITRE II: LES MACROALGUES

l'immunité cellulaire et d'immunoglobuline A, responsables des processus anti-inflammatoires et de l'immunomodulation (Berri *et al.*, 2016).

### **II.4.2.2. Effet antioxydant**

L'effet antioxydant observé dans le recueil de données réalisé en 2011 par Li et Kim chez les polysaccharides sulfatés issus des algues vertes, apparaît comme étant aussi élevé que celui d'antioxydants d'origine synthétique. Selon les auteurs, l'effet antioxydant des molécules serait dû à leur important degré de sulfatation, leur faible poids moléculaire, et à leur composition en acides glucuronique et iduronique (Li et Kim, 2011).

### **II.4.2.3. Action anticoagulante**

Les études expérimentales réalisées par Mao *et al.* (2006) et par Synytsya *et al.* (2015) sur les effets anticoagulants des ulvanes sur du plasma humain, ont mis en évidence une activité anticoagulante de moindre importance que chez les héparines déjà utilisées. Celle-ci semble induite principalement par les groupements rhamnose et acide iduronique (Mao *et al.*, 2006 ; Synytsya *et al.*, 2015).

Il a été ainsi constaté que les ulvanes retardent le temps de coagulation de manière dose dépendante pour les temps de thrombine et de céphaline activé. Cette prolongation indique bien un effet inhibiteur de ces polysaccharides sulfatés sur l'activité de la thrombine et de la polymérisation de la fibrine. L'inhibition de ces deux processus fait partie de la cascade réactionnelle à l'origine de la coagulation chez l'être humain. Selon Abd El-Baky *et al.* (2009), les ulvanes pourraient donc constituer une alternative aux anticoagulants hépariniques déjà existants, ou tout du moins participer au traitement dans la prise en charge d'un risque de thrombose veineuse (Abd El-Baky *et al.*, 2009).

### **II.4.2.4. Action hypolipémiante**

Les ulvanes peuvent également présenter une action hypolipémiante, lorsque leur structure est décomposée en deux fractions de poids moléculaires différents. En effet, l'étude pharmacologique expérimentale menée en 2003 par Pengzhan *et al.* sur six groupes de dix rats nourris pendant 21 jours avec un régime hypercholestérolémiant contenant ces deux fractions moléculaires à des concentrations variables, a permis de montrer une diminution de l'altération

## CHAPITRE II: LES MACROALGUES

du foie chez les rats ayant ingéré les fractions d'ulvanes par comparaison aux rats témoins (Pengzhan *et al.*, 2003).

Les résultats de l'expérimentation de Qi *et al.* (2012) réalisée sur un groupe de souris sont confirmés que les fractions d'ulvanes sont à l'origine d'effets différents sur le métabolisme des lipides, selon leur poids moléculaire. Les fractions ayant une masse plus élevée ont joué un rôle sur les taux de cholestérol total et de LDL-cholestérol, tandis que les fractions de faible masse moléculaire ont modifié les taux de triglycérides et de HDL-cholestérol (Qi *et al.*, 2012).

L'application des ulvanes ici apparaît donc comme très prometteuse. De nouvelles études doivent être poursuivies dans ce sens.

### **II.4.2.5. Action anticancéreuse et antiproliférative**

Athukorala *et al.* (2006) ont mis en évidence les effets anticancéreux, antiprolifératifs, et antimétastatiques des algues (Athukorala *et al.*, (2006).

Pour ce qui est des algues vertes, des essais *in vitro* réalisés par Abd El-Baky *et al.* (2009) sur des adénocarcinomes mammaires MCF7 et des carcinomes hépatiques HepG2 d'origine humaine, ont montré une importante action antiproliférative d'extraits purifiés d'ulvanes sur les cellules cancéreuses mammaires, mais une moindre activité sur les cellules hépatiques (Abd El-Baky *et al.*, 2009).

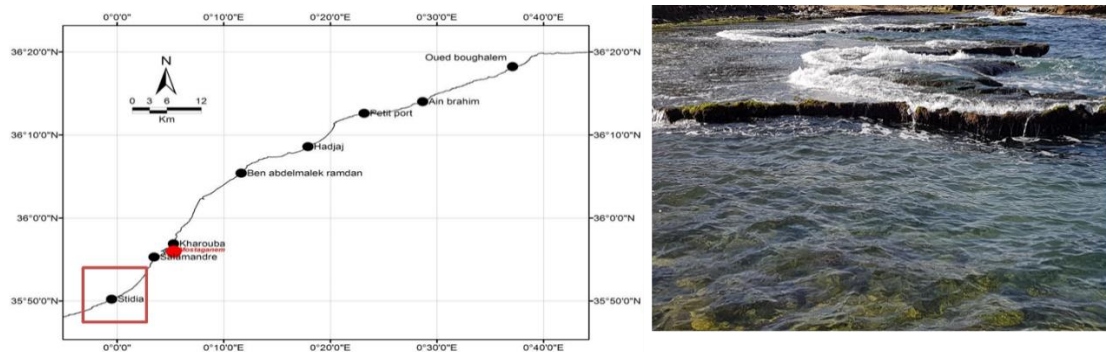
Une analyse plus récente réalisée par Fedorov *et al.* (2013) sur les propriétés anticancéreuses de polysaccharides marins, a montré que les ulvanes présentent un potentiel dans la création de futurs traitements alternatifs. En effet, des tests effectués sur des cellules HeLa, incubées pendant 72 heures en présence de polysaccharides sulfatés d'algue verte et sur une tumeur transplantée sur des souris recevant un traitement à base d'ulvanes à raison de 100/mg/kg/jour, ont dévoilé une activité anticancéreuse et antiproliférative non négligeable (Fedorov *et al.*, 2013)

Devant ces résultats prometteurs, de nouvelles études devraient être réalisées en vue de préciser l'intérêt des ulvanes dans les traitements anti-cancéreux, face aux molécules déjà existantes.

### Chapitre III : Matériel et méthodes

#### III.1. Matériel végétal

L'algue verte *Ulva lactuca* est récoltée sur les rochers de la plage de Stidia qui se situe à environ 17 km à l'ouest de la ville de Mostaganem (Algérie) (fig. 8), au mois de Février 2019.



**Figure 8** : Localisation géographique de la plage de Stidia (station de récolte).

La détermination d'espèce récoltée a été effectuée par l'observation sous microscope optique des caractères morpho-anatomiques (forme, taille et couleur) représentant les clés d'identification au niveau du centre national de recherche et développement de pêche et aquaculture CNRDPA (Tipaza).

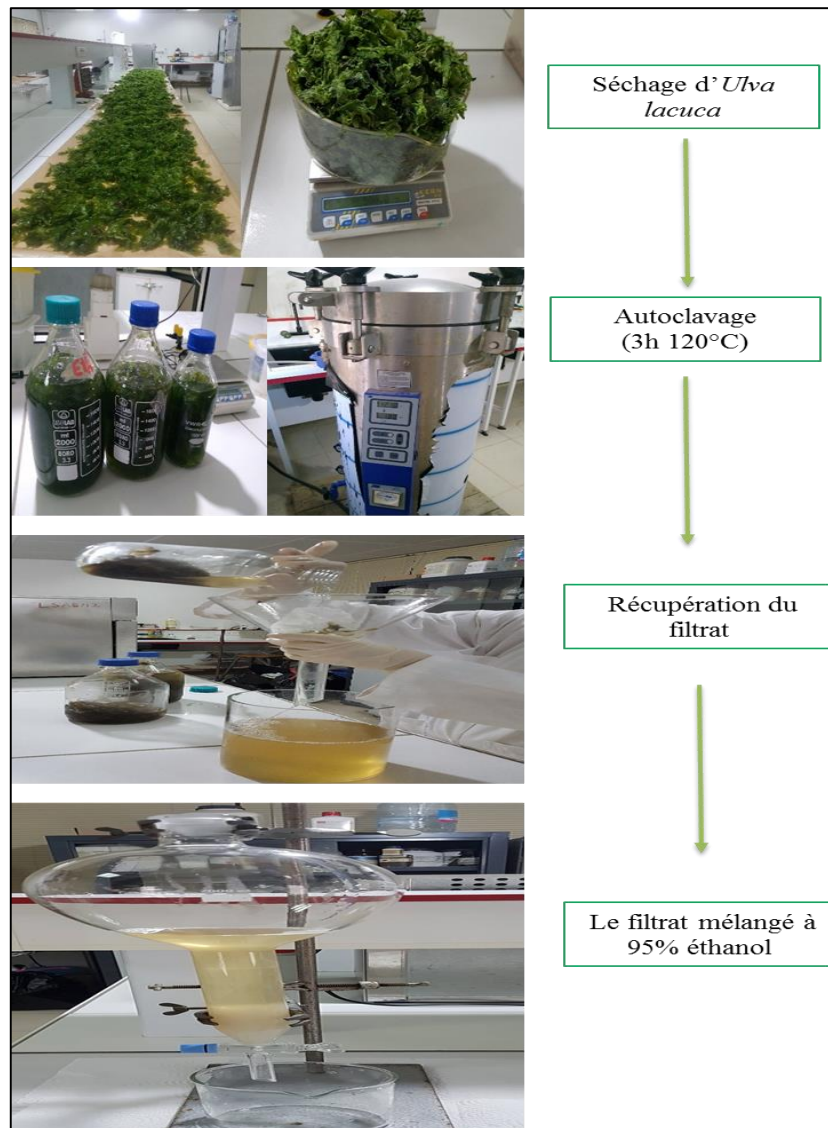
Après la récolte, l'algue est rincée directement à l'eau de mer puis à l'eau du robinet et aussi avec l'eau distillée pour éliminer les petits animaux, débris de coquillages et sable. L'algue est, alors séchée à température ambiante et à l'obscurité, pendant 3 jours (fig.9). Après séchage, elle est broyée grossièrement et conservée dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière à 4°C (Tair *et al.*, 2018).

##### III.1.1. Extraction des polysaccharides d'*Ulva lactuca*

L'extraction des polysaccharides sulfatés d'*Ulva lactuca* (ULPS), que nous avons effectuée est réalisée selon la méthode utilisée par Devaki *et al.* (2009), avec quelques modifications. Une quantité de 500 g d'algue broyée, est mélangée par avec solutions aqueuses 5L contenant un agent chélatant cationique, à température de 100°C pendant 3 h. La suspension a été filtrée, suivie par une précipitation éthanolique (le filtrat mélangé à 95% éthanol). Laissant le mélange

## CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

reposé pendant 24h, le précipité a été recueilli et centrifugé. Le gel été stocké dans un récipient hermétique à 4 ° C et utilisé pour des expériences sur des animaux (fig. 9).



**Figure 9:** Processus d'extraction du polysaccharide de l'algue *Ulva lactuca*.

### III.2. Matériel Animal

#### III.2.1. Choix d'animal

L'étude a été réalisée sur des rats mâles de souche Wistar albinos. Ces animaux ont été fournis par l'institut Pasteur (Alger, Algérie), pesant entre  $100 \pm 20$ g.

## CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

Dès leur réception, les rats subissent une période d'adaptation d'une semaine au niveau du laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS). Ils ont été placés aléatoirement dans des cages métaboliques, tapissés de litière, renouvelée tous les 2 jours et maintenus dans des conditions standard à température constante de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h pour le respect de leur horloge biologique, avec accès libre à l'eau et à la nourriture « type d'aliment standard, fournies par l'Office National des Animaux du Bétail de BOUZEREA Alger (ONAB) ». Ils ont été traités conformément au principe et directive énoncés dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation (fig. 10)



**Figure 10:** Des rats Wistar dans leurs cages

### III.3. Induction du diabète

Le diabète est provoqué par une seule injection intrapéritonéale de solution d'alloxane (SIGMA-ALDRICH, St Louis, USA) préparée dans des conditions normales (solution saline à une dose de 150 mg/kg de poids corporel du rat) (fig. 11A) (BelHadj *et al.*, 2013).

Le diabète induit par l'alloxane est un diabète toxique insulino-prive, connu sous le nom de « diabète alloxanique ».

## CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

L'induction du diabète se fait par une seule injection d'alloxane à raison de 150 mg/kg. Après 7 jours, le taux du sucre est vérifié par l'analyse de la glycémie et de la glucosurie. Les animaux présentant une glucosurie positive et une glycémie supérieure à 1,6 g/L sont déclarés diabétiques.

### III.4. Traitement des rats

Après l'induction du diabète chez les rats, le traitement par l'ULPS est fait selon le protocole de [BelHadj et al. \(2013\)](#) (fig. 11) :

**Groupe 1** : rats témoin (eau et nourriture *ad libitum*).

**Groupe 2** : rats diabétiques (150 mg/kg d'alloxane en *i.p*)

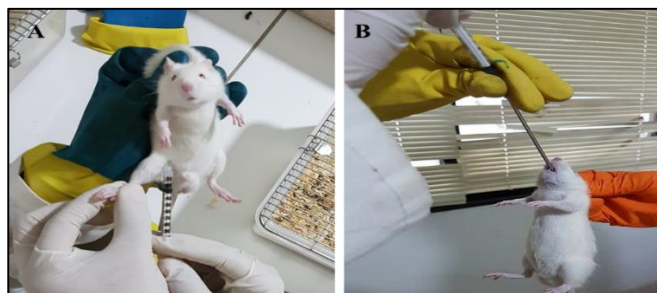
**Groupe 3** : rats traités uniquement avec 180 mg/kg d'ULPS par gavage pendant 30 jours

**Groupe 4** : rats diabétiques (150 mg/kg d'alloxane en *i.p*) et après 7 jours nous avons donné aux animaux 180 mg/kg d'ULPS par gavage pendant 21 jours.

**Groupe 5** : rats diabétiques (150 mg/kg en d'alloxane en *i.p*) traités au même temps avec 180 mg/kg d'ULPS par gavage pendant 30 jours.

**Groupe 6** : rats sont traités avec 180 mg/kg d'ULPS pendant 21 jours puis au 22<sup>ème</sup> jour ils ont reçu une injection de 150 mg/kg d'alloxane en *i.p*.

Après 30 jours d'expérimentation, tous les rats sont sacrifiés par décapitation, et le sang recueilli. Le sérum sera préparé par centrifugation (1500\*g pendant 15 min à 4°C).



**Figure 11** : Techniques du traitement et induction du diabète chez les rats.

**A.** Injection intra péritonéale de solution d'alloxane ; **B.** Administration d'ULPS par gavage gastrique.

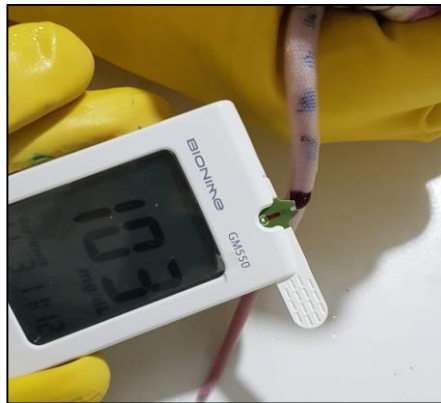
## CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

### III.5. Evolution du poids

Les animaux sont pesés quotidiennement à l'aide d'une balance de précision.

### III.6. Evolution de la glycémie

L'effet hypoglycémiant a été évalué sur une période de 30 jours, la glycémie a été mesurée tous les 5 jours, et ceci après mise à jeun des rats pendant 12h, à l'aide de glycomètre à bandelettes (Bionime), et cela en effectuant une petite incision au niveau de la veine latérale de la queue, au toucher de l'extrémité de la bandelette, le sang est absorbé rapidement. Avant et après chaque opération, la queue de l'animal est désinfectée à l'aide d'un coton imbibé d'alcool (fig. 12).



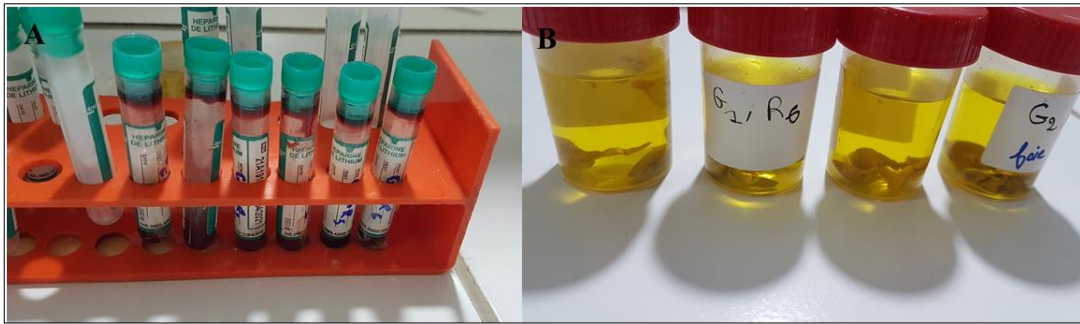
**Figure 12:** Prise de la glycémie du rat.

### III.7. Sacrifice et prélèvement du sang et des organes

Au 30<sup>ème</sup> jour (fin de l'expérimentation), tous les rats ont été sacrifiés sous une légère anesthésie de chloroforme avant d'être sacrifiés après 12 heures de jeûne à l'aide de lames bistouri stériles. Après chaque décapitation, le sang est prélevé dans des tubes héparines (fig. 13A) et immédiatement centrifugé (1500\*g pendant 15 min à 4°C), le maximum de plasma est récolté et conservé pour le dosage des paramètres biochimiques.

Après décapitation, on procède à la dissection des rats dans le but de prélever le pancréas et le foie de chaque rat, qui sont fixés dans liquide de Bouin dans le but d'effectuer des coupes histologique (fig.13B).

## CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES



**Figure 13 :** Prélèvement du matériel biologique.

**A.** Récupération du sang des rats dans des tubes héparinés ; **B.** La fixation des organes (foies et pancréas) des rats dans liquide du Bouin.

### III.8. Dosage des paramètres biochimiques

Les analyses biochimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire privé d'analyses de biologie médicale « Adnan » Mostaganem-Algérie, à l'aide d'un appareil automatique de type Cobasintégral 400 plus et de réactifs du type Roche (fig. 14). Les paramètres dosés sont : Cholestérol total, HDL, les Triglycérides, l'aspartate aminotransférase (ASAT) et l'alanine aminotransférase (ALAT), les différents protocoles suivis sont résumés dans (annexe n°1).



**Figure 14 :** Cobas intégral 400 plus et de réactifs du type Roche.

### III.9. L'étude histologique

L'étude histologique a été effectuée au laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem (LVRM), au niveau du service d'histopathologie. Cette technique comprend plusieurs étapes principales successives : fixation, inclusion, coloration, et montage.

## CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

### III.9.1. Fixation et incubation

Les foies et les pancréas, précédemment prélevés, ont été fixés dans une solution contenant un volume, 10 fois plus important que l'organe, du liquide du Bouin pendant une durée d'environ 48h à 4°C. Cette étape a pour but de préserver la morphologie cellulaire et tissulaire afin de garder l'échantillon dans un état aussi proche que possible de l'état *in vivo* tout en renforçant la consistance du tissu (Djoudad-Kadji *et al.*, 2011).

Les organes ont été par la suite découpés transversalement puis placés dans des cassettes histologiques marquées (fig. 15A) avant d'être plongées dans un erlenmeyer contenant le fixateur. Ces cassettes devraient ensuite être mises dans un panier de l'appareil automate de circulation, contenant 12 cuves qui permet la réalisation de trois étapes :

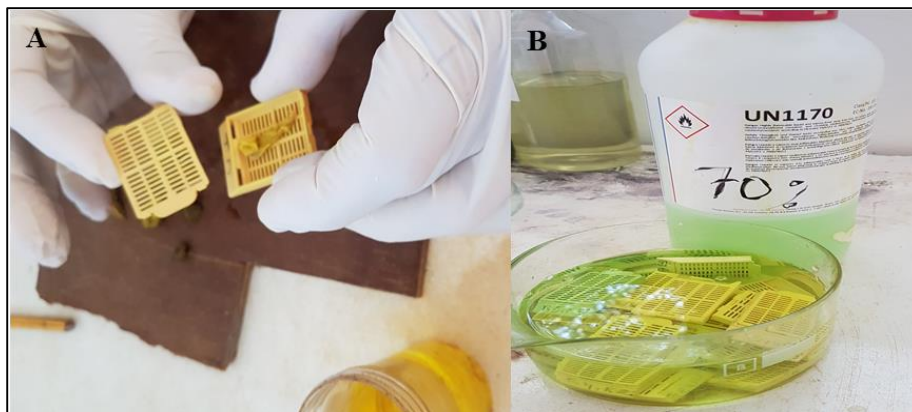
- La déshydratation qui a été faite par passage des échantillons dans des cuves d'éthanol aux gardiens ascendants (de 70, 95, 100%) pour une durée de 45 min chacune (fig. 15B). Cette étape permet d'éliminer l'eau des tissus pour les préparer à l'inclusion (Alturkistanu *et al.*, 2016).

- La clarification, qui a une durée d'une heure, a été effectuée par passage du panier dans deux bains de xylène. Cette étape élimine toute trace d'éthanol dans l'échantillon (Alturkistanu *et al.*, 2016).

- L'inclusion (imprégnation), qui a été faite par immersion des cassettes dans deux bains successifs de paraffine de 1h30 chacun à une température de 56°C.

Du fait de l'absence de cet appareil, les bains ont été réalisés manuellement dans la structure d'histopathologie.

## CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

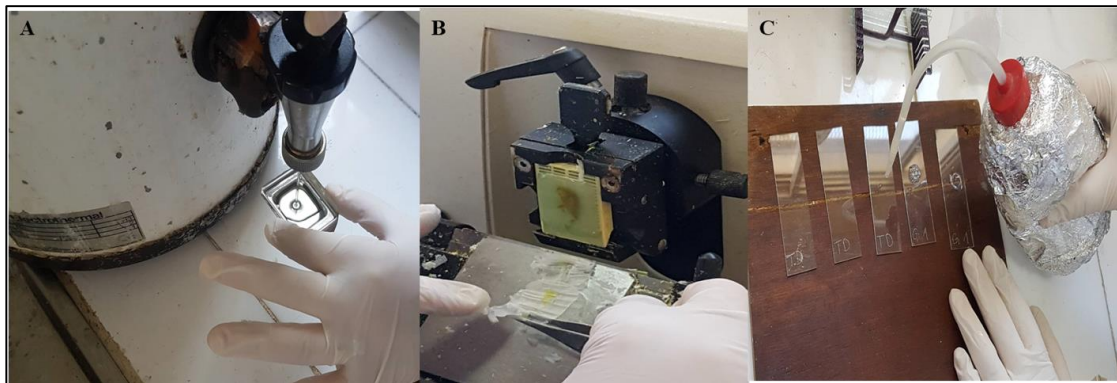


**Figure 15 :** Photographie originale montrant l'étape de fixation et d'incubation.

**A.** Pancréas découpé et mis dans une cassette ; **B.** La déshydratation des échantillons dans l'éthanol à 70%

### III.9.2. Enrobage et confection des coupes

Les échantillons ont été délicatement retirés des cassettes avec une pince puis mis dans des moules en acier inoxydable avant de les remplir de paraffine liquide (fig. 16A). Après cela, les moules sont remplis de paraffine pour la réalisation des coupes. Par la suite, les blocs de paraffine ont été démoulés pour y être placés dans un microtome afin de confectionner des coupes d'environ 5  $\mu\text{m}$  (fig. 16B). Ces rubans ont été déposés sur des lames marquées recouvertes d'une fine couche d'eau albumineuse (fig. 16C), puis immergées un court instant dans un bain marie de 60°C. Après cela, les lames ont été rangées sur un porte-lame, puis placées dans l'étuve pendant une durée de 30 minutes, avant d'être immergées dans un solvant (bain de xylène) pendant la même durée de temps afin d'éliminer toute trace de paraffine, et ainsi permettre la pénétration des colorants hydrophiles dans les tissus.



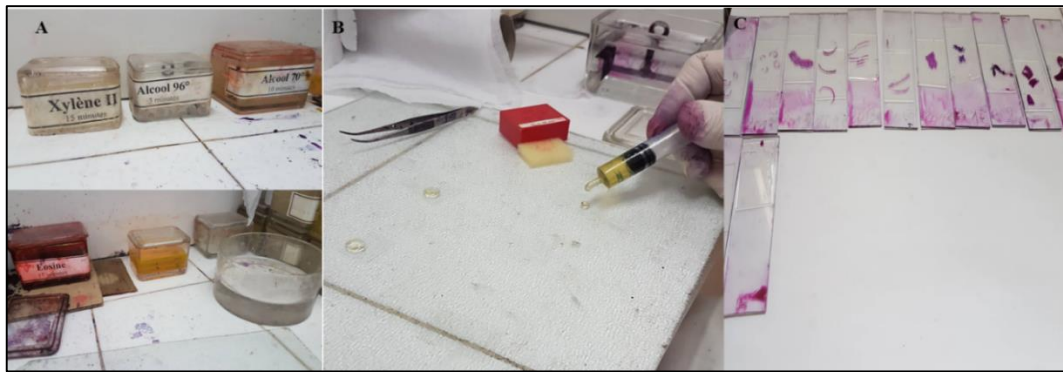
**Figure16:** Photographie originale représentant l'étape d'enrobage et de confection.

**A.** l'enrobage des échantillons ; **B.** La coupe des blocs au microtome ; **C.**lames marquées recouvertes d'une fine couche d'eau albumineuse.

### III.9.3. Coloration et montage des coupes

Cette étape a été précédée d'une hydratation consistant en l'immersion des lames dans un bain d'éthanol suivi d'une immersion dans un bain d'eau pour une durée de 10 min chacun. La coloration des lames a été faite avec deux colorants qui permettent de mettre en évidence la morphologie cellulaire et tissulaire : l'hématoxyline basique qui colore le noyau acide (basophile) en bleu-violet et l'éosine acide qui colore le cytoplasme basique (acidophile) en rose (Kierszenbaum, 2006). Les lames ont tout d'abord été plongées dans un bain d'hématoxyline pendant 5 minutes, puis rincées à l'eau du robinet. Par la suite, elles ont été plongées dans un bain d'éosine pendant 3 minutes avant de subir un ultime rinçage (fig. 17A). La dernière étape de l'histologie est le montage. Elle se déroule par le passage des lames dans un bain d'éthanol suivi d'un bain contenant un mélange d'éthanol/xylène et pour finir dans deux bains successifs de xylène (fig. 17A). Quelques gouttes du baume de canada ont été déposées sur des lamelles avant d'être placées sur les lames (fig. 17B). L'ensemble lame et lamelles a été par la suite séché à l'air libre (fig. 17C).

## CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES



**Figure 17 :** Photographie originale récapitulant l'étape de coloration et celle du montage.

**A.** Les produits utilisés lors de la coloration et du montage des lames ; **B.** L'application de baume de canada sur une lamelle ; **C.** Les lames prêtes pour l'observation microscopique.

### III.9.4. Observations microscopiques

Les lames ainsi préparées ont été observées au microscope optique (x10 puis x40).

### III.10. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type. Ils sont traités par le logiciel SPSS version 23. Ils sont soumis à une analyse de la variance ANOVA à un facteur.

La valeur trouvée peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur  $p$  tel que :

- $p > 0,05$  = la différence n'est pas significative
- $0,05 > p > 0,01$  = la différence est significative
- $0,05 > p > 0,001$  = la différence est hautement significative
- $p < 0,001$  = la différence est très hautement significative

### Chapitre IV : Résultats et discussion

Le comportement, les symptômes cliniques, la variation du poids corporel, dosage des paramètres biochimiques ainsi que les résultats de l'étude histologique ont permis de mettre en évidence les conséquences d'un traitement intra-péritonéal d'alloxane (150 mg/kg) et le gavage d'ULPS (180 mg/kg) sur des rats Wistar mâles pendant quatre semaines.

#### IV.1.Comportement et symptômes cliniques

Tout au long de la période d'observation, les rats témoins (groupe 1) et ceux des groupes 3, 5 et 6 ont présenté une activité physique et une consommation de nourriture et d'eau normale.

Le diabète chez les rats du groupe 2 et ceux du groupe 4 sous traitement d'ULPS a été provoqué par l'injection intra-péritonéale de 150 mg/kg p.c. d'alloxane (BelHadj *et al.*, 2013). Des observations et des analyses urinaires ont été faites. Les résultats figurent dans le [tableau 6](#).

**Tableau 6** : Observations et analyses urinaires de rats rendus diabétiques non traités (groupe2) et à un traitement d'ULPS (groupe 4).

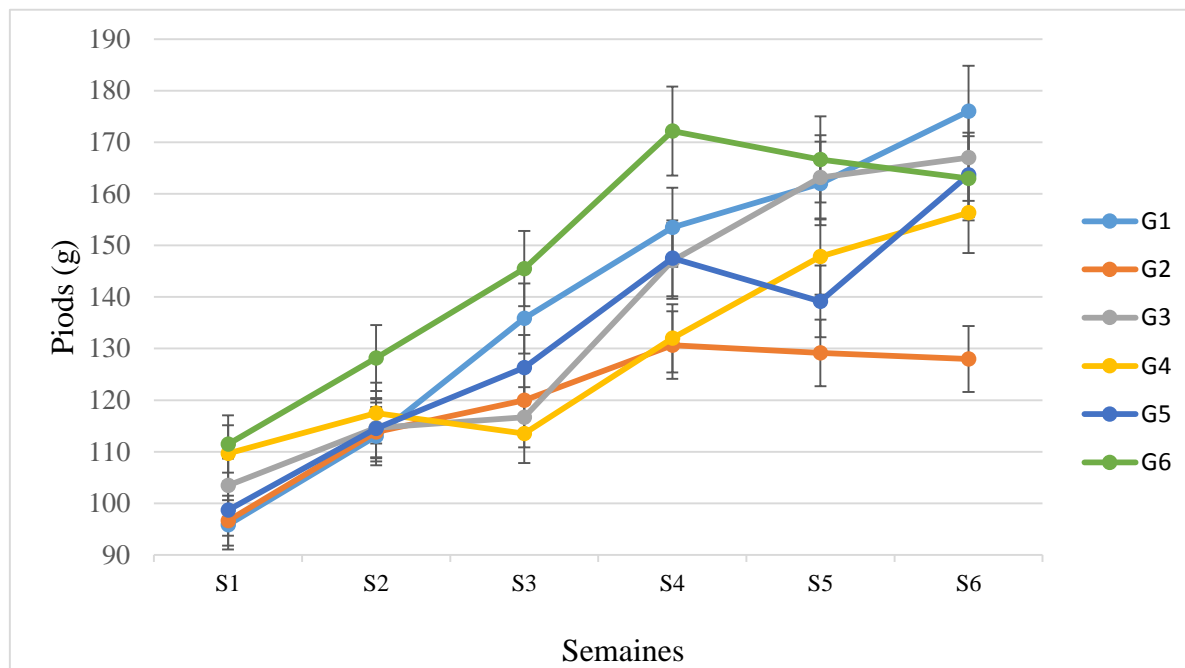
Observations générales	Analyses urinaires
Polyurie +++	Glucose +++  pH = 6.5 à 7
Polydipsie +++	
Polyphagie ++	
Evolution du poids perte	

#### IV.2.Effet d'alloxane sur le poids corporel et l'action protectrice du polysaccharide d'*Ulva lactuca*

##### Résultats

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

Le poids corporel chez les rats diabétiques et non diabétiques recevant un régime standard et un traitement d'ULPS est quotidiennement noté. Ceci nous a permis d'étudier l'évolution du poids par rapport au poids initial des rats. Les résultats sont indiqués sur (fig. 18).



**Figure 18:** Evolution du gain du poids corporel des rats.

G1 : rats témoins; G2 : rats traités alloxane (150 mg/kg) ; G3 : rats témoins traités par ULPS (180 mg/kg) ; G4 : rats traités par alloxane (150 mg/kg) et ULPS (180 mg/kg) ; G5 : rats traités par alloxane (150 mg/kg) et ULPS (180 mg/kg) au même temps ; G6 : rats traités par ULPS (180 mg/kg) pendant 21 jours ensuite exposés à l'alloxane (administration d'une seule dose alloxane par injection intrapéritonéale (150 mg/kg)). Les résultats sont exprimés en moyenne.

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que l'injection de l'alloxane induit un diabète caractérisé par une perte du poids corporel chez le groupe de rats diabétiques témoins (G2). Cette diminution est de l'ordre de 3% par rapport au poids corporel initial après six

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

semaines d'étude. Par ailleurs, le groupe sain témoin (G1) a subi durant les mêmes périodes une augmentation régulière.

### Discussion

Nos résultats sont identiques avec ceux apportés par [Auroba et Nibras\(2010\)](#), qui ont constaté que, chez les rats Wistar, l'injection de l'alloxane provoquait une diminution significative du poids corporel.

Cette perte de poids est probablement due à une carence en insuline qui conduit à une diminution de l'absorption des acides aminés par les tissus avec une réduction conséquente de la synthèse des protéines.

Par ailleurs de nombreuses études suggèrent que la perte du poids corporel chez les rats diabétiques peut être expliquée par une augmentation du catabolisme des lipides et des protéines due au déficit en glucides ([Saravanan et Pari, 2005](#)).

Chez le groupe diabétique traité, l'administration par gavage de l'ULPS (G 4) à la dose quotidienne de 180 mg/kg pendant quatre semaines a permis d'améliorer le changement du poids corporel par rapport au groupe diabétique témoin. Chez ce groupe on a constaté une augmentation de 43.77 % après quatre semaines de traitement par rapport au poids initial des rats.

La capacité de l'ULPS de protéger les rats diabétiques de la perte massive du poids corporel semble être due premièrement, à sa capacité de réduire le taux des lipides, deuxièmement, à son effet hypoglycémique ([Chen et al., 1980](#) ; [Al-Shamaony et al., 1994](#) ; [Tastekin et al., 2006](#)) et donc à sa capacité de renverser la néoglucogenèse et de contrôler cette perte protéique ([Rajagopal et Sasikala, 2008](#) ).

Chez le groupe sain (G3), l'administration de la même dose de l'ULPS montre qu'il y a une augmentation du poids corporel de 61 %. Ce gain du poids corporel est lié à une croissance normale des animaux.

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

### IV.3. Effet du polysaccharide d'*Ulva lactuca* sur les paramètres biochimiques du sang

#### IV.3.1. Effet du polysaccharide d'*Ulva lactuca* sur la glycémie

##### Résultats

La glycémie ne présente aucune variation significative ( $P > 0,05$ ) chez les rats normaux sains non traités (G1) (fig. 19). Elle est de l'ordre de  $0,82 \pm 0,027$  g/L durant les quatre semaines d'expérimentation. Après l'injection intrapéritonéale de l'alloxane monohydrate aux rats, leur glycémie passe de  $0,76 \pm 0,04$  g/L à  $2,81 \pm 0,17$  g/L pour le groupe 2 et de  $0,77 \pm 0,028$  g/L à  $2,38 \pm 0,15$  g/L pour le groupe 4 ; soit une augmentation de glycémie de  $2,05 \pm 0,17$  g/L (269%) et  $1,60 \pm 0,16$  g/L (208 %) pour groupe 2 et 4 respectivement lorsque les rats sont rendus diabétiques.

Chez les rats rendus diabétiques et qui ne sont pas traités (G2), la glycémie varie significativement ( $P > 0,05$ ) elle était en augmentation durant les 6 semaines d'expérimentation. Elle est de l'ordre de  $2,26 \pm 0,047$  g/L.

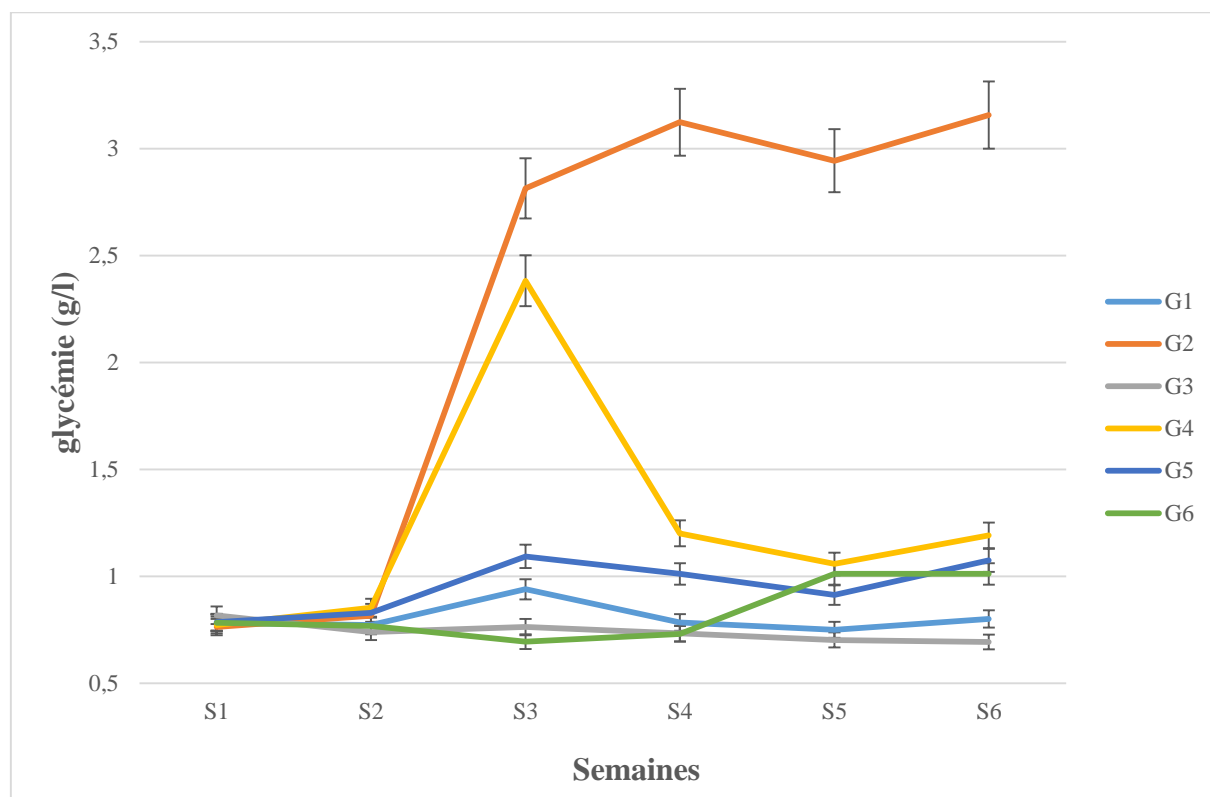
Les rats rendus diabétiques sont traités avec ULPS à la dose de 180 mg /kg PC, après 7 jours de traitement, la glycémie ne varie pas significativement ( $P > 0,05$ ). Mais, à partir du début de la 3<sup>ème</sup> semaine, la glycémie baisse significativement ( $P < 0,01$ ) et progressivement, avec le temps. Ainsi, après 28<sup>ème</sup> jour (4<sup>ème</sup> semaine) de traitement, la glycémie n'est plus que de  $1,20 \pm 0,039$  g/L (53,08 % d'augmentation de la glycémie, par rapport à celle la glycémie des rats témoins sains) ; soit une réduction de 62,53 % de l'hyperglycémie induite par l'alloxane, lorsque les rats diabétiques sont traités avec l'ULPS.

Les rats du groupe 3 traité par une administration quotidienne d'ULPS à la dose de 180 mg/kg PC. Une baisse constante de glycémie est de  $0,69 \pm 0,038$  g/L (7,90 % de diminution de la glycémie, par rapport à celle la glycémie des rats témoins normaux sains) ; soit une réduction de 40,32 % de l'hyperglycémie induite par l'alloxane, lorsque les rats diabétiques sont traités avec l'ULPS.

Pour les groupes 5 et 6 nous avons obtenue presque le même résultat du groupe témoin. La glycémie varie peu pour les rats du groupe 6 ceux qui ont reçu un traitement de 21 jours d'ULPS à la dose (180 mg/kg PC) était de l'ordre  $0,74 \pm 0,02$  g/L, elle a augmenté de 22,97% après

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

l'injection d'une seule dose d'alloxane (150 mg/kg Pc) est devenue  $0,91 \pm 0,09$  g/L. Pour groupe 5 est passé de  $0,8 \pm 0,02$  g/L à  $1,02 \pm 0,02$  g/L une augmentation de 27,50%.



**Figure 19:** Evolution du taux de la glycémie chez les rats diabétiques et non diabétiques recevant alloxane et ULPS.

G1 : rats témoins; G2 : rats traités alloxane (150 mg/kg) ; G3 : rats témoins traités par ULPS (180 mg/kg) ; G4 : rats traités par alloxane (150 mg/kg) et ULPS (180 mg/kg) ; G5 : rats traités par alloxane (150 mg/kg) et ULPS (180 mg/kg) au même temps ; G6 : rats traités par ULPS (180 mg/kg) pendant 21 jours ensuite exposés à l'alloxane (administration d'une seule dose alloxane par injection intrapéritonéal (150 mg/kg)). Les résultats sont exprimés en moyenne.

### Discussion

L'hyperglycémie marquée chez les rats du groupe 2 et du groupe 4 a été également rapportée par (Karthik *et al.*, 2015; Tiwari *et al.*, 2014), qui précisent que l'alloxane provoque

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

une réduction massive de la libération d'insuline par la destruction des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans, induisant ainsi l'hyperglycémie .

L'hyperglycémie est la manifestation clinique clé du diabète sucré, deux mécanismes fondamentaux qui causeraient une hyperglycémie lors d'un diabète, d'une part par un mécanisme de surproduction (excès de la néoglucogenèse et la glycogénolyse) d'autre part par la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques (Shirwaikar *et al.*, 2004).

Notre étude montre que le traitement avec l'ULPS diminue le glucose sérique (glycémie) chez les groupes de rats sous traitement (groupe 3, 4,5 et 6). Selon une étude récente, il a été démontré que les polysaccharides d'algues vertes améliorent l'apport énergétique à court terme ainsi que la glycémie et aussi améliorent la sensibilité à l'insuline (Yusrizam *et al.*, 2015).

Une autre étude révèle que les polysaccharides d'*Ulva lactuca* inhibent les enzymes cruciales impliquées dans le métabolisme des glucides et des graisses, à la fois dans le sang et l'intestin grêle, au cours de l'obésité et du diabète (BelHadj *et al.*, 2013).

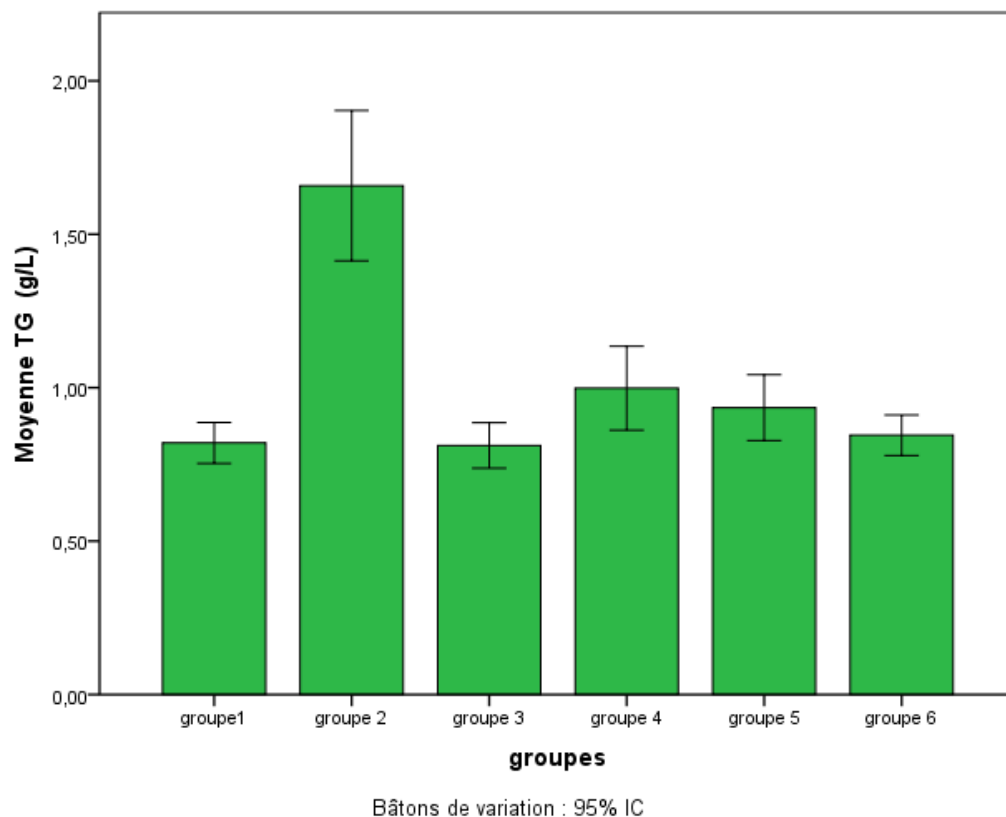
### IV.3.2. Effet du polysaccharide d'*Ulva lactuca* sur le profil lipidique

#### Résultats

Nous avons constaté que l'alloxane (150 mg/kg), provoque une augmentation significative de taux des triglycérides chez les rats diabétiques non traités avec ULPS (groupe 2) (fig. 20). Nos résultats sont en accord avec plusieurs d'autres études comme celle publiée par (Negres *et al.*, 2013 ; Sanadhya *et al.*, 2013).

Nous avons enregistré une forte augmentation de la concentration sérique du cholestérol total chez les rats diabétiques (groupe2) par rapport au groupe de rats sains témoins (groupe1) ( $2,24 \pm 0,07$  g/l contre  $1,18 \pm 0,03$  g/l) (fig. 21).

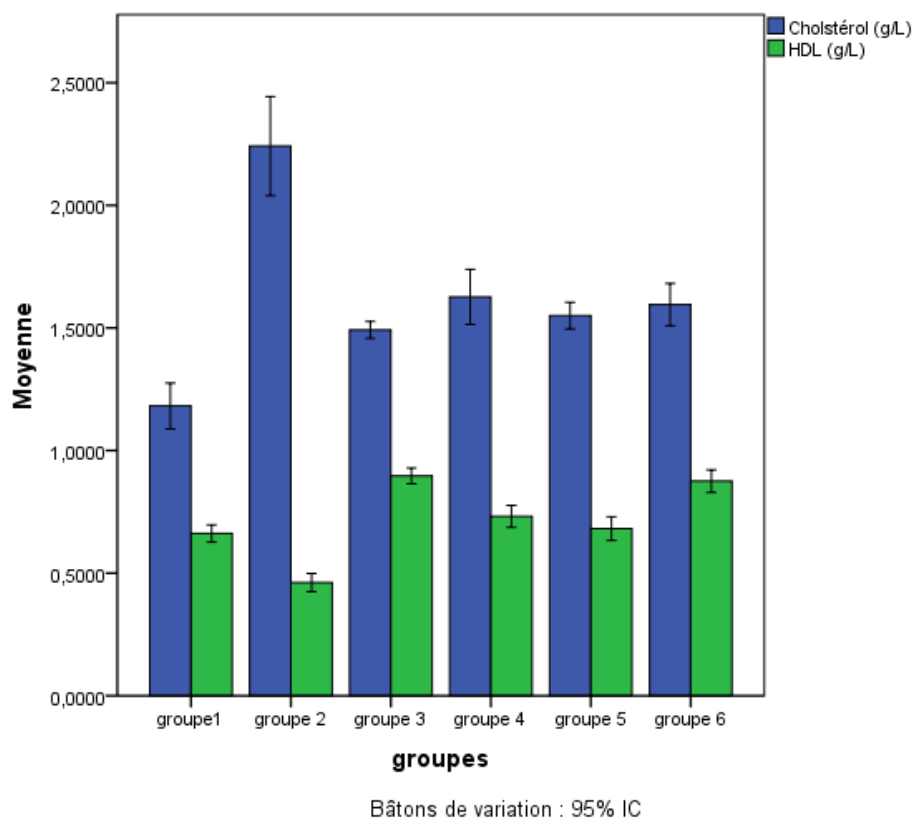
Le groupe diabétiques traités avec ULPS montre que les polysaccharides sulfaté d'*Ulva lactuca* comparés au groupe diabétique non traité diminuent significativement les teneurs sériques en TG ( $1,65 \pm 0,09$  g/l contre  $0,99 \pm 0,05$  g/l) une diminution de 40% et en de même, l'entraînent d'une diminution des concentrations en CH ( $2,24 \pm 0,07$  g/l contre  $1,62 \pm 0,04$  g/l) de 27,68%, alors que les teneurs en HDL ( $0,46 \pm 0,01$  g/l contre  $0,73 \pm 0,01$  g/l) augmentent de 58,70%, (fig. 20 ;21).



**Figure 20:** Teneurs du triglycéride (g/L) chez les rats diabétiques et non diabétiques recevant alloxane et ULPS.

G1 : rats témoins; G2 : rats traités alloxane (150 mg/kg) ; G3 : rats témoins traités par ULPS (180 mg/kg) ; G4 : rats traités par alloxane (150 mg/kg) et ULPS (180 mg /kg) ; G5 : rats traités par alloxane (150 mg /kg) et ULPS (180 mg/kg) au même temps ; G6 :rats traités par ULPS (180 mg/kg) pendant 21 jours ensuite exposés à l’alloxane (administration d’une seule dose alloxane par injection intrapéritonéal (150 mg/kg). Les résultats sont exprimés en moyenne.

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 21:** Teneurs de la cholestérolémie (g/L) et HDL (g/L) chez les rats diabétiques et non diabétiques recevant alloxane et ULPS.

G1 : rats témoins; G2 : rats traités alloxane (150 mg/kg) ; G3 : rats témoins traités par ULPS (180 mg/kg) ; G4 : rats traités par alloxane (150 mg/kg) et ULPS (180 mg/kg) ; G5 : rats traités par alloxane (150 mg/kg) et ULPS (180 mg/kg) au même temps ; G6 : rats traités par ULPS (180 mg/kg) pendant 21 jours ensuite exposés à l'alloxane (administration d'une seule dose alloxane par injection intrapéritonéal (150 mg/kg). Les résultats sont exprimés en moyenne.

### Discussion

Il est bien établi que les rats diabétiques non traités (groupe 2) , ont une dyslipidémie caractérisée par l'augmentation des teneurs sériques en triglycérides, en cholestérol total, et de faibles concentrations en HDL par rapport au groupe témoin sain (groupe 1) .

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

L'action thérapeutique de l'ULPS est confirmée par la diminution du taux de TG et du cholestérol total et par le taux plus élevé du HDL dans le plasma de rats diabétiques traités (groupe 4).

Le traitement par le polysaccharide de l'algue semble améliorer le profil lipidique au niveau sérique (groupe 4). Ainsi, une diminution significative des concentrations, en cholestérol total et en triglycérides est notée. De plus, une augmentation significative du cholestérol HDL est observée.

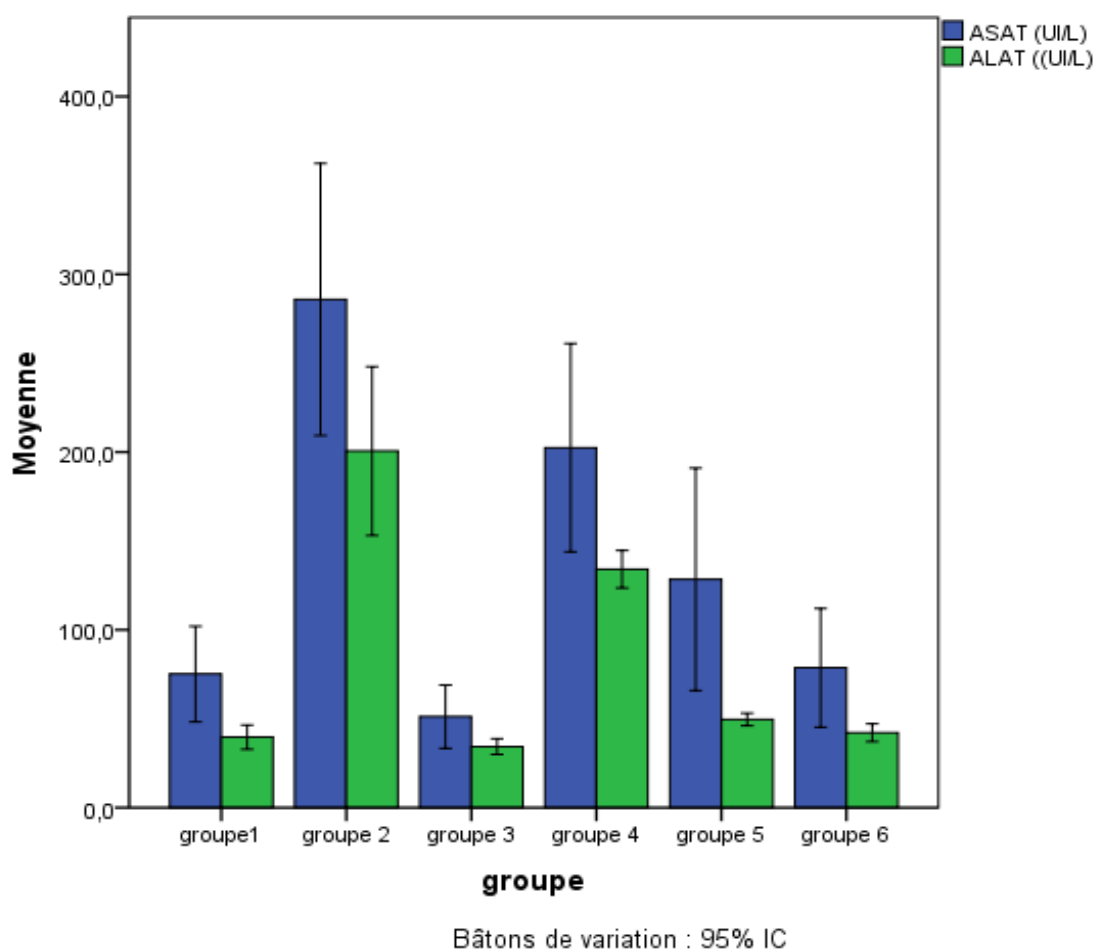
Des résultats similaires à notre étude rapportent que les polysaccharides d'*Ulva lactuca* possèdent une activité anti-hyperlipémiante élevée, chez le rat (Hassan et al., 2011). Ces polysaccharides agiraient en réduisant l'expression des gènes de synthèse du cholestérol et en augmentant celle des gènes dictant la dégradation du cholestérol, l'absorption des LDL et la  $\beta$ -oxydation peroxysomale (Hoang et al., 2015).

En outre, l'administration d'ULPS à des rats diabétiques a également exercé des effets inhibiteurs in vivo sur les enzymes clés de la digestion et de l'absorption des lipides. En fait, il a été rapporté que l'inhibition de l'activité de la lipase intestinale exerce une action thérapeutique sur l'hyperlipidémie, l'obésité et les maladies cardiaques (Birari et Bhutani, 2007; Sheng et al., 2006).

### IV.3.3. Effet du polysaccharide d'*Ulva lactuca* sur le taux des transaminases (ASAT et ALAT)

#### Résultats

La (fig. 22) montre que, par rapport aux rats non diabétiques, les rats diabétiques traités (groupe 4) et non traités (groupe 2) par ULPS ont entrepris une augmentation en termes de l'ASAT, Activités ALAT, à 280, 165, 405 et 238% respectivement dans le plasma. Mais l'administration de la dose 180mg/kg PC d'ULPS chez les rats diabétiques semble avoir diminué un peu cette augmentation à 29,20% (ASAT) et 33,15% (ALAT) et amélioré tous les indices liés dysfonctionnement hépatique induit par le diabète par rapport au rats diabétiques non traités.



**Figure 22:** Teneurs sériques en transaminases (UI/L) chez les rats diabétiques et non diabétiques recevant alloxane et ULPS.

Groupe1 : rats témoins; Groupe2 : rats traités alloxane (150 mg/kg) ; Groupe3 : rats témoins traités par ULPS (180 mg/kg) ; Groupe4 : rats traités par Alloxane (150 mg/kg) et ULPS (180 mg /kg) ; Groupe5 : rats traités par alloxane (150 mg /kg) et ULPS (180 mg/kg) au même temps ; Groupe6 : rats traités par ULPS (180 mg/kg) pendant 21 jours ensuite exposés à l'alloxane (administration d'une seule dose alloxane par injection intrapéritonéal 150 mg/kg). Les résultats sont exprimés en moyenne.

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

### Discussion

Les actions anti-diabétiques et anti-hyperlipidémiques d'ULPS préviennent les dysfonctionnements du foie et ont montré une diminution des indices plasmatiques de toxicité hépatique tels que l'ASAT et l'ALAT.

L'activité des enzymes hépatiques dans notre étude, l'activité sérique de l'alanine aminotransférase (ALAT) et de l'aspartate aminotransférase (ASAT) étaient significativement élevées chez les rats diabétiques non traités (groupe 2) par rapport aux rats normaux. Ces résultats concordaient avec ceux de (BelHadj *et al.*, 2013).

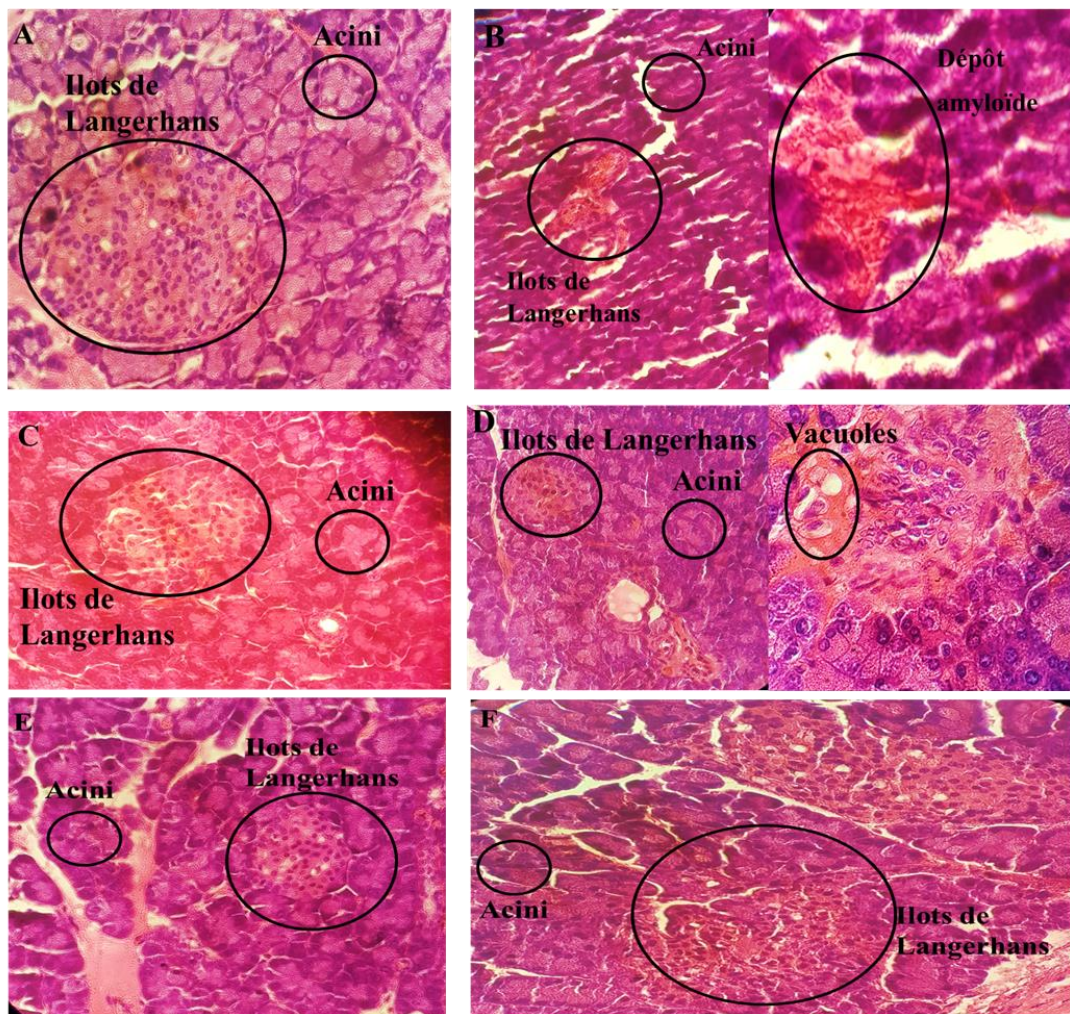
#### **IV.4. Résultats de l'étude histologique**

Les coupes histologiques des pancréas et des foies colorés à l'hématoxyline éosine des rats du groupe témoin et ceux du groupe traité avec alloxane et ULPS ont été observées dans le but de mettre en évidence les éventuelles altérations et préventions tissulaires provoquées par ce traitement.

##### **IV.4.1. Effet du polysaccharide d'*Ulva lactuca* sur l'histologie pancréatique**

Les coupes histologiques des pancréas de chaque groupe sont présentées dans la (fig. 23).

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 23** : Aspect histologique du Pancréas des rats (Gx40).

**A** :pancréas des rats témoins; **B** : pancréas des rats traités alloxane(150 mg/kg) ; **C** :pancréas des rats témoins traités par ULPS (180 mg/kg) ; **D** : pancréas des rats traités par Alloxane(150 mg/kg) et ULPS ( 180 mg /kg) ; **E** :pancréas des rats traités par alloxane ( 150mg /kg) et ULPS (180 mg/kg) au même temps ; **F** : pancréas des rats traités par ULPS (180 mg/kg) pendant 21 jours ensuite exposés à l'alloxane (administration d'une seule dose alloxane par injection intrapéritonéal 150mg/kg).

La [figure 23A](#) représente une coupe histologique du pancréas d'un rat témoin, on peut constater la présence d'un amas de cellules pancréatiques sécrétrices de l'insuline (cellules  $\beta$  de Langerhans).

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

La [figure 23B](#) montre une coupe histologique du pancréas d'un rat du groupe diabétique non traité par ULPS. Nous constatons sur cette figure qu'il y'a une atrophie des îlots de Langerhans avec une diminution des cellules bêta jusqu'à la lyse suite à une nécrose, ainsi une dégénération des acini plus un dépôt amyloïde résultat de l'effet destructeur de l'alloxane sur les cellules  $\beta$  pancréatiques.

La [figure 23C](#) représente une coupe histologique du pancréas d'un rat du groupe traité par l'ULPS (180 mg/kg). On remarque la présence normale d'un îlot de cellules  $\beta$  de Langerhans.

La [figure 23D](#) montre l'image d'une coupe histologique du pancréas d'un rat du groupe diabétique traité par l'ULPS (180 mg/kg). Sur cet échantillon, on remarque la présence d'îlots des cellules  $\beta$  de Langerhans avec présences de vacuoles au niveau cytoplasmique.

La [figure 23E](#) montre l'image d'une coupe histologique pancréas des rats traités par alloxane (150 mg /kg) et ULPS (180 mg/kg) au même temps. Sur cet échantillon, on remarque la présence de plusieurs îlots des cellules  $\beta$  de Langerhans

La [figure 23F](#) montre l'image d'une coupe histologique du pancréas des rats traités par ULPS (180 mg/kg) pendant 21 jours ensuite exposés à l'alloxane (administration d'une seule dose alloxane par injection intrapéritonéal 150 mg/kg). Sur cet échantillon, on remarque la présence de plusieurs îlots des cellules  $\beta$  de Langerhans, des résultats identiques à celui de la ([fig. 23E](#)).

### **Discussion**

Chez les rats diabétiques non traités par ULPS, suite à une injection d'une dose unique du 150 mg/kg d'alloxane, une nécrose cytoplasmique importante laissant que le noyau. Des résultats similaires ont été rapportés par [Fayzieva et al. \(2010\)](#) ; [Sanadhya et al. \(2013\)](#), qui ont indiqué chez les rats du groupe diabétique par injection d'alloxane, les îlots dégénérent et rétrécissent en taille. D'autres auteurs [Fayzieva et al. \(2010\)](#), ont indiqué que la surface spécifique du tissu des îlots est devenue fortement réduite en raison de ces processus nécrotiques.

Des résultats similaires ont été rapportés par [Hashemnia et al. \(2012\)](#) ; [Nermeen et al. \(2010\)](#), ils ont indiqué que chez les rats diabétiques, l'alloxane entraîné des changements

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

nécrotiques sévères des îlots pancréatiques, changements nucléaires, réduction relative de la taille et du nombre des îlots.

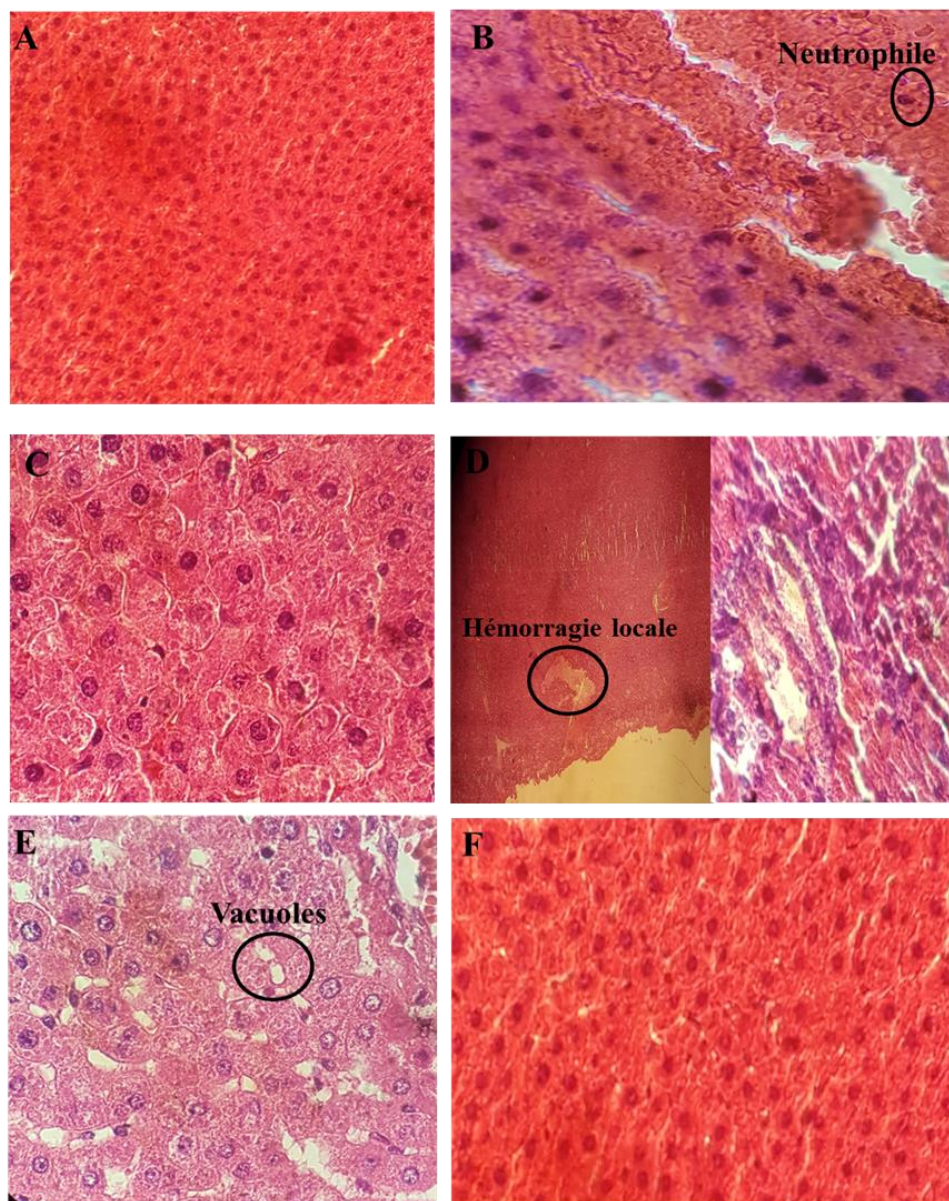
Les changements des îlots de Langerhans, chez les rats diabétiques non traités dans notre étude, ont été expliqués par [Nermeen et al. \(2010\)](#). Ce dernier a déclaré que l'action de l'alloxane dans le pancréas, est précédée de son absorption rapide par les cellules  $\beta$ . Cette action constitue donc une des caractéristiques importantes qui déterminent la diabétogénicité de l'alloxane, qui est un autre aspect concernant la formation d'espèces réactives de l'oxygène. Cette dernière est précédée par la réduction d'alloxane dans la cellule  $\beta$  du pancréas. Sa réduction a lieu en présence de différents agents réduisant, depuis l'alloxane présente une forte affinité pour les SH composés contenant cellulaires, le glutathion réduit (GSH), la cystéine et groupes sulfhydryle liés aux protéines (y compris SH contenant des enzymes) sont très sensibles à son action.

De ces résultats il apparaît clairement que les polysaccharides ont des effets bénéfiques sur le profil histologique des îlots de Langerhans des rats diabétiques traités qui tend à s'améliorer par rapport à celui observé chez les rats diabétiques non traités. On remarque pour une première que l'ULPS a un effet préventif contre le diabète ([fig. 23D,E,F](#)).

### **IV.4.2. Effet du polysaccharide d'*Ulva lactuca* sur l'histologie hépatique**

Les coupes histologiques des foies de chaque groupe sont présentées dans la ([fig. 24](#)).

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 24** : Aspect histologique des foies des rats (Gx 10 /Gx40).

**A** : foie des rats témoins; **B** : foie des rats traités alloxane (150 mg/kg) ; **C** : foie des rats témoins traités par ULPS (180 mg/kg) ; **D** : foie des rats traités par Alloxane (150 mg/kg) et ULPS ( 180 mg /kg) ; **E** : foie des rats traités par alloxane ( 150mg /kg) et ULPS (180 mg/kg) au même temps ; **F** : foie des rats traités par ULPS (180 mg/kg) pendant 21 jours ensuite exposés à l'alloxane (administration d'une seule dose alloxane par injection intrapéritonéal 150mg/kg).

### Résultats et discussion

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats d'analyse histologique ont permis de confirmer l'effet positif d'ULPS. Aucune lésion histologique n'a été mise en évidence dans le foie de rats témoins (fig.A). (fig.B) chez les rats diabétiques non traités il y'a une hémorragie hépatique sèvre et une destruction des hépatocytes, comme par rapport aux rats diabétiques traités avec ULPS (fig.D) nous avons observé une hémorragie hépatique légère et locale. Cependant, l'administration d'ULPS aux rats avant l'injection d'alloxane protège les tissus du foie (fig.E ,F), Ces résultats concordent avec ceux de (BelHadj *et al.*, 2013).

### Conclusion et perspectives

La présente étude a démontré que l'ULPS améliorait significativement l'homéostasie du glucose et des lipides dans le diabète en retardant la digestion et l'absorption des glucides et des lipides. ULPS représente donc un complément alimentaire potentiellement utile pour le traitement du diabète, de l'obésité et une source potentielle pour la découverte de nouveaux agents antidiabétiques actifs par voie orale.

En effet, ces polysaccharides semblent avoir des propriétés hypotensives, hypoglycémiantes, hypolipémiantes et antiathérogènes permettant de corriger ou de prévenir certaines complications.

De ces résultats il apparaît clairement que les polysaccharides ont des effets bénéfiques sur le diabète ainsi que le profil lipidique qui tend à s'améliorer par rapport à celui observé chez les rats diabétiques consommant le régime standard commercial (ONAB). Leur intégration comme un complément alimentaire peut participer à l'amélioration du profil métabolique, diabétique et ses complications à long terme.

A ce stade du projet, nous avons tout d'abord mis en évidence **la valorisation des polysaccharides sulfatés extraits de l'*Ulva lactuca***. : Sur l'aspect biochimique et histologique.

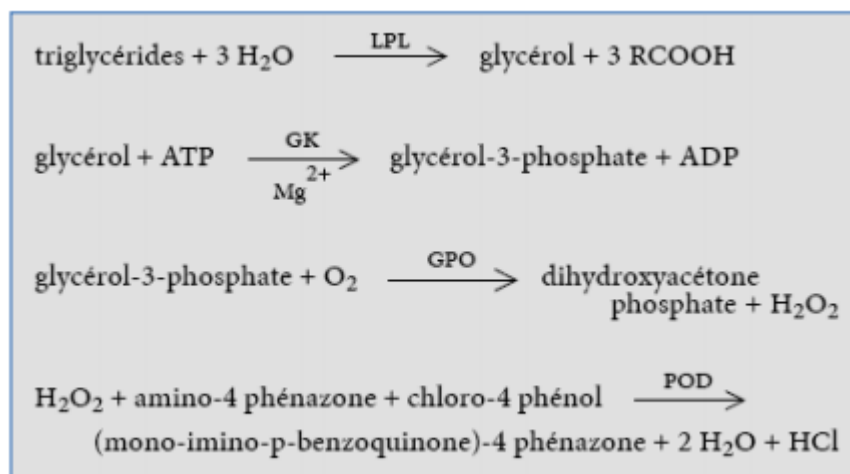
Il pourra également être intéressant de **caractériser** de manière plus précise de poursuivre la recherche sur son activité antidiabétique, en cherchant notamment à **identifier les caractéristiques structurales (composition, poids moléculaire, interactions synergiques ou antagonistes, etc.)**, ainsi que les cibles et les mécanismes à l'origine de cette activité.

## Annexes

### Statut lipidique

#### Dosage des triglycérides (TG)

Principe : Nous avons utilisé pour la détermination des triglycérides plasmatique l'analyseur automatique COBAS INTEGRA 400 qui utilise une méthode enzymatique colorimétrique basée sur les réactions enzymatiques suivantes

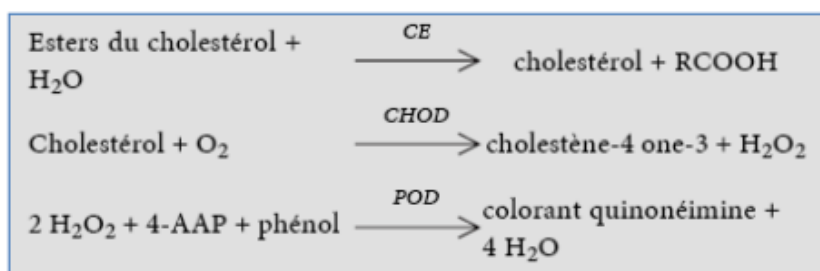


Cette méthode de dosage repose sur les travaux de WAHLEFELD dont la première réaction est l'hydrolyse rapide et complète des triglycérides en glycérol et acides gras sous l'action d'une lipoprotéine-lipase; le glycérol formé est ensuite transformé en glycérol-3-phosphate, puis oxydé en dihydroxyacétone-phosphate avec formation d'eau oxygénée; en présence de peroxydase l'eau oxygénée formée réagit, dans une réaction selon TRINDER, avec l'amino-4 phénazone et le chloro-4 phénol avec formation d'un dérivé coloré rouge. L'intensité de la coloration rouge développée est directement proportionnelle à la concentration en triglycérides et est mesurée par photométrie. L'analyseur automatique COBAS INTEGRA 400, calcule automatiquement la concentration analysée de chaque échantillon.

#### Dosage du cholestérol (CT)

## ANNEXES

Principe : Nous avons utilisé pour le dosage du cholestérol total l'analyseur automatique COBAS INTEGRA 400 basé sur une méthode enzymatique colorimétrique. La cholestérol-estérase (CE) hydrolyse les esters du cholestérol pour former du cholestérol libre et des acides gras. Dans une réaction ultérieure catalysée par la cholestérol-oxydase le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en cholestène-4 one-3 avec formation d'eau oxygénée: En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec l' amino-4 phénazone (4-AAP) et le phénol avec formation d'un dérivé coloré rouge. Cette dernière réaction est mesurée à l'aide d'une réaction de TRINDER.

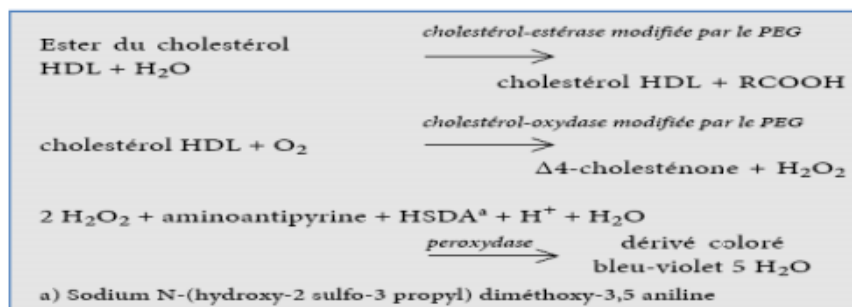


L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 512 nm. L'analyseur automatique COBAS INTEGRA 400, calcule automatiquement la concentration analysée de chaque échantillon

### Dosage du cholestérol-HDL (HDLc)

Principe : Nous avons utilisé pour le dosage du cholestérol HDL l'analyseur automatique COBAS INTEGRA 400 basé sur une méthode enzymatique colorimétrique en phase homogène. En présence d'ions magnésium et de sulfate de dextran, il se forme des complexes hydrosolubles avec les LDL, les VLDL et les chylomicrons ; ces complexes sont résistants vis-à-vis d'enzymes modifiées par du PEG. La concentration en cholestérol HDL est déterminée par voie enzymatique à l'aide de cholestérol-estérase et de cholestérol-oxydase modifiées par du PEG (env. 40% des groupes aminés de ces enzymes sont couplés à du PEG). Sous l'action de la cholestérol-estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras. Dans une réaction ultérieure catalysée par la cholestérol-oxydase modifiée par le PEG, le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en  $\Delta^4$ -cholesténone avec formation d'eau oxygénée.

## ANNEXES

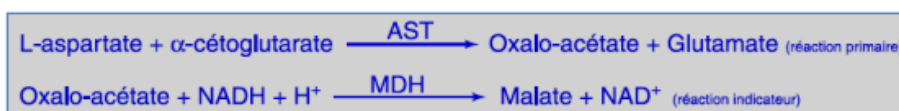


L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol HDL. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 583 nm. L'analyseur automatique COBAS INTEGRA 400, calcule automatiquement la concentration analysée de chaque échantillon.

### Statut de la fonction hépatique

#### Aspartateaminotransférase (ASAT)

Principe : Nous avons utilisé pour le dosage de l'activité de l'aspartateaminotransférase (ASAT) l'analyseur automatique Système SYNCHRON CX. Ce dernier détermine la concentration de l'ASAT plasmatique par une méthode enzymatique. Au cours du dosage, l'ASAT catalyse la transamination réversible de la L-aspartate et de l'alpha-cétoglutarate en oxaloacétate et en Lglutamate. L'oxaloacétate est alors réduit en malate en présence du malate déshydrogénase (MDH) avec l'oxydation concomitante de la  $\beta$ -nicotinamide-adénine-dinucléotide (forme réduite) (NADH) en  $\beta$ -nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) selon la réaction suivante :



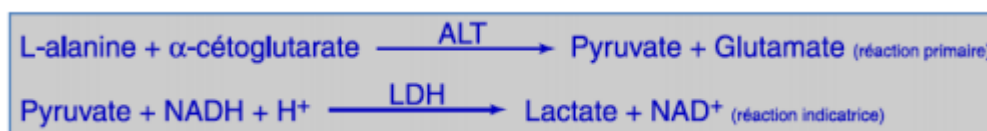
Le Système SYNCHRON CX distribue automatiquement les volumes appropriés d'échantillon et de réactif appropriés dans une cuvette. Le rapport utilisé est 1 volume d'échantillon pour 11 volumes de réactif. Le système contrôle le changement d'absorbance à 340 nanomètres pendant un intervalle déterminé. Ce changement d'absorbance est directement

## ANNEXES

proportionnel à la concentration de l'activité de l'ASAT dans l'échantillon et est utilisé par le Système SYNCHRON CX pour calculer et exprimer l'activité de l'ASAT.

### **Alanine aminotransférase (ALAT)**

Principe : Nous avons utilisé pour le dosage de l'activité de l'Alanine aminotransférase (ALAT) l'analyseur automatique Système SYNCHRON CX. Ce dernier détermine la concentration de l'ALAT plasmatique par une méthode enzymatique cinétique. Au cours du dosage, l'ALAT catalyse la transamination réversible de la L-alanine et de l'alpha-cétoglutarate en pyruvate et en L-glutamate. Le pyruvate est alors réduit en lactate en présence de la lactico-déshydrogénase (LDH) avec l'oxydation concomitante de la  $\beta$ -nicotinamide-adénine-dinucléotide (forme réduite) (NADH) en  $\beta$ -nicotinamide adénine dinucléotide (NAD).



Le Système SYNCHRON CX distribue automatiquement les volumes de réactif et d'échantillon appropriés dans une cuvette. Le rapport utilisé est un volume d'échantillon pour 11 volumes de réactif. Le système contrôle le taux de changement d'absorbance à 340 nanomètres pendant un intervalle de temps fixe. Ce taux de changement d'absorbance est directement proportionnel à l'activité ALAT dans l'échantillon et est utilisé par le système pour calculer et exprimer l'activité ALAT.

**Références bibliographiques**

1. **Abd El-Baky, HH, El-Baz FK, El-Baroty, GS. (2009).** Potential Biolo-Gical Properties of Sulphated Polysa-Ccharides Extracted From The Macroalgae *Ulva Lactuca L.* *Acad J Cancer Research* 2: 1-11.
2. **ADA (American Diabetes Association). (2015).** Standards Of Médical Care In Diabète Care.
3. **Aguilar-Briseño, J., Cruz-Suarez, L., Sassi, J. F., Ricque-Marie, D., Zapata-Benavides, P., Mendoza-Gamboa, E., & Trejo-Avila, L. (2015).** Sulphated polysaccharides from *Ulva clathrata* and *Cladosiphon okamuranus* seaweeds both inhibit viral attachment/entry and cell-cell fusion, in NDV infection. *Marine drugs*, 13(2), 697-712.
4. **Al Achi, A. (2005).** Herbs that affect blood glucose levels. *Women's Health in Primary Care*. 8(7): 325-330.
5. **Alberti, K. G. M. M., & Zimmet, P. F. (1998).** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic medicine*, 15(7), 539-553.
6. **Al-Shamaony, L., Al-Khazraji, S. M., & Twaij, H. A. (1994).** Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba*. II. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabetic animals. *Journal of ethnopharmacology*, 43(3), 167-171.
7. **Alturkistani, H. A., Tashkandi, F. M. and Mohammedsaleh, Z.M. (2016).** Histological Stains: A Literature Review and Case Study. *Global Journal of Health Science*, 8 (3) : 72–79.
8. **Anastyuk S. D., Shevchenko N. M., Nazarenko E. L., Dmitrenok P. S., Zvyagintseva T. N. (2009).** Structural analysis of a fucoidan from the brown alga *Fucus*

## Références bibliographiques

- evanescens* by MALDI-TOF and tandem ESI mass spectrometry. *Carbohydr. Res.* 344, 779–787. 10.1016/j.carres.2009.01.023.
9. **Ankur, R., & Shahjad, A. (2012).** Alloxan induced diabetes: mechanisms and effects. *International journal of research in pharmaceutical and biomedical sciences*, 3(2), 819-823.
  10. **Arikawe, A. P., Daramola, A. O., Odofin, A. O., & Obika, L. F. (2006).** Alloxan-induced and insulin-resistant diabetes mellitus affect semen parameters and impair spermatogenesis in male rats. *African journal of reproductive health*, 10(3), 106-113.
  11. **Athukorala, Y., Kim, K. N., & Jeon, Y. J. (2006).** Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food and Chemical Toxicology*, 44(7), 1065-1074.
  12. **Auroba M. Nibras N. (2010).** Study Antidiabetic Effect of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on Alloxan Induced Diabetic Rats. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 34(1), 165-170.
  13. **Barakat. A, Chadli. A, El Ghomari. H, Farouqi. A. (2010).** Étude moléculaire et génétique du diabète type 2 chez la population marocaine. *Diabete & métabolisme* 10.1016/S1262-3636(10)70420-1.
  14. **BelHadj, S., Hentati, O., Elfeki, A., & Hamden, K. (2013).** Inhibitory activities of *Ulva lactuca* polysaccharides on digestive enzymes related to diabetes and obesity. *Archives of physiology and biochemistry*, 119(2), 81-87.
  15. **Berri, M., Slugocki, C., Olivier, M., Helloin, E., Jacques, I., Salmon, H. & Collen, P. N. (2016).** Marine-sulfated polysaccharides extract of *Ulva armoricana* green algae exhibits an antimicrobial activity and stimulates cytokine expression by intestinal epithelial cells. *Journal of applied phycology*, 28(5), 2999-3008.
  16. **Birari RB, Bhutani KK. (2007).** Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discovery Today*, 12:19–20.
  17. **CEVA. 2004.** Richesse des algues en iode : un atout à valoriser. *Algorithme*, n° 68, 8 p.

## Références bibliographiques

18. **Chami, M., Zemmour, L., Midoun, N., Belhadj, M. (2015).** Diabète sucré du sujet âgé : la première enquête algérienne. *Épidémiologie, coûts et organisation des soins*, (9) : 210-215.
19. **Chentli, F., Azzoug, S., Amani, M. E. A., & Elgradechi, A. (2013).** Diabetes mellitus and Ramadan in Algeria. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 17(Suppl1), S295–S298.
20. **CNRDPA, (2019).** Centre national de recherche et de développement de la pêche et aquaculture, Algérie.
21. **Devaki, T., Sathivel, A., & BalajiRaghavendran, H. R. (2009).** Stabilization of mitochondrial and microsomal function by polysaccharide of *Ulva lactuca* on D-Galactosamine induced hepatitis in rats. *Chemico-biological interactions*, 177(2), 83-88.
22. **DJOUDAD-KADJI, H., BENSLIMANE, S., CHEVALIER, C., KADJI, B., EXBRAYAT, J. M., & IGUER-OUADA, M. (2011).** Visualisation des coupes histologiques des follicules ovariens de barbus callensis variation de fixateurs et de colorants. *Rev. fr. histotechnol*, 24(1), 21-28.
23. **Duron F, Heurtier A, (2005).** Complications du diabète en dehors des accidents métaboliques aigus. Faculté de Médecine, Pierre et Marie Curie. Paris, France. [www.chusa.jussieu.fr](http://www.chusa.jussieu.fr). Avril.2010.
24. **Etuk, E. U. (2010).** Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric Biol JN Am*, 1(2), 130-134.
25. **Fayzieva, Z., & Khakimov, Z. (2010).** Influence of glycorazmulin on the parameters of carbohydrate metabolism in alloxane diabetes. *Medical and Health Science Journal*, MHSJ, 3, 5-8.
26. **FLEURENCE J. (2015).** Protéines algales et traitements améliorant la digestibilité. Groupe de travail «Protéines du futur pour l'alimentation humaine», Valorial, 22 mai 2015.

## Références bibliographiques

27. **Garon-Lardiere, S., (2004).** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Université De Bretagne Occidentale.
28. **Geoffroy K, (2005).** Rôle des sphingolipides dans la modification de la prolifération des cellules mésangiales rénales en réponse au produit avancé de glycation (AGE) : implication dans le développement de la néphropathie diabétique. Thèse Doctorat en biochimie, Université Paris VII. Denis Didero ; P: 31-97.
29. **Grimaldi, A. (2009).** *Traité de diabétologie.* Flammarion médecine-sciences.
30. **Hashemnia, M., Oryan, A., Hamidi, A. R., & Mohammadalipour, A. (2012).** Blood glucose levels and pathology of organs in alloxan-induced diabetic rats treated with hydro-ethanol extracts of *Allium sativum* and *Capparis spinosa*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(21), 1559-1564..
31. **Hassan, S., El-Twab, S. A., Hetta, M., & Mahmoud, B. (2011).** Improvement of lipid profile and antioxidant of hypercholesterolemic albino rats by polysaccharides extracted from the green alga *Ulva lactuca* Linnaeus. *Saudi journal of biological sciences*, 18(4), 333-340.
32. **Hoang, M. H., Kim, J. Y., Lee, J. H., You, S., & Lee, S. J. (2015).** Antioxidative, hypolipidemic, and anti-inflammatory activities of sulfated polysaccharides from *Monostroma nitidum*. *Food Science and Biotechnology*, 24(1), 199-205.
33. **Institut National de Santé Publique, (2009).** Enquête diabète. Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière, Alger.
34. **Karthik, D., Vijayakumar, R., Pazhanichamy, K., & Ravikumar, S. (2015).** A proteomics approach to identify the differential protein level in cardiac muscle of diabetic rat. *Acta Biochimica Polonica*, 61.
35. **Kharroubi, A. T., & Darwish, H. M. (2015).** Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World journal of diabetes*, 6(6), 850.
36. **Kierszenbaum, L.A. (2006).** Histologie et biologie cellulaire, une introduction à l'anatomie pathologique. Bruxelles : De Boeck. 1-618.

## Références bibliographiques

37. LAHAYE M. (1991). Marine algae as sources of fibres: determination of soluble and insoluble dietary fibre contents in some “sea vegetables”. *Journal Sciences Food Agricole* 54: 587-94.
38. Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51: 216-226.
39. Lenzen, S. I. G. U. R. D., Freytag, S. V. E. N. J. A., & Panten, U. (1988). Inhibition of glucokinase by alloxan through interaction with SH groups in the sugar-binding site of the enzyme. *Molecular pharmacology*, 34(3), 395-400.
40. Li, Y. X., & Kim, S. K. (2011). Utilization of seaweed derived ingredients as potential antioxidants and functional ingredients in the food industry: An overview. *Food Science and Biotechnology*, 20(6), 1461-1466..
41. Love, J., & Percival, E. (1964). 633. The polysaccharides of the green seaweed *Codium fragile*. Part III. A  $\beta$ -1, 4-linked mannan. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 3345-3350.
42. Mao, W., Zang, X., Li, Y., & Zhang, H. (2006). Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva conglobata* and their anticoagulant activity. *Journal of Applied phycology*, 18(1), 9-14.
43. Marfaing, H., & Lerat, Y. (2007). Les algues ont-elles une place en nutrition?. *Phytothérapie*, 5(1), 2-5.
44. Mouritsen, O. G. (2015). *Algues marines: propriétés, usages, recettes*. Delachaux et Niestlé.
45. Negreş, S. I. M. O. N. A., Chiriță, C. O. R. N. E. L., Moroşan, E. L. E. N. A., & Arsene, A. L. (2013). Experimental pharmacological model of diabetes induction with alloxan in rat. *Farmacia*, 61(2), 313-323.
46. Nermeen, S. M., Morsy, F. A., Ali, A. G., & Sharaf, H. A. (2010). Effect of caraway, coriander and fennel on the structure of kidney and islets of Langerhan in alloxan-induced diabetic rats: Histological and histochemical study. *Journal of American Science*, 6(9), 405-418.

## Références bibliographiques

47. **OMS. (2010).** Plan d'action 2008-2013 pour la stratégie mondiale de lutte contre les maladies non transmissibles.
48. **OMS. (2016).** Rapport mondial sur le diabète.
49. **PERSON J. (2011).** Livre turquoise. Algues, filières du futur. Édition Adebitech. 182p.
- Properties of Sulphated Polysaccharides Extracted From The Macroalgae
50. **Pujol, C. A., Ray, S., Ray, B., & Damonte, E. B. (2012).** Antiviral activity against dengue virus of diverse classes of algal sulfated polysaccharides. *International journal of biological macromolecules*, 51(4), 412-416.
51. **Rajagopal, K., & Sasikala, K. (2008).** Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of *Nymphaea stellata* in alloxan-induced diabetic rats. *Singapore medical journal*, 49(2), 137
52. **Robic, A., Gaillard, C., Sassi, J. F., Lerat, Y., & Lahaye, M. (2009).** Ultrastructure of ulvan: a polysaccharide from green seaweeds. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 91(8), 652-664.
53. **SAHNOUN, A., & CHENINE, A. (2017).** Contribution à l'étude de l'effet de la variation saisonnière (hiver-printemps) de l'activité antibactérienne et antioxydante de différents extraits de l'algue verte *Caulerpa racemosa* de la côte Mostaganémoise.
54. **Sanadhya, I. N. D. U., Lobo, V. I. J. A. Y. A., Bhot, M. E. E. T. A., Varghese, J. O. S. S. Y., & Chandra, N. A. R. E. S. H. (2013).** Antidiabetic activity of anthocephalus indicus a rich fruits in alloxan induced diabetic rats. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5(2), 519-523.
55. **Sandler, S., & Swenne, I. (1983).** Streptozotocin, but not alloxan, induces DNA repair synthesis in mouse pancreatic islets in vitro. *Diabetologia*, 25(5), 444-447.
56. **Saravanan, R., & Pari, L. (2005).** Antihyperlipidemic and antiperoxidative effect of Diasulin, a polyherbal formulation in alloxan induced hyperglycemic rats. *BMC complementary and Alternative medicine*, 5(1), 14.

## Références bibliographiques

57. Sheng L, Qian Z, Zheng S, Xi L. (2006). Mechanism of hypolipidemic effect of crocin in rats: Crocin inhibits pancreatic lipase. *Eur J Pharmacol*, 543:116–22.
58. Shirwaikar, A., Rajendran, K., Kumar, C. D., & Bodla, R. (2004). Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 91(1), 171-175.
59. Szkudelski T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res.* , 2001 ;50: 536-546.
60. Tair, Z. I., Bensalah, F., & Boukortt, F. (2018, June). Effect of green alga *Ulva lactuca* polysaccharides supplementation on blood pressure and on atherogenic risk factors, in rats fed a high fat diet. In *Annales de cardiologie et d'angiologie* (Vol. 67, No. 3, pp. 133-140).
61. Taştekin, D. İ. D. E. M., Atasever, M., ADIGÜZEL, G., KELEŞ, M., & TAŞTEKİN, A. (2006). Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba-alba* in experimental hyperglycaemic rats. *Bull Vet Inst Pulawy*, 50, 235-238..
62. Tiwari, B. K., Kumar, D., Abidi, A. B., & Rizvi, S. I. (2014). Efficacy of composite extract from leaves and fruits of medicinal plants used in traditional diabetic therapy against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *ISRN pharmacology*, 2014.
- Ulva Lactuca* L. *Acad J Cancer Research* 2: 1-11
63. Usher-Smith, J. A., Thompson, M., Ercole, A., & Walter, F. M. (2012). Variation between countries in the frequency of diabetic ketoacidosis at first presentation of type 1 diabetes in children: a systematic review. *Diabetologia*, 55(11), 2878-2894. Watkins D., Cooperstein SJ., Lazarow A. Effect of alloxan on permeability of pancreatic islet tissue in vitro. 1964.
64. Whiting, D. R., Guariguata, L., Weil, C., & Shaw, J. (2011). IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*, 94(3), 311-321.
65. WHO. (1991). World Health Organization.

## Références bibliographiques

- 66. William J.M, Marshall S, Stephen K, Bongret. (2005).**Biochimie Medical Physiologie Et Diagnostic ;P : 385. 86) Site 1: ( source inconnu 20/06/2017 à 00 :13 ).
- 67. World Health Organization. (2014).** *Global status report on noncommunicable diseases 2014* (No. WHO/NMH/NVI/15.1). World Health Organization.
- 68. Wright S., Keele CA., Neil E. (1980).** Physiologie appliquée à la médecine. 2ème Edition Flammarion-Sciences, Paris.
- 69. Young Jacques. (2007).** Endocrinologie, Diabétologie et Maladies métaboliques. Collège des Enseignants d'Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques. Edition Masson, pages 465.
- 70. Yusrizam, S., Yao-Xian C., Phaik-EemL., & Siew-Moi P. (2015).** Potential bioactive compounds from seaweed for diabetes management. *Marine drugs*, 13(8), 5447-5491.Potential bioac-tive compounds from seaweed for diabetes management. *Marin Drugs* 2015;13:5447–91.